

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua- León**

**Facultad de Ciencias Médicas**

**Carrera de Bioanálisis Clínico**



**Tesis para optar al título de  
Licenciado en Bioanálisis Clínico**

***“Frecuencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus  
resistentes a meticilina en el personal de Salud del Hospital  
Materno-Infantil Dr. Fernando Vélez Paíz-Managua 2010”***

**Autoras:**

**Bra. Lyrio Lesbos Calderón Reyes**

**Bra. Alina Lucia Esquivel López**

**Tutora:**

**Mercedes Cáceres Salinas PhD.**

**Profesor titular**

**Departamento de Microbiología. UNAN- León**

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	.....	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	.....	<b>2</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	.....	<b>3</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	.....	<b>4</b>
<b>OBJETIVOS</b>	.....	<b>5</b>
<b>MARCO TEÒRICO</b>	.....	<b>6</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	.....	<b>15</b>
<b>RESULTADOS</b>	.....	<b>19</b>
<b>ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS</b>	.....	<b>23</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	.....	<b>27</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	.....	<b>28</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	.....	<b>29</b>
<b>ANEXOS</b>	.....	<b>32</b>

# Agradecimiento

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de una monografía, es inevitable que te asalte un muy humano egocentrismo que te lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que has hecho. Sin embargo, el análisis objetivo te muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, es para nosotras, un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ellas, expresándoles nuestros agradecimientos.

En primer lugar deseamos expresar nuestro agradecimiento a nuestros padres, por ayudarnos cada día a cruzar con firmeza el camino de la superación, queremos que sientan que el objetivo alcanzado también es de ustedes.

A la Dra. Mercedes Càceres, por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a nuestras sugerencias e ideas y el rigor que ha facilitado a las mismas.

Al Dr. Carlos Jarquin, quien permitió la ejecución de este estudio mientras ejercía la Dirección en el Hospital.

A los participantes, por aceptar su colaboración al mismo.

**“Frecuencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personal de salud del Hospital Materno Infantil Dr. Fernando Vélez Paíz. Managua. 2010”**

***Lyrio L. Calderón R., Alina L. Esquivel L. y Mercedes Cáceres***

**RESUMEN**

La resistencia bacteriana es un problema de salud pública mundial. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM), una de las más importantes causas de infecciones hospitalarias a nivel mundial, los portadores nasales de SARM son la principal fuente en los hospitales. Con el objetivo de conocer la frecuencia de portadores nasales de SARM entre los trabajadores de la salud del Hospital Materno Infantil Dr. Fernando Vélez Paiz, se realizó un estudio descriptivo de corte transversal durante el mes de julio del 2010. Hisopados nasales de 206 trabajadores de la salud que aceptaron voluntariamente participar fueron cultivados en medio selectivo ORSAB, e identificados por Tinción de Gram, Test de cuagulasa y DNasa, la resistencia a meticilina fue determinada utilizando método Kirby Bauer y confirmada con la detección molecular del gen *mecA* por PCR. La frecuencia de portadores nasales de SARM fue de 7%, El perfil de resistencia de las cepas SARM fue de 31 y 25% resistentes a Eritromicina y Clindamicina respectivamente. No se encontraron cepas resistentes a Vancomicina, Gentamicina y Trimetoprim sulfa. El estudio confirma la circulación del gen que codifica la resistencia a meticilina en *S. aureus* en el Hospital Vélez Paiz y aporta información relevante a las autoridades para la toma de medidas de control de infecciones nosocomiales severas como son las causadas por SARM.

**Palabras claves:** SARM, Resistencia antimicrobiana, Infecciones nosocomiales, *mecA*, Portadores nasales.



## INTRODUCCIÓN

*Staphylococcus aureus*, es una bacteria que forma parte de la flora normal de la piel y fosas nasales, a la vez es considerada importante por su gran capacidad patogénica y por presentar características de multirresistencia a los antibióticos, haciendo difícil su manejo. Puede causar una gran variedad de infecciones tanto en individuos sanos como en inmunodeficientes. Es el agente causal más frecuentemente identificado como causa de infección nosocomial, particularmente *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), que actualmente se destaca por su capacidad de evadir la acción de los antibióticos. (1, 3, 5,12)

La aparición de la resistencia a la meticilina en *Staphylococcus aureus* y la dispersión general de estas cepas por los hospitales de todo el mundo ha supuesto uno de los retos terapéuticos y de control de infección más importantes. Durante los últimos 20 años, los brotes de infección por *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) se han encontrado asociados a hospitales y han sido la consecuencia de la entrada y diseminación, por transmisión cruzada, de unos pocos clones bacterianos. La colonización del hospedador juega un papel importante en la epidemiología de las infecciones causadas por *S. aureus*, tanto sensible como resistente a meticilina. La fuente principal en la transmisión son los pacientes con infecciones causadas por esta bacteria, pero también los pacientes y personal de salud que sean portadores nasales permanentes o temporales de SARM pueden actuar como reservorios. La transmisión se produce fundamentalmente a través de las manos del personal sanitario. No obstante, no hay que olvidar, aunque con menor importancia, el papel que juega el propio ambiente hospitalario (superficies, objetos de uso común, etc.). Para confirmar las cepas SARM, es preferible detectar directamente el gen codificador de la resistencia a meticilina (gen *mecA*), o bien su producto de expresión, proteína PBP2a, la cual presenta baja afinidad para los antibióticos B-lactámicos. (1, 2, 4,11)

La infección por SARM representa, además de su repercusión en la morbimortalidad de los pacientes, un impacto económico importante para los hospitales. El espectro de antimicrobianos útiles para su manejo está prácticamente reducido a la Vancomicina, antibiótico de alto costo y cuya efectividad depende de la eventual adquisición de factores de resistencia desde otras bacterias ya resistentes y que pueden transferírselo. (2)



## ANTECEDENTES

Antes de la era de los antibióticos, las infecciones con *Staphylococcus aureus* causaron numerosas muertes. La introducción de la penicilina en 1940 cambió dramáticamente esta situación y muy pronto aparecieron cepas de *S. aureus* resistentes a penicilina. La meticilina fue introducida en 1961 como primera generación de penicilinas semisintéticas para el tratamiento de infecciones causadas por *S. aureus* resistente a penicilina. A un año de su introducción fue descrito el primer *S. aureus* meticilino resistente (SARM) y en 1963 el primer SARM nosocomial epidémico. Desde entonces, numerosas epidemias por SARM han ocurrido tanto en países desarrollados como subdesarrollados. (7,9)

La incidencia de cepas de resistencia a la meticilina varía según las regiones geográficas. Los datos del programa multinacional de vigilancia (SENTRY), reportan frecuencias de aislamientos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina en Estados Unidos de un 26%, en Canadá de un 3%, en Europa de un 24% y en América Latina de un 50%. Se desconoce el porcentaje de la población colonizada por SARM (7). En España, los datos del European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) han mostrado cifras de entre el 23 y el 28% de resistencia a meticilina en *S. aureus*. En las unidades de cuidados intensivos (UCI) el porcentaje de SARM entre 1997 y 2003 fue del 30,5%. En una encuesta multicéntrica reciente se obtuvo una incidencia media de 0,88 casos de infección/colonización por SARM por 100 ingresos, y se han encontrado cifras indicativas de elevada transmisión en más del 50% de hospitales (22). En Guatemala, se reportó una prevalencia del 15.3 % de cepas resistentes a meticilina en *S. aureus*, en personal de Salud del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt de La Antigua Guatemala. Del total de cepas aisladas el 100 % fueron sensibles a vancomicina. (8)

En Nicaragua, un estudio realizado en marzo del 2003, por Lara M en el servicio de Pediatría del HEODRA-León, reportó que el 14% de las cepas aisladas de personal médico y paramédico fueron resistentes a meticilina, este es el primer estudio realizado en Nicaragua e incluyó el estudio de *mecA* por PCR para confirmar la resistencia a meticilina.

Recientemente Arbizú O. 2010, realizó un estudio que incluyó 208 trabajadores de la salud de todos los servicios del Hospital Escuela Dr. Oscar Danilo Rosales. La frecuencia de portadores nasales de SARM fue de 10%, un porcentaje similar fueron cepas hiperproductoras de Betalactamasa consideradas Border-line.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La importancia y el incremento de cepas *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina han sido reconocidos en muchos países, la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio, y su continua adquisición de mecanismos de resistencia antibiótica, han hecho de este un residente habitual del hábitat hospitalario.

¿Es frecuente la colonización por SARM en el personal de salud del Hospital Materno-Infantil Dr. Fernando Vélez Paíz?



## JUSTIFICACIÓN

El *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina es uno de los principales agentes etiológicos implicados en infecciones nosocomiales a nivel mundial y causante de elevadas tasas de morbimortalidad. Los cambios en su epidemiología y sus características de multirresistencia representan una seria amenaza, haciendo más difícil la utilidad terapéutica de muchos antimicrobianos, incluyendo los de alto costo.

Aunque no es habitual la colonización con SARM en trabajadores de la salud, estos pueden ser una importante fuente de transmisión, al igual que los pacientes. Y la detección de la portación contribuiría en gran medida a controlar posibles brotes epidémicos en el hospital y monitorear su diseminación.

Este estudio pretende determinar la frecuencia de portadores nasales de SARM entre el periodo de Julio a Agosto, tal que puedan las autoridades tomar las medidas de prevención de diseminación o probables brotes de infecciones por esta bacteria.





## OBJETIVOS

### General

Determinar la frecuencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) en el personal de Salud del Hospital Materno-Infantil Dr. Fernando Vélez Paíz-Managua

### Específicos

1. Describir las características socio-demográficas de los participantes del estudio.
2. Aislar e identificar *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en hisopados nasales del Personal de Salud.
3. Determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de los SARM aislados.
4. Confirmar la presencia del gen *mecA* de las cepas SARM utilizando una técnica molecular.



## MARCO TEÓRICO

### Generalidades

Los *Staphylococcus aureus* fueron observados por primera vez por Koch y Pasteur. Hacia 1880 Ogston fue quien los denominó con los siguientes términos derivados del griego *staphyle* = racimo y *kokkos* = granos. En 1884, Rosenbach relacionó estas bacterias con infecciones en heridas y osteomielitis. El género *Staphylococcus* contiene más de 30 especies diferentes, y muchas de estas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas; no tienen otros hábitats importantes, excepto cuando están involucradas en infecciones. (1, 3,5)

Pertenece a la familia *Micrococcaceae*, es una bacteria esférica o Coco Gram positivo agrupado en pares, cadenas cortas, racimos o suelto, no móvil, no forma esporas. La mayoría no son encapsulados o forman ligeramente una microcápsula que se considera como un factor de virulencia que evita la fagocitosis. Se conocen por lo menos 11 serotipos capsulares polisacáridos de los cuales la mayoría de cepas de SARM pertenecen al serotipo 5. Proliferan bajo condiciones aerobias o microaerófilas en medios nutritivos no enriquecidos. Las colonias son lisas, opacas, circulares y convexas, tienen consistencia cremosa y son blancas o muestran una variada gama de tonos amarillos y crece con mayor rapidez a 37°C. La mayoría de cepas crece en presencia de cloruro de sodio al 4% (halotolerante) y a temperaturas entre los 18 a 40°C. Tienen la capacidad de fermentar la glucosa y producir ácido a partir del glicerol. La mayoría de especies son catalasa positiva, coagulasa positivo, oxidasa negativo, la mayoría presenta una  $\beta$ -hemólisis en agar sangre de carnero y presentan actividad de DNAsa. (1, 9, 12)

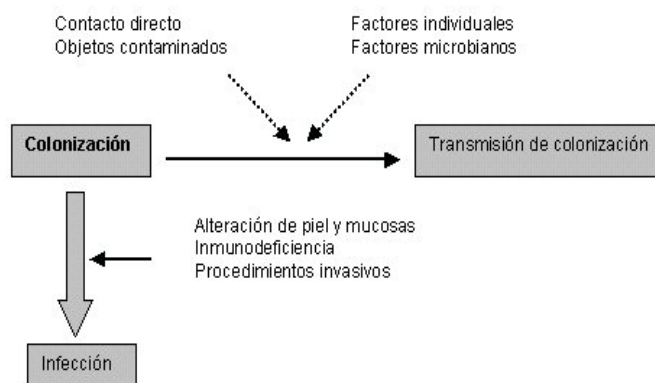
### Manifestaciones Clínicas

Desde el punto de vista clínico, las infecciones por SARM no difieren de las producidas por *S. aureus* sensible a meticilina y, por tanto, las cepas resistentes a meticilina tienen la misma capacidad patogénica para colonizar y causar infección que las cepas sensibles a ésta. En general, son infecciones con gran supuración y necrosis tisular que tienden a la formación de abscesos. *S. aureus* coloniza la piel y las mucosas de muchas personas. Desde allí puede causar infecciones leves, tales como forúnculo, paroniquia, infecciones de heridas, etc. También, puede causar infecciones más graves como péñfigo *neonatorum* (o impétigo ampollar, según la edad), endocarditis, meningitis.



El síndrome de la piel escaldada, el síndrome del *shock* tóxico y las intoxicaciones alimentarias se producen principalmente por la acción de las toxinas de este microorganismo. (5,12)

### Portadores de *S. aureus* resistentes a Meticilina e Infección Nosocomial



La vía más frecuente de transmisión para la mayor parte de las bacterias dentro del hospital, son las manos del personal y el SARM no es la excepción. Por lo general se introduce en una institución cuando ingresa a ella un paciente infectado o colonizado por el microorganismo, quien actúa

como reservorio. Una vez que este microorganismo se ha instalado, es transmitido de un paciente a otro a través de las manos del personal de salud, que se colonizan en forma transitoria luego del contacto con un paciente infectado con el microorganismo o después de manejar materiales contaminados. También puede ocurrir que un trabajador de salud se colonice a sí mismo al tocarse o rascarse la nariz, sin haber efectuado un apropiado lavado de manos bien por haber omitido el uso de barreras (guantes, mascarilla, etc.), luego del contacto con un paciente colonizado o infectado por SARM . A pesar de que muchos estudios han demostrado que el personal de la salud puede ser portador nasal de SARM no está claro cuánto esta portación puede contribuir a la transmisión de este microorganismo. (1, 2, 9,12)

Las instituciones prestadoras de servicio de Salud, tienen ambientes propicios para la transmisión de agentes infecciosos, potencialmente patógeno y en la actualidad la infección nosocomial, es considerado como un indicador de calidad de la atención médica. (1)



## Resistencia antimicrobiana de *S. aureus*

La introducción de la penicilina a principios de los años 40 como tratamiento en las infecciones causadas por *S. aureus* abatió de manera importante las enfermedades ocasionadas por este microorganismo. Sin embargo, un año después de su utilización ya se tenían cepas de *S. aureus* resistentes a la penicilina. Debido a esto, a finales de los años 50 se introdujeron cefalosporinas estables a penicilinasas y penicilinas semisintéticas. Entre éstas estuvo la meticilina, como antibiótico de elección en el tratamiento de *S. aureus*. A continuación los diferentes mecanismos de resistencia de *S. aureus* a los antimicrobianos:

**Betalactámicos:** Un porcentaje reducido de cepas de *Staphylococcus* son sensibles, en la actualidad, a la penicilina. El fenotipo más frecuente en este género incluye resistencia a penicilina y a ampicilina por producción de penicilinasas. Esta B-lactamasa es inhibida por el ácido clavulánico, por lo que estas cepas son sensibles a la asociación de amoxicilina ácido clavulánico. La hiperproducción de esta enzima puede ocasionar, de forma excepcional, un incremento de concentración inhibitoria mínima (MIC) a la oxacilina (1-8 mg/ml); este tipo de cepas son muy poco frecuentes, no presentan resistencia cruzada con otros B-lactámicos y la resistencia no está asociada con multiresistencia a otros antibióticos no B-lactámicos. Es también muy frecuente en *Staphylococcus* el fenotipo de resistencia a la meticilina (y a la oxacilina) por la adquisición del gen *mecA* que codifica la proteína fijadora de penicilina (BP) PBP2a, que posee baja afinidad por los beta-lactámicos. (20)

Las cepas con resistencia a meticilina (homogénea o heterogénea) relacionada con el gen *mecA* presentan resistencia cruzada al resto de B-lactámicos y generalmente se relaciona con multiresistencia a antibióticos no B-lactámicos (aminoglucósidos, macrólidos, quinolonas y tetraciclina, entre otros). La observación de multiresistencia debe hacer sospechar en la posibilidad de resistencia a meticilina. (20)

En ocasiones las cepas con resistencia heterogénea se manifiestan como resistentes a oxacilina, pero sensibles a otros antibióticos B-lactámicos. Sin embargo, debido a la resistencia cruzada con otros B-lactámicos, estas cepas deben considerarse e informarse como resistentes a todos ellos. El CLSI establece un punto de corte de resistencia diferente para *S. aureus* (MIC >4 mg/ml). Esta diferencia se estableció porque la MIC de oxacilina frente a algunas



cepas de SCN con el gen *mecA* era inferior a 2 mg/ml. Esta aproximación presenta el inconveniente de que para algunas especies (*S. saprophyticus*, *S. lugdunensis*, etc.) que carecen de *mecA* se pueden informar falsas resistencias a meticilina. (20)

Existen cepas de *S. aureus* con resistencia de bajo nivel o resistencia borderline a la oxacilina (borderline-oxacillin-resistant *S. aureus* o BORSA) que se caracterizan por presentar una resistencia intermedia a la oxacilina y valores de CMI de este antibiótico en el rango 1–8 mg/ml. Si estas cepas son resistentes a cefoxitina (y *mecA* positivas), entonces se deben considerar resistentes a todos los betalactámicos, con las excepciones anteriormente citadas. Si, por el contrario, estas cepas son sensibles a la cefoxitina (y *mecA* negativas), el mecanismo probablemente sea debido a la hiperproducción de la beta-lactamasa estafilocócica o a la modificación (hiperproducción o alteración) de las PBP 1, 2 o 4 de *S. aureus*. (20)

Aunque, la oxacilina es eficaz en el tratamiento de infecciones causadas por cepas borderline *mecA* negativas, la eficacia se ha demostrado solamente en aquellas cuya CMI no es superior a 2 mg/ml.

En la actualidad, el CLSI recomienda determinar la sensibilidad (dilución o difusión con discos) a la cefoxitina y a la oxacilina, la cefoxitina es un marcador de la presencia del gen *mecA* ya que es un inductor más potente del sistema de regulación de *mecA* que las penicilinas con lo cual mejora la expresión del gen y permite detectar mejor esta resistencia, especialmente en cepas heterorresistentes. Las cepas de *S. aureus* se consideran sensibles a la cefoxitina (y por tanto, a la oxacilina) si la CMI de cefoxitina es 4 mg/ml o el diámetro del halo de cefoxitina es 22mm y resistentes, si la CMI es 8 mg/ml o el halo es 21mm. (20)

**Macrólidos, lincosamidas y Estreptograminas (MLS):** Los antibióticos del grupo MLS presentan diferencias estructurales, pero poseen mecanismos de acción y de resistencia muy relacionados. En bacterias grampositivas, en general, se han descrito 4 mecanismos de resistencia a antibióticos MLS:

- Modificación de la diana (ARNr 23S) por la acción de metilasas codificadas por genes *erm*.
- Expulsión activa del antibiótico relacionado con diferentes genes (*mef* [A], *mef* [E], *msr* [A], *msr* [B], *erp* [B])



- Inactivación del antibiótico (genes *lnu*, *vat*, *vgb*). Modificación de la diana por mutación del ARNr 23S y/o proteínas ribosomales.

La presencia de genes *erm* generalmente confiere un fenotipo de resistencia denominado MLSB (resistencia a macrólidos de 14, 15 y 16 átomos, lincosamidas y Estreptograminas del grupo B) y este fenotipo puede ser de expresión constitutiva o inducible (cMLSB o iMLSB). (20)

En las cepas con fenotipo iMLSB la Eritromicina induce la expresión del mecanismo de resistencia. Por ello si se estudia la sensibilidad de estas cepas a macrólidos de 16 átomos, Clindamicina y Estreptograminas del grupo B en ausencia de Eritromicina, se manifestarán como sensibles a estos antibióticos, pero algunos autores consideran que deberían informarse como resistentes porque poseen el mecanismo de resistencia. El fenotipo de resistencia a macrólidos más frecuente en *Staphylococcus* es el iMLSB, y en algunas ocasiones también se detecta el fenotipo cMLSB, cuyos perfiles de resistencia son similares a los que se describen en *Streptococcus*. El fenotipo MLSB en *Staphylococcus* está relacionado con la expresión del gen *erm(A)*, aunque también se han descrito cepas con fenotipo MLSB portadoras del gen *erm(C)* y del recientemente descrito *erm(Y)*. (20)

Otros fenotipos que se pueden detectar, pero que son infrecuentes, son: los fenotipos M (afecta a macrólidos de 14 y 15 átomos) y MS (macrólidos de 14 y 15 átomos y a estreptograminas) debido a un mecanismo de expulsión activa del antibiótico [genes *mcr(A)*, *mcr(B)*, *erp(A)*] y los fenotipos L, SA y SB (afectan a lincosamidas y estreptograminas del grupo A y B, respectivamente) por mecanismos de inactivación y de expulsión activa del antibiótico. (20)

**Aminoglucósidos:** El fenotipo sensible es el más frecuente. Entre los mecanismos de resistencia a aminoglucósidos, el más frecuente es el mediado por el gen *aac(6′)-aph(2′)* que se detecta principalmente en cepas de *S. aureus* resistentes a la metilina. Este gen proporciona resistencia a todos los aminoglucósidos utilizados generalmente en la práctica clínica con la excepción de la estreptomina. En presencia de este gen, muy frecuentemente las cepas aparecen como resistentes a la gentamicina y a la tobramicina y sensibles a la amikacina cuando se realiza antibiograma por difusión con discos. (20)

Otro mecanismo de resistencia bastante frecuente en las cepas de *S. aureus* resistente a la metilina aisladas es el mediado por la enzima ANT (4′) (4′′). Se



trata de cepas sensibles a la gentamicina y resistentes a la amikacina, tobramicina y kanamicina. (20)

**Quinolonas:** Se han descrito varios mecanismos de resistencia a quinolonas en *Staphylococcus*. Mutaciones en los genes *gyrA* y *gyrB* que codifican la ADN-girasa (topoisomerasa II), mutaciones en los genes *parC* y *parE*, que codifican la topoisomerasa IV, y mutaciones en el gen *norA*, responsable de un mecanismo de eliminación activa. Las cepas clínicas de *Staphylococcus* sensibles a quinolonas no suelen tener mutaciones en estos genes, pero se han descrito aislamientos con mutaciones para los que la MIC de una o más quinolonas corresponde a la categoría de sensible establecida por el CLSI. (20)

Existen importantes diferencias en la actividad de las distintas fluoroquinolonas frente a *Staphylococcus*. No todos los compuestos tienen la misma potencia frente a la DNA-girasa y la topoisomerasa IV, las mutaciones responsables de la resistencia suelen ocurrir habitualmente primero en los genes que codifican la diana primaria de *Staphylococcus* (para la mayoría de compuestos la topoisomerasa IV) y a continuación la diana secundaria (habitualmente la ADN-girasa), contribuyendo estas últimas a incrementar el nivel de resistencia. (20)

Probablemente entre las fluoroquinolonas disponibles las menos activas son norfloxacin y ciprofloxacino, seguidas de ofloxacino, levofloxacino, esparfloxacino, a su vez seguidas de moxifloxacino y gemifloxacino. A pesar de toda esta información en la actualidad resulta muy complejo realizar una lectura interpretada del antibiograma de quinolonas en *Staphylococcus*. (20)

**Glucopéptidos:** Las cepas de *Staphylococcus* han mantenido en general una elevada sensibilidad a los glucopéptidos, lo más frecuente es detectar cepas sensibles a vancomicina y a teicoplanina. Sin embargo, en 1997 se describió la detección en Japón de cepas de *S. aureus* con sensibilidad disminuida a vancomicina (MIC en el rango 4-8 mg/ml) y este tipo de cepas han sido aisladas posteriormente en otros lugares geográficos (Estados Unidos, Europa, Hong Kong, Corea y España). Estas cepas se denominaron VISA (vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*). Muchas de las cepas VISA presentan también sensibilidad disminuida o resistencia a la teicoplanina, por lo que hoy día suele utilizarse el término de GISA (glycopeptide intermediate *Staphylococcus aureus*).



Las cepas GISA se aíslan con una frecuencia muy baja y más aun después de un tratamiento prolongado con glucopéptidos. Se han observado dos tipos de expresión de la resistencia a glucopéptidos en *Staphylococcus*: a) expresión homogénea (MIC a vancomicina 8-16 mg/ml), y b) expresión heterogénea (MIC 1-4 mg/ml). Con los puntos de corte establecidos para la detección de la resistencia algunas de estas cepas quedarían clasificadas como sensibles a glucopéptidos y, a lo sumo, como intermedias a vancomicina y a teicoplanina. Las cepas hetero-GISA son más frecuentes que las que poseen una expresión homogénea. (20)

**Mupirocina:** Se pueden distinguir 2 fenotipos de resistencia: 1) resistencia de bajo nivel (CMI 8–256 mg/ml) producida por mutaciones en el gen nativo *ileS*; 2) resistencia de alto nivel (CMI  $\geq$ 512 mg/ml) por adquisición de un plásmido que contiene el gen *mupA*. Para la detección de la resistencia a mupirocina con la técnica de disco-placa se utilizan discos de 5 mg (sensible halo  $\geq$ 14mm; resistente halo <14mm). La utilización de discos de 20 mg permite diferenciar de un modo bastante fiable las cepas sensibles (halo  $\geq$ 17mm) de las que presentan resistencia de bajo nivel (halo 6–16mm) y de las que presentan resistencia de alto nivel (halo 0mm). La utilización de discos de 200 mg no permite diferenciar entre cepas sensibles o con resistencia de bajo nivel. (20)

**Tetraciclina.** La resistencia a tetraciclina y doxiciclina en *Staphylococcus* es bastante frecuente y puede ser debida a 2 mecanismos: aumento de la expulsión activa y protección del ribosoma. El primer mecanismo está codificado por los genes *tetK* y *tetL* y el segundo por los genes *tetM* y *tetO*. La resistencia mediada por *tetK* afecta solo a la tetraciclina, mientras que la mediada por *tetM* implica resistencia cruzada a tetraciclina, doxiciclina y minociclina, por lo que la resistencia a tetraciclina no siempre implica resistencia a otras tetraciclinas y no se puede utilizar como marcador de resistencia a todo el grupo.(20)

### **Métodos para la detección de resistencia a la meticilina**

El método de referencia para detectar resistencia a meticilina, es el antibiograma, según las normas CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), en agar Mueller-Hinton (difusión disco-placa) con una suspensión de colonias equivalente a 0,5 de McFarland. Se incuba a 33-35 °C durante 16-18 horas, y 24 horas para oxacilina, meticilina, nafcilina y vancomicina. Se considera que *S. aureus* es sensible a la oxacilina cuando el halo de inhibición es mayor de 13 mm para un disco de oxacilina de 1 µg. (20)





El disco de cefoxitina sirve de marcador de susceptibilidad a oxacilina (y a meticilina), sus halos de inhibición se relacionan con la presencia o ausencia del gen *mecA* mejor que con otros métodos, no está influenciado decisivamente por variaciones de inóculo, temperatura o medios de cultivo utilizados y sus resultados no parecen estar afectados, en la misma extensión que los discos de oxacilina, por la hiperproducción de penicilinasas, que da lugar a pequeños halos de inhibición. (16)

Existe una prueba rápida de aglutinación de partículas de látex que permite la detección de SARM poniendo de manifiesto la PBP2a. Las partículas de látex sensibilizadas con un anticuerpo monoclonal dirigido contra PBP2a reaccionan después de una extracción específica de la PBP2a presente en los SARM dando una aglutinación visible a simple vista. Es un test simple, barato y rápido. (6,16)

Otros métodos de tipo cromogénico, CHROMagar *S. aureus*, es un medio en el que tras la adición de oxacilina (4 µg/ml) al medio, se inhibe el crecimiento de todos los estafilococos meticilina-sensibles. Las colonias aparecen de color rosa-rojo. Los estafilococos coagulasa negativos resistentes a la meticilina aparecen como colonias de color rosa pálido o crema, distinguiéndose de los SARM. Según estudios realizados su sensibilidad tras 24 horas de incubación es del 95,4%. (12)

El agar ORSAB (Oxacillin Resistance Screening Agar Base) es un medio modificado de MSA (manitol-salt-agar), se le adiciona oxacilina y polimixina B siendo así más selectivo (inhibe el crecimiento de microorganismos). Se ha adicionado azul de anilina como indicador de pH, de este modo las colonias manitol positivas (colonias de *S. aureus*, ya que esta bacteria tiene la capacidad de fermentar el manitol) se ven de color azul. (12)

Diferentes estudios muestran que, para confirmar los SARM, es preferible detectar directamente el gen codificador de la resistencia a meticilina (*mecA*) o bien su producto de expresión (proteína PBP2a). Precisamente, es la detección del gen *mecA* por métodos de amplificación mediante PCR, un método relativamente rápido y eficaz. Es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo. (22)



## **Epidemiología de cepas SARM**

Los pacientes colonizados o infectados constituyen el principal reservorio del SARM en el ámbito hospitalario, especialmente aquellos con estancia prolongada, heridas quirúrgicas o úlceras, etc. El segundo reservorio potencial del SARM lo constituye el personal del Hospital. Sin embargo, la tasa de portadores nasales entre los trabajadores es baja y oscila entre el 2 y 6%. El tercer reservorio nosocomial del SARM es el ambiente inanimado, se ha aislado en la mayoría de las superficies y objetos de la habitación de los pacientes colonizados o infectados por él. (1, 7,8)

En algunos estudios se ha observado que la prevalencia de cepas de SARM varía de unos países a otros. A pesar de que la situación en una determinada zona puede no representar la realidad global. Los primeros brotes nosocomiales de SARM en Europa se describieron en Gran Bretaña a mediados de los años 60. A partir de entonces numerosos hospitales del Reino Unido y de Europa continental informaron de brotes epidémicos por SARM. Sin embargo, la prevalencia de SARM ha sido diferente en las distintas áreas geográficas. Según un estudio realizado en 1990 con cepas procedentes de 43 hospitales europeos de tercer nivel, la prevalencia global del SARM fue del 12.8% y mayor del 30% en España, Francia e Italia. (10, 22)

En las última tres décadas el SARM se ha extendido progresivamente por todo el mundo, como demuestran las altas tasas de prevalencia descritas en numerosos países de Asia, África y América. La prevalencia en México se ha elevado, en el 2004 se encontró el 41.3% de resistencia a meticilina en los aislados nosocomiales. (22)

Albrich y Harbarth, revisaron la literatura de Enero de 1980 a Marzo del 2006 donde recopilaron datos de 127 investigaciones, alrededor del 5%(1,545) de los trabajadores de la salud fueron colonizados con SARM de 33,318 examinados. Sobre la base de la evidencia publicada, los trabajadores de la salud tienden a ser importantes en la transmisión de MRSA, con mayor frecuencia en calidad de vectores y no como las principales fuentes de transmisión de SARM. (27)



## MATERIAL Y MÉTODO

**Tipo de estudio:** Descriptivo de corte transversal

**Área de estudio:** El Hospital Materno-Infantil Dr. Fernando Vélez Paíz está ubicado Km 6 ½ carretera Sur, Managua. Consta de 433 trabajadores en el día. Cuenta con las siguientes servicios: Gastroenterología y Misceláneo, Neumología, Infectología, UCIP, Neonatología, Cirugía Plástica, Ortopedia, Quemados, Maternidad, Labor y Parto, Sala de Operaciones, Laboratorio Clínico, Radiología, Emergencia de Niño, Emergencia de Adulto, Farmacia, Nutrición, cocina, personal de oficio y personal Administrativo.

**Población:** Todos los trabajadores de la Salud del Hospital.

**Periodo de estudio:** Julio- Agosto 2010

**Criterios de exclusión:**

- ✓ Todo aquel trabajador de la salud que no acepte participar en el estudio.

**Criterios de inclusión:**

- ✓ Todo aquel trabajador de la Salud que labore en este centro asistencial.
- ✓ Todo aquel que acepte ser participante en el estudio, firmando el consentimiento informado.

**Fuente de Información:** primaria

**Toma y procesamiento de la muestra:** A través de un hisopo estéril, se extrajo muestras de ambas fosas nasales y se colocó en el medio de transporte Amies, marca Health Link. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Campus Médico, UNAN-León para su respectivo procesamiento.

**Identificación y cultivo:** Las muestras nasales se cultivaron en el medio agar ORSAB (*oxacillin resistance screenin agar Base*) marca OXOID Selective Supplement SRO195E, se incubaron de 24- 48 horas a 37 °C y se consideró positivo el crecimiento de colonias azul característicos. Luego las colonias positivas, se cultivaron en Agar Sangre, por 24 horas a 37° C. Al obtener colonias características de *Staphylococcus aureus* se les realizó test de coagulasa en tubo, DNAsa y la coloración de Gram.



**Perfil de susceptibilidad antimicrobiana:** A las cepas identificadas como SARM se les realizó la técnica de difusión en disco Kirby Bauer, utilizando los siguientes antimicrobianos: Eritromicina (15µg), Oxacilina (1 µg), Clindamicina (2 µg), Vancomicina (30 µg), Trimetoprim Sulfametoxazol (25 µg) Gentamicina (10 µg). La lectura del tamaño del halo y determinación de sensible o resistente se realizó utilizando las recomendaciones de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

### **Confirmación del gen mecA a través de PCR:**

**Extracción del ADN:** Se realizó a partir de un cultivo de la cepa, proveniente de una placa de cultivo en agar sangre con 24 horas de incubación a 37°C. Se resuspendió en tubos eppendorf, 2 a 3 colonias de la bacteria en 120 µl de agua Sigma. Se sometió a ebullición durante 10 min, las muestras se dejaron en hielo por 5 minutos y luego se centrifugó a 5 min a 8000 rpm, se recuperó el sobrenadante en tubos eppendorf estériles. Se utilizó 2 µl de sobrenadante como ADN molde para la reacción de PCR.

**Amplificación del ADN:** Para el PCR se utilizaron beads Illustra pure Tag Ready-To - Go PCR, los cuales contenían una mezcla de Tris- HCl 10 mM, (pH 9.0), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, dNTPs 200 uM y de Taq ADN polimerasa 2.5 u. Se realizó un mix de primers mecA<sub>1</sub> 1 ul, mecA<sub>2</sub> 1 ul, nuc<sub>1</sub> 1 ul, nuc<sub>2</sub> 1 ul y ADN molde 2 ul, correspondiendo a un volumen final de componentes de la reacción de 25 ul. Los primers utilizados fueron: mecA 1= 5'- GCA ATC GCT AAA GAA CTA AG- 3' mecA 2= 5'- GGG ACC AAC ATA ACC TAA TA- 3' y nuc1: 5'-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT-3', nuc2: 5' AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC-3'. (Thermo scientific) que permitieron obtener segmentos de 222 y 281 pb respectivamente. La amplificación se realizó con un termociclador Mastercycler personal (Eppendorf Germany) según el siguiente esquema: desnaturalización a 95 °C por 7 min, seguido de 30 ciclos a 95 °C por 10 seg, 58° C por 20 seg y a 72 °C por 2 min, luego una extensión final a 72 °C por 5 min. (30)

**Visualización de los productos:** Los productos amplificados fueron analizados por electroforesis empleando geles de Agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, corridos a 100 V durante 45 min. El tamaño del amplicón fue comparado con ADN de 100 pb (Marcador Molecular). Las bandas de ADN fueron visualizadas utilizando un transluminador UV y fotografiadas posteriormente.



**Control de calidad:** Para la implementación de la técnica y como controles positivos y negativos, se emplearon las cepas SaCCUG35601 y ATCC 25923 respectivamente.

### **Consideraciones Éticas**

**Consentimiento Informado:** Se le solicitó permiso de manera verbal y escrita al Director del Hospital, para acceder al personal de la unidad asistencial, luego se explicó brevemente a cada participante los objetivos y justificación del estudio, para luego firmar el consentimiento escrito y la ficha, a partir de la cual se le entregó un resultado escrito. El trabajo fue aprobado por el Comité de Ética para investigaciones biomédicas (CEIB) de la UNAN-León

**Plan de Análisis:** El análisis de los datos se realizó en SPSS versión 15.3. Se utilizó porcentajes y promedios de acuerdo con el nivel de medición de las variables sociodemográficas, microbiológicas y moleculares.



### OPERALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables	Concepto	Indicador	Escala de Valores
Perfil de resistencia antimicrobiana	Método empleado en bacteriología para reconocer la sensibilidad in Vitro de un germen, frente a diferentes antibióticos y que orienta acerca del antibiótico más adecuado para tratar una enfermedad infecciosa	Lectura del halo de inhibición de los sensidiscos (en milímetro)	Resistente Eritromicina ≤ 13 Clindamicina ≤ 14 Oxacilina ≤ 10 Gentamicina ≤ 12 Vancomicina ≤ 17 Trimetoprim ≤ 10 Sulfametoxazol Cefoxitin ≤ 19
Resistencia a Meticilina	Capacidad de una cepa S. aureus de resistir a la acción de la meticilina a través de un mecanismo de resistencia molecular.	Gen mecA	Positivo  Negativo
Procedencia del Trabajador de la Salud	Servicio Hospitalario donde labora.	Ficha de información	Gastroenterología y Misceláneo Neumología Infectología UCIP Neonatología Ortopedia Cirugía Plástica Quemados Maternidad Laboratorio clínico Rayos x Farmacia Sala de Operaciones Otros servicios.
Años de Servicio	Tiempo de laborar en una institución	Ficha de Información	Años



## **RESULTADOS**

Durante el periodo de estudio, participaron un total de 206 trabajadores, que representan el 47% de todo el personal de Salud que labora durante el día (turnos de 7 am – 3 pm) en el Hospital Fernando Vélez Paíz, el 74% fueron mujeres y 26% varones. De los participantes, 38% pertenecen al personal médico, 30% al personal de enfermería, 5% al personal de Laboratorio, 4% de servicios generales (personal de limpieza, seguridad y mantenimiento) y 19% otros (farmacia, radiología, cocina y administrativo). La mayoría de los participantes tienen más de 10 años de laborar en esta institución.

<b>Tabla 1. Datos Generales de los participantes bajo estudio</b>			
<b>Variables</b>		<b>Número de Participantes</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>EDAD</b>	< 30	41	20
	30 – 50	128	62
	> 50	37	18
<b>SEXO</b>	Femenino	153	74
	Masculino	53	26
<b>OCUPACIÓN</b>	Personal Médico	79	38
	Personal de Enfermería	62	30
	Técnicos Quirúrgicos	7	3
	Personal de Laboratorio	10	5
	Servicios generales	8	4
	Otros	39	19
<b>TIEMPO DE LABORAR EN EL HOSPITAL (años)</b>	0 – 5	76	37
	6 – 10	23	11
	> 10	107	52



La distribución de los participantes según servicio hospitalario se detalla en el Tabla 2.

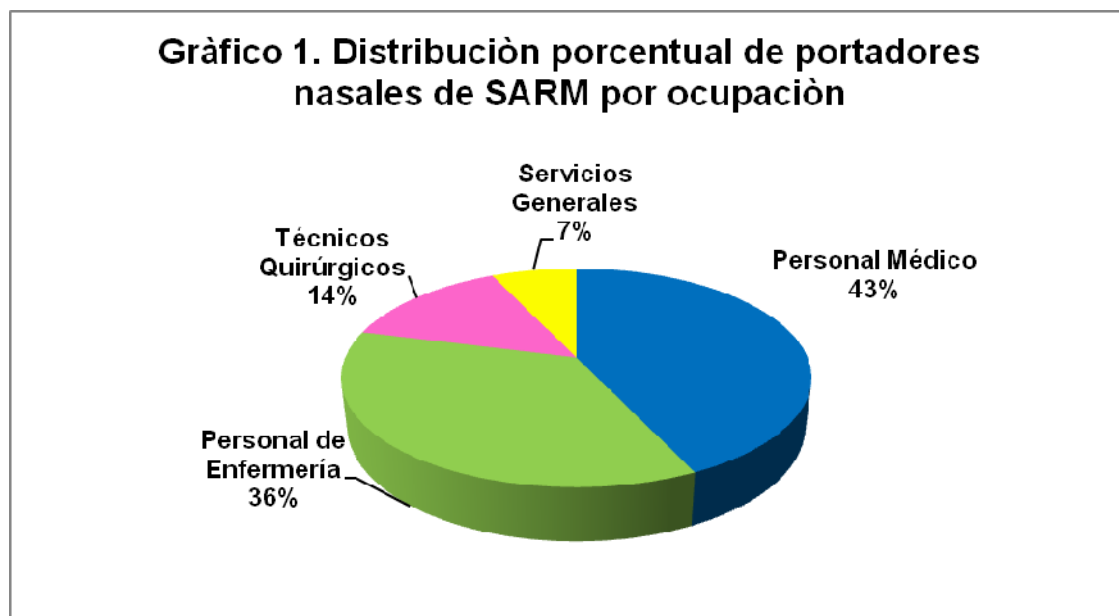
<b>Tabla 2. Distribución de Portadores nasales de SARM por servicio Hospitalario (n= 14)</b>			
<b>SERVICIO</b>	<b>Número de Participantes</b>	<b>SARM positivos</b>	<b>Porcentaje de SARM</b>
<b>S. Operaciones</b>	<b>21</b>	<b>5</b>	<b>35,7</b>
<b>Labor y Parto</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>14,3</b>
<b>Infectología</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>7,1</b>
<b>Maternidad</b>	<b>22</b>	<b>3</b>	<b>21,4</b>
<b>Emergencia</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>14,3</b>
<b>Servicios Generales</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>7,1</b>
Gastro y Misceláneo	14	0	0
Farmacia	11	0	0
Radiología	7	0	0
Lab.Clínico	10	0	0
Nutrición y Cocina	9	0	0
Administrativos	16	0	0
Neumología	10	0	0
UCIP	7	0	0
Neonatología	19	0	0
Ortopedia	11	0	0
C.Plástica y Quemados	5	0	0



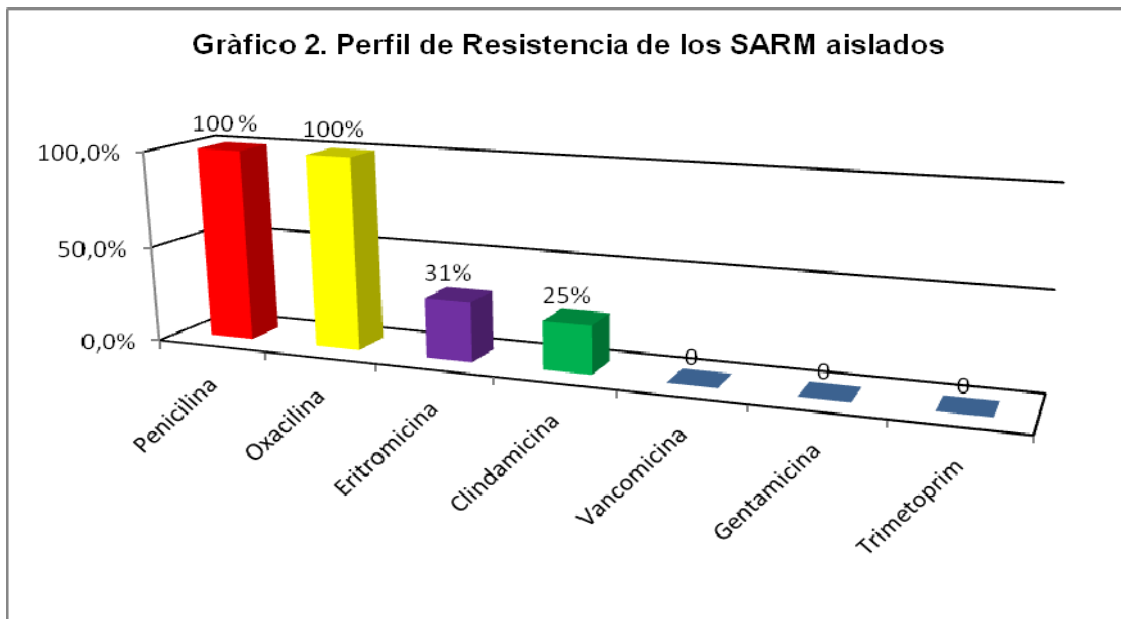


La frecuencia de portadores nasal de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en el período de estudio fue de 7%. La mayor prevalencia de portadores nasales de SARM se presentó en el personal del servicio de Sala de Operaciones, seguido de la Sala de Maternidad, Labor y Parto, Emergencia Infectología, Servicios Generales.

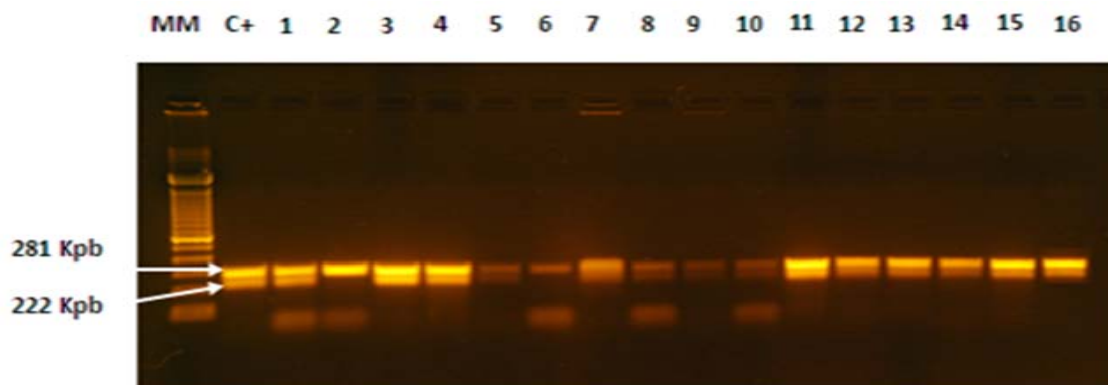
En relación a la responsabilidad en el equipo de trabajo, el que presentó un mayor porcentaje de colonizados por SARM fueron los técnicos quirúrgicos con un 29%. El participante de los servicios generales, pertenece al personal de aseo, que en el momento de la toma de muestra estaba asignado en la sala de operaciones. (Gráfico 1).



El perfil de Resistencia de los SARM identificados se describe en el gráfico 2, donde se observa que de las 16 cepas, el 100 % son resistentes a Penicilina, 100% a oxacilina, 31% a Eritromicina, 25% a Clindamicina. No se encontró ninguna cepa resistente a vancomicina, a trimetoprim sulfametoxazol y a gentamicina.



De las 16 cepas SARM, 14 fueron confirmadas como portadoras del gen *mecA*. Las 2 cepas resistentes a Oxacilina que no evidenciaron presencia del gen *mecA*, manifestaron un perfil de resistencia al antibiograma compatible con la hiperproducción de  $\beta$ -lactamasas. Este tipo de resistencia se caracteriza porque las cepas son resistentes a oxacilina y susceptible a una asociación de  $\beta$ -lactámicos/Inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, cuya resistencia está mediada por el gen *blaZ*.



**Amplificación del gen *mecA* por PCR. MM: Marcador Molecular de 100 pb ADN, C+: Control Positivo CCUG355601. Carril 2 y 6: Cepas gen *mecA* negativo. 1, 3-5, 7-16: Cepas gen *mecA* positivo.**



## **ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS**

Las infecciones causadas por *S. aureus* resistentes a meticilina constituyen una causa significativa de morbimortalidad a nivel mundial. (1, 2, 3, 6, 7, 13, 17,22). Por ello el tratamiento adecuado y oportuno de las mismas, tendrá un impacto importante en los índices de salud. Se ha establecido que un factor de riesgo para el desarrollo de estas infecciones, es la portación nasal, siendo el mejor indicador de diseminación del agente, tanto en pacientes como en personal de salud. La Tasa de portación nasal varía de un país a otro, reportándose rangos de 0 a 59%, según un estudio realizado por Albrich y Harbarth, donde recopilaron los resultados de 127 investigaciones referentes a portadores de SARM en trabajadores de la salud. (27)

Las prevalencias reportadas en portadores nasales en el personal de salud en hospitales es de 4.6 a 5.1% según Albrich y Harbarth (27). La frecuencia de portadores nasales de SARM en el personal de salud del Hospital Materno-Infantil Fernando Vélez Paíz fue de 7%, la cual se encuentra ligeramente por encima de los valores informados. En estudios realizados en el Hospital de León, Nicaragua, HEODRA, se han reportado para el personal del servicio de Pediatría 14% en el año 2004 y para personal de todos los servicios se reportó recientemente una frecuencia de portadores de SARM de 10%, donde la mayoría pertenecen al servicio de Pediatría seguido por el de Cirugía y Ortopedia. En el año 2008 en el Hospital Namazi, Iran y Hospital Corpus Christi, EEUU se encontraron prevalencias de 5.3% y 12% de portación nasal, respectivamente. En el año 2007, el Hospital Complex de Pakistán reportó una frecuencia del 14%. En Perú, la prevalencia de SARM en el Hospital Nacional 2 de Mayo, fue del 7.3%. A pesar de las condiciones higiénicas - sanitarias que prestan los servicios de salud nacionales, los valores que se reflejan son similares a países con un sistema de salud más avanzado.

En este estudio, la portación nasal de *S. aureus* resistente a meticilina según servicio hospitalario, y ocupación, señala que el mayor porcentaje de portadores, se encuentran en el servicio de sala de operaciones. Este resulta alarmante, ya que es el personal que entra en contacto directo e indirecto con los pacientes, mediante procedimientos invasivos, lavados quirúrgicos, heridas operatorias, etc. que realizan en la sala. Se sabe que las infecciones por SARM son fácilmente transmisibles, colonizando materiales plásticos u otros, que son utilizados en la fabricación de válvulas, implantes, prótesis, catéteres.



En el caso de un paciente sano, la infección de una herida operatoria se puede combatir de una manera más eficaz pero en el caso de pacientes inmunocomprometidos se dificulta la recuperación de una infección por SARM.

Cabe señalar que los otros servicios hospitalarios no están exonerados a este patógeno, donde se encuentran pacientes de alto riesgo como en UCI, neonatología, sala de Quemados, entre otros. Un estudio realizado por Mean, Andrini y Debillon en el Hospital universitario de Francia en el 2007, informa de una investigación de brotes por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y la colonización de 17 recién nacidos en la unidad neonatal. Un especialista neonatólogo colonizado con SARM que eventualmente se convirtió en resistente a mupirocina fue implicado como fuente recurrente de transmisión de SARM a los recién nacidos. Demostrando así el impacto que tiene la detección de portadores nasales entre el personal de Salud en los diferentes servicios de atención hospitalaria. (28)

Los antibióticos promueven la aparición de bacterias multirresistentes que pueden diseminarse en los centros hospitalarios. Para definir y enfrentar la resistencia de SARM deben conocerse los mecanismos de resistencia, complementando la experiencia clínica y los datos obtenidos en el laboratorio clínico. El método de Kirby bauer, es de gran utilidad para detectar otros mecanismos de resistencia, además es de bajo costo, da resultados en menor tiempo y un importante número de hospitales cuenta con el personal capacitado para su ejecución.

En cuanto al perfil de sensibilidad a los antibióticos, como era de esperarse las 16 cepas estudiadas fueron resistentes a la penicilina y oxacilina. De estas cepas, 14 fueron portadoras del gen *mecA*, que se interpretan como resistencia a todos los Betalactámicos, este tipo de cepas con frecuencia también expresan resistencia a otras familias de antibióticos como las quinolonas y lincosamidas. Las dos cepas restantes no portadoras del gen *mecA*, que por el método de Kirby Bauer fueron resistentes a oxacilina, no son verdaderamente resistentes a todos los betalactámicos, este mecanismo de resistencia es debido a la Hiperproducción de Betalactamasas estafilocócica o alteraciones en las PBP de *s.aureus*. En este caso se pueden utilizar para uso terapéutico combinaciones de inhibidores de la Betalactamasas, como amoxicilina más ácido clavulánico, entre otros.



En la actualidad, la mayor parte de las cepas SARM se han hecho progresivamente resistentes a muchos antibióticos o han disminuido su sensibilidad a otros como los aminoglucósidos y glucopeptidos. En el estudio no se encontraron cepas resistentes a gentamicina, al contrario de otros trabajos reportados por Sanabria et al en Paraguay 2001, Mamani y col Perú 2003 Callisaya y col de Bolivia 2007, que muestran porcentajes de resistencia del 2 al 69% para aminoglucósidos.

La vancomicina se considera como el mejor antimicrobiano disponible para el tratamiento de infecciones por SARM, pero recientemente se ha reportado casos de cepas con resistencia intermedia a este fármaco por parte del *s.aureus*, que afortunadamente no se detectaron en este trabajo y corresponde a lo reportado a nivel local y mundial.

De igual manera no hubo resistencia a Trimetoprim sulfametoxazol coincidiendo con otros estudios, que muestran 80 a 90% de sensibilidad a este antibiótico. En un ensayo prospectivo realizado por Goldberg y col. sugieren que este puede ofrecer una atractiva opción terapéutica adicional para infecciones por SARM, con la misma eficacia de la vancomicina. (29)

Es importante señalar que el método Kirby Bauer utilizado para definir el perfil de resistencia antimicrobiana de los SARM aislados nos permitió evidenciar la resistencia a MLS (Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas), el 31% mostró resistencia a Eritromicina y el 25% fueron resistentes a Clindamicina. La presencia de genes *erm* generalmente confiere un fenotipo de resistencia que puede ser de expresión constitutiva o inducible. En las cepas con este fenotipo, la Eritromicina induce la expresión del mecanismo de resistencia. Por ello, si se estudia la sensibilidad de estas cepas a Macrólidos, Clindamicina y Estreptograminas del grupo B en ausencia de Eritromicina, se manifestarán como sensibles a estos antibióticos, pero deben informarse como resistentes, ya que poseen el mecanismo de resistencia que se puede inducir in vivo y conducir a fracasos terapéuticos, como se ha demostrado con la utilización de Clindamicina en cepas con este mecanismo de resistencia. Por ende, es recomendable colocar el disco de Eritromicina frente al de Clindamicina, como uso de rutina en los aislamientos de *S. aureus*. (20,26)



Para predecir la resistencia a metilicina mediada por el gen *mecA* en *S. aureus*, CLSI, recomienda el uso del disco de Cefoxitin (30 $\mu$ g), que es un inductor más potente que las penicilinas, mejorando la expresión del gen y permitiendo detectar mejor esta resistencia, especialmente en cepas heterorresistentes. Los resultados de este estudio, utilizando el disco de Cefoxitin, coinciden con los obtenidos utilizando la técnica molecular PCR, que es de alta sensibilidad y especificidad para detección del gen *mecA*. Proporcionando una evidencia de que el disco de cefoxitin puede utilizarse como un marcador en las pruebas de susceptibilidad en la rutina y una alternativa ante la demanda de la técnica de PCR. (8, 14,21)

Otro aspecto importante, es el tratamiento de los portadores de áreas críticas o de alto riesgo, con la aplicación de mupirocina endonasal (2-3 veces al día por 5 días). La eliminación de la portación como medida de control deberá ser analizada por el comité de infecciones nosocomiales, tomando en cuenta que en otros países, el uso indiscriminado de este antibiótico, ha promovido su resistencia, limitando aún más las posibles terapias para erradicación de los SARM (2, 3, 12, 22, 27)

Por tanto la importancia de mantener una vigilancia activa del cumplimiento de las normas de higiene entre las que se destaca el lavado de manos, que ha probado ser la medida más importante en el control de las infecciones nosocomiales y particularmente en el caso de hospitales donde circulan cepas de *S. aureus* portadores del gen *mecA*, esta medida es importante en el control de la diseminación desde el personal de salud colonizado hacia los enfermos y hacia otros colegas.



### **CONCLUSIONES**

La frecuencia de SARM en el personal del Hospital Vélez Paíz fue de 7%. Todos portadores del gen *mecA*. La mayoría del personal de Salud colonizados por SARM pertenecen al servicio de Sala de Operaciones. Las cepas SARM fueron 100% resistentes a Penicilina, y oxacilina, 31% a Eritromicina, 25% a Clindamicina. No se encontró ninguna cepa resistente a vancomicina, trimetoprim sulfametoxazol y gentamicina.



### **RECOMENDACIONES**

- Realizar esfuerzos para que estudios como este se realicen en otros hospitales, y establecer una vigilancia activa para un manejo adecuado de infecciones nosocomiales por SARM.
- Dar a conocer a las autoridades correspondientes la importancia que tienen las buenas prácticas de higiene de las manos, que son esenciales para controlar la propagación del SARM. Y así puedan implementarla como medida de control en todas las áreas del hospital.





## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Muñoz A. la infección nosocomial y los trabajadores de la salud portadores de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Revista Semilla.2008; 10:1-4.
- 2) Mendoza C, Barrientos C, Panizza V, Concha B, Romero P, Barahona C, et al. Prevención de la infección intrahospitalaria por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante el manejo de portadores. Rev Chil Infec.2000; 17(2):129-134.
- 3) Montalvo R, Huaroto L, Alvarezcano J, Ticona E, García Y. Prevalencia de portadores nasales por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en personal de salud del servicio de cuidados intensivos hospital Nacional dos de Mayo. Rev. Perú. epidemiol. 2009.13 (2):1 de 5
- 4) Callisaya J, Sarmiento Z, Choque H. Prevalencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* en el personal de limpieza del Hospital Obrero. BIOFARBO. 2007.15: 55-60.
- 5) Sanabria R, Laspina F, Balmaceda Ma, Samudio M, Fariña N, Acosta A, et al. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en personal hospitalario. frecuencia y patrón de sensibilidad antimicrobiana. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS). Paraguay. 2001
- 6) Ulloa M, Porte L, Carmi A, Varela C, Fica A. Comparación de reacción de polimerasa en cadena, látex y antibiograma para detección de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente. Rev. Chil infectol. 2001.18 (4).
- 7) Velázquez M. Surgimiento y Diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Salud Pública México. 2005; 47:381-387.
- 8) Coyle Marie B. Organización Panamericana de la Salud. CLSI: manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. cap.VIII organismos Gram positivos: estafilococos. Atlanta, Georgia,USA.2002
- 9) Castañeda M. Determinación de portadores nasales asintomáticos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) en el personal que labora en el departamento de cirugía, en los servicios de cirugía de hombres y mujeres, cocina y limpieza del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt. Tesis especialista en Química y Biología. Universidad San Carlos, Guatemala. 2004.
- 10)Lara Ma. Eugenia. Patrón de resistencia antimicrobiana de por *Staphylococcus aureus* en el HEODRA, León. Tesis especialista en Pediatría. UNAN-LEON. 2003



- 11) Álvarez E, Velazco E, Nieves B, Vivas G, Gutiérrez B. Detección de portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina en una unidad de alto riesgo neonatal. Revista de la Facultad de Farmacia. 2005.47 (2): 16-21.Venezuela.
- 12)García S, Acevedo C, Bennani A. Técnicas para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina en el laboratorio de microbiología clínica. Asoc. Española de Farmacéuticos analistas. España. 2005
- 13)Mamani E, Lujan D, Pajuelo G. Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*. experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. Perú. An Fac Med Lima 2006; 67(2) Págs. 120-124.
- 14) Anand K, Agrawal P, Kumar S, Kapila K. Comparison of Cefoxitin disc diffusion test, oxacillin screen agar, and PCR for *mecA* gene for detection of MRSA. Indian Journal of Medical Microbiology. 2009. 27 (1): 27-29
- 15) Gomes C, Rosa M, Superti S, et al: Use of a novel selective medium to detect methicillin-resistant *staphylococcus aureus* in colonized patients of an intensive care unit. Infection Control and Hospital Epidemiology. Volumen 25. Nº 2. 130-132. 2004. Brasil. 2004.
- 16)Becerra G, Plascencia A, Luévanos A, Domínguez M, Hernández I: Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. ENF INF MICROBIOL 2009 29 (2): 70-76
- 17)Echevarría J, Iglesias D: Estafilococo Metilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. Rev Med Heredia2003, Perú. 2005.
- 18)Safdar N, Bradley E: Risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. The American Journal of Medicine Vol 121(4). 2008.
- 19) Montoya I, Mira M, Torres J, Álvarez I, et al. Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* metilino resistente. Rev Chil Pediatr. Chile. 2009; 80 (1): 48-53.
- 20)Torres C, Cercenado E: Lectura interpretada del antibiograma de cocos Gram positivos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010. doi:10.1016/j.eimc.2010.0
- 21)Soloaga R, Corso A, Galletti P, Faccone D, et al: Detección de metilino- resistencia en *Staphylococcus aureus*: comparación de métodos convencionales y aglutinación con *mrsa*-screen látex. Revista Argentina de Microbiología (2004) 36: 36-40.



- 22) Rodríguez J, Bischofbergerb C, Álvarez F, Delgadoe T, et al. Vigilancia y control de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en hospitales españoles. Documento de consenso GEIH-SEIMC y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin. España.* 2008; 26(5):285-298.
- 23) Ibarra M, Flatt T, Van Maele D, Ahmed A, Fergie J, Purcell K. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers. Corpus Christi, Texas, EEUU. 2008
- 24) Askariana M, Zeinalzadeha A, Japonilo A, Alborzie A, Memishd Z. Prevalence of nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ando its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz Iran. Volume (5) 241-247. 2009
- 25) Farzana K, Rashid Z, Akhtar N. Nasal carriage of staphylococci in health care workers: antimicrobial susceptibility profile. *pak. j. pharm. sci.,* vol.21, no.3, July 2008, pp.290-294. Pakistan
- 26) Montoya I, Mira M, Álvarez I, Cofré J, Cohen J, Donoso G, Torres J. Resistencia inducible a Clindamicina en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. *rev Chil Pediatr* 2009; 80 (1): 48-53
- 27) Albrich W, Harbarth S: Health care workers: source, vector or victim of MRSA? *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 289-301.
- 28) Mean M, Mallaret R, Andrini P, Recule C, Debillon T, et al: A neonatal Specialist with recurrent Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage implicated in the transmission of MRSA to newborns. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 28 (5). 2007. Francia.
- 29) Goldberg E, Paul M, Talker O, Samra Z, et al: Co-trimoxazole versus vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a retrospective cohort study. *antimicrob Chemother.* 2010 Aug; 65(8):1779-83. Epub 2010 May 27. Israel.
- 30) Smyth R, Kahlmeter G, Olsson B, Hoffmant B: Methods for identifying methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection* (2001) 48: 103-107. Solna, Suecia.



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León

Carrera de Bioanálisis Clínico



# Anexos



### **Consentimiento Informado**

La bacteria llamada Staphylococcus aureus, es responsable de una amplia gama de enfermedades, tales como lesiones y abscesos de la piel, infecciones del sistema nervioso central, infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis, también causa infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones intrahospitalarias.

Se encuentra generalmente en las fosas nasales tanto en niños como en adultos y en ocasiones en la piel o en la ropa, y de estos sitios puede transmitirse a otras regiones del cuerpo, sin embargo el nivel de portación del Personal hospitalario es mayor que en la población en general.

A través de la presente le informamos el objetivo principal del estudio: Determinar la frecuencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus resistentes a la meticilina (SARM) en el personal de Salud del Hospital Dr. Fernando Vélez Paíz. Para esto, se tomará la muestra, introduciendo un hisopo estéril, rotándolo en las paredes de las fosas nasales. Esto no provocará ningún daño o riesgo al trabajador de la salud. Para completar el estudio, también tendrá que llenar la hoja anexa a este consentimiento.

#### **Derechos del paciente:**

- 1- Recibir información clara de su participación en el estudio antes de obtener el consentimiento por escrito.
- 2-Negar su participación en el estudio o salirse del mismo.
- 3- Que se resguarde la privacidad de información que el investigador obtenga.

**Fuente de financiamiento:** Centro de Enfermedades Infecciosas (CEI)- UNAN-León-ASDI

Por cuanto: Yo \_\_\_\_\_ habiendo sido informado (a) detalladamente de manera verbal y escrita sobre los propósitos, beneficios de la participación en el estudio, sedo mi permiso a participar de manera voluntaria en la investigación a realizar por la institución. Firmo, a los \_\_\_\_\_ días del mes de \_\_\_\_\_ del año 2010

#### **Firma del Participante**

Lyrio Calderón y Alina Esquivel. Egresadas de la carrera de Bioanálisis Clínico. UNAN-León. Para cualquier información: Teléfono 86568312; 83585178



**“Frecuencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en el Personal de Salud del Hospital Materno-Infantil Dr. Fernando Vélez Paíz-Managua”**

**Datos Generales:**

**Marque con una X donde corresponda:**

FICHA # \_\_\_\_\_

Gastroenterología y Misceláneo \_\_\_\_\_

Farmacia \_\_\_\_\_

Neumología \_\_\_\_\_

Sala de Operaciones \_\_\_\_\_

Infectología \_\_\_\_\_

Labor Y Parto \_\_\_\_\_

UCIP \_\_\_\_\_

Radiología \_\_\_\_\_

Neonatología \_\_\_\_\_

Lab. Clínico \_\_\_\_\_

Ortopedia \_\_\_\_\_

Nutrición \_\_\_\_\_

Cirugía Plástica y Quemados \_\_\_\_\_

Personal de Oficio \_\_\_\_\_

Maternidad \_\_\_\_\_

Cocina \_\_\_\_\_

Emergencia \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Sexo: M \_\_ F \_\_

**Participante: Médico\_\_**

**Enfermería\_\_**

**Otros (Especificar) \_\_\_\_\_**

Tiempo de Laborar en la institución: \_\_\_\_\_



**Datos de Laboratorio**

Nombre Completo: \_\_\_\_\_

Número de Muestra: \_\_\_\_\_ Fecha de Toma de Muestra: \_\_\_\_\_

- 1) Cultivo en Agar ORSAB: Positivo\_\_\_\_ Negativo\_\_\_\_
- 2) Crecimiento característico en Agar Sangre: Positivo \_\_\_\_ Negativo\_\_\_\_
- 3) Crecimiento en Agar con Cloruro de Sodio 4%: Positivo \_\_\_\_ Negativo\_\_\_\_
- 4) Prueba de DNASA: Positiva\_\_\_\_ Negativa\_\_\_\_
- 5) Prueba de Coagulasa en tubo: Positiva\_\_\_\_ Negativa\_\_\_\_
- 6) Tinción de Gram: \_\_\_\_\_
- 7) Antibiograma:

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
Oxacilina			
Cefoxitin			
Vancomicina			
Eritromicina			
Clindamicina			
Trimetoprim Sulfametoxazol			
Gentamicina			

- 8) Detección del gen mecA: Presente\_\_\_\_ Ausente\_\_\_\_



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León

Carrera de Bioanálisis Clínico



### Formato de Resultados



Programa de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana  
Departamento de Microbiología, UNAN-León



Institución: Hospital Dr. Fernando Vélez Paíz

Muestra N°: \_\_\_\_\_ Fecha de toma de Muestra: \_\_\_\_\_

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

Servicio: \_\_\_\_\_

#### RESULTADO DE CULTIVO

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)

NEGATIVO

POSITIVO

\_\_\_\_\_  
Responsable