

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA LEON

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CARRERA BIOANÁLISIS CLINICO



Tesis para optar al título de Licenciado en Bioanálisis Clínico.

Frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina su perfil y mecanismos de resistencia en portadores nasales de pacientes y personal de la salud de la unidad de terapia intensiva del Hospital España de la ciudad de Chinandega

AUTOR

Francil Carolina Castillo Dolmus

TUTORA: Dra. Mercedes Cáceres. PhD

Profesor Titular

Departamento de Microbiología

León, Noviembre del 2010.

INDICE

Lista de Abreviaciones	1
Introducción	2
Antecedentes	4
Planteamiento del Problema	6
Justificación	7
Objetivos	8
Marco de Referencia	9
Diseño Metodológico	17
Resultados	22
Discusión	26
Conclusión	29
Recomendaciones	30
Bibliografía	31
Anexos	37

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por su bondad en concedernos la vida y la oportunidad de ayudar al prójimo con nuestros conocimientos, el cual gracias a su voluntad ha querido que se realizara este trabajo.

A nuestra tutora, Dra. Mercedes Cáceres que me sirvió de guía para realizarlo de la manera más eficientemente posible, por dedicarme su valioso tiempo y sus conocimientos para la creación de esta tesis.

A Msc. Oscar Arbizú quien gentilmente me ayudo al procesamiento de las muestras y a todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron para la realización de este trabajo.

Y a todo el personal que labora en la sala de UCI del hospital España, así como a los pacientes que aportaron lo más importante para hacer realidad esta investigación.

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo esta dedicado a mi madre por quien me he inspirado para continuar con mis estudios y sobre todo para culminarlos, al ser un ejemplo de persona fuerte y luchadora contra cualquier adversidad que se presente siempre y cuando se tenga fe y esperanza en la voluntad de nuestro Dios y señor.

RESUMEN

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) es una de las causas principales a nivel mundial de brotes de infección nosocomial; en la transmisión de estas bacterias los portadores nasales, pacientes y personal de salud juegan un rol importante. Con el objetivo de conocer la frecuencia de portadores nasales entre el personal de salud y pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital España de la Ciudad de Chinandega, se realizó un estudio descriptivo de corte transversal durante el período de Marzo-Junio del 2010. A todos los participantes se les tomó hisopado nasal, que fue cultivado en un medio selectivo (ORSAB), la identificación de género y especie se realizó utilizando Tinción de Gram, test de coagulasa y DNAasa. El perfil de resistencia, estudio de fenotipos de resistencia y portación del gen *mecA* de todo el *S. aureus* aislado se realizó utilizando el método de Kirby Bauer. Un total de 86 personas participaron en el estudio de los cuales 45 personas correspondían al personal de salud y 41 pacientes ingresados en la sala, el 15% tanto de pacientes como personal de salud resultaron ser portadores nasales de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) su condición de cepa SARM se confirmó por la portación del gen *mecA*. Otros fenotipos de resistencia se detectaron en 4 cepas que presentaron fenotipos de resistencia de portación de genes *bla_Z*; de ellas 3 fueron consideradas hiperproductoras de betalactamasa, así como también 4 cepas presentaron el gen *MLS_{Bi}* que corresponden a resistencia a macrólidos y lincosamidas inducibles además 3 cepas eran portadoras del gen *MS_B* (Mecanismo de E flujo). Todas las cepas fueron sensibles a Vancomicina. Se concluye que el porcentaje de portadores nasales para UCI del Hospital España es mayor que los reportados para el HEODRA y Velez Paiz.



Abreviaciones utilizadas:

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*.

PCR: Reacción en cadena de Polimerasa.

PBP: Proteína fijadora de penicilina alterada.

PRP: Penicilina resistente a Penicilinasas.

CIM: Concentración Intermedia a Meticilina.

BORSA: *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a la meticilina.

CMB: Concentración mínima bactericida.

B-lactamasa: Betalactamasa

MLS_B: Complejo resistente a macrólidos, lincosamidas, estreptograminas.

MS_B: Complejo resistente a macrólidos por mecanismo de E-flujo.

UFC: Unidad formadora de colonias.

ORSAB: Agar Base para la detección de resistencia a oxacilina.

ARN: Acido ribonucleico.



INTRODUCCION

S. aureus es uno de los patógenos aislado más frecuentemente en el laboratorio de microbiología a partir de muestras clínicas y es la principal especie patógena de su género. Actualmente, su interés se debe a su elevada frecuencia de aislamiento y cepas resistentes a meticilina (SARM), una de las causas principales de brotes de infección nosocomial (1).

Desde su aparición en Inglaterra en 1961, la incidencia de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (SARM) ha ido en constante aumento. Los primeros brotes de infección nosocomial por estas cepas fueron descritos a principios de los años sesenta en distintos hospitales europeos. A partir de entonces, su prevalencia ha ido creciendo, causando un verdadero problema epidemiológico en los hospitales.

Los SARM tienen resistencia a todos los antibióticos B-lactámicos pero además, en general, presentan resistencias a otros grupos de antibióticos a través de diferentes mecanismos de acción. Estos antibióticos son: cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos e incluso, quinolonas (1).

En Estados Unidos se estima en 300.000 el número de personas que contraen anualmente una infección por el SARM, durante su estadía en un centro de salud. De acuerdo con los datos del Centro de Control de Enfermedades (CDC), el número de muertos asciende a unos 12.000 cada año.

Importantes cambios en las características epidemiológicas y microbiológicas de las infecciones por *estafilococo aureus*, incluyen el continuo incremento en la prevalencia de *estafilococo aureus meticilino resistente nosocomial* (asociado a pacientes hospitalizados), y la emergencia de *estafilococo aureus meticilino resistente adquirido en la comunidad*.



Esta bacteria continua siendo una materia compleja, se ha reinventado extraordinariamente por ella misma y continua a la cabeza de los avances terapéuticos. Primero *S. aureus* deja a la penicilina a un lado, ahora la meticilina y la cefalosporina se han convertido en antibióticos impotentes (2).

El estado de portador facilita la persistencia de *S. aureus* en el organismo. La localización más frecuente es el vestíbulo nasal, que constituye el reservorio de *S. aureus* en el individuo, y su importancia radica en que con frecuencia precede o se asocia a la colonización y la infección por SARM (3).

El mecanismo más frecuente de resistencia a meticilina se debe a la presencia del gen *mecA* en el cromosoma bacteriano, que codifica la síntesis de una proteína fijadora de penicilina alterada, denominada PBP2a o PBP 2', con baja afinidad por las penicilinas. Las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) que presentan este gen, se caracterizan por su multi-resistencia que, compromete a todos los β -lactámicos y a otros antimicrobianos como tetraciclina, macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos, quinolonas y algunos metales pesados, dejando virtualmente a los glicopéptidos y oxazolidinonas como únicas opciones terapéuticas. (4)

El aumento de la prevalencia de SARM en todo el mundo, junto con la descripción de cepas con sensibilidad disminuida a los glucopéptidos, que en la práctica traduce la pérdida de posibles alternativas terapéuticas, conduce a la necesidad de detectar y controlar este tipo de aislamientos (5).

El descubrir portadores en el personal de la unidad de terapia intensiva, área de la clínica más susceptible a ser contaminada con SARM y de la cual se puede extender a las demás áreas, se convierte en una alternativa más para controlar las tasas de infección por SARM.



ANTECEDENTES

En la década del '40, cuando se introdujeron los antimicrobianos en la práctica clínica, las infecciones estafilocócicas eran tratadas con penicilina. Sin embargo, dos décadas más tarde, alrededor de 60% de las cepas eran ya resistentes a ésta. Por este motivo se desarrollaron penicilinas semisintéticas resistentes a penicilinasas, como meticilina y cloxacilina, las que son activas contra *S. aureus* resistentes a penicilina. (4)

Sólo dos años después de la introducción de la meticilina, en 1961, Jevons y Knox comunicaron poco después el aislamiento en el Reino Unido de las primeras cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina. En la actualidad, la existencia de este tipo de cepas es conocida en todo el mundo, en porcentajes variables (6).

Desde entonces la prevalencia ha ido aumentando; en España se pasó de 1,5% en 1986 a 18% a 23% en 1996. Determinadas áreas hospitalarias consideradas de alto riesgo, sobre todo la unidad de terapia intensiva, son endémicas para la infección por SARM. Velásquez et al., en 2002 reportaron una prevalencia de 90% en la unidad de terapia intensiva, de 78% para cirugía general y especialidades y para los servicios de medicina interna, de 65%. En Alemania, para el año de 1997, era de 8% y, para el 2003, de 30%.

La resistencia a la meticilina incluye resistencia a derivados betalactámicos, pero las cepas SARM presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos: cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos e, incluso, quinolonas, y se describen brotes de SARM sensibles sólo a los glucopéptidos, aunque se han reportado casos de sensibilidad intermedia a la vancomicina (5).



Algunos estudios realizados en población general muestran un aumento de la prevalencia de *S. aureus* con el paso de los años. En primer lugar, Noble y cols, tras seleccionar una población al azar en Holanda, documentaron un 30% de portadores nasales; Karabiber, en Turquía, detecta un 28%; Shuhaibar y cols en Dublín, un 40%; y por último Zanelli y cols, en Italia, un 30.5% (3).

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 del personal médico fueron resistentes a meticilina, este es el primer estudio realizado en Nicaragua e incluyó el estudio de gen *mecA* por PCR para confirmar la resistencia a meticilina (7).

Arbizú O. 2010, reportó un estudio realizado 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. Las muestras fueron tomadas en el año 2008-2009 (8).

Caderón L. y Esquivel A. 2010 realizaron un estudio en el Hospital Velez Paiz para determinar la frecuencia de Portadores nasales de SARM entre el personal de salud de esa institución, obteniendo la participación de 206 trabajadores entre los que se encontró un 7% de portadores nasales de SARM además uno de los trabajadores fue portador nasal de cepas de *S. aureus* hiperproductoras de Betalactamasa (9).



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Staphylococcus aureus resistentes a meticilina es un problema de salud importante en todo el mundo, principalmente a nivel hospitalario son la causa de infecciones nosocomiales, en la transmisión de estas bacterias los portadores nasales, pacientes y personal de salud juegan un rol importante, por esta razón nos **planteamos el siguiente problema:**

¿Cuál es la frecuencia de portadores nasales de SARM entre el personal de salud y los pacientes de la unidad de terapia intensiva del Hospital España de la ciudad de Chinandega?



JUSTIFICACION

Staphylococcus aureus es una de las cuatro causas principales de infecciones hospitalarias, junto con *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Es causa de un amplio rango de infecciones (10).

Además del impacto epidemiológico que produce debido a su amplia y frecuente distribución intra y extra hospitalaria, tiene una compleja y sofisticada patogenicidad que se refleja en elevadas tasas de morbimortalidad (11,7). El interés del estudio de este microorganismo radica, por lo tanto, en su elevada frecuencia, además, en su resistencia a diversos fármacos, entre ellos, la meticilina, por lo que se denominan *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), cepas causantes de brotes de infección hospitalaria (12,7).

El estudio de portadores nasales de SARM es una importante estrategia de control en todos los hospitales. El presente estudio tiene el propósito de determinar la frecuencia de portadores nasales de SARM entre los pacientes y trabajadores de salud (asistenciales y no asistenciales) de la unidad de terapia intensiva del hospital España de la ciudad de Chinandega y en base resultados, fortalecer o implementar medidas de control, para prevenir la aparición de brotes por esta bacteria que actualmente es una de las causas más importante de infecciones hospitalarias.



OBJETIVO GENERAL:

Conocer la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), su perfil y mecanismos de resistencia en portadores nasales pacientes y personal de la salud de la unidad de terapia intensiva del Hospital España de la ciudad de Chinandega.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Conocer la frecuencia de portadores nasales de SARM en el personal de salud y pacientes ingresados en la sala de UCI del hospital España de la ciudad de Chinandega.
2. Determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de los SARM aislados.
3. Determinar fenotipos de resistencia antimicrobiana de SARM.



MARCO DE REFERENCIA

1. Morfología y fisiología:

Los estafilococos son un grupo de bacterias que incluye 44 especies conocidas por el hombre. Pertenecen a la familia Micrococcaceae (cocos Gram positivos, catalasa positiva) que incluye a tres géneros los Micrococcos, Planococcus y *Staphylococcus*, teniendo este último la capacidad de producir ácido a partir de la glucosa en anaerobiosis. Siendo el más representativo de este género *S. aureus*.

Cuando estos se desarrollan en medios sólidos tienen la tendencia agruparse en forma de racimos; esto debido a que presentan una morfología de esferas perfectas. A través del microscopio estos pueden verse como cocos gram positivos.

En cuanto a su metabolismo, este es fermentativo, sin embargo, la presencia de enzimas desdobladoras de peróxidos como la catalasa, le permite desarrollarse en presencia de oxígeno. En anaerobiosis es capaz de utilizar la glucosa y manitol (solo *S.aureus*). No son exigentes nutricionalmente, pudiendo desarrollarse en medios simples como el caldo nutritivo y el agar nutritivo. Se desarrollan a temperaturas entre 10 a 55° C.

Staphylococcus aureus: El cual debe su nombre a la pigmentación dorada que produce durante su desarrollo; siendo denominado estáfilo dorado. En medios sólidos, forma colonias redondas, de bordes netos, de superficie lisa y brillante, convexas, de 1 a 2 mm de diámetro y pigmento característico. En caso de cultivo en agar sangre se observa un halo de hemólisis α producidas por las hemolisinas estafilocócicas (1).



2. PATOGENIA

Los *estafilococos* dan lugar a inflamaciones, necrosis y formación de abscesos con pus por la acción de sus componentes estructurales y la capacidad de producir toxinas y su severidad depende de las características del hospedero.

El *S. aureus* normalmente está en contacto con el huésped y sólo produce enfermedad cuando existe un rompimiento del equilibrio en el hospedero o por la invasión de una cepa extraña. El *S. aureus* produce dos tipos de enfermedades, la de choque tóxico y la invasiva.

La enfermedad invasiva tiene como características la formación de abscesos superficiales purulentos; esto no se observa en personas con buena salud; se presenta en personas debilitadas por otra enfermedad como: desnutrición, procedimientos quirúrgicos y diabetes.

En las infecciones respiratorias agudas existe un problema importante que es el manejo inadecuado que se hace de ellas, especialmente por el uso indiscriminado de antibióticos prescritos por el personal de salud o por la auto prescripción. En pacientes que presentan cuadros de faringitis estreptocócica, se ha planteado que bacterias aerobias y anaerobias productoras de betalactamasas son las que evitan la radicación del estreptococo (1,5).

3. PATOLOGÍA

El *S. aureus* provoca enfermedad a través de las toxinas o por invasión y destrucción de los tejidos. Las manifestaciones clínicas se deben a las toxinas, mientras que otras enfermedades son consecuencia de la proliferación del microorganismo con formación de abscesos y destrucción hística. Algunas veces, los estafilococos se diseminan por una lesión localizada y entran al torrente sanguíneo desde un sitio infectado y se establecen en diferentes tejidos internos distantes, como riñones, cerebro o pulmones (5).



4. EPIDEMIOLOGIA

Existen un gran número de portadores asintomáticos de *S. aureus* que lo albergan en cavidad nasofaríngea y cutánea y que constituyen un problema en la transmisión de la enfermedad. El *S. aureus* empieza colonizar al cuerpo en la etapa neonatal del hombre y lo acompaña durante toda su vida, formando parte de la flora normal del organismo. La colonización de los neonatos por el *S. aureus* empieza por el muñón umbilical, superficie cutánea y área perineal. La colonización en niños mayores y adultos es más frecuente en la parte anterior de la nasofaringe, fosas nasales, membranas de las mucosas y ocasionalmente en el intestino.

El *S. aureus* es muy resistente, sobre vive mucho tiempo en el aire y sobre objetos inanimados y superficies secas, pero la transmisión de persona a persona es la más importante, sobre todo en los hospitales.

El problema principal consiste en como separar un sitio colonizado, como las mucosas, de una infección sistémica (5)

5. MECANISMO DE RESISTENCIA

Resistencia a antibióticos betalactámicos: Se han descrito tres mecanismos que explican la resistencia de *S. aureus* a B-lactámicos: hiperproducción de B-lactamasa, modificación de las PBPs y resistencia intrínseca a meticilina. No se conoce muy bien la significancia clínica de los dos primeros mecanismos, en cambio el último es el más importante y ampliamente estudiado.

❖ ***Hiperproducción de betalactamasa:***

Fue descrita por McDougal (23). Su mecanismo es una hiperproducción de penicilinasa estafilococcica normal, mediada por plasmidios. Estas cepas producen grandes cantidades de enzima, lo que hace que oxacilina y meticilina, que fueron desarrolladas para resistir la acción hidrolítica de la penicilinasa, sean lenta aunque apreciablemente degradables.



Esta resistencia se encuentra avalada por la ausencia de PBP 2 a en su pared celular y por la observación de que la asociación con ácido clavulánico o sulbactam disminuye las CIMs de oxacilina y metilicina en varias veces.

Se cree que la acción de resistencia no es solo debida a una hiperproducción, sino también a una nueva B-lactamasa cuyo gen no se ha identificado aún (24).

Las betalactamasas o penicilinasas son enzimas extracelulares que inactivan la penicilina mediante la hidrólisis de su enlace betalactámico. El determinante genético que codifica su síntesis (gen blaZ) se localiza habitualmente en plásmido, que también suelen conferir resistencia a otros antibióticos. Las betalactamasas de *S. aureus* son inducibles, esto significa que la producción de niveles elevados de esta enzima depende de la presencia de los antibióticos betalactámicos. El mecanismo de inducción se da por la penicilina y sus análogos favorecen la producción de una proteína anti represora que, al inhibir el gen represor de la betalactamasa (gen blaZ), aumenta la síntesis de Penicilinasas (25,26)

❖ **Alteración de Proteínas fijadoras de antibióticos (PBP)**

Descrito por Tomas y colaboradores. Corresponde a una modificación mínima de las PBPs 1, 2 y 4 de peso molecular normal pero con baja afinidad por antibióticos B-lactámicos. Al igual que el mecanismo anterior, la resistencia observada es límite. (27)

Resistencia Intrínseca a la metilicina:

Este tipo de resistencia se debe a la incorporación en el ADN bacteriano de un gen, el mecA. Este gen es un trozo de ADN cromosomal adicional que posee los elementos regulatorios que controlan la transcripción del gen mecA.

Este gen es el responsable de la inducción de la síntesis de una proteína ligadora de penicilina transpeptidasa supernumeraria: PBP 2a capaz de mantener la integridad de la pared celular cuando las enzimas habituales son inhibidas por los antibióticos B-lactámicos. Esta proteína se caracteriza por presentar muy baja



afinidad por meticilina y todos los B-lactámicos. Experiencias experimentales muestran que las cepas sensibles a meticilina carecen de PBP 2a (27).

Se distinguen dos tipos de resistencia intrínseca:

- ❖ **Homogénea:** se caracterizan por que todas las células crecen, incluso a altas concentraciones del fármaco independientemente de las condiciones de incubación.
- ❖ **Heterogénea:** solo unas pocas células expresan la resistencia, mientras que la mayoría de ellas son sensibles a las concentraciones terapéuticas de la meticilina. Las condiciones de incubación entre otros factores pueden modificar la expresión de esta resistencia (28).

La resistencia a meticilina también puede detectarse en dos grupos de cepas de *S.aureus* que no poseen el gen *mecA*, los cuales son los siguientes.

S. aureus con resistencia intermedia a la meticilina o BORSA:

Este tipo de resistencia, descrita en 1986 por McDougal y Thornsberry (29), es debida a la hiperproducción de betalactamasas y afecta en mayor o menor grado a todos los antibióticos betalactámicos. Estas cepas se caracterizan porque tienen unas CIM más elevadas que los aislados que producen el enzima normalmente (penicilina 128 ug/ml, meticilina 4-8 ug/ml, oxacilina 2-4 ug/ml cefalotina 2 ug/ml). Para detectar este tipo de resistencia en el laboratorio, se añade al betalactámico un inhibidor de las betalactamasas, como el ácido clavulánico o el sulbactam, en las cepas hiperproductoras de betalactamasa se produce un descenso de la CIM hasta los valores habituales, mientras que apenas se modifica en las cepas con resistencia intrínseca.

S. aureus con resistencia modificada a la meticilina o MODSA:

En 1988 Sierra-Madero et al describieron unas cepas con resistencia intermedia a la meticilina (CIM de 2-4 ug/ml) que no era debida a la producción de PBP2a, sino a la existencia de PBP normales modificadas (PBP1 y 2 de baja afinidad) y de una mayor concentración de PBP4. Se cree que el determinante genético de este tipo de resistencia ocupa una posición cromosómica diferente al



gen 'mec''. Este mecanismo de resistencia debería distinguirse de otros que causan bajo nivel de resistencia a la meticilina (resistencia intrínseca heterogénea y por hiperproducción de betalactamasa), si bien en una misma cepa puede existir más de un mecanismo. El significado clínico y epidemiológico de estas cepas es poco conocido. Al igual que en los BORSA, el tratamiento con penicilinas resistentes a la betalactamasa o con cefalosporina suele ser efectivo (30-31)

Resistencia a aminoglucósidos:

Los aminoglucósidos actúan interfiriendo la síntesis proteica.

Su mecanismo de acción comprende tres pasos: 1) la unión a la membrana externa no dependiente de energía, 2) el paso a través de la pared bacteriana, dependiente de energía y 3) la unión a las proteínas de la subunidad 30s del ribosoma, donde interfieren la traducción del RNAm y la posterior síntesis proteica.

La resistencia a los aminoglucósidos puede ser debida a tres mecanismos:

- a) Modificación estructural de las proteínas diana ribosómicas, por mutaciones de los genes que las codifican(32)
- b) Alteración de la permeabilidad a los aminoglucósidos por mutaciones que afectan al sistema de transporte dependiente de energía (33).
- c) Modificación enzimática del antibiótico, que es el mecanismo de resistencia habitual de *S. aureus* y los gram negativos a la mayoría de los aminoglucósidos. Se produce durante el transporte del aminoglucósido a través de la membrana citoplasmática de forma que, dependiendo de cada aminoglucósido y de cada enzima, el compuesto resultante no se transporta adecuadamente al interior de la bacteria o no se une al ribosoma (34).

Resistencia a macrólidos, lincosamidas (clindamicina) y estreptograminas.

Los macrólidos, la lincosamidas y las estreptograminas son un grupo de antibióticos alternativos en el tratamiento de las infecciones por *S. aureus*, que forman la familia M-L-S.



La resistencia viene dada principalmente por un mecanismo de metilación, el responsable de este mecanismo de resistencia es una enzima metilasa codificada por el gen *erm*. Se han descrito un gran número de metilasas *erm* asignadas a diferentes clases en función de su identidad genética (35).

Todas estas enzimas metilan el mismo residuo, dando lugar a fenotipo de resistencia conocido como MLSB, característico por generar resistencia cruzada a macrolidos, lincosamidas y estreptograminas de tipo B (36).

Algunas de estas enzimas son de tipo inducible, mecanismo de resistencia que se describió como predominante en la década de los 70, aunque es muy común encontrar resistencias de tipo consecutivo (35).

Resistencia a cloranfenicol: El cloranfenicol es un antibiótico bacteriostático que actúa inhibiendo la transpeptidación en la síntesis proteica, al unirse a la subunidad 50s del ribosoma. La resistencia de *S. aureus* al cloranfenicol es debida a su modificación enzimática por una acetiltransferasa, mediada por plásmidos (6).

Resistencia a tetraciclinas: existen dos mecanismos de resistencia a tetraciclinas.

- 1. Expulsión activa de las tetraciclinas a través de una proteína de membrana.*** (37)
- 2. Protección ribosomal:*** los genes más comúnmente encontrados en microorganismos Gram positivos son *tetM*, *tetO* y *tetQ*. Estos codifican para proteína soluble capaz de unirse al ribosoma, de tal manera que impiden la unión de las tetraciclinas al mismo, probablemente debido a un cambio conformacional en el ribosoma, sin que llegue a afectar la síntesis proteica (38).



Resistencia a sulfamidas y trimetropim:

Las sulfamidas actúan interfiriendo la síntesis del ácido tetrahidrofólico, al ser análogos competitivos del ácido aminobenzoico que es esencial para la síntesis de diversos aminoácidos y nucleótidos. El trimetropin actúa en un paso posterior a las sulfamidas, impidiendo la reducción enzimática de aquel a ácido tetrahidrofólico. La resistencia de *S. aureus* a las sulfamidas es mucho más común que al trimetropin. La asociación de ambos fármacos en forma de trimetoprim-sulfametoxazol resulta sinérgica incluso cuando las cepas son resistentes a las sulfamidas (39)

Resistencia a rifampicina: Esta inhibe la síntesis bacteriana de ARN a través de la unión a la polimerasa del ARN. El mecanismo de resistencia de *S. aureus* a la rifampicina podría depender de la disminución de la afinidad de la polimerasa de ARN al antibiótico a partir de una mutación cromosómica (40).

Resistencia a Vancomicina.

La resistencia a la vancomicina se debe a la adquisición del gen *van*, el cual se transfiere a través de un plásmido. Para que la vancomicina ejerza su acción debe llegar a la membrana citoplásmica y unirse a las moléculas precursoras nacientes de la pared celular. Esta unión inhibe la incorporación de los precursores a la pared celular en formación. Al parecer, la resistencia a la vancomicina se debe a cambios en la biosíntesis del peptidoglucano. Las cepas vancomicina resistente producen cantidades elevadas de peptidoglucano, dando como resultado una pared celular gruesa y de forma irregular. Además, se presenta menos entrecruzamiento entre las hebras de peptidoglucano. Esta pared gruesa y desordenada puede atrapar a la vancomicina en la periferia de la célula, con el consiguiente bloqueo de la acción del antibiótico (41-44)



DISEÑO METODOLÓGICO

1. **Tipo de estudio:** Descriptivo de corte transversal.
2. **Tipo de muestreo:** Por conveniencia.
3. **Área de estudio:** Unidad de cuidados intensivos del Hospital España de la ciudad de Chinandega.
4. **Tiempo de estudio:** El muestreo fue realizado entre los meses de Marzo a Junio del año 2010.
5. **Población de estudio:** Personal de salud y pacientes de la unidad de terapia intensiva del Hospital España de la ciudad de Chinandega.
6. **Criterios de Inclusión:**
 - Pacientes que estuvieran ingresados en la unidad de terapia intensiva.
 - Personal de salud que estuviese en contacto con los pacientes en estudio.
7. **Aspectos éticos:** A todos los participantes del estudio trabajadores de la salud se les entregó un consentimiento informado por escrito en donde estaban redactados los objetivos del trabajo investigativo, explicándoles que se les tomaría una muestra nasal, y que a partir de esta se le realizaría el cultivo bacteriológico, para determinar su condición de portador nasal de SARM. En el caso de los pacientes además se solicitó autorización del Médico de Base Jefe del Servicio. El protocolo fue revisado y autorizado por el comité de ética de la Facultad de Ciencias Médicas.



8. Fuente de información:

Primaria y secundaria: Se realizó una entrevista con cada uno de los participantes, en el caso de los pacientes que no estaban en condiciones de responder, la información se obtuvo de los respectivos expedientes

9. Colección y transporte de las muestras:

Durante 12 semanas consecutivas se tomaron muestras semanales al personal y a los pacientes que se encontrarán hospitalizados el día de la toma de muestra. Las muestras se recolectaron de las fosas nasales anteriores obtenidas con hisopo estéril y depositado en el medio de transporte AMIES y trasladadas el mismo día de su colección al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN-León, donde fueron analizadas.

En total el personal de salud se tomó 2 muestras y los pacientes en un número dependiente de su estancia en la sala de UCI.

10. Procesamiento de las muestras:

-Cultivo e identificación: Todas las muestras fueron cultivadas en el medio selectivo ORSAB, se incubaron de 35-37°C por 24 horas. La presencia de colonias coloreadas de azul intenso fue interpretada como SARM positivo. Posteriormente las colonias fueron re aisladas para luego identificarlas morfológicamente realizándoles Tinción de Gram y químicamente por el test de coagulasa y DNA asa.

11. Pruebas de Sensibilidad.

-Perfil de susceptibilidad antimicrobiana: Las cepas identificadas como SARM se sometieron a una prueba de Susceptibilidad por el método de Kirby-Bauer, en la que se utilizaron discos de los siguientes antibióticos: Cefoxitina 30µg (Fox), Oxacilina 1µg (OX), Vancomicina 30µg (VA), Amoxicilina Ácido clavulánico 30µg (AMC), Eritromicina 15µg (E), Clindamicina (2µg), Ciprofloxacina 30µg (CIP), Gentamicina (Cn) y Trimetropon Sulfa (TXS).



La lectura del tamaño del halo y determinación de susceptible o resistente se realizó utilizando las recomendaciones de NCCLS (13,14).

12.Descripción del método Kirby-Bauer

Una vez identificadas las cepas bacterianas de *S. aureus* se realizó el antibiograma utilizando Agar Muller Hilton (preparado a partir de una base deshidratada, siguiendo las instrucciones del fabricante) de acuerdo al método de Kirby-Bauer, según referencia de la NCCLS (13,14).

El inóculo se realizó tocando con un asa cada colonia de *S. aureus* previamente identificada, para luego transferirlas a un tubo conteniendo 4 ml de solución salina para así preparar la suspensión. La turbidez de la suspensión se ajustó a la del patrón de 0.5 de Mc Farland, cuya absorbancia se mide espectrofotométricamente a 625 nm.

Luego con la ayuda de un hisopo estéril se inóculo la suspensión anteriormente descrita en agar Muller Hinton, rayando sobre la superficie completamente seca. Este procedimiento se repitió dos veces más, dando cada vez un giro de 60 grados a la placa.

Los discos de antimicrobianos se añadieron sobre la superficie de la placa de agar inculado. Cada disco se presionó para asegurarse del completo contacto con la superficie del agar, estos discos fueron colocados con una aguja completamente estéril, uniformemente para que así de esta manera no quedaran a más de 24mm (no más de 7 por plato).

El tiempo de incubación fue de 24 horas, para luego examinar cada placa midiendo los diámetros de la zona completa de inhibición, incluyendo el diámetro del disco, las zonas se midieron hasta el milímetro completo más próximo, para lo cual se utilizó una regla.



13. Detección de mecanismos de Resistencia.

❖ **gen *mecA*** (responsable de la resistencia a Meticilina).

Se utilizó un disco de Cefoxitina de 30µg, y se interpretó como positivo para *gen mecA* cuando el halo de inhibición estaba ≤ 19 mm.

❖ **gen *msrA***: resistencia a Macrólidos debido a mecanismos de eliminación constante del fármaco (**Eflujo**)

❖ **MLS_B^c y gen *erm*** responsable de la resistencia Eritromicina y Clindamicina (inducible o constitutiva) por alteración de ribosoma

❖ **gen *blaZ***: Causante de la alteración de PBPs 1, 2 y 3 responsable de la resistencia a Meticilina debido a hiperproducción de β -lactamasa.

Se utilizó para detectar este gen un disco de **de Amoxicilina/Acido clavulánico** 30µg, se interpretó como positivo para el *gen blaZ*, cuando el halo de inhibición estaba ≤ 13 mm.

Por medio del método D-test se detectó tanto el *gen mrsA* y el *gem erm*. Según la NCCLS en el 2004

Para esto colocamos un disco de Eritromicina de 15 µg a una distancia de 15-26 mm de un disco de Clindamicina 2 µg, el cual se interpretó positivo para *gem mrsA* cuando su halo de inhibición para la Eritromicina sea ≤ 14 mm y el de Clindamicina ≥ 22 mm. El mismo procedimiento se hizo para identificar el gen *erm*, el cual lo consideramos positivo cuando los halos estaban en los mismos rangos, con la única diferencia que aquí el halo de Clindamicina se mostro truncado en el borde contiguo al halo de Eritromicina (13,14)



14. **El control de calidad** de los métodos que se utilizaron para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana se realizó utilizando las siguientes cepas controles:

Control Positivo: CCU35601 **S. aureus**

Control Negativo: ATCC29213 **S.aureus**

La inoculación e incubación de las placas se hizo igual que en el método de Kirby Bauer sin aplicar discos de antibióticos.

15. **Interpretación de resultados.** La lectura se hizo a las 24-48 horas, se interpretó como resistente el crecimiento de al menos una UFC de *S. aureus*.

Personal de Salud.		Nº	%
Ocupación	Enfermera	15	33
	Médicos	8	18
	P. de Laboratorio	14	31

RESULTADOS

Durante el período de estudio se analizaron hisopados nasales de 86 participantes, que cumplieron con los criterios de inclusión. El 52.3% de ellos fueron personal de salud y un 47.7 % pacientes ingresados en UCI durante el período de estudio. La distribución general es presentada en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución General del Personal de salud y pacientes que participaron en el estudio.



	Personal de Apoyo	8	18
Sexo	Femenino	38	84
	Masculino	7	16
Edad	20-41 años	31	69
	41-60 años	13	29
	61-90 años	1	2
Pacientes		Nº	%
Edad	20-41 años	10	24.
	41-60 años	16	39.
	61-90 años	15	36.
Sexo	Femenino	16	39
	Masculino	25	61

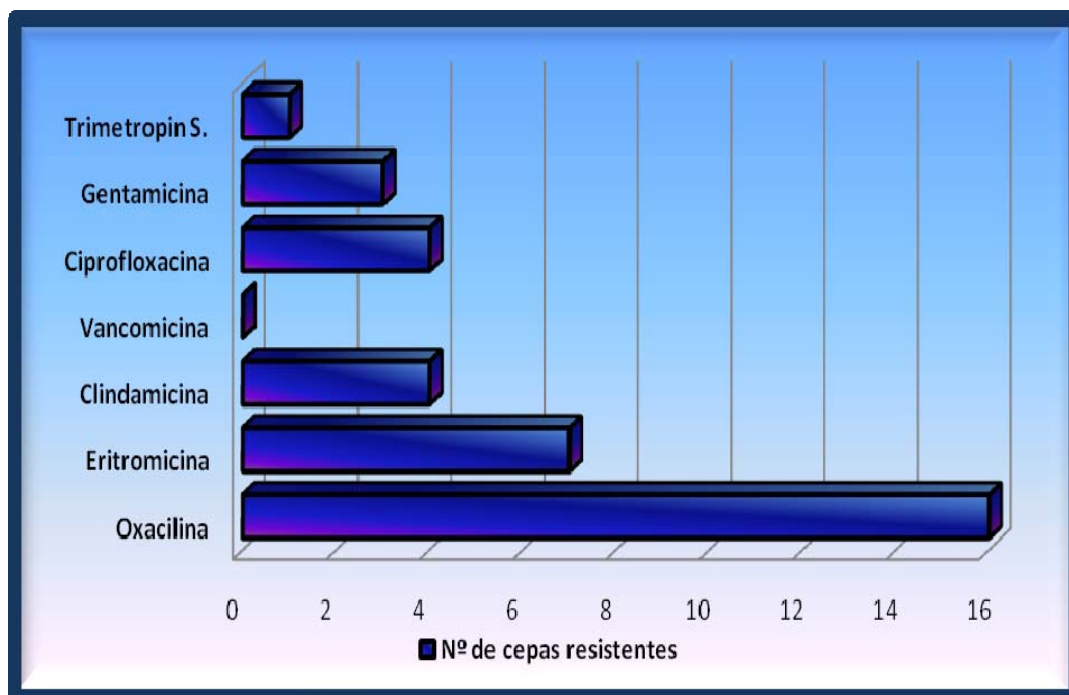
Fuente Primaria



De todas las muestras analizadas (86), un total de 13 participantes fueron identificados como portadores nasales de *S. aureus*, con igual porcentaje de frecuencia que corresponde a un **15%** tanto del personal de Salud (**7/45**) como lo de los pacientes (**6/41**) ingresados en la sala de UCI.

Tanto los pacientes como al personal de salud se les tomo 2 hisopados con intervalo de 2 semanas, observando que 2 pacientes y 2 participantes del personal de salud se les aisló cepas SARM resistentes en ambas muestras, el resto de los positivos lo fueron en el primero o segundo hisopado. Es importante mencionar que además 4 participantes del personal de salud fueron portadores de cepas resistentes a meticilina por hiperproduccion de betalactamasa. (15).

Grafico.1 Perfil de Resistencia antimicrobiana de *S. aureus* resistentes a meticilina aislados de portadores nasales en la Unidad de Cuidados intensivos del Hospital España, Chinandega





A todas las cepas SARM incluyendo las cepas hiperproductoras de Betalactamasa se les determinó el perfil de sensibilidad para diferentes familias de antibióticos, en el grafico 1, podemos observar que el antimicrobiano de mejor utilidad para las cepas aisladas sigue siendo Vancomicina, para el cual no se detecto ninguna cepa resistente, en segundo lugar está Trimetoprin sulfa seguido de Gentamicina, macrólidos como la Eritromicina y licosamidas como la Clindamicina, que son ampliamente utilizadas en el manejo de infecciones de piel y tejidos blandos, tuvieron un porcentaje de resistencia que debe considerarse bajo observación (16).

Los mecanismos de resistencia presentes en las cepas de *S. aureus* aislados son los siguientes, 4 cepas de las 10 aisladas del personal de salud presentaron fenotipo homogéneo para la resistencia a meticilina el resto de cepas tanto del personal de salud como pacientes el mecanismos de resistencia meticilina es heterogéneo que corresponde a presencia del gen *mecA* en el cromosoma bacteriano, que codifica la síntesis de una proteína fijadora de penicilina alterada, denominada **PBP2a** (6).

Las cepas SARM *mecA* positivo, además presentaron los siguientes fenotipos de resistencia antimicrobiana **4, MLS_{Bi}, 3 MS_B**, 8 cepas SARM tuvieron como único mecanismo la presencia del gen *mecA*. La descripción completa de los mecanismos de resistencia y sus correspondientes genes responsables, detectados utilizando el método de Kirby Bauer se presentan en la Tabla 2.



Tabla 2. Mecanismos de resistencia *S. aureus* resistentes a meticilina aislados en portadores nasales de pacientes y personal de salud.

PARTICIPANTES	FENOTIPOS DE RESISTENCIA			
	heterogéneo	homogéneo	MLS _{Bi}	MS _B
	gen-mecA	gen-blaz	gen-erm	gen-mrsA
Personal de Salud	7	3	4	1
Pacientes	6	1	0	2

MLS_{Bi}, (resistencia a Macrólido, Licosamidas, Streptograminas inducible)

MS_B, (resistencia a macrólidos por mecanismo de eflujo)



DISCUSIÓN

S. aureus resistente a meticilina es la principal causa de morbimortalidad en las Unidades de Cuidados Intensivos de los hospitales de Estados Unidos, en muchos países Europeos, Japón y también ha sido reportado en países de América del Sur, en la mayoría de estos países se ha adoptado medidas de control que incluyen la vigilancia de portadores sanos entre el personal de salud, que es un grupo de alto riesgo por cuanto esta en permanente contacto con los pacientes y se coloniza a partir de estos facilitando la dispersión del agente en el Hospital (7, 4).

Lo referido anteriormente nos permite reconocer que *S. aureus* resistente a meticilina se ha convertido en una amenaza grave para la salud pública. La vigilancia es esencial para apoyar a los comités de control de infección y los médicos en la prevención y tratamiento de la infección (17). Sin embargo, en América Latina, los recursos para el control de la cambiante epidemiología de SARM siguen siendo limitados, para nuestro conocimiento este estudio es el primero que se realiza en el Hospital España. En Nicaragua únicamente el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales y el Hospital Vélez Paíz han realizado estudios de frecuencia de SARM (8,9).

Los resultado globales de portadores nasales de SARM 15.0% que incluyen personal de salud y pacientes es más alto que los reportados por Arbizú O. para el HEODRA y por Calderón L y Esquivel A para el Hospital Vélez Paíz que fue de 10 y 7% respectivamente. Es ampliamente conocido que la resistencia antimicrobiana varía de un hospital a otro en un mismo país. Los porcentajes de estos hospitales incluyen a personal de todos los servicios, en cambio este estudio realizado en el Hospital España, solo incluye la Unidad de Cuidados Intensivos, donde es ampliamente conocido que se presenta el mayor número de infecciones intrahospitalarias y por tanto es donde se espera que circulen el mayor número de cepas bacterianas multirresistentes tal es el caso de SARM (8,9).



Los resultados obtenidos deben ser motivo de atención por cuanto el porcentaje de portadores nasales positivos para SARM encontrado en el personal de salud es importante y estas son personas que permanecen en el hospital y que además llevan hasta la comunidad las cepas resistentes de *S. aureus*, en la comunidad la prevalencia de SARM es considerada baja, pero esta en dependencia de la prevalencia en los hospitales, particularmente es necesario enfatizar que los portadores nasales de SARM, lo fueron con cepas portadoras del gen *mecA* que corresponde a un fenotipo heterogéneo que comúnmente son cepas multirresistentes en el que no pueden ser utilizados ninguno de los antibióticos betalactámicos ni los antibióticos para los cuales son resistentes, esta condición se confirmó en 70% de las cepas SARM presentaron resistencia al complejo MLS_B , que incluye macrólidos, clindamicina y streptograminas, familias de fármacos que son utilizados como alternativa de tratamiento en cepas resistentes a los betalactámicos, es importante señalar que la resistencia al complejo MLS_B , principalmente fue de tipo inducible en la que el antibiograma muestra sensibilidad a Clindamicina y resistencia a Eritromicina in vitro pero se traduce a resistencia para ambos fármacos in vivo. Los fenotipos MLS_B fueron clasificados según las recomendaciones presentadas por Christine D. Steward 2005 (19).

Solamente cuatro cepas SARM presentaron el fenotipo homogéneo como único mecanismo de resistencia que se reconoce como cepa hiperproductora de betalactamasa, estas son cepas que no son multirresistentes y que además pueden ser tratadas con betalactámicos que se presenta en combinaciones con inhibidores de betalactamasa como lo son el Ácido clavulánico, Sulbactam y Tazobactam(6). La determinación del fenotipo responsable de la resistencia a meticilina es de gran importancia por cuanto podemos aplicar protocolos de manejo de cepas SARM hiperproductoras de Betalactamasa que incluyan Betalactámicos tipo carbapenem, en las cepas fenotipo homogéneo ya que el gen *bla_Z* es responsable de la producción de enzimas que hidrolizan penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación, pero no afecta cefoxitin, ni los carbapenem (20).



La presencia de portadores nasales de SARM en los hospitales es considerado hoy en día como un marcador de eficiencia en términos de cumplimiento de normas de control tan sencillas como es el lavado de manos, que sin duda es la primera elección en el control de la diseminación de las cepas SARM y de otros microorganismos patógenos(17,21). En este estudio pudimos observar que únicamente 2 pacientes y participantes del personal de salud, permanecieron colonizados durante todo el período de estudio, y que la mayoría fueron portadores nasales de SARM transitorios, esto sin duda es de gran importancia darlo a conocer por cuanto apoya la necesidad de cumplir con medidas tan sencillas como el lavado de manos y no se necesita caer en la descolonización de fosas nasales para lo cual se utiliza Mepurosina local (6).

El 15% de pacientes colonizados son sin lugar a dudas un grupo de personas con alto riesgo de contraer infecciones por SARM con mucha más facilidad que los no colonizados, particularmente las infecciones del tracto respiratorio inferior, o la contaminación de heridas quirúrgicas, esta situación ha sido ampliamente demostrada en hospitales donde se realiza monitoreo continuo de los portadores nasales (22).

El perfil de resistencia de los SARM aislados en este estudio, se corresponde con los fenotipos SARM circulantes en la UCI donde se realizó el estudio. En la que más del 80% tenían fenotipo heterogéneo y solamente cuatro cepas el fenotipo homogéneo. El estudio incluyó el análisis de Trimetoprin sulfa.



Conclusión.

El estado de portador nasal de SARM fue alto tanto para pacientes como para personal de salud, si comparamos los resultados con los reportados para otros países incluyendo los desarrollados, y también más altos que los reportados en estudios previos realizados en el HEODRA y Vélez Paíz. Los resultados aportan información relevante a las autoridades del Hospital para la toma de medidas de control de infecciones nosocomiales severas como son las causadas por SARM, así mismo les permite conocer que un método de detección de bajo costo y accesible al hospital como es el Kirby Bauer puede ser utilizado para establecer un sistema de vigilancia que los alerte de posibles brotes de infecciones por estas bacterias que hoy en día están consideradas como superpatógenos en la mayoría de hospitales del mundo. Sin duda los resultados comprometen al personal de este hospital a conocer la situación en el resto de servicios del hospital.



RECOMENDACIONES

- Informar de los resultados al comité de infecciones hospitalarias para que estos promuevan el cumplimiento de las **medidas de Bioseguridad** (lavado frecuente de manos así como el uso de nasos bucos) **normadas para las UCI** con el propósito de evitar la propagación del SARM.
- Presentar los resultados al personal de salud de la UCI donde se realizó el estudio con el propósito de invitarlos a comprometerse en el cumplimiento de medidas de control de infecciones hospitalarias.



BIBLIOGRAFIA

1. Walker S. Microbiología. México, D.F.: McGraw-Hill InteramericanaS.A.; 2000. P.134-9.
2. Bettin Alfonso, Suárez P, Bedoya A. y Reyes N. *Staphylococcus aureus* en Residentes de un Hogar de Ancianos de Cartagena. Rev. Salud Pública. (10) 4:650-657, 2008.
3. Otth L, Wilson Sch. M, Bustamante H. N, Fernández J.H y Otth L.C. Susceptibilidad antimicrobiana y patrones de resistencia de *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes y portadores en la ciudad de Valdivia, Chile. Rev Chil Infect 2008; 25 (3): 175-178
4. Londoño J, Ortiz G, Gaviran A. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personal de la unidad de terapia intensiva de la Clínica Universitaria Bolivariana. Asociacion Colombiana de Infectología. 2006.
5. Myrvik QV, Weiser RS. Bacteriología y micología médicas. 2ª ed. McGraw-Hill InteramericanaS.A, S.A.; 1991. P.166-79.
6. Sopena Galindo Nieves. Evolución de un brote epidémico por S.aureus resistente a la meticilina. Tesis doctoral. 2002. Disponible en www.tdr.cesca.es
7. Lara Toruño M. Perfil de resistència a antimicrobianos de S. aureus, resistente a meticilina. Marzo 2003. Monografía (UNAN-LEÓN).



8. Arbizú O. Detección molecular del gen *mecA* y caracterización de fenotipos de resistencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aislados de pacientes y personal de salud HEODRA 2008 – 2009. Tesis Maestría en Ciencias Biomédicas, mención en Microbiología. UNAN-León 2010
9. Calderón L y Esquivel A. Frecuencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personal de salud del Hospital Materno Infantil Dr. Fernando Vélez Paiz. Managua. 2010. Tesis Licenciado en Bioanálisis Clínico. UNAN-León 2010.
10. Carera E. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aerobias en hospitales de Nicaragua. 2003. Tesis Maestría en Bioquímica Clínica (UNAN-LEÓN).
11. C. Fernandez, L. Fernandez, P. Collignon. Cefoxitin resistente as a surrogate marker for the detección of meticilin- resistan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.2005, vol. 55: Pp.506-10.
12. Pareja A, Apayeras, Roca P, Tobias P, Díaz M.P, Pérez M.C. Incidencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y de *E.coli-klebsiella pneumoniae* con producción de b-lactamasa de espectro amplio en el hospital de San Llatzer, durante el periodo 2003-2006. *Medicina Balear* vol.23, num.1.2008.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. XII Informational Supplement. M100-S12. Wayne, Pennsylvania, NCCLS, 2002.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Disk diffusion supplemental tables M100-S10 (M2), January 2001.



-
15. Valdez Fernández-Baca, Luis Manuel. Resistencia antibiótica. Revista Medica Herediana. Octubre 2003.

 16. Paganini H, Paula M Della L, Beatriz Muller O. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquiridas en la comunidad en niños antes sanos y en niños relacionados al hospital en la Argentina. Rev. chil. infectol. v.26 n.5 Santiago oct. 2009.

 17. Andreas Conrad, Klaus Kaier, Uwe Frank, Markus Dettenkofer . Are short training sessions on hand hygiene effective in preventing hospital-acquired MRSA series analysis . AJIC: American Journal of Infection Control. September 2010 (Vol. 38, Issue 7), Pages 559-561

 18. Kramer A, Wagenvoer H, Christina A., Inka D. Epidemiology of MRSA and current strategies in Europe and Japón. Institute for Hygiene and Environmental Medicine, University Greifswald, Germany. 2010, Vol. 5(1), pág1863-5245.

 19. Christine D. Steward, Patti M. Raney, Allison K. Morrell, Portia P. Williams, Linda K. McDougal, Laura Jevitt, John E. McGowan. Testing for Induction of Clindamycin Resistance in Erythromycin-Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology, Apr. 2005, p. 1716–1721.

 20. Barcelona L, Marin M, Stambouliau D. Betalactámicos con inhibidores de Betalactamasa Amoxicilin-Sulbactam. Fundación de Centro de Estudios Infectológicos(FUNCEI), Buenos Aires 2008; 68: 65-74.

 21. Speekenbrink S, PhD, MRSA acquisition in an intensive care unit. American Journal of Infection Control. February.2006.



-
22. Debby Ben-David, Leonard A. Mermel, and Steve Parenteau. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission: The possible importance of unrecognized health care worker carriage. *American Journal of Infection Control*. American Journal of Infection Control. March 2008.
23. TOMASZ A, DRUGEON D B, DE LENCASTRE H M, JABES D, Mc DOUGALL L, BILLE J. New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: Clinical isolates that lack PBP2a gene and contain normal penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1869-74.
24. MUSSER J, KAPUR V. Clonal analysis of methicillin-resistant *S. aureus* strains from intercontinental sources Association of the *mec* gene with divergent phylogenetic lineages implies dissemination by horizontal transfer and recombination. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2058-63.
25. Imsade J. Genetic regulation of penicillinase synthesis in gram positive bacteria. *Microbiol Rev* 1978;42:67-83.
26. Imsade J. Repressor and antirepressor in the regulation of staphylococcal penicillinase synthesis. *Genetics* 1973; 75: 1-17.
27. MATSUHASHI M, ISHIMO F et al. Molecular cloning of the gene of a penicillin binding protein suppose to cause high resistance to B lactam antibiotics in *S. aureus*. *J Bacteriol* 1986; 167: 975-80.
28. Hartman BJ, Tomas A. Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29:85-92.



-
29. Mc Dougal LK, Thornsberry C. The role of betalactamasa in staphylococcal resistance to penicilinase- resistant penicilins and cephalosporins. *J Clin Microbiol* 1986; 23:832-839.
 30. Sierra-Madero JG, Knapp C, Karaffa C, Washington JA. Role of betalactamasa and different testing conditions in oxacilina-bordeline-susceptible staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32:1754-1757.
 31. Chambers HF, Archer G, Matsuhashi M. Low level metilicina resistance of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:424-428.
 32. Lacey RW, Chopra I. Evidence for mutation to streptomycin resistance in clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *J Gen Microbiol* 1972;73:175-180.
 33. MH, Edberg SC, Mandel LJ, Behar CK, Steigbigel NH. Gentamicin uptake in wild type and aminoglycoside-resistant small- colony mutants of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:722-729.
 34. Mandel LJ, Murphy E, Steigbigel NH and Miller MH. Gentamicin uptake in *Staphylococcus aureus* possessing plasmid- encoded, aminoglycoside-modifying enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26: 563-569.
 35. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, et al. Nomenclature for macrolide and macrolide- lincosamide- Streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2823-52
 36. Vila J, Garcia E. *Streptococcus pneumoniae*. Mecanismo de resistencia, evolución de la sensibilidad. Estudios multicéntricos de participación nacional. En : Alvarz Lerma. Problemática actual en el tratamiento de infecciones por bacterias gram positivas en pacientes hospitalizados. 2004:5.



-
37. Schappinger D, Hillen W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Arch Microbiol* 1996;165:359-69.
 38. Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K, et al. The glylcyclines: a comparative review with the tetacyclines. *Drugs* 2004;64:63-88.
 39. Elwell LP, Wilson HR, Knich VB, Keith BR. In vitro and in vivo efficacy of the combination trimethoprim-sulfamethoxazole against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;29:1092-1094.
 40. Werli W. Rifampin: mechanisms of action and resistance. *Rev Infect Dis* 1983;5:407.
 41. Lee SY, Kuti JL, Nicolau DP. Antimicrobial management of complicated skin and skin structure infections in the era of emerging resistance. *Surgical Infect* 2005; 6:283-95.
 42. Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin resistance in staphylococci. *Clin Microbiol* 2002; 15:430-8.
 43. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003; 111:126-7.
 44. Liu C, Chambers HF. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemo* 2003; 47:3040-5.



ANEXOS



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León

Carrera de Bioanálisis Clínico

Staphylococcus Aureus resistente a meticilina (SARM)

UCI

Hospital España-Chinandega-2010

Consentimiento Informado

Staphylococcus Aureus resistentes a meticilina (SARM) es una de las principales causas de brotes de infección nosocomial, esta bacteria está asociada a infecciones de piel y tejidos blandos, e incluyen síndromes que van desde una baja morbilidad y mortalidad, tales como foliculitis e intoxicaciones alimentarias, hasta lesiones sistémicas fatales, tales como endocarditis y síndrome de shock tóxico, entre otras. SARM tienen resistencia a todos los antibióticos B-lactámicos pero además, en general, presentan resistencias a otros grupos de antibióticos a través de diferentes mecanismos de acción

Objetivo: Aislar y determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de SARM en hisopos nasales en pacientes y personal de salud de la sala de UCI y UCIM.

Criterios de Inclusión:

- Pacientes que requieran de los servicios de la unidad de terapia intensiva.
- Personal de salud asignados al Área de estudio

Muestra: Hisopado nasal

NO hay ningún riesgo de participar en el estudio,

Beneficios: Determinar la presencia de portadores nasales S. Aureus resistente a meticilina para evitar infecciones nosocomiales.

Por cuanto. Yo: _____.
Habiendo sido informado sobre los objetivos de la investigación, así como de los riesgos y beneficios, doy mi autorización para la toma de muestra.

Firmo a los ____ días del mes de _____ del 2010



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León

Carrera de Bioanálisis Clínico

Staphylococcus Aureus resistente a meticilina (SARM)

UCI

Hospital España-Chinandega-2010

Ficha No _____ Fecha _____ Expediente (en caso de paciente)

Personal de Salud _____ (Medico Base, Lic. Enfermera, Aux de enfermería, Medico Residente)

Nombre: _____

Edad: _____ Sexo _____

	Antibióticos								
	FOX	OX	VA	AMC	E	Cl	Cip	Cn	STX
R									
I									
S									

R: resistente I: intermedia S: sensible.

FOX: Cefoxitina, OX: Oxacilina, VA: Vancomicina, AMC: Amoxicilina mas Acido Clavulánico.

E: Eritromicina, CL: Clindamicina, CIP: Ciprofloxacina, Cn: Gentamicina, STX: Trimetropin Sulfa

Genes de Resistencia encontrados	
mecA	
msrA	
erm	
BlaZ	