

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE *Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE (SARM) EN PERSONAL DE LAS UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DEL HOSPITAL REGIONAL DOCENTE DE TRUJILLO – LA LIBERTAD - 2013

METICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA) IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION AMONG INTENSIVE CARE UNITS STAFF FROM THE HOSPITAL REGIONAL DOCENTE DE TRUJILLO – LA LIBERTAD – 2013

ELIO AVILA VERAU¹

Resumen

Staphylococcus aureus es una de las cuatro bacterias principales causantes de infecciones hospitalarias, tiene una compleja y sofisticada patogenicidad que se refleja en elevadas tasas de morbilidad y mortalidad. Ha logrado resistencia a diversos antimicrobianos entre ellos la meticilina, por lo que se le denomina *staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), cepas causantes de brotes epidémicos de importancia.

Los empleados de salud son una importante fuente de transmisión de *S. aureus*, ya sea actuando como reservorio o por contacto con un paciente infectado o material contaminado, en especial para los que permanecen en las unidades de cuidados intensivos.

En el presente estudio se buscó aislar y caracterizar el SARM, con el fin de establecer una incidencia preliminar en el personal de las unidades de terapia intensiva del Hospital Regional Docente de Trujillo (HRDT).

Para esto tomaron muestras nasales de 30 personas asociadas a las UCI, las que fueron sembradas en medios adecuados para aislar cultivos de *S. aureus* a los que se les realizó pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante la técnica de Kirby – Bauer, a fin de detectar SARM.

Se halló una incidencia de SARM del 3% y de *S. aureus* del 47%, lo que llevó a establecer la presencia de portadores de SARM en el HRDT.

Palabras clave

Staphylococcus aureus | SARM | incidencia | susceptibilidad | UCI

Abstract

Staphylococcus aureus is one of the four bacteria that cause hospital infections; it is a complex and sophisticated pathogen that produces high rates of morbidity and mortality. *S. aureus* has resistance to several antibiotics, among these the methicillin, we used to call this Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), these breeds cause important epidemic outbreaks.

Hospital staff is a source of transmission for *S. aureus* either as a reservoir or as contact with an infected patient or contaminated materials, this situation is special in patients inside intensive care units.

This study isolated and characterized *S. aureus* and SARM in order to establish a preliminary incidence among the intensive care units (ICU) staff from the Hospital Regional Docente de Trujillo (HRDT).

It was taken nasal samples from 30 workers in ICU from the HRDT, and then the samples were grown in appropriated culture media for the isolation of *S. aureus*. *S. aureus* isolations were tested for antibiotic susceptibility according to the Kirby Bauer method, in order to find MRSA.

It was found a MRSA incidence of 3%, and a *S. aureus* incidence of 47%. There was MRSA carriers in the HRDT.

Keywords

Staphylococcus aureus | MRSA | incidence | susceptibility | ICU

¹ Biólogo – microbiólogo. Grupo de microbiología molecular y biotecnología. Departamento de Ciencias – UPAO

I. Introducción

La bacteria piógena *Staphylococcus aureus* (cocos grampositivos) es un patógeno oportunista que forma parte de la microflora humana, pudiendo estar colonizada por esta bacteria entre el 30 y el 50 % de la población, siendo la localización más frecuente la colonización interior de la nariz en 30 a 40 % de los individuos y puede estar presente en otras membranas mucosas y en la piel.^{1,2} El principal reservorio de *S. aureus* lo constituye el hombre enfermo o portador. La frecuencia de colonización es mayor en el medio hospitalario.¹

S. 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. Además del impacto epidemiológico que produce debido a su amplia y frecuente distribución intra y extrahospitalaria, tiene una compleja y sofisticada patogenicidad que se refleja en elevadas tasas de morbimortalidad.^{3, 4, 5}

El interés del estudio de este microorganismo radica, por lo tanto, en su elevada frecuencia, su morbimortalidad y, además, en su resistencia a diversos fármacos, entre ellos la metilicina, por lo que se denominan *S. aureus* resistente a metilicina (SARM), cepas causantes de brotes de infección hospitalaria.⁶ Estos últimos han aparecido con una frecuencia cada vez mayor primero en los hospitales (HA - MRSA) y más recientemente en la comunidad (CA - MRSA).⁶

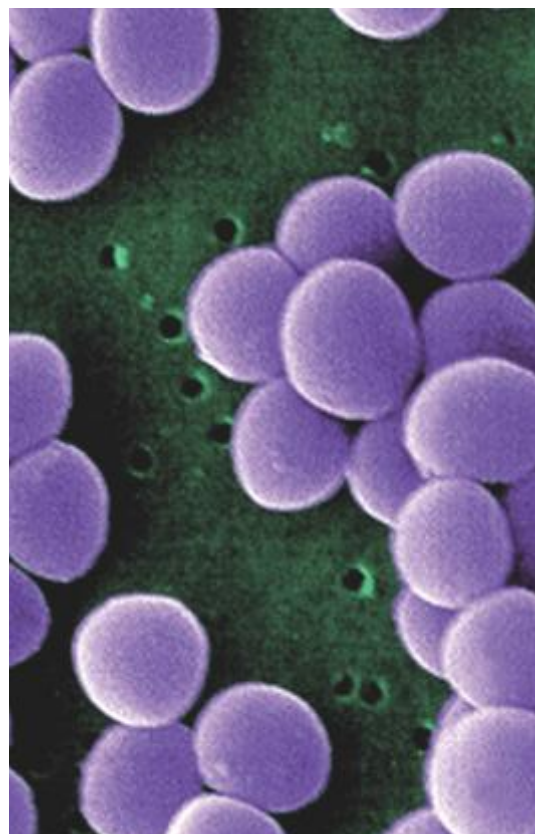
Desde hace algunos años, se ha asociado también a la ganadería (LA-MRSA), se trata de la transmisión de SARM y se refiere principalmente a la expansión clonal de ciertas cepas que colonizan las distintas especies animales, incluyendo los caballos, que pueden causar infecciones en las personas. Además, los animales de compañía y los caballos pueden ser colonizados por mayor variedad de cepas, debido a su estrecho contacto con personas. Así, estas especies pueden actuar como portadores de SARM procedentes de seres humanos (se le ha dado el nombre de "Humanosis").⁷

El portador nasofaríngeo asintomático es también el origen más frecuente de *S. aureus* resistente a metilicina (SARM), actualmente uno de los patógenos nosocomiales más importantes en todo el mundo. Se trata de un patógeno virulento, capaz por sí solo de aumentar la incidencia global de infección estafilocócica.^{8, 9} Además, las infecciones invasoras por SARM se asocian con mayor mortalidad y coste económico que las causadas por *S. aureus* sensibles a metilicina (MSSA2 o SASM).^{9, 10, 11, 12} Por todo ello, la vigilancia y el control de SARM debe ser una prioridad en todos los centros hospitalarios.

La vigilancia epidemiológica es un componente crítico de cualquier programa de control de SARM. Los pasos clave son la recogida sistemática de la información, su análisis e interpretación y la difusión a quienes están al cuidado de los pacientes. Los casos nuevos se detectan a partir del laboratorio de microbiología. Además, el laboratorio debe, en la medida de sus posibilidades, establecer un sistema para congelar los aislados de SARM que se

consideren representativos para la eventual realización de estudios moleculares.^{13, 14, 15}

Los trabajadores asistenciales son una importante fuente de transmisión de *S. aureus*, ya sea actuando como reservorio o por contacto con un paciente infectado o material contaminado. El personal asistencial colonizado por SARM se puede convertir en una fuente importante de infección para los pacientes más susceptibles y, en especial, para los que permanecen en las unidades de cuidados intensivos. La infección en estos trabajadores puede adicionalmente desencadenar brotes epidémicos. En el presente estudio se busca aislar y caracterizar *S. aureus* SASM y *S. aureus* SARM, con el fin de establecer una incidencia preliminar de los mismos en personal de la unidades de terapia intensiva del Hospital Regional Docente de Trujillo, y evitar la colonización de otros residentes y del personal sanitario, controlando la diseminación del SARM. El aislamiento y caracterización nos permite proponer trabajos posteriores para analizar molecularmente los patrones de resistencia frente a otros antibióticos no beta-lactámicos, así como la relación clonal entre cepas aisladas de los portadores de *S. aureus* (SASM o SARM).⁷



II. Material y métodos

Recolección de las muestras

En este estudio descriptivo participaron 30 trabajadores relacionados con las unidades de terapia intensiva del Hospital Regional Docente de Trujillo, La Libertad – Perú. Entre estos tenemos personal asistencial, personal administrativo y de servicios, a los cuales se les tomaron muestras de la zona anterior de las fosas nasales mediante hisopado. Recolectadas las muestras, se sembraron en medio LB para traslado al laboratorio.

Una vez recolectadas y trasladadas al laboratorio de microbiología molecular y biotecnología de la UPAO, las muestras se sembraron mediante la técnica de estriado en Agar Trypticase Soya (TSA), Agar Manitol-Salado y Agar Sangre, y fueron llevadas a incubación a 35°C por 24 horas.

Pruebas microbiológicas

Luego del tiempo de incubación, se examinaron las características de las colonias. Se realizó la coloración de Gram y la prueba de la catalasa, obteniendo cultivos puros en TSA de aquellas que mostraron ser cocos grampositivos, manitol y catalasa positivos.^{5, 10}

Luego de la incubación de estos cultivos puros se les realizó la prueba de la coagulasa libre en tubo⁵

Pruebas de susceptibilidad

La determinación de la susceptibilidad antibiótica se realizó a través del método de Kirby-Bauer, de acuerdo a las recomendaciones por parte de la Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (Manual MINSAs).^{5, 10, 11} Los antibióticos evaluados fueron Cloranfenicol (C: 30 µg), Ciprofloxacino (CIP: 5 µg), Clindamicina (CC: 2 µg), Eritromicina (E: 15 µg), Gentamicina (GM: 10 µg), Levofloxacino (LVX: 5 µg), Oxacilina (OX: 1 µg), Rifampicina (RA: 5 µg), Trimetropin/sulfametoxazol (SXT: 1.25/23.75 µg), y Vancomicina (VA: 30 µg) con el objetivo de detectar el fenotipo inducible de resistencia.

Confirmación de la resistencia a la Oxacilina

Una vez establecida la resistencia a la oxacilina por medio del antibiograma, se procedió a realizar (según CLSI)¹⁰ el tamizaje en placa de agar Mueller-Hinton con suplemento de oxacilina (6 µg/mL) y NaCl (4%). Como control positivo se utilizó una cepa meticilino resistente proporcionada por el laboratorio referencial de La Libertad y como control negativo la cepa *S. aureus* subespecie *aureus* Rosebach ATCC 25923.

Análisis de datos

Se diseñó una base de datos en Microsoft Excel para el análisis de datos y el establecimiento de resultados.

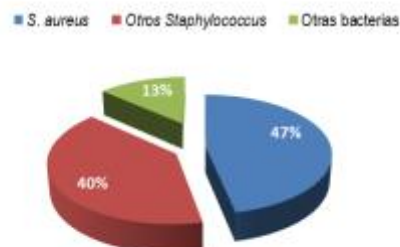
III. Resultados

CUADRO 1
AISLAMIENTO DE *Staphylococcus* Y OTRAS BACTERIAS DE MUESTRAS NASALES EN PERSONAL DE UCI EN EL HRDT

Muestras #	Manitol	Catalasa	Tinción Gram	Total	Bacterias
4, 5, 8, 9, 11, 12*, 13, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 26	Positivo	Positivo	Cocos grampositivos	14	<i>Staphylococcus aureus</i>
1, 2, 3, 7, 10, 16, 18, 21, 25, 28, 29, 30	Negativo	Positivo	Cocos grampositivos	12	Otros <i>Staphylococcus</i>
6, 14, 15, 27	Positivo	Positivo	Bacilos grampositivos	4	Otras bacterias
Total				30	

**Coagulasa positiva*

GRÁFICO 1
PORCENTAJE DE AISLAMIENTOS DE *Staphylococcus* Y OTRAS BACTERIAS DE MUESTRAS NASALES EN PERSONAL DE UCI EN EL HRDT



CUADRO 2
SUSCEPTIBILIDAD MEDIANTE EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER DE LOS AISLAMIENTOS DE *S. aureus*

Muestra #	ANTIBIÓTICOS (µg)									
	OX	VA	E	CC	C	SXT	RA	GM	CIP	LVX
	1	30	15	2	30	1.25/23.75	5	10	5	5
1	4	S ¹	S	S	S	S	S	S	S	S
2	5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	8	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	9	S	S	R ²	I ³	R	S	S	S	S
5	11	S	S	R	I	S	S	S	S	S
6	12	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	13	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	17	S	S	R	S	S	S	R	R	R
9	19	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	20	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	22	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	23	S	S	R	I	S	S	S	S	S
13	24	R	S	R	R	R	R	S	R	R
14	26	S	S	S	S	S	S	S	S	S

¹ Sensible

² Resistente

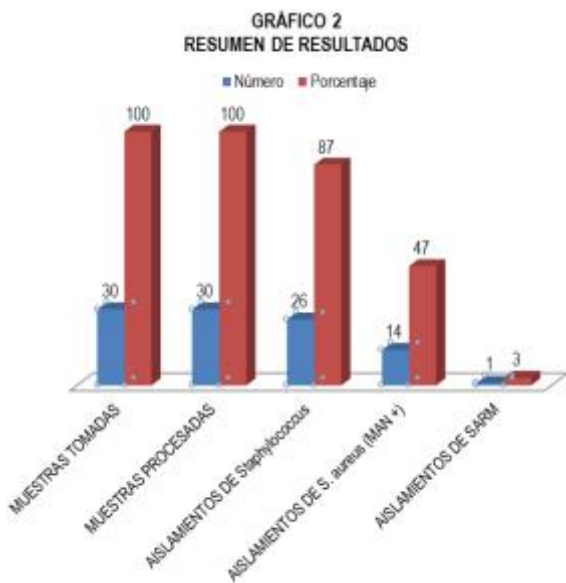
³ Intermedio

El cuadro 2 nos muestra la susceptibilidad que presentan los aislamientos de *S. aureus* frente a los antibióticos seleccionados. Nótese que el aislamiento número 13, muestra 24 fue resistente a la Oxacilina. A este aislamiento se le realizó la prueba de confirmación de resistencia a la oxacilina, la que confirmó dicha resistencia, por lo tanto se estableció a este aislamiento como SARM.

Bajo las iniciales de los antibióticos seleccionados se ha colocado su concentración en µg.

CUADRO 3
RESUMEN DE RESULTADOS

	Número	Porcentaje
MUESTRAS TOMADAS	30	100
MUESTRAS PROCESADAS	30	100
AISLAMIENTOS DE <i>Staphylococcus</i>	26	87
AISLAMIENTOS DE <i>S. aureus</i> (MAN +)	14	47
AISLAMIENTOS DE SARM	1	3



IV. Discusión

El conocimiento de los patrones epidemiológicos de los SARM es importante a fin de evitar brotes epidémicos de los mismos, y lograr establecer esquemas de vigilancia concretos en nuestro medio, tanto en las instituciones de salud como en la comunidad. Así mismo, el comportamiento fenotípico de la susceptibilidad antimicrobiana propone un estudio más amplio sobre las resistencias asociadas (Cassettes de resistencia).

Los aislamientos de *Staphylococcus* (87%) sobre las muestras procesadas, así como el éxito de aislamientos de *S. aureus* (47%) (cuadro 3) nos indican, en primer lugar, la persistencia de estos agentes infecciosos en la especie humana, resultando importante saber que estos colonizan las fosas nasales de trabajadores de salud y que realizan sus labores en unidades de terapia intensiva del HRDT. Por otro lado, observamos que el interior de la nariz, la mucosa nasal es un espacio anatómico colonizado mayormente por estos gérmenes piógenos y en especial la especie *S. aureus*.

Con respecto a las pruebas de susceptibilidad (cuadro 2) según el método de Kirby – Bauer, el 3%

obtenido para aislamientos de SARM (muestra 24) pone en evidencia la presencia de estos microorganismos en personas portadoras; que pueden ser causantes de problemas como brotes epidémicos o septicemias e infecciones intrahospitalarias en pacientes que se atiendan en instituciones de salud, no solo por su resistencia a los antibióticos betalactámicos sino por las resistencias asociadas (Cassettes de resistencia). Cabe mencionar los resultados fenotípicos de susceptibilidad del aislamiento de *S. aureus* procedente de la muestra 17 (Cuadro 2); si bien es cierto no es un SARM, las resistencias a aminoglucósidos (Gentamicina); quinolonas (Ciprofloxacina y levofloxacina) y rifampicina, nos llevan a pensar en una utilización no adecuada de estos antimicrobianos en la persona a la que corresponde la muestra 17.

De los porcentajes obtenidos para la colonización de *S. aureus* en las personas de la muestra estudiada, 47 % son coincidentes con los promedios para la población humana; entre 40 a 50 %¹, es más, la elección de las fosas nasales como fuente del germen en humanos es acertada.^{2, 9, 10}

En cuanto a los resultados obtenidos en el aislamiento de SARM, no existiendo información local sobre trabajos similares, se nos reporta que son variables para otras localidades como la Unión Europea en que van desde <1% en países del norte de Europa a >40% en países del sur y oeste europeo (Wertheim et al., 2004b), con lo que nuestros resultados corroboran esta variabilidad.

El presente estudio sólo es preliminar, la determinación de la susceptibilidad antibiótica se determinó mediante el método de Kirby – Bauer, lo que nos lleva a plantear la realización de estudios posteriores con métodos que corroboren estos resultados, a un estudio de las poblaciones de pacientes en las instituciones de salud del medio local (principalmente hospitales Regional Docente de Trujillo, Belén y Víctor Lazarte Echegaray), así como de los empleados en ellas tanto asistenciales, administrativos como de servicio, y un estudio de la comunidad. Los aislamientos SARM han de ser corroborados con pruebas moleculares como la PCR (reacción en cadena de la Polimerasa) para buscar las resistencias generadas por el gen *mecA*, y sus asociaciones a la resistencia a otros antimicrobianos no betalactámicos.

V. Conclusiones

1. La incidencia preliminar de SARM en empleados asistenciales, administrativos y de servicio de las unidades de terapia intensiva del Hospital Regional Docente de Trujillo, año 2013, a partir de muestras obtenidas de hisopados nasales, fue de 3%.
2. La incidencia preliminar para el aislamiento de *S. aureus* en empleados asistenciales, administrativos y de servicio de las unidades de terapia intensiva del Hospital Regional Docente de Trujillo, año 2013, a partir de muestras obtenidas de hisopados nasales, fue del 47 %.
3. Se estableció la presencia de portadores SARM entre los empleados del Hospital Regional Docente de Trujillo.

4. Los patrones fenotípicos de susceptibilidad para *S. aureus* nos muestran dos aislamientos que merecen la realización de investigaciones posteriores, sobre todo de estudios moleculares.

VI. Agradecimientos

Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego, en especial a la Oficina de Investigación en la persona del Ing. Freddy Pérez Azahuanche, por la oportunidad de realizar el presente estudio.

Al equipo de docentes y colaboradores del laboratorio de microbiología molecular y biotecnología, del Departamento de Ciencias de la Universidad Privada Antenor Orrego, por su colaboración en el presente estudio.

Al equipo del laboratorio de micobacterias del CENEX del HRDT por su colaboración desinteresada en el presente estudio.

VII. Referencias bibliográficas

1. Borraz O C. Epidemiología de la Resistencia a metilicina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en hospitales españoles [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Barcelona, Facultad de medicina; 2006.
2. Schlievert P M., Peterson M L. Estafilococos: abscesos y enfermedades mediadas por toxinas. En: Engleberg N C., DiRita V J., Dermody T S. Schaechter. Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5ª ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. P. 149-168.
3. Myrvik Q.V, Weiser R.S. Bacteriología y micología médicas. 2ª ed. Filadelfia: McGraw-Hill Interamericana, S.A.; 1991. P.166-179.
4. Madigan M t., Martinko J M., Parker J. Brock, Biología de los microorganismos. 10ª ed. Madrid: Pearson Education, S.A.; 2006.
5. Koneman E., Washington C., Allen S., Procop G. , Janda W. , Schereckenberger P., Woods G. Koneman, Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas en color. 6a. ed. Buenos aires; Médica Panamericana; 2008 P. 593 – 690.
6. Camarena J J., Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina. [Boletín en línea] Control de calidad: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Disponible en: <http://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
7. Morgan M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? J Antimicrob Chemother. 2008; 62 (6): 1181-1187. Disponible en: <http://jac.oxfordjournals.org/content/62/6/1181.full>
8. Álvarez LF., Palomar M., Insausti J., Olaechea P., Cerdá E., Sánchez J., et al. Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos. Med Clin (Barc). 2006; 126(17): 641-646.
9. Cosgrove S E., Carmeli Y. The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. Clin Infect Dis. 2003; 36 (11): 1433-1437. Disponible en: <http://cid.oxfordjournals.org/content/36/11/1433.full.pdf+html>
10. Lodoño J F., Ortiz G M., Gaviria N A M. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina en personal de la unidad de terapia intensiva de la Clínica Universitaria Bolivariana, Medellín 2004. Infectio 2006; 10 (3): 160 – 166. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v10n3/v10n3a02.pdf>
11. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión, Serie de normas técnicas N° 30. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2002
12. Cosgrove S E., Sakoulas G., Perencevich E N., Schwaber M J., Karchmer A W., Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2003; 36 (1):53-59. Disponible en: <http://cid.oxfordjournals.org/content/36/1/53.full.pdf+html>

13. Rodríguez-Baño J., Millán A., Domínguez M.A., Almirante B., Cercenado E., Padilla B., Pujol M. Medidas de control de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en hospitales españoles. Encuesta del proyecto SARM 2003 GEIH/GEMARA/REIPI. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2006; 24: 149-156.
14. Rodríguez-Baño J., Bischofberger C., Álvarez F., Asensio A., Delgado T., García D., García L., Hernández M.J., Molina J., Pérez C., Pujol M. Vigilancia y control de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en hospitales españoles. Documento de consenso GEIH-SEIMC y SEMPSPH. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2008; 26: 285-298.
15. Rodríguez-Baño J., Millán A., Domínguez M.A., Almirante B., Cercenado E., Padilla B., Pujol M. *Staphylococcus aureus* en España: características clínicas y epidemiológicas. Proyecto SARM 2003 GEIH/GEMARA/REIPI. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2004; 1: 78.