



**ESTUDIO DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus*
AISLADOS DURANTE EL AÑO 2013 EN UNA CLINICA DE TERCER NIVEL EN LA
CIUDAD DE BOGOTA**

**LUCIA SIERRA MENDOZA
SARAI VARGAS MURILLO**

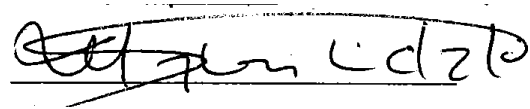


**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BACTERIOLOGIA
BOGOTÁ
2014**

**ESTUDIO DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus*
AISLADOS DURANTE EL AÑO 2013 EN UNA CLINICA DE TERCER NIVEL EN LA
CIUDAD DE BOGOTA**



Dr. Hugo Díez, Ph.D
Profesor Titular
Dpto. de Microbiología



Dra. Marylin Hidalgo, Ph. D
Jurado de Tesis



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BACTERIOLOGIA
BOGOTÁ
2014**



NOTA DE ADVERTENCIA

ARTICULO 23 DE LA RESOLUCION N° 13 DE JULIO DE 1946

“La Universidad NO se hace responsable por los conceptos emitidos por sus estudiantes en sus Trabajos de Tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica, y por qué las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.



DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado especialmente a Dios, nuestras familias y a cada una de las personas o seres que estuvieron a nuestro lado a lo largo, no solo de la realización del presente trabajo de grado sino de nuestras vidas.



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primera instancia a Dios por permitirnos llegar hasta aquí y así mismo ayudarnos a culminar nuestro trabajo de grado, a nuestros padres porque con su apoyo y ayuda incondicional nos han motivado a seguir adelante, a la Pontificia Universidad Javeriana y cada uno de los docentes que han formado parte de nuestro proceso de formación académica lo largo de nuestra carrera, especialmente al doctor Hugo Diez quien con sus conocimientos, experiencia, paciencia y ayuda constante contribuyó en gran manera a la elaboración del presente proyecto.

Finalmente agradecemos a cada una de las personas que han formado parte de nuestra vida incluso a las que en este momento por una u otra razón no están a nuestro lado, pero que de una u otra manera contribuyeron para que este gran logro fuera posible.



ESTUDIO DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus* AISLADOS DURANTE EL AÑO 2013 EN UNA CLINICA DE TERCER NIVEL EN LA CIUDAD DE BOGOTA

1. RESUMEN

- 1.1. **Introducción:** cepas de *Staphylococcus* resistentes a meticilina y a otros antimicrobianos son frecuentemente asociadas a patologías infecciosas de alta morbimortalidad. La resistencia a la meticilina es el resultado de la producción de una proteína alterada denominada PBP2a codificada por el gen *mecA* la cual presenta una afinidad disminuida por la mayoría de los antibióticos beta-lactámicos.
- 1.2. **Justificación:** la Secretaria distrital de Salud (SDS) a través del subsistema de vigilancia epidemiológica en infecciones asociadas al cuidado de la salud (IACS) en su protocolo PRO-R02.0000-043 propone como objetivo que a partir del 2014 todas las Unidades primarias generadoras (UPG) deben monitorizar de manera continua y sistemática las cepas de *Staphylococcus aureus* así como los llamados estafilococos coagulasa negativos (ECN) con el fin de caracterizar los fenotipos de resistencia circulantes en cada institución para poder evaluar el impacto de las medidas de prevención, vigilancia y control.
- 1.3. **Objetivo:** Documentar el perfil de resistencia a los antimicrobianos de los *Staphylococcus* circulantes en la Clínica Nueva, institución hospitalaria de tercer nivel.
- 1.4. **Resultados:** de 320 cepas tipificadas el 63% (202 cepas) correspondieron al género *Staphylococcus* y de estas el 85% (172 cepas) fueron identificadas como *Staphylococcus aureus*. El perfil de resistencia evidenció que el 50.5% (102) de las cepas de *Staphylococcus* eran meticilino resistentes (MRSA) y de ellas un 30.6% presentaban resistencia a Eritromicina/ Clindamicina. Del 50.5% de las cepas catalogadas como meticilino resistentes, el 34.1% eran *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (SAMR). Las cepas de *Staphylococcus* provenían en un 79,8% de los servicios de no UCI, un 30.6% de ellas se asociaron a septicemias, 16,8% a infecciones en piel, y 13,8% impactaron negativamente



causando infecciones intrahospitalarias. Los resultados obtenidos en el presente trabajo tuvieron un 100% concordancia en comparación con los reportados por la institución.

2. INTRODUCCION

Microbiológicamente el género *Staphylococcus* se clasifica, junto con los géneros *Stomatococcus* y *Planococcus*, dentro de la familia *Micrococcaceae*. Se caracterizan por ser cocos Gram positivos, catalasa positivo, oxidasa negativo, no esporulados, tamaño variable de 0,5-1,5µm de diámetro, aerobios o anaerobios facultativos, colonizan la superficie de los seres vivos, y producen un amplio espectro de infecciones en el hombre (21). El género *Staphylococcus* incluye 35 especies y 17 subespecies dentro de las cuales la más patógena para el hombre es *S. aureus*. Sin embargo, especies llamadas coagulasa negativas como *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleferi*, *S. warneri*, y *S. saprophyticus* entre otras, son considerados agentes causales de procesos infecciosos en el hombre (23). La patogenicidad es el producto de una triada conformada por la activación de los factores de virulencia del microorganismo, la disminución de defensas del huésped y presencia de factores de riesgo que favorecen el proceso infeccioso (23). A nivel de factores de patogenicidad los *Staphylococcus* tienen una amplia y variable maquinaria conformada por proteínas estructurales, enzimas, toxinas, plásmidos; así mismo pueden presentar una resistencia antibiótica debido a la presencia de peptidoglicano, ácido teicoico, capsula, catalasa, coagulasa, hialuronidasa, glicosidasa, proteasas, lipasas, betalactamasas, nucleasas, hemolisinas, leucocidina de Pantón Valentine, enterotoxinas, toxinas exfoliativas y toxinas de shock tóxico entre otras, factores que aunque no están presentes en todas las especies y se expresan diferencialmente de una especie a otra, la bacteria los utiliza al encontrar condiciones favorables para adherirse, colonizar, invadir, multiplicarse y diseminarse en tejidos (26). La infección se manifiesta de manera aguda y con característica supurativa si el paciente está en un estado de aparente inmunosupresión y hay por lo menos uno de los siguientes factores de predisposición tales como heridas de piel, quemaduras, incisiones quirúrgicas, presencia de cuerpos extraños, suturas, vías venosas, uso de prótesis, inmunosupresión y patologías de base como alcoholismo, falla renal, tratamientos oncológicos, condiciones



y factores que favorecen el proceso infeccioso tanto por cepas patógenas como oportunistas dentro de las cuales entran todos los géneros de *Staphylococcus* (26).

Si bien las infecciones por *S. aureus* están plenamente caracterizadas, el significado clínico de los llamados estafilococos coagulasa negativos (ECN) es difícil de resolver, ya que el hombre es huésped natural de la mayoría de especies a nivel de piel y mucosas, problema que a veces se complica porque la identificación de los ECN a nivel de especie no es una prueba de rutina en muchas instituciones hospitalarias. Existe un amplio espectro de infecciones atribuibles a *S. aureus* y las otras especies de *Staphylococcus* dentro de las cuales las de mayor frecuencia y asociadas a infección intrahospitalaria (IIH) son infecciones en piel, bacteriemias, infecciones en tejidos blandos y tracto respiratorio superior (5).

Las cepas que causan IIH pueden presentar resistencia a los antimicrobianos, en donde se suma su creciente prevalencia como patógeno nosocomial, lo cual es motivo de gran preocupación a nivel de Salud Pública. El primer microorganismo del grupo en manifestar la resistencia a los antibióticos fue el *S. aureus* y hoy en día *S. hominis*, *S. auricularis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* presentan patrones de resistencia similares (17). Entre los mecanismos de resistencia descritos a los β -lactámicos, muchas veces relacionados entre ellos está la resistencia mediada por β -lactamasas, bombas de eflujo, fenómeno de tolerancia y resistencia a la metilina (17). Los perfiles de antibióticos evidencian resistencia a antibióticos en particular de manera aislada como sucede con Garamicina, Ciprofloxacina, Synercid, Levofloxacina entre otros. Sin embargo, muchos de esos perfiles se agrupan en fenotipos y es así como tenemos *Staphylococcus* BLAC (Productores de betalactamasas), CES (productores de cefalosporinas), MR (Meticilino resistentes), VaR (Vancomicina resistente), Resistencias glicopeptido intermedio en *S. aureus* como son los GISA (Garamicina), VISA (Vancomicina) BORSA (Oxacilina), y en algunas cepas MR se ha observado resistencia acompañada MLS (Resistencias solas o compartidas para macrólidos, lincosamidas y Streptograminas) (17).

Las estrategias para disminuir y limitar la resistencia antimicrobiana incluyen parámetros clínicos como prevención de la infección, medidas de aislamiento y contención, manejos



adecuados de MIC en antibióticos y parámetros epidemiológicos/ microbiológicos como el diagnóstico rápido de los agentes etiológicos, las patologías en las cuales se asocia y el conocimiento de los perfiles y fenotipos de resistencia antimicrobiana, pues estos permiten orientar el tratamiento y disminuir la tasa de morbimortalidad por el microorganismo (22), aspectos que serán tratados y desarrollados en el presente estudio.

2. JUSTIFICACION

Las infecciones intrahospitalarias por Cocos Gram positivos (CGP) evidencian un marcado aumento de casos originados tanto por *Staphylococcus aureus* como por otras especies de *Staphylococcus* tradicionalmente considerados no patógenos para el hombre como *S. auricularis*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, y *S. saprophyticus* entre otros. Epidemiológicamente estas infecciones se caracterizan por presentar diferencias según centro hospitalario, servicio clínico, tiempo de internación así como cambios en el perfil de resistencia a los antibióticos que presentan las cepas donde la presencia de nuevos clones tipo BORSA (*S. aureus* borderline), VISA (*S. aureus* vacomicino intermedio), GISA (*S. aureus* gentamicina intermedio), y la alta resistencia a la meticilina y poliresistencia a otros antibióticos es un factor común entre todas las especies de *Staphylococcus*. Adicionalmente es importante considerar que cada vez hay un mayor número de pacientes inmunocomprometidos (prematuros, HIV, pacientes con cáncer, desnutridos y entre otros) donde la terapia antibiótica no solo pierde efectividad sino que puede llegar a ser refractaria. Dado el creciente número de pacientes inmunocomprometidos, la virulencia de las cepas de *Staphylococcus* y la incrementada resistencia bacteriana a los antibióticos, la SDS a través del subsistema de vigilancia epidemiológica en las IACS en su protocolo PRO-R02.0000-043 propone como objetivo que a partir del 2014 todas las UPG deben monitorizar de manera continua y sistemática el comportamiento epidemiológico de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos y para ello es necesario empezar a crear en cada institución bases de datos idóneas, realizar estudios retrospectivos, identificar los fenotipos de resistencia circulantes en cada institución y caracterizar molecularmente las cepas resistentes con el fin de prevenir brotes, orientar toma de decisiones y evaluar el impacto de las medidas de prevención, vigilancia y control para contribuir al mejoramiento de la calidad de la atención en los servicios de salud del país. Debido a lo anterior, la institución de tercer nivel – Clínica Nueva inicia un macroproyecto de la caracterización microbiológica de todas sus cepas, y en este trabajo se



empezó con el primer grupo de bacterias que corresponde al género *Staphylococcus* donde se evaluaron los objetivos propuestos por el protocolo a nivel microbiológico como son estimar las frecuencias de los principales agentes bacterianos, sus fenotipos, perfiles y tendencias de resistencia a los antimicrobianos.

3. MARCO TEÓRICO

• Características generales de *Staphylococcus*

Microbiológicamente el género *Staphylococcus* se clasifica, junto con los géneros *Stomatococcus* y *Planococcus*, dentro de la familia *Micrococcaceae*. Se caracterizan por ser cocos Gram positivos, catalasa positivo, oxidasa negativo, no esporulados, tamaño variable de 0,5-1,5µm de diámetro, aerobios o anaerobios facultativos, colonizan la superficie de los seres vivos, y producen un amplio espectro de infecciones en el hombre (21). El género *Staphylococcus* incluye 35 especies y 17 subespecies dentro de las cuales la más patógena para el hombre es *S. aureus* que forma parte de la microflora humana normal y puede colonizar sitios como el perineo, axilas, vagina y narinas (26). Otro grupo conformado por las especies llamadas estafilococos coagulasa negativas (ECN) como *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleferi*, *S. warneri*, y *S. saprophyticus* entre otras, se encuentran diseminadas en la naturaleza, pueden hallarse como comensales de la piel en el ser humano, afectando mucosas como las vías nasales, vagina, bucofaringe, donde dependiendo de las condiciones del huésped pueden llegar a desarrollar procesos infecciosos que cursan con una alta morbilidad y mortalidad que generalmente se asocia a infecciones intrahospitalarias (26).

La patogenicidad en las bacterias del género *Staphylococcus* está definida clínica y epidemiológicamente y se consideran son el producto de una triada conformada por la activación de los factores de virulencia del microorganismo, la disminución de defensas del huésped y presencia de factores de riesgo que favorecen el proceso infeccioso (23). A nivel de factores de patogenicidad los *Staphylococcus* tienen una amplia y variable maquinaria conformada por proteínas estructurales, enzimas, toxinas, plásmidos, y resistencia antibiótica tales como presencia de peptidoglicano, ácido teicoico, capsula, catalasa, coagulasa, hialuronidasa, glicosidasa, proteasas, lipasas, betalactamasas, nucleasas, hemolisinas, leucocidina de Pantón Valentine,



enterotoxinas, toxinas exfoliativas, y toxinas de shock tóxico entre otras, factores que aunque no están presentes en todas las especies y se expresan diferencialmente de una especie a otra, la bacteria los utiliza al encontrar condiciones favorables para adherirse, colonizar, invadir, multiplicarse y diseminar en tejidos (26). De estas toxinas revisten especial importancia las leucocidinas donde se destaca la leucocidina Pantón-Valentín (LPV) presente principalmente en cepas de *S. aureus* que se asocian a infecciones piógenas en piel y tejidos blandos así como a la neumonía necrosante, infecciones postquirúrgicas y pacientes con prolongación de antibioterapia (12). La toxina lesiona el leucocito al abrir poros en sus membranas, principalmente se relaciona con abscesos cutáneos y forúnculos o infecciones necrotizantes, como la fascitis. Estas cepas que portan dicha toxina pueden llegar a producir neumonías progresivas que afecta fundamentalmente a niños con un alto índice de mortalidad. Debido a lo mencionado anteriormente, las diferentes especies de este género son capaces de producir una variedad de infecciones que van desde una simple foliculitis hasta complicadas infecciones pulmonares y septicemias graves (13).

- **Características fisiológicas**

Como características principales se evidencia que son oxidasa negativa y catalasa positiva, enzima base para la diferenciación con los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*. Además, son inmóviles, no esporulados, anaerobios facultativos principalmente, generalmente sin capsula y de crecimiento rápido (21). La identificación de las especies de *Staphylococcus*, se basa en la morfología de las colonias, propiedades bioquímicas y características moleculares presentadas. Su crecimiento se evidencia en medios de cultivo enriquecidos como agar sangre, agar infusión cerebro –corazón, agar chocolate y medios selectivos como agar manitol salado y agar cromogénico para *Staphylococcus* (21). La especie de mayor impacto es *S. aureus* caracterizado por ser coagulasa positiva, fermentador de glucosa, manitol, maltosa, sacarosa y manosa; productor de ADNsa, proteína A y fosfatasa alcalina. En agar sangre de carnero las colonias son convexas, opacas, hemolíticas. En agar manitol salado fermenta el manitol originando colonias rodeadas por un halo amarillo, así mismo crecen en presencia de sal ya que este medio contiene una



concentración elevada de esta junto con azúcar de manitol y rojo de fenol como indicador de pH (11) (26).

Dentro de las especies ECN se encuentran: *S. epidermidis* que a nivel de infecciosas es una especie en su mayoría de origen intrahospitalario asociado principalmente a catéteres intravasculares, prótesis, heridas quirúrgicas; situándose esencialmente en fosas nasales, mucosas y piel; es coagulasa negativo, ureasa positiva, fosfatasa alcalina positiva, fermentador de glucosa, maltosa sacarosa y manosa únicamente y sensible a la Novobiocina (20); *S. auricularis* es una especie de baja incidencia infecciosa, localizada generalmente en el conducto auditivo externo; es coagulasa negativo, fermentador de glucosa, maltosa y de manera variable en sacarosa (14); *S. saprophyticus* patógeno causante de infecciones urinarias, es coagulasa y fosfatasa negativa, ureasa positiva, fermentador de maltosa, glucosa y sacarosa, resistente a la novobiocina y sensible a la polimixina B (31)(27); *S. haemolyticus* especie asociada a microbiota normal en piel, es glucosa, sacarosa, fructosa, maltosa y ureasa positiva y manosa negativa (6); *S. warneri*, encontrado inicialmente en piel y mucosas, causante de infecciones asociadas a la implantación de catéteres e implantes. Es ureasa, glucosa, maltosa, sacarosa trehalosa positiva; con variabilidad en la fermentación del manitol, presenta sensibilidad a la novobiocina y polimixina (15). *S. lugdunensis* es una especie patógena en seres humanos de alta incidencia, que habitualmente se encuentran como comensales en mucosas y piel; asociados a bacteremia e infecciones generadas por instrumentarios médicos. Son coagulasa negativa, presentando un factor de aglutinación positivo, ornitina positiva, fosfatasa alcalina negativo y ureasa variable con fermentación en maltosa, sacarosa y manosa (16).

- **Clínica**

Las infecciones por las cepas de *Staphylococcus* de comportamiento patógeno incluyendo a *S. aureus* y las especies ECN se manifiestan de manera aguda y dada su condición de bacterias extracelulares se caracterizan por generar lesiones inflamatorias y supurativas. Lesiones que se desarrollaran si hay por lo menos uno de los siguientes factores de predisposición tales como heridas de piel, quemaduras, incisiones quirúrgicas, presencia de cuerpos extraños, suturas, vías venosas, uso de

prótesis, inmunosupresión y patologías de base como alcoholismo, falla renal, tratamientos oncológicos, condiciones y factores que favorecen el proceso infeccioso tanto por cepas patógenas como oportunistas dentro de las cuales entran todos los géneros de *Staphylococcus* (26). Si bien las infecciones por *S. aureus* están plenamente caracterizadas, el significado clínico de los llamados estafilococos coagulasa negativos (ECN) es difícil de resolver, ya que el hombre es huésped natural de la mayoría de especies a nivel de piel y mucosas, problema que a veces se complica porque la identificación de los ECN a nivel de especie no es una prueba de rutina en instituciones hospitalarias que usan métodos manuales. Existe un amplio espectro de infecciones atribuibles a *S. aureus* y las otras especies de ECN dentro de las cuales las de mayor frecuencia y asociadas a infección intrahospitalaria (IIH) son infecciones en piel, bacteriemias, infecciones en tejidos blandos y tracto respiratorio superior (Tabla 1) (5).

Tabla 1. Principales infecciones asociadas a bacterias asociadas a las diferentes especies de *Staphylococcus*

<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Foliculitis, Impétigo, Mastitis, Infecciones de herida, Bacteriemia, Endocarditis, Meningitis, Pericarditis, Infecciones pulmonares, Piomiositis, Síndrome de la piel escaldada estafilocócico, Síndrome del shock toxico estafilocócico	Infecciones urinarias, Osteomielitis, Endocarditis de válvula nativa, Infecciones de catéteres intravenosos, Infecciones derivadas de LCR, Bacteriemia, Infecciones oculares, Infecciones cutáneas, Infecciones asociadas con catéter peritoneal, otitis	Infecciones auditivas (otitis), Bacteriemia, Infecciones oculares, infecciones cutáneas, Infecciones asociadas con catéteres de diálisis peritoneal	Infecciones urinarias principalmente
<i>S. warneri</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. simulans</i>
Infecciones oculares, blefaritis, conjuntivitis, queratitis	Infecciones cutáneas, Bacteriemia primaria y hospitalaria, infecciones urinarias	Infecciones cutáneas, endocarditis	Septicemia, osteomielitis, endocarditis de válvula nativa, artritis séptica
<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. schleferi</i>	<i>S. xylosus</i>	<i>S. capitis</i>
Endocarditis de válvula nativa y protésica, celulitis, peritonitis, osteomielitis, artritis séptica	Osteítis vertebral, infecciones urinarias, endocarditis, infecciones de marcapasos, osteomielitis	Blefaritis, conjuntivitis, queratitis	Blefaritis, conjuntivitis, queratitis, endocarditis de válvula nativa y protésica

- **Resistencia antibiótica**

El género *Staphylococcus* ha desarrollado una variedad de mecanismos para adquirir resistencia a diferentes antibióticos principalmente los Betalactámicos los cuales se resumen en la tabla 2 y se explican en el texto posterior a la tabla. Esta clasificación de fenotipos según resistencia antibiótica es la que actualmente solicita la SDS a las UPG distritales.

Tabla 2. Fenotipos y mecanismos de resistencia a antibióticos en *Staphylococcus* propuesta por Torres y col, 2006 (30)

BETALACTAMICOS							
ANTIBIOTICOS					Resistencia definida	Fenotipo	Incidencia
PEN	OXA	AMP	AMC	CEF			
R	S	R	S	S	Penicilinasa	BLAC	Alta
R	R	R	R	R	PBP 2 ^a	MR	Variable
R	S	R	R	R	Cefalosporinasa baja expresión	CES	Baja
S	S	S	S	S	Ninguna	No aplica	Baja
MACROLIDOS LINCOSAMIDAS STREPTO							
ERI	AZI	CLD	STRB	Resistencia definida		Fenotipo	Incidencia
S	S	S	S	Ninguna		Sensible	Alta
R	R	R	R	Metilasa ARNr 23S ermA ermC1		cMLS	Variable
R	R	S/R	S/R	Metilasa ARNr 23S ermA ermC1		iMLS	Variable
I/R	I/R	S	S/R	Bomba de expulsión msr A-B, erp A		No definido	Variable
S	S	S	R	Inactivación vgb A-B		No definido	Muy baja
AMINOGLUCOSIDOS							
STR	GEN	TOB	AMK	NET	Resistencia definida	Fenotipo	Incidencia
S	S	S	S	S	Ninguno	Sensible	Alta
R	R	R	R	R	Inactivación enzimas AAC16 APH12	AMR	Moderada
S	S	S	S/R	S	Inactivación enzimas APH3-II	Condicionado	Bajo
GLUCOPEPTIDOS							
VAN	TEI	Resistencia definida			Fenotipo	Incidencia	
S	S	Ninguno			Sensible	Alta	
I	I/S	Sobre expresión PBP2a			G Resistente	Rara	

Betalactámicos: PEN: penicilina, OXA: oxacilina, AMP: ampicilina, AMC: Amoxicilina, CEF: Cefalosporina.

Macrólidos y Lincosamidas: ERI: eritromicina, AZI: azitromicina, CLD: clindamicina, STRB: estreptogramina A+B. c: constitutivo, i: inducible.

Aminoglucósido: AMK: amikacina; GEN: gentamicina; KAN: kanamicina; NET: netilmicina; STR: estreptomina; TOB: tobramicina; AMR: aminoglucosido resistente.

Glucopéptidos: TEI: teicoplanina; VAN: vancomicina, GR; glucopeptido resistente.



A la fecha casi todas las especies de este género han adquirido resistencia a los betalactámicos de primera generación o penicilinas ya sea por la producción de enzimas lactamasas o a la alteración de las proteínas de unión a la penicilina (PBP). Aquellas bacterias que presentan el primer mecanismo se les ha denominado *BLAC* (productores de betalactamasas) en tanto que aquellas que presentan el segundo mecanismo y la resistencia está acompañada de penicilinas tipo Meticilina e incluso betalactámicos de segunda generación como Cefalosporinas y resistencia a los inhibidores de betalactamasas como ácido clavulánico debido a la presencia del gen *MecA* se les ha denominado meticilino resistentes - MR (17). Algunos autores han detectado cepas resistentes a penicilina y cefalosporinas pero sensible a inhibidores y a este fenotipo de escasas frecuencia lo han denominado CES (productores de cefalosporinas). En aquellas cepas que presentan el gen *MecA* se ha observado que adicionalmente pueden presentar resistencia combinada tanto a otros antibióticos tanto betalactámicos como no betalactámicos. Dentro de este grupo se encuentran en algunas cepas MR con resistencia acompañada MLS (Resistencias solas o compartidas para macrólidos, lincosamidas y Streptograminas) donde cepas de *Staphylococcus* spp. generan resistencia a dichos antimicrobianos mediante la metilación del sitio blanco unidad ribosomal 50S. Otro mecanismo de resistencia a macrolidos puede ocurrir gracias a bombas de eflujo, la cual esta inducida por los genes *msrA*. La modificación del sitio blanco es otro mecanismo generado por este tipo de microorganismos mediado por los genes *inuA*, el cual se conoce como resistencia a macrólidos- lincosamidas- estreptogramina y puede darse constitutivamente siempre y cuando la metilasa del RNA siempre se esté sintetizando llevándose a cabo una resistencia cruzada (17). A nivel de no betalactámicos se ha observado resistencia a un antibiótico en particular como sucede con Garamicina, Ciprofloxacina, Synercid, Levofloxacina entre otros fenotipos (17). La resistencia ha creado la necesidad de caracterizar los fenotipos dentro de las instituciones hospitalarias debido al comportamiento epidemiológico que están presentando los Cocos Gram positivos (CGP) donde se observan 4 eventos iterativos a saber: 1. Los porcentajes de resistencia a betalactámicos cada vez son mayores en SA; 2. Se ha ampliado el espectro de antibióticos a los cuales se presenta la resistencia como sucede con los MLS; 3. Especies que en el pasado eran consideradas sensibles como las *ECN* presentan



resistencia debido a la presencia del *gen mecA* y 4; se ha observado un incremento de las llamadas cepas BORSA/ MODSA (cepas borderline o cepas modificadas) que a nivel de las MIC se presentan en el límite de concentración resistente a la oxacilina ya sea debido a que no contienen el *gen mecA* y la PBP2a también está ausente, lo cual se puede dar por una alteración en la producción de las PBPs (3)(5)(7) si hablamos de *S. aureus*, o son cepas donde hay una alteración en la producción de PBPs (3)(5)(7) de baja afinidad modificadas (17). Las características anteriores se encuentran tanto en cepas adquiridas en la comunidad como en aquellas cepas que han sido involucradas a infecciones intrahospitalarias (IIH) y en ese sentido tanto *S. aureus* como *S. hominis*, *S. auricularis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* presentan patrones de resistencia similares a los antibióticos.

- **Mecanismos de Transferencia genética**

La transmisión de la resistencia antibiótica es llevada a cabo por una serie de mecanismos genéticos los cuales incluyen la transformación, transducción y conjugación (29). En la conjugación el material genético es transmitido a través de los pilis que permite el intercambio de elementos genéticos extra cromosómicos conocidos como plásmidos, los cuales contienen genes de resistencia antimicrobiana que al iniciar el proceso de conjugación permite que una copia del plásmido se replique y sea transferido de una célula a otra (29). En la transducción fragmentos de ADN de plásmidos o cromosomas logran por error introducirse en el proceso de formación de un fago, que es un virus bacteriano, el cual realiza un proceso de infección en la célula huésped insertando su ADN en células bacterianas, en donde utiliza su maquinaria biosintética para su multiplicación; así los plásmidos son transportados a otra célula bacteriana la cual puede adquirir información genética que le pueda conferir resistencia al ser infectada por este virus (29). En la transformación fragmentos de ADN “desnudos” que contienen genes de resistencia antimicrobiana, estos son transferidos e incorporados al cromosoma de una célula bacteriana por recombinación, los cuales generan una alteración genética que puede inducir a la resistencia antibiótica (29). Como elementos adicionales que generan cambios en el material genético encontramos los transposones, que se definen como pequeños fragmentos de ADN que se transfieren de una región de ADN cromosómico a otra.



Estos transposones presentan un gen que codifica la enzima transposasa la cual tiene como función catalizar el corte y dar paso a la inserción del transposón, conteniendo en algunas ocasiones genes que proporcionan resistencia frente a antibióticos (29). Es importante destacar que estos mecanismos de transferencia juegan un papel importante no solo en las medidas de prevención, aislamiento y bioseguridad que deben tomar los hospitales para evitar la diseminación de microorganismos y generación de brotes sino que estos son vitales para el proceso de evolución que presentan los microorganismos a nivel de la resistencia antibiótica debido que las bacterias presentan una gran capacidad de adaptación frente a estímulos o condiciones ambientales que generan un cambio en su entorno habitual; es por eso que la resistencia microbiológica conlleva a la presencia de mutaciones junto con la adquisición de genes de resistencia en bacterias inicialmente sensibles (22)(24). Las estrategias para disminuir y limitar la resistencia antimicrobiana incluyen parámetros clínicos como prevención de la infección, medidas de aislamiento y contención, manejos adecuados de MIC en antibióticos y parámetros epidemiológicos/microbiológicos como el diagnóstico rápido de los agentes etiológicos, las patologías en las cuales se asocia y el conocimiento de los perfiles y fenotipos de resistencia antimicrobiana, pues estos permiten orientar el tratamiento y disminuir la tasa de morbimortalidad por el microorganismo (22)(24), aspectos que serán tratados y desarrollados en el presente estudio.

4. OBJETIVOS

• OBJETIVO GENERAL

- Establecer la frecuencia y perfil de resistencia antibiótica de las diferentes especies de *Staphylococcus* presentes en infecciones en la Clínica Nueva, institución de tercer nivel de la ciudad de Bogotá durante el año 2013.

• OBJETIVO ESPECIFICO

- Identificar las cepas de *Staphylococcus* provenientes de las diferentes muestras clínicas en la Clínica Nueva, institución de tercer nivel de la ciudad de Bogotá durante el año 2013.



- Describir el perfil de resistencia antibiótica y fenotipo de resistencia presentado por las cepas de *Staphylococcus* aisladas en Clínica Nueva, institución de tercer nivel de la ciudad de Bogotá durante el año 2013.
- Determinar la frecuencia de las infecciones *Staphylococcus* presentes en el año 2013 distribuidas por servicio asistencial, localización anatómica, y tipo de infección intrahospitalaria.

5. METODOLOGIA

• DEFINICIONES

- Whonet 5.6: es un software de la organización mundial de la salud disponible para todas las instituciones hospitalarias para el manejo de bases de datos y la administración de los resultados del laboratorio de microbiología.
- Infección: pacientes que el aislamiento del germen esté acompañado de clínica compatible con proceso infeccioso que correspondan a infección del sitio donde se obtiene la muestra.
- Servicio asistencial: hace referencia a las áreas de atención intrahospitalaria según el protocolo PRO-R02.0000-043 de la Secretaria de salud de Bogotá (SDS) que en el caso de la institución corresponden a URG (Urgencias), UCI (Unidad de Cuidado intensivo), no UCI (cualquier otro servicio diferente a UCI excepto urgencias)
- Localización anatómica: hace referencia a la localización anatómica de los diferentes tipos de muestras que se pueden tomar a un paciente y están clasificadas por códigos según el protocolo PRO-R02.0000-043.
- Infecciones Asociadas a la Atención en Salud: son aquellas infecciones que el paciente adquiere mientras recibe tratamiento para alguna condición médica o quirúrgica y en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del ingreso a la institución.
- Perfil de resistencia: Se entiende como el comportamiento de un agente bacteriano frente a los antibióticos probados.
- Fenotipo de resistencia: desde la OMS se entiende como la combinación de un agente bacteriano (género y especie) y la resistencia a un determinado antibiótico.



• ESTUDIO

- **Tipo de estudio:** es un estudio observacional descriptivo.
- **Diseño:** descripción de los casos clínicos de infecciones por *Staphylococcus* presentados en una cohorte entre Enero del 2013 a Diciembre del 2013 en la Clínica Nueva de Bogotá.
- **Población de estudio:**
 - Conformada por todas las cepas de *Cocos Gram positivos (CGP)* provenientes de los diferentes aislamientos clínicos realizados durante el año 2013 en la Clínica Nueva y que correspondieron a 320 cepas.
- **Tamaño de la muestra:**
 - Es un muestreo por conveniencia que dentro de los CGP incluyó todos los aislamientos positivos para bacterias del género *Staphylococcus* la cual correspondió a 202 cepas de *Staphylococcus* de las 320 de CGP.
- **Criterios del estudio:**
 - **Criterios de inclusión:** cepas del género *Staphylococcus* aisladas en diferentes muestras clínicas.
 - **Criterios de exclusión:** cepas congeladas que no se puedan recuperar, aislamientos diferentes al género *Staphylococcus*.
 - **Conflicto de intereses:** es una investigación sin riesgo, que empleó técnicas de investigación retrospectivas para caracterizar la frecuencia de las infecciones a partir de la base de datos Whonet 5.6, y la parte de identificación por el laboratorio manejó directamente las cepas cedidas por la institución. Aunque las cepas ya habían sido previamente identificadas por el laboratorio de microbiología institucional a los estudiantes no se les informó el resultado de las mismas dado que uno de los requisitos dados por el aval institucional era garantizar la confidencialidad de la Institución y de los pacientes implicados en la investigación por parte de los investigadores, así como la de los profesionales de la salud (artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993).
- **Procedimiento:**
 - **Identificación de *Staphylococcus*:** se trabajó directamente con cepas previamente conservadas en caldo BHI glicerol 30%, las cuales se reconstituyeron



e incubaron en Caldo Tioglicolato pre reducido por 60 minutos a 37°C y posterior siembra en Agar Sangre y Cromo agar HU por 24-48h a 37°C de donde se seleccionaron colonias características de cada microorganismo y realización de prueba de catalasa en lámina. Para la identificación se utilizó el MicroScanSystem de la casa Dade/ MicroScan Pos ID PC34 para Gram positivos el cual identifica el fenotipo mediante un panel de 32 pozos reactivos de sustratos para reacción bioquímica conformado por CV Cristal violeta – MS Micrococcus screen – NIT Nitritos – NOV Novobiacina – PGR B-d glucuronidasa – IDX Indol fosfatasa – VP Voges proskawer – OPT Optoquina – PHD fosfatasa – BE Bilis esculina – PYR Pirridolina – ARG Arginina – PGT Galactosidasa – URE urea – MAN Manitol – LAC lactosa – TRE Trehalosa – MNS Manosa – NaCl Cloruro de sodio – SOR Sorbitol – ARA Arabinosa – RBS Ribosa – INU Inulina – RAF Rafinosa – BAC Bacitracina – PRV Piruvato, y 6 pozos internos de control (1).

- **Perfil de resistencia:** se realizó siguiendo las normas del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (8) y las instrucciones dadas por la casa manufacturadora empleándose el mismo panel de identificación el cual incluye un set de pozos con antibióticos marcadores para Gram positivos como Aug Amoxicilina/ clavulónico 4/2 ug – AM ampicilina 8 ug – A/S ampicilina sulbactan 16/8ug – CfxS Cefoxitin 4 ug – Cax Ceftriaxone 32 ug – Cp Ciprofloxacina 2 ug – Cd Clindamicina 4 ug– Dap Daptomicina 4 ug– E Eritromicina 4 ug – Gm gentamicina 8 ug – GmS gentamicina synergid 500 ug – lcd Clindamicina inducible 4/0.5 ug – Lvx Levofloxacina 4 ug – Lzd Linezolid 4 ug – Mxf Moxifloxacina 4 ug – Fd Nitrofurantoina 64 ug – Ox Oxacilina 2 ug – P Penicilina 8ug – Rif Rifampicina 2 ug – StS Estreptomicina synergid 1000ug – Syn Synergid 2 ug – Te Tetraciclina 8 ug – T/S trimetropin sulfa 2/38 µg - Va Vancomicina 16 ug (1). Los puntos de corte e interpretación según concentración se explican en la tabla 3.
- **Confirmación resistencia:** aquellas cepas que presentaron en el panel resistencia a la Oxacilina (CMI>1) se les realizó una prueba confirmatoria manual empleando la técnica de difusión en disco Cefoxitin 30µg/ml en Mueller-Hinton con 4 % NaCl e incubándose a 35°C por 24 h. Para aquellos casos en que fue necesario confirmar resistencia a un antibiótico en particular se realizó confirmación manual del antibiograma por técnica de Kirby Bauer usando los siguientes antibióticos



marcadores: oxacilina (1 µg), cefoxitina (30 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), minociclina (30 µg), rifampicina (5 µg), vancomicina (30 µg) y teicoplanina (30 µg). La cepa control usada en todas las pruebas fue el SAMR ATCC 43300 y SAMS ATCC 25923 (8).

- **Presencia del gen *MecA*:** realizada mediante un servicio técnico que solicitó la institución patrocinadora y bajo convenio facilitaron los datos para el trabajo de grado. El servicio técnico realizó la extracción de ADN según protocolo del kit comercial QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) y la amplificación se realizó usando una mezcla de Buffer 0,5X, DNTPs 200µM, primers *MecA* 0,5µM, primers 16S 0,25µM, MgCl₂ 2µM, Taq 0,45U a un volumen final de 20µL bajo las siguientes condiciones: 94°C por 5 segundos, luego 35 ciclos así: 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos y 72°C por 1 minuto, extensión 72°C por 7 minutos. Los productos de amplificación fueron visualizados en gel de agarosa al 2% coloreados con Bromuro de etidio.

- **Distribución y frecuencia de las infecciones:** a partir de la base de datos Whonet 5.6 el software permitió extraer directamente la información en la cual se usó como palabra de búsqueda principal *Staphylococcus* y como variables clínicas servicios, tipo de muestra y tipo de infección intrahospitalaria. En servicios se incluye la distribución de acuerdo a la norma de la secretaria de salud que establece su clasificación en UCI, no UCI y Urgencias. En tipo de infección hospitalaria las clasifica como IIH y adquirido en la comunidad (AC) y por tipo de muestra el sistema saca los datos para toda muestra clínica como piel, sangre, heridas y 60 tipos de muestras más. Extraídos los datos estos se tabularon y se calcularon los porcentajes o frecuencias para cada una de las variables.

- **Presentación de resultados:**

- **Identificación de *Staphylococcus*:** los resultados se presentan en porcentajes mediante tablas.
- **Perfil de Resistencia:** se presenta en tablas descriptivas del porcentaje de resistencia de los microorganismos para cada antibiótico.



- *Presencia del gen MecA en Staphylococcus aureus*: con el aval institucional que permite el uso de datos de los resultados moleculares se calcularon los porcentajes basados en ausencia/ presencia y se presentan los datos numéricamente.
- *Distribución y frecuencia de las infecciones*: se presentan las distribuciones por separado para cada una de las variables (servicio, localización e infección) presentando datos numéricos en tablas y gráficos.

6. RESULTADOS

• Identificación Género *Staphylococcus*

Para el cumplimiento del primer objetivo referente a la identificación de *Staphylococcus* se obtuvieron los siguientes resultados:

- Se recibieron 320 Cepas de Cocos Gram positivos congeladas las cuales fueron reconstituidas inicialmente en caldo Tioglicolato obteniéndose un 100% de recuperación de las cepas, siendo inoculadas e incubadas en Agar sangre y Cromo agar HU, medios a partir del cual se realizó la identificación en coloración, identificación morfológica de colonias y bioquímica en paneles.
- De las cepas 320 cepas recuperadas se encontró que el 63% de ellas (202/320) eran compatibles con el género *Staphylococcus* dado que eran catalasa positiva, morfología en racimo ante el Gram de medios líquidos y las colonias en medio sólido eran características del género mencionado.
- A las 202 cepas anteriores se les realizó identificación mediante Panel MicroScan Pos ID PC34 encontrándose que de las 202 cepas el 85% (172 cepas) de ellas correspondía a *S. aureus* y el 14% restante a otras especies. La tabla 3 ilustra los resultados.

Tabla 3. *Staphylococcus*: identificación y porcentaje de especies de *Staphylococcus* aislados durante el año 2013 en la Clínica Nueva – Bogotá

Código SDS	Microorganismos en las 202 cepas	Cepas	Distribución del 63%
Sau	<i>Staphylococcus aureus</i>	172	85
Sep	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	13	6
Sho	<i>Staphylococcus hominis</i>	16	8
Shy	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1

• Perfil de resistencia del género *Staphylococcus*



Para cumplir con el segundo objetivo a las 202 cepas se les realizó antibiograma con el panel ya mencionado y los datos obtenidos se tabularon individualmente para cada uno de los antibióticos obteniéndose 3 grupos de datos básicos a saber:

- **Grupo de datos 1:** Se determinó la Resistencia (R) Sensibilidad (S) y valor intermedio (I) de acuerdo a los puntos de corte establecidos por el sistema Labpro (software del aparato de lectura) y las normas *Clinical and Laboratory Standards Institute* 2014 (CLSI, 2014). La Tabla 3 ilustra los datos obtenidos observándose como relevante los siguientes datos:
 - Resistencia y sensibilidades cromosómicas características del género bacteriano como es 100% de resistencia a las penicilinas de primera generación, 100% de sensibilidad de Daptomicina.
 - Resistencia y sensibilidad a antibióticos marcadores que definen fenotipos de resistencia como es Oxacilina / cefalosporina / Amoxicilina-clavulónico para meticilino resistentes del 50.5%, 52.1% y 50.5% respectivamente.
 - No hay cepas borderline para betalactámicos lo cual excluye posibles BORSA pero si hay cepas intermedias para gentamicina como las GISA observándose un 9,9%.
 - No hay resistencia a la Vancomicina, mostrando en un 100% de sensibilidad con concentraciones menores a 1.0µg/ml.
 - La tabla 3 igualmente permite observar la resistencia individual a cada uno de los antibióticos los cuales mostraron resistencias variables que van entre el 0,5 y 22% resaltándose tetraciclina que muestra una resistencia del 36.1%.

Tabla 3. Porcentaje de resistencia en las 202 cepas para cada antibiótico utilizado según los puntos de corte establecidos para el sistema MicroScan.

Nombre del antibiótico	Código	Puntos de corte en µg/ml	%R	%I	%S
Amoxicilina/ Ácido clavulánico	AMC	S<=4 R>=8	50,5	0	49,5
Ampicilina	AMP	S<=.25 R>=.5	100	0	0
Ampicilina/ Sulbactam	SAM	S<=8 R>=32	66,8	4	29,2
Cefazolina	CZO	S<=8 R>=32	52,1	0,5	47,4
Ciprofloxacina	CIP	S<=1 R>=4	22,3	7,9	69,8
Clindamicina	CLI	S<=.5 R>=4	38,6	5	56,4
Daptomicina	DAP	S<=1	0	0	100
Eritromicina	ERY	S<=.5 R>=8	36,6	11,9	51,5
Gentamicina	GEN	S<=4 R>=16	26,2	9,9	63,9
Levofloxacina	LVX	S<=1 R>=4	24,8	17,3	57,9
Linezolid	LNZ	S<=4 R>=8	0	0	100
Moxifloxacina	MFX	S<=.5 R>=2	21,3	11,9	66,8

Oxacilina	OXA	S<=2 R>=4	50,5	0	49,5
Penicilina G	PEN	S<=.125 R>=.25	100	0	0
Quinupristina/ Dalfopristina	QDA	S<=1 R>=4	0,5	0	99,5
Rifampicina	RIF	S<=1 R>=4	1,5	0,5	98
Tetraciclina	TCY	S<=4 R>=16	36,1	5,4	58,4
Trimetoprima/ Sulfametoxazol	SXT	S<=2 R>=4	17,8	0	82,2
Vancomicina	VAN	S<=4 R>=32	0	0	100

- **Grupo de datos 2:** siendo un interés general de la institución y de acuerdo al manejo interno que da el comité de infectología se realizó una clasificación del grado de resistencia de acuerdo a una **“Norma de semaforización institucional de alerta para antibióticos”** que incluye únicamente los antibióticos marcadores y los de consumo a nivel institucional para poder ver el comportamiento del microorganismo ante las terapias usadas. La tabla 4 ilustra el sistema de clasificación donde el color verde indica una sensibilidad entre el 91 y 100% (Resistencia 0-10%); Amarillo sensibilidad entre 81 y 90% (Resistencia 10-19%) y Rojo sensibilidad menor de 80% (Resistencia mayor al 20%). En dicho sentido el color verde significa antibióticos que pueden formularse sin problema, Amarillo aquellos que entran a vigilancia por el Comité de Infecciones y Comité de antibióticos para su formulación, y en rojo aquellos que por su alta refractariedad necesitan consulta obligatoria ante el infectólogo. La tabla 5 toma los porcentajes de la tabla anterior y ubica los antibióticos bajo esta clasificación.

Tabla 4. Semaforización para alerta de antibióticos Clínica Nueva – Bogotá

COLOR DE ALERTA	% RESISTENCIA
BAJA RESISTENCIA	0-10%
MEDIANA RESISTENCIA	10,1-20%
ALTA RESISTENCIA	20,1-100%

Tabla 5. Clasificación de los antibióticos para CGP de acuerdo a la Semaforización para alerta de antibióticos Clínica Nueva – Bogotá. Las siglas de los antibióticos están definidas en la tabla 3.

Clasificación según alerta institucional	Antibióticos que se incluyen
Baja resistencia	<i>DAP, LNZ, QDA, RIF, VAN</i>
Mediana resistencia	<i>AMC, SXT</i>



Alta resistencia	AMP, SAM, CZO, CIP, CLI, ERY, GEN, LVX, MFX, OXA, PEN, TCY
-------------------------	---

**Amoxicilina/ Ácido clavulánico AMC, Ampicilina AMP, Ampicilina/ Sulbactam SAM, Cefazolina CZO, Ciprofloxacina CIP, Clindamicina CLI, Daptomicina DAP, Eritromicina ERY, Gentamicina GEN, Levofloxacina LVX, Linezolid LNZ, Moxifloxacina MFX, Oxacilina OXA, Penicilina G PEN, Quinupristina/ Dalfopristina QDA, Rifampicina RIF, Tetraciclina TCY, Trimetoprima/ Sulfametoxazol SXT, Vancomicina VAN.

Los datos muestran de manera alarmante como el (12) 63% de los antibióticos se encuentran en la zona roja de pre medicación, el 11% (2) en la zona amarilla y solo el 26% (5) como son Daptomicina, Linezolid, Quinupristina/ Dalfopristina, Rifampicina y Vancomicina presentan alta eficacia con resistencias menores al 10% siendo un dato preocupante para la entidad dado que es muy reducido el número de opciones para tratamiento.

○ **Grupo de datos 3:**

- Teniendo presente la justificación del trabajo y la exigencia de la SDS para incluir dentro de la base de datos de Whonet institucional el reporte sobre el posible fenotipo de resistencia, se realizó una clasificación adicional de los diferentes fenotipos de resistencia realizada mediante la metodología propuesta por Torres y col, 2006 explicada en la tabla 2 del marco teórico del presente documento. Para tal fin se tomaron aquellos antibióticos y se subclasificaron en los siguientes “posibles” fenotipos según antibiograma:
 - *Staphylococcus BLAC* si únicamente se observaba producción de penicilinasas sin otro tipo de resistencia acompañada.
 - *Staphylococcus aureus MR* - Meticilino resistente si las pruebas de oxacilina y Cefoxitin eran positivas
 - *Staphylococcus* con una variante de fenotipo MLS si se observaba resistencia sola o acompañada entre Clindamicina y Eritromicina ya sea constitutiva o inducida. Debe aclararse que el panel utilizado PC34 incluía prueba confirmatoria para Clindamicina (iCd) lo cual obviaba la confirmación por el Test D para estos antibióticos.
 - *Staphylococcus* resistentes a un antibiótico en particular: AR (Aminoglucosido resistentes), GR (Glucopéptido resistente, VaR (Vancomicina resistente).



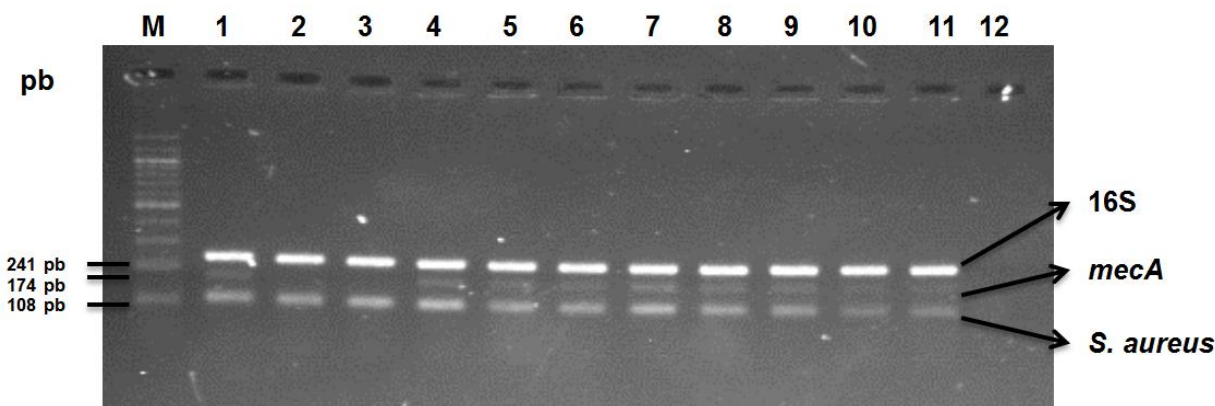
- Estos fenotipos dentro de este proyecto son tomados como “posibles o presuntivos” ya que la confirmación específica se hará a través de biología molecular en otra tesis experimental en la fase que sigue a este proyecto.
- Los datos que se muestran en la tabla 6 permiten observar que el fenotipo predominante fue el Meticilino resistente con el 50.5% de los casos seguidos del cMLS con un 36,6% de los casos y Aminoglucósido resistentes con un 26.2% de resistencia a gentamicina. Los otros casos presentaron porcentajes entre el 2 y 22%
- Debe aclararse que algunas cepas presentaron más de un fenotipo al tiempo especialmente los Meticilino resistentes que presentaban un 30.6% de resistencia tanto a Clindamicina/eritromicina, razón por la cual la sumatoria de casos de la tabla 6 es mayor a los 202 aislamientos realizados.

Tabla 6. Distribución de los fenotipos de resistencia observados en las 202 cepas de *Staphylococcus* según clasificación de Torres y colaboradores 2006.

Fenotipo observado	Número de cepas	Porcentaje
BLAC – Penicilinasas solas	100	49.5
MR – Meticilino resistente	102	50,5
Quinolono resistente (Incluye levofloxacina, Ciprofloxacina, Moxifloxacina)	44	22.0
Gentamicino resistentes	53	26.2%
cMLS –constitutivo	74	36.6%
iMLS – inducido	4	2.0%

**BLAC betalactamasasa, MR meticilino resistente, cMLS constitutivo macrólido/ lincosamida/ streptograminas, iMLS inducido macrólido/ lincosamida/ streptograminas.

- **Presencia del gen *MecA* en cepas de *Staphylococcus aureus***
 - Derivado del tercer objetivo específico y con el fin de iniciar el proceso de caracterización molecular, base del proyecto derivado de este, se inició la evaluación molecular de las 102 cepas resistentes a meticilina y para ello se seleccionaron solo aquellas que fueron identificadas como SAMR. El proceso se realizó mediante un servicio técnico para la identificación el gen *MecA* y los datos fueron facilitados a este proyecto para realizar una comparación con los resultados manuales obtenidos en la prueba manual de Cefoxitin. La identificación bioquímica mostró que de estas 102 cepas 69 eran SAMR, cepas a las cuales se les extrajo el ADN y se montó PCR multiplex siguiendo la metodología propuesta por Martineau F y col, 2000 (19). Se tomó como positiva una prueba que ante el corrido



electroforético evidenciara una banda de 108pb (*S. aureus*), 174pb (MecA) y 241pb (16S) encontrándose que de las 69 cepas enviadas las 69 tenían la banda característica del gen MecA y tanto el control negativo como el control positivo usando cepas ATCC 43300 y 25923 funcionaron correctamente.

Figura 1. Scanner fotográfico electroforesis en gel de agarosa al 2 % de productos amplificados de *S. aureus* tincionados con Bromuro etidio – SAMS (*S.aureus* meticilino sensible; SAMR *S.aureus* meticilino resistente). (Fotografía autorizada por V.Smith 2013).

M: Marcador de Peso Molecular; Carril 1: Control positivo *S. aureus* ATCC 43300; Carril 2: Control negativo *S. aureus* ATCC 25923; Carril 3: SAMS (100); Carril 4: SAMR (92); Carril 5: SAMR (93); Carril 6: SAMR (94); Carril 7: SAMR (95); Carril 8: SAMR (96); Carril 9: SAMR (97); Carril 10: SAMR (98); Carril 11: SAMR (99); Carril 12: Control negativo (Mezcla sin ADN).

• **Distribución de las infecciones**

○ **Observaciones:**

- Para cumplir con el objetivo final del estudio y evaluar el impacto de *Staphylococcus* en la comunidad clínica se analizaron las variables propuestas y contenidas dentro de la base de datos de Whonet 5.6.
- Los *Staphylococcus* MS (Meticilino sensible) y MR (meticilino resistente) se tabularon en un solo grupo teniendo presente género y especie únicamente dado que el impacto clínico y la gravedad de la infección de acuerdo a los índices Apache usados por el Comité de infecciones se asocia más con la condición de base del huésped y los factores de riesgo asociados que con el perfil de resistencia antibiótica siendo relevante su caracterización únicamente a nivel de casos de IIH.

○ **Distribución de las infecciones causadas por *Staphylococcus* por servicio**

- Es así como vemos que tabulados los datos como se muestra en la tabla 7 y gráfico 1, se encontró que la mayoría de aislamientos para las diferentes especies de *Staphylococcus* fueron realizados en los servicios de urgencias con 51 casos (25.4%) y no UCI con 110 casos (54.4%). De acuerdo con los resultados en UCI en todos los microorganismos presenta el menor número



de casos: 41 (20.2%) distribuidos 35 para sau, 3 para sep, 3 para sho y ninguno para shy. Igualmente se puede observar que la mayoría de casos corresponde a *S. aureus* con 172 casos (85.1%): 44 en urgencias, 35 en UCI y 93 en no UCI. De los 30 casos (14.8%) por bacterias ECN (estafilococos coagulasa negativo) se puede observar que más del 50% de ellos provienen de los servicios de No UCI: 6 para sep, 10 para sho y 1 para shy.

Tabla 7. Distribución de los 202 aislamientos de cepas de *Staphylococcus* en los diferentes servicios de la institución clínica.

Código SDS	Microorganismo	Total de aislamientos	Número de aislamientos	Tipo de localización
Sau	<i>Staphylococcus aureus</i>	172	44	Urgencias
			35	UCI
			93	No UCI
Sep	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	13	4	Urgencias
			3	UCI
			6	No UCI
Sho	<i>Staphylococcus hominis</i>	16	3	Urgencias
			3	UCI
			10	No UCI
Shy	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1	No UCI

**UCI; unidad de cuidados intensivos, no UCI servicios diferentes a UCI sin incluir urgencias como son pisos, cirugía, ambulatorios.

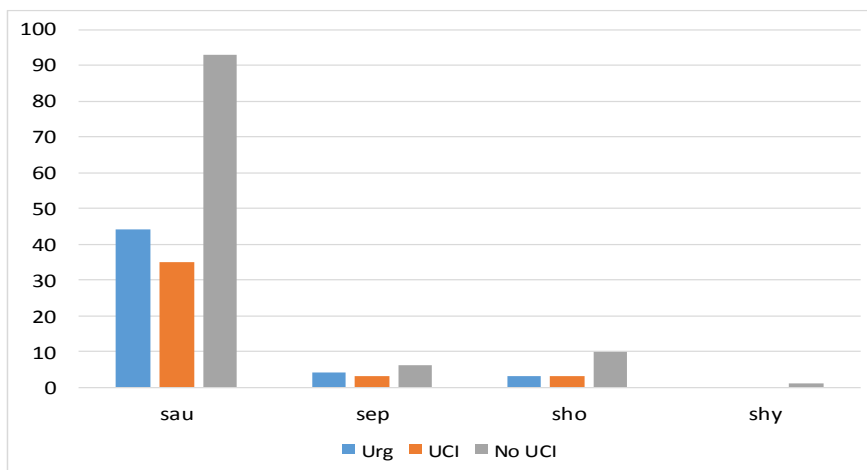


Gráfico 1. Distribución de los 202 aislamientos de cepas de *Staphylococcus* en los diferentes servicios de la institución clínica.

Simbología: UCI; unidad de cuidados intensivos, no UCI servicios diferentes a UCI sin incluir urgencias como son pisos, cirugía, ambulatorios; sau *Staphylococcus aureus*, sep *Staphylococcus epidermidis*, sho *Staphylococcus hominis*, shy *Staphylococcus haemolyticus*.



○ **Distribución de las infecciones causadas por *Staphylococcus* por origen de muestra**

- La tabla 8 Gráfico 2 muestra que los *Staphylococcus* en todas sus especies tenían principalmente su origen en hemocultivos con 62 casos en total (30,6%), muestras respiratorias 34 en total (16,8%) y piel 35 casos en total (17,3).

Tabla 8. Distribución de los 202 aislamientos de cepas de *Staphylococcus* en las diferentes muestras del cual fueron aislados.

Microorganismo	Muestra	Casos	Microorganismo	Muestra	Casos	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sangre	49	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sangre	6	
	Piel	32		Espujo	2	
	Traqueal	14		Traqueal	2	
	Espujo	14		Articulación	1	
	Articulación	13		Labios	1	
	Hueso	9		Mama	1	
	Herida	7				
	Herida quirúrgica	4	<i>Staphylococcus hominis</i>	Sangre	7	
	Catéter	4		Hueso	2	
	Pie	3		Piel	2	
	Faringe	3		Líquido abdominal	1	
	Orina	2		Catéter	1	
	Músculo	2		Herida	1	
	Mama	2		Lavado bronco-alveolar	1	
	Líquido pleural	2		Líquido pleural	1	
	Líquido abdominal	2				
	Lavado bronco-alveolar	2		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Piel	1
	Riñón	1				
	Páncreas	1				
	Oído	1				
	Líquido gástrico	1				
	Heces	1				
	Genital, hombre	1				
	Absceso abdominal	1				
	Abdomen	1				

- Igualmente se puede observar que *Staphylococcus* en todas sus especies incluyendo a *S. aureus* y los ECN tiene la capacidad de causar un amplio espectro de infecciones en casi todas las partes del cuerpo pues en total fueron aislados en 27 muestras diferentes como lo muestra la tabla 8.
- Dado que *S. aureus* es el que se encontraba en mayor número de casos igualmente es el que se encuentra distribuido en un mayor número de muestras.

- Adicionalmente se observa que las especies ECN aunque en menor proporción tienen la misma capacidad de colonizar e infectar diferentes partes del cuerpo de la misma forma que lo hace los *S. aureus*.

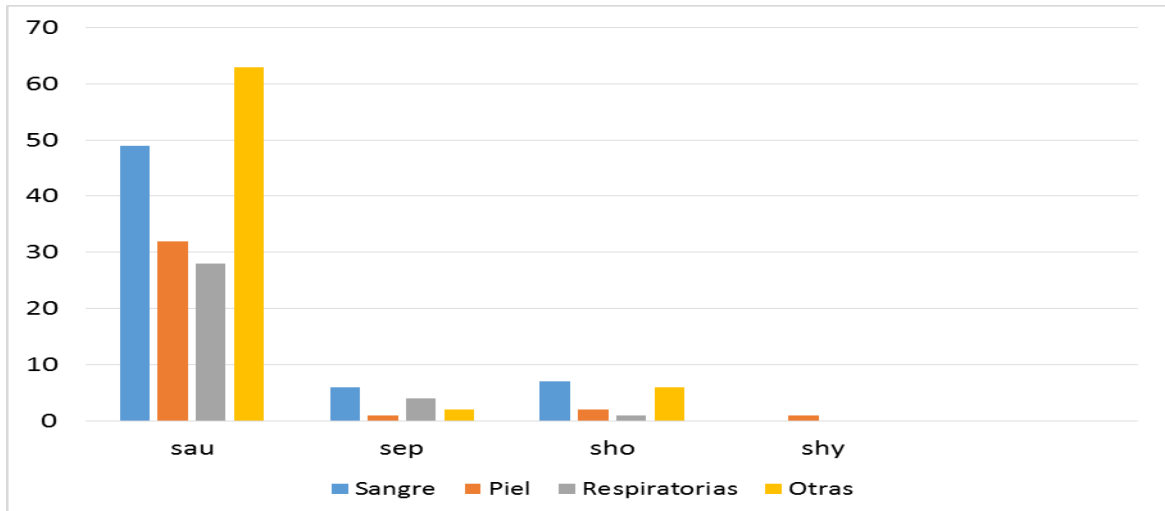


Gráfico 2. Distribución de los 202 aislamientos de cepas de *Staphylococcus* en las diferentes muestras del cual fueron aislados mostrando los 3 principales sitios de aislamiento para cada uno de los microorganismos. Simbología: *sau Staphylococcus aureus*, *sep Staphylococcus epidermidis*, *sho Staphylococcus hominis*, *shy Staphylococcus haemolyticus*.

- **Distribución de las infecciones causadas por *Staphylococcus* por tipo de infección hospitalaria**
 - **Observaciones:**
 - Dada la alta ubicuidad y el espectro de infecciones tan elevado que pueden originar los *Staphylococcus* se analizó el verdadero impacto que pueden tener estos microorganismos dentro de la institución y para ello se sacó el porcentaje de cuantas de las infecciones correspondían a procesos adquiridos en la comunidad (AC) y cuantas a infecciones intrahospitalarios (IIH). Igualmente dada la necesidad de ir caracterizando la flora circulante en la institución y del impacto interno que pueden llegar a tener las cepas resistentes se analizó cuantas de las IIH estaban asociadas a cepas meticilino resistentes.
 - **Infecciones intrahospitalarias:**
 - La tabla 9 gráfico 3 muestra que el 13.8% (28/202) de las cepas fue asociado por el Comité de infecciones como cepas generadoras de procesos de IIH y dentro de ellas el 10.3% (21/202) era por *S. aureus*. Se destaca la importancia de las cepas ECN en las IIH lo cual se evidencia en particular con las cepas *sho* donde pese a su bajo número (16 casos) el 37.5% (6/16) fue asociado a IIH.

Tabla 9. Distribución de los 202 aislamientos de cepas de *Staphylococcus* a nivel de infecciones intrahospitalarias. Simbología: AC adquirida en la comunidad; IIH Infección intrahospitalaria.

Código	Microorganismo	INFECCION HOSPITALARIA	Número de aislamientos
Sau	Staphylococcus aureus	AC	151
		IIH	21
Sep	Staphylococcus epidermidis	AC	12
		IIH	1
Sho	Staphylococcus hominis	AC	10
		IIH	6
Shy	Staphylococcus haemolyticus	AC	1

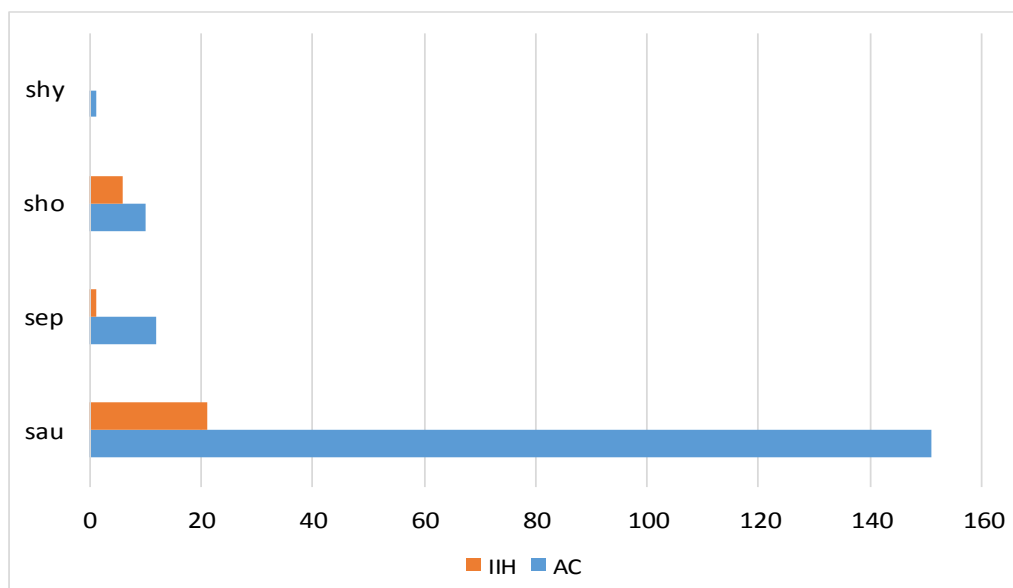


Gráfico 3. Distribución de los 202 aislamientos de cepas de *Staphylococcus* a nivel de infecciones intrahospitalarias. Simbología: AC adquirida en la comunidad; IIH Infección intrahospitalaria; sau *S.aureus*; sep *S.epidermidis*; sho *S.hominis*; Shy *S.hycus*

- *Cepas meticilino resistentes e IIH.*
 - De los 28 casos de IIH asociados a *Staphylococcus* (13.8%) se observó que 16 cepas (7.9%) eran meticilino resistentes. Ver Tabla 10. Igualmente se pudo observar que las cepas MR causantes de IIH ubicaba 11 cepas de *S. aureus* (5.44%) pero que también habían cepas del grupo ECN con 5 casos equivalentes al 2.47%.



Tabla 10. Frecuencia de cepas meticilino resistentes dentro de las cepas de *Staphylococcus* causantes de infecciones intrahospitalarias.

Código	Microorganismos Meticilino resistentes causantes de IIH	Número de aislamientos
Sau	<i>Staphylococcus aureus</i>	11
Sep	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
Shy	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1
Sho	<i>Staphylococcus hominis</i>	3

7. DISCUSION

Las bacterias del género *Staphylococcus* han sido asociadas a infecciones adquiridas en la comunidad (AC) como a infecciones intrahospitalarias (IIH) causando diferentes patologías infecciosas dependiendo de las condiciones clínicas del huésped.

Este tipo de microorganismos se encuentran principalmente en piel y fosas nasales como microbiota normal, en donde se ha considerado que alrededor del 20 al 30% de la población es portadora de ellas (5) (11). El género bacteriano incluye como principal agente infeccioso a *S. aureus* (SA) aunque otras especies catalogadas como *Staphylococcus coagulasa negativa* (ECN) también pueden estar implicadas en diferentes infecciones. En el presente estudio los CGP representan 1/ 3 del total de las infecciones causadas dentro de la institución y de ellas el 63% correspondió al género *Staphylococcus*. Estos datos son similares a los reportados en el último informe actualizado del grupo GREBO para el distrito correspondiente al primer semestre del 2013 donde muestra que *S.aureus* es el segundo microorganismo que mayor número de infecciones produce en Bogotá después de la *E.coli* y su proporción es de 1 CGP por cada 2.6 BGN reportados (32). La tipificación de cepas y cuantificar el número de infecciones por CGP permitirá obtener una información más completa sobre la capacidad de diseminación de estos microorganismos permitiendo un mejor control de las infecciones a través de la implementación, ejecución y cumplimiento de medidas de control y prevención como son higiene, lavado de manos, uso de equipo mínimo de protección (18).



Dentro del género *Staphylococcus* reviste gran importancia el SA que causa un amplio espectro de infecciones en piel, tracto respiratorio alto y bajo, gastrointestinales, sepsis, endocarditis, y osteomielitis entre otras. Adicionalmente es a menudo el responsable de enfermedades mediadas por toxinas, tales como síndrome de choque tóxico, síndrome de la piel escaldada y enfermedades transmitidas por alimentos (11). No obstante también se ha encontrado que puede ser el responsable de provocar bacteremia, relacionada con catéteres venosos centrales y neumonía asociada a ventilación mecánica; y así mismo se puede difundir a nivel local o tener acceso al torrente sanguíneo donde una vez en la sangre, *S. aureus* puede propagarse a sitios periféricos en órganos distantes (11) (5). En la institución se observó un comportamiento similar al descrito en la literatura y reportado por varios autores donde de las 202 cepas el 85% correspondían a SA y fueron aisladas de diversos sitios anatómicos principalmente de Hemocultivos – 49 casos, Tracto respiratorio – 32 casos (Esputo, Líquido pleural, traqueal, lavado broncoalveolar) y piel 32 casos (Tabla 8). A nivel distrital el informe GREBO muestra datos similares en las muestras reportadas por las diferentes UPGD donde SA es aislado principalmente de piel, Sangre, respiratorias y heridas quirúrgicas (32) y estudios en hospitales de complejidad similar como los efectuados por Kaplan, 2006 (33) Sosa y colaboradores, 2010 (34) ubica principal al microorganismo en piel, tejidos blandos e infecciones osteoarticulares (33) (34).

Por otro lado los *Staphylococcus* coagulasa negativa aunque inicialmente en muchas instituciones a nivel hospitalario eran considerados por lo general como contaminantes de muestras clínicas, con escasa importancia y con baja patogenicidad en los seres humanos; su aislamiento ha venido siendo valorado y estudiado clínicamente, debido a que su incidencia no solo ha ido aumentando a nivel clínico, sino que así mismo, se ha relacionado como un patógeno significativo en pacientes inmunodeficientes y en aquellos con catéteres intravenosos y dispositivos médicos (21). Su importancia también radica según publicaciones de otros autores, en que estos microorganismos son típicamente más resistentes que *S. aureus* a los diferentes antimicrobianos utilizados como primera opción de tratamiento como son los betalactámicos, por ende, el antibiótico utilizado para su tratamiento es la vancomicina (21). En el estudio efectivamente se observó que aunque solo 30 cepas (15%) de las cepas 202 eran ECN, estas presentaron un fuerte impacto en las infecciones pues 7 de ellas eran meticilino resistente (Tabla 9) y de ellas 5



estuvieron asociadas a IIH (Tabla 10) y aunque no fue parte del objetivo del estudio ni se analizó, al realizar una revisión de medicamentos a nivel institucional se evidenció que el antibiótico de base para tratamiento reglamentado institucionalmente es la Vancomicina. Estos datos son similares a los reportados por GREBO donde *S. epidermidis* y *hominis* ocupan el 5 y 6 lugar en importancia de las infecciones en Bogotá y más del 50% de las cepas es resistente a Meticilina (32).

Dentro de las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativa se destaca con mayor frecuencia *S. epidermidis*, encontrado en primera instancia en fosas nasales, piel, mucosas, infecciones urinarias; además es considerado un patógeno nosocomial en infecciones relacionadas con implantes médicos como catéteres, válvulas cardíacas, prótesis. Su patogenidad se encuentra relacionada con la capacidad de producir biofilmes, que son polisacáridos extracelulares que promueven la adhesión célula-célula, siendo este un factor de virulencia (20). *S. hominis* es un patógeno de bajo grado involucrado en procesos infecciosos, el cual se destaca por ser el causante de sepsis relacionada con catéteres en pacientes inmunosuprimidos; *S. haemolyticus*, es un microorganismo que forma parte de la flora normal de la piel, el cual ha sido reconocido como el causante de infecciones urinarias, de tejidos blandos, heridas y bacteremias primarias e hospitalarias; Así mismo, su importancia clínica se basa respecto en revisiones bibliográficas en que las cepas de *S. haemolyticus* presentan una CIM relativamente alta a vancomicina, apuntando a que la presencia de clones resistentes se originan en cepas preliminarmente sensibles que han tenido contacto con el antimicrobiano; lo cual resalta la importancia de la identificación correcta junto con el control de su diseminación en el ámbito hospitalario (20). Esta situación se ve reflejada en el presente estudio donde se aislaron 30 cepas de *ECN* (Tabla 9) prácticamente de los mismos sitios anatómicos donde se ubicaba SA de las cuales impactaron negativamente 1 de *S. epidermidis* y 6 de *S. hominis* fueron asociadas a IIH lo cual muestra la importancia de estos microorganismos aparentemente no patógenos dentro de la etiología de las infecciones IIH sino también la capacidad de comportarse como patógenos oportunistas y producir resistencia a los diferentes antimicrobianos utilizados para su tratamiento y control, aspecto que se explicará en los siguientes párrafos (2). Diferentes estudios resaltan la importancia de *S. hominis* en los reportes pues se ha demostrado que



ocasionan brotes por transmisión cruzada. Por estas razones se debe considerar este patógeno como causante de bacteriemias (9).

El incremento de la resistencia a la mayoría de los antibióticos comúnmente usados se presenta tanto por especies *SA* como *ECN* aspecto generado una alarma no solo a nivel institucional sino nacional e incluso mundial, debido a las pocas opciones de tratamiento existentes para las personas infectadas con una cepa resistente, las cuales pueden tener serias repercusiones en el paciente dependiendo de su condición. El conocimiento del patrón de resistencia permite diseñar los esquemas de tratamiento antibiótico empírico y para la implementación de medidas de control de infecciones a fin de evitar la diseminación de cepas resistentes en el hospital (25). Institucionalmente existe el inconveniente que el personal especialista no contempla el uso de varias opciones dentro del tratamiento y solo mantiene la Vancomicina como uso general dado que los reportes siempre han presentado un 100% de sensibilidad con concentraciones menores a 1.0 g/ml, debido a que los glucopeptidos son un grupo de antibióticos capaces de presentar un espectro de actividad restringido a microorganismos Gram positivos como los *Staphylococcus* (18). Sin embargo, el uso de este antibiótico puede llevar con el tiempo a incrementar las cepas intermedias (VISA) y resistentes a dicho antibiótico (VaR) y que antibióticos como Daptomicina, Linezolid, Rifampicina y Synercid que institucionalmente están dentro de la semaforización verde y podrían utilizarse a cambio de Vancomicina tienen baja demanda dentro de las formulaciones médicas (Tabla 3 y 5). El estudio mostró que las cepas Meticilino resistentes se ubicaban tanto en *SA* como *ECN* con un 50.5% y que de ellos el 36% presentaba resistencia simultánea a clindamicina y que por lo menos el 75% de los antibióticos presentaba resistencias entre el 20 al 36% lo cual los situaba en la zona roja o de alerta institucional (Tabla 5 y 6). Esta alta resistencia ya ha sido documentada por diferentes autores como la causa que puede llevar al fracaso terapéutico que están teniendo los pacientes infectados (25).

Normalmente se ha visto que el número de infecciones y la resistencia antibiótica a los mismos pueden variar mucho dependiendo del servicio clínico donde esté ubicado el paciente. En los pacientes que se encuentran hospitalizados en UCI las bacteriemias se asocian principalmente a infecciones por un catéter venoso, siendo esta una de las principales fuentes de infección en tanto que los pacientes que se ubican en servicios no



UCI (hospitalizados, urgencias, cirugía, otros) las infecciones se circunscriben más hacia piel y tejidos blandos (4). El estudio mostró en la tabla 7 que los servicios No UCI y urgencias presentaron mayor número de casos comparado con los servicios de UCI. Estos datos son similares a los reportados a nivel distrital donde se ha visto que los *Staphylococcus* en No UCI son >10% y en UCI inferiores a ese porcentaje. Dicha situación se debe probablemente a que la UCI cumple con unas políticas de control más estrictas tanto en el uso de antibióticos como con respecto al ámbito de prevención y detección (25).

Aunque existen diferencias entre cepas adquiridas en la comunidad y los adquiridos intrahospitalariamente. Dichas diferencias se basan básicamente en la conformación genética del microorganismo y que al mismo tiempo hacen que las distintas cepas muestren diferentes perfiles de resistencia antibiótica y factores de virulencia característicos de cada una (10). El estudio mostró que aunque son pocos los CGP que hay en los servicios UCI estos causan IIH y en su mayoría son Meticilino resistente. Es posible que las cepas hospitalarias infecten a pacientes hospitalizados, generando así un cambio del flujo tradicional de la infección desde la comunidad al hospital donde prevalece *S. aureus* con un mayor porcentaje de frecuencia, siendo el responsable de gran cantidad de infecciones en la comunidad y de un número importante de infecciones nosocomiales. Nuestro estudio muestra que actualmente este microorganismo ya no solo es un patógeno limitado al ambiente hospitalario si no por el contrario, las infecciones intrahospitalarias con respecto a las que correspondían a procesos adquiridos en la comunidad presentaban un índice del 13,8% en donde en su mayoría pertenecían a *S. aureus* con 10,3%.

Finalmente vemos que es de vital importancia estudiar y conocer cada una de las características de las especies de *Staphylococcus*, ya que esto no solo nos permite identificar sus mecanismos de acción y patogenicidad para poder diagnosticar y tratar de manera efectiva cada una de las infecciones generadas por estos microorganismos, sino que así mismo nos ayuda a implementar políticas de prevención y control eficaces que permitan la disminución de los índices de incidencia en la comunidad como a nivel hospitalario; reduciendo el impacto generado tanto en la salud de la población como a



nivel económico, debido a que muchos de los antibióticos utilizados para la erradicación de infecciones generadas por cepas de *Staphylococcus* son altamente costosos.

8. CONCLUSIONES

- Con base a los resultados obtenidos y de acuerdo con la revisión bibliográfica, la cepa que presenta una mayor prevalencia en infecciones intrahospitalarias es *S. aureus* (85%), además se observa la presencia de una alta resistencia a los antibióticos utilizados en tratamientos de carácter rutinario (63%); en donde más de la mitad de las cepas aisladas presentan el fenotipo MR con presencia del gen *MecA*.
- Los antibióticos con mayor eficacia para combatir las infecciones causadas por *Staphylococcus* son Vancomicina, Daptomicina, Linezolid, Quinupristina/ Dalfopristina y Rifampicina; siendo esto de gran preocupación debido a las limitadas opciones de tratamiento y al constante riesgo que representa la aparición de nuevas resistencias por parte de los *Staphylococcus*; en donde se genera una gran amenaza debido a las infecciones originadas por estos microorganismos a futuro y que no puedan ser plenamente tratadas.
- Las cepas de *Staphylococcus* en sus diferentes especies, presentan un amplio espectro de infecciones en casi todas las partes del cuerpo, aunque en primera instancia proceden de aislamientos generados a partir de hemocultivos (30,6%); así mismo, los resultados originados de esta investigación señalan que actualmente los *Staphylococcus* ya no son un patógeno limitado del ambiente hospitalario, debido a que su mayor incidencia proviene de adquisiciones en la comunidad; aunque no deja de ser de suma importancia el porcentaje de adquisición intrahospitalario (13,8%) de los cuales 10,3% pertenece a *S. aureus*, el cual debe ser ampliamente controlado y monitorizado por la clínica en donde se realizó el presente estudio.



9. SUGERENCIAS

- Realizar PCR multiplex a todas cepas de origen intrahospitalario y no solo a *S. aureus*, lo cual permitirá conseguir un mayor control sobre la resistencia en las diferentes especies de *Staphylococcus*.
- Debido al riesgo constante que se presenta en la aparición de resistencia por parte de los *Staphylococcus* a los diferentes antibióticos, se le sugiere al personal médico manipular y medicar de modo responsable los antibióticos utilizados para el manejo de las diferentes infecciones generadas por este tipo de microorganismos; haciendo un estudio detallado en donde se evalúe según las condiciones y características del paciente que tipo de medicamento es el más adecuado para su tratamiento; así mismo se debe concientizar a cada uno de los pacientes sobre la importancia de realizar el tratamiento hasta el final siguiendo plenamente las indicaciones médicas.
- Es necesario que las áreas de microbiología de cada laboratorio clínico realicen una vigilancia permanente de las cepas de *Staphylococcus* frente a la resistencia a los diferentes antimicrobianos, y así mismo debe disponer de métodos de diagnóstico que sean no solo rápidos y sensibles, sino altamente específicos para su plena identificación.
- Generar estrategias de prevención tanto a nivel hospitalario como en la comunidad que eviten la diseminación de las diferentes especies de *Staphylococcus*.
- Realizar un control interlaboratorios para determinar la susceptibilidad y resistencia generada a todos los antibióticos por parte de los *Staphylococcus*.



10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. 2007; Available at: http://dna.uga.edu/docs/QIAamp_DNA_Mini_and_Blood_Mini_Handbook%20%28Qiagen%29.pdf.
- (2) Álvarez Lerma F, Palomar M, Insausti J, Olaechea P, Cerdá E, Sánchez Godoy J, et al. Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos. *Medicina clínica* 2006;126(17):641-646.
- (3) Antonia Meseguer M, Begoña Cacho J, Oliver A, de la Bellacasa JP. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2008 9;26(7):430-436.
- (4) Borges M, Serrano R, León C, Guirao X, Arias J, Carreras E, et al. Guía de tratamiento de la infección producida por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. *Rev Esp Quimioter* 2008;21(4):234-258.
- (5) Castañón-Sánchez CA. Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus*. *Evid Med Invest Salud* 2012;5(3):79-84.
- (6) Cavanagh JP, Klingenberg C, Hanssen A, Fredheim EA, Francois P, Schrenzel J, et al. Core genome conservation of *Staphylococcus haemolyticus* limits sequence based population structure analysis. *J Microbiol Methods* 2012 6;89(3):159-166.
- (7) Cifuentes Y, Ruiz A, Leal A, Muñoz L, Herrera M, Jiménez L. Perfil microbiológico de aislamientos en unidades neonatales en un hospital de tercer nivel de Bogotá, Colombia. *Rev Salud Pública* 2005;7:121-129.
- (8) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22 2012;32(3):1-179.
- (9) Coria L, Mora S, Pérez R, Cruz G, Vázquez F. Bacteriemia nosocomial por *Staphylococcus hominis* porción, brote en la Unidad de Cuidados Intensivos neonatales de la ONU Hospital de Alta especialidad. 2010;XXIII(91):87-92.
- (10) Cortes JA, Gómez CA, Cuervo SI, Leal AL, GREBO. Implicaciones en salud pública de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad en Bogotá, Colombia. *Rev. Salud Pública (Bogotá)* 2007;9(3):448-454.
- (11) De Colsa A. *Staphylococcus aureus*: De la genómica a la clínica. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 2011;24:91-94.
- (12) Dohin B, Gillet Y, Kohler R, Lina G, Vandenesch F, Vanhems P, et al. Pediatric bone and joint infections caused by Pantón-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus*. *Pediatr Infect Dis J* 2007 Nov;26(11):1042-1048.
- (13) Gros C, Yazdanpanah Y, Vachet A, Roussel-Delvallez M, Senneville E, Lemaire X. Skin and soft tissue infections due to Pantón-Valentine leukocidin producing *Staphylococcus aureus*. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2012 10;42(10):488-494.
- (14) Hoffman D, Brown G, Lombardo F. Early-onset sepsis with *Staphylococcus auricularis* in an extremely low-birth weight infant—an uncommon pathogen. *Journal of Perinatology* 2007;27(8):519-520.
- (15) Incani RN, Hernández M, Cortez J, González ME, Dorel Salazar Y. *Staphylococcus warneri* meningitis in a patient with *Strongyloides stercoralis* hyperinfection and lymphoma: first report of a case. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 2010;52(3):169-170.
- (16) Lin J, Cheng C, Kuo A, Liu T, Yang C, Huang C, et al. Clinical experience and microbiologic characteristics of invasive *Staphylococcus lugdunensis* infection in a tertiary center in northern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* (0).
- (17) Livermore DM. Antibiotic resistance in staphylococci. *Int J Antimicrob Agents* 2000 11;16, Supplement 1(0):3-10.
- (18) Mamani E, Luján, Pajuelo G. Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*: Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. *Anales de la Facultad de Medicina: UNMSM. Facultad de Medicina*; 2006. 67 (2): 120-124.
- (19) Martineau F, Picard FJ, Lansac N, Menard C, Roy PH, Ouellette M, et al. Correlation between the resistance genotype determined by multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 Feb;44(2):231-238.
- (20) Moreno-González ME, Ruiz-Galindo E. *Staphylococcus epidermidis* formador de biofilm en blefaroconjuntivitis. *REVISTA MEDICA DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, S S* 2007;70:24-29.
- (21) Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Staphylococcus y cocos grampositivos relacionados*. *Microbiología Médica*. 6 Ed (6a edición) ed. España; 2009. p. 209-240.
- (22) OMS. ESTRATEGIA MUNDIAL De La OMS párr Contener La Resistencia A Los antimicrobianos. Available at: <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892001001000014>. Accessed 12/30, 2013.
- (23) Otto M. Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus**. *Annu Rev Microbiol* 2010;64:143-162.
- (24) PA E. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. 2001:1-93.



- (25) Pavas N, Rodríguez EI. Resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos en un hospital de la orinoquia colombiana. *Infectio* 2011;14(3).
- (26) Plata K, Rosato AE, Wegrzyn G. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochim Pol* 2009;56(4):597-612.
- (27) Ramón E. Andrade P., Evelys Villarroel, Nartesky Rivero, Pedro Navarro. Aspectos epidemiológicos, clínicos y bacteriológicos en infección urinaria por *Staphylococcus saprophyticus*. *Act Cient de la Soc Venez de Bioanal Espec* 2007;10(1 y 2):18-26.
- (28) Rodríguez Gallego A, Arnau de Bolós J. Glucopéptidos. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 2006;9(50):3282-3288.
- (29) Sánchez P, Muñoz R, Gutiérrez NP. Resistencia bacteriana a Los Antibióticos: Mecanismos de Transferencia. *Spei Domus* 2012;8(17):31-37.
- (30) Torres C. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2002;20(7):354-364.
- (31) Widerstrom M, Wistrom J, Ferry S, Karlsson C, Monsen T. Molecular epidemiology of *Staphylococcus saprophyticus* isolated from women with uncomplicated community-acquired urinary tract infection. *J Clin Microbiol* 2007 May;45(5):1561-1564.
- (32) Ovalle María V. Informe Resistencia bacteriana GREBO primer semestre 2013 en COVE SDS Mayo9/2014. Conferencia Comité de Vigilancia epidemiológica, datos sin publicar.
- (33) Kaplan S. Implications of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* as a community- acquired pathogen in pediatric patients. *Infect Dis Clin N Am* 2005; 19: 747-757.
- (34) Sosa LM, Machuca MA, Sosa CA, González CI. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in children in Bucaramanga Colombia. *Rev. Univ. Ind. Santander. Salud* vol.42 no.3 Bucaramanga Sept./Dec. 2010

- 1.1. Las cepas de *Staphylococcus* provenían en un 79,8% de los servicios de no UCI, un 30.6% de ellas se asociaron a septicemias, 16,8% a infecciones en piel, y 13,8% impactaron negativamente causando infecciones intrahospitalarias. Los resultados obtenidos en el presente trabajo tuvieron un 100% concordancia en comparación con los reportados por la institución.

Abstract

1.1. Introduction: Staphylococcus strains resistant to methicillin and other antibiotics are frequently associated with high morbidity and mortality infectious diseases. Methicillin resistance is the result of the production of a protein called PBP2a altered encoded by the *mecA* gene which has a decreased affinity for most beta-lactam antibiotics.

1.2. Justification: The District Department of Health (SDS) through epidemiological surveillance subsystem infections associated with health care (IACS) in the protocol PRO-R02.0000-043 as objective that from 2014 all primary Units generators (UPG) should be monitored continuously and systematically strains of *Staphylococcus aureus* and called coagulase-negative staphylococci (ECN) in order to characterize the phenotypes of circulating resistance in each institution to assess the impact of prevention measures, monitoring and control.

1.3. Objective: To document the profile of antimicrobial resistance of *Staphylococcus* circulating in New Clinic, hospital tertiary institution.

1.4. Results: 320 serotypes 63% (202 strains) were the *Staphylococcus* genus and of these 85% (172 strains) were identified as *Staphylococcus aureus*. The resistance profile showed that 50.5% (102) strains were methicillin resistant *Staphylococcus* (MRSA) and 30.6% of them were resistant to erythromycin / Clindamcina. 50.5% of the strains classified as methicillin resistant, 34.1% were methicillin-resistant aureus (MRSA). Strains of *Staphylococcus* came in 79.8% of non-ICU services, 30.6% of them were associated with sepsis, 16.8% to skin infections, and 13.8% negatively impacted causing nosocomial infections. The results obtained in this study had a 100% concordance compared with those reported by the institution.