

***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en estudiantes de Bacteriología y Laboratorio Clínico**

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from students of Bacteriology and Clinical Laboratory

Diana Paola López-Velandia¹, Viviana Alexandra Benítez-Matallana², Jenny Carolina Hernández-Barrera³, Román Yesid Ramírez-Rueda⁴, Adriana María Pedraza-Bernal⁵

¹ Estudiante del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Boyacá; investigadora Semillero de Investigación en Microbiología, SIMUB.

² Estudiante del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Boyacá; investigadora Semillero de Investigación en Microbiología, SIMUB.

³ Magíster en Microbiología; profesora asistente, Universidad de Boyacá; Grupo de Investigación GRIBAC, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia

⁴ Magíster en Microbiología; Grupo de Investigación del Laboratorio de Salud Pública de Boyacá, Tunja, Colombia

⁵ Bacterióloga y Laboratorista Clínica, especialista en Epidemiología; profesora asistente, Universidad de Boyacá; Grupo de Investigación GRIBAC, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia

*Correspondencia: adrcardenas@uniboyaca.edu.co

..... Fecha de recibido: 16 - 08 - 14 Fecha de aceptación: 13 - 11 - 14

Citar este artículo así:

López-Velandia DP, Benítez-Matallana VA, Hernández-Barrera JC, Ramírez-Rueda RY, Pedraza-Bernal AM. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en estudiantes de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Revista Investig Salud Univ Boyacá. 2014;1:193 - 203

RESUMEN

Introducción. En las últimas décadas se ha observado un aumento significativo de los portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), que ha generado un gran interés por el problema que se presenta en la salud pública; cada vez son más escasas las alternativas terapéuticas con las que se cuenta.

Objetivo. Este estudio tuvo como propósito la búsqueda de aislamientos de *S. aureus* resistentes a la meticilina en estudiantes de práctica clínica de Bacteriología y Laboratorio Clínico, y los factores de asociación de importancia como: sexo, edad, lavado de manos, hospitalizaciones en el último mes, heridas y vendajes de los estudiantes con el estado de portador nasal de SARM.

Métodos. Se analizaron 51 muestras de fosas nasales; el aislamiento y la identificación se hicieron siguiendo métodos microbiológicos convencionales como coagulasa, fermentación del manitol y ADNasa y se hizo el antibiograma siguiendo los estándares del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

Resultados. De las 51 muestras se obtuvieron 16 aislamientos de *S. aureus* correspondientes al 31.3 % de estos aislamientos, 8 correspondieron a SARM. En la exploración de factores asociados no se encontró significancia estadística en ninguna de las variables evaluadas.

Conclusión. Los hallazgos y situaciones planteadas indican una posible circulación de SARM entre los estudiantes de bacteriología, y el riesgo de ser portadores, diseminadores o ambos.

Palabras clave: comunidad, susceptibilidad, *Staphylococcus aureus*, SARM, resistencia.

SUMMARY

Introduction. In recent decades, a significant rise in *Staphylococcus aureus* carriers who are methicillin resistant (MRSA) has been noted. This in turn has generated a large interest due to the fact that this creates a problem for public health. Therapeutic alternatives are becoming less common every day.

Objective. The purpose of this study was to search for isolated *Staphylococcus aureus* that are methicillin resistant in Bacteriology and Clinical Laboratory students carrying out their

clinical practice. It also examined the factors associated with this condition, of students who carry the nasal MRSA, such as; sex, age, hand washing, hospitalisation in the last month, injuries and bandages.

Methods. 51 samples of nasal cavities were analysed. The isolation and the identification were carried out following conventional microbiological methods such as coagulase, manitol fermentation and DNase. The antibiogram was done following the standards from the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Results. From 51 samples, 16 isolations of *Staphylococcus aureus* were found which corresponded to 31.3%. Of the 16 isolations, 8 corresponded to MRSA. In the research of the factors associated, no significant statistic was found in any of the variables studied.

Conclusion. The findings and different situations suggest a possible circulation of MRSA among Bacteriology students. It is also indicated that they may be carriers, disseminators or both.

Key Words: community, susceptibility, *Staphylococcus aureus*, MRSA, resistance.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia se ha evidenciado que diferentes bacterias generan mecanismos de resistencia a múltiples antimicrobianos, lo cual dificulta el manejo terapéutico. La resistencia antimicrobiana se debe, entre otras causas, al uso indiscriminado de antibióticos, al mal manejo por parte de los profesionales de la salud, a la venta sin ningún tipo de control de los medicamentos y a la automedicación pues hace que se aumenten las probabilidades que los microorganismos muten y/o adquieran genes de resistencia por ciclos incompletos de administración prolon-

gando así la duración de la enfermedad y, a su vez, aumenta el riesgo de muerte (1).

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva capaz de convertirse en un patógeno de difícil manejo, y es uno de los principales causantes de infecciones a nivel comunitario y hospitalario (2); con el transcurso de los años ha desarrollado, con facilidad, resistencia a antimicrobianos de todo tipo. Los seres humanos son su principal medio de transmisión por el contacto directo de persona a persona (3). La localización más

frecuente es el vestíbulo nasal, que constituye el reservorio en cada individuo (4). En Europa, en la década de los 60, se reportó un nuevo mecanismo de resistencia a la meticilina que había desarrollado *S. aureus*, y se le denominó *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) (5).

Inicialmente, se pensó que SARM se encontraba solo en el ambiente hospitalario, pero con el transcurso de los años, se reportó el hallazgo de casos en la comunidad, llamándose SARM-CO (*S. aureus* resistente a la meticilina de origen comunitario) (5). En ambientes extrahospitalarios, se ha demostrado que existe la posibilidad de encontrar individuos que actúan como reservorios de la bacteria con un patrón asociado a la comunidad (6,7); se pueden presentar como causa de infecciones adquiridas en la comunidad, en pacientes sin factores de riesgo establecidos para la infección por dicho patógeno (8).

Actualmente, los dos tipos de SARM, el de origen comunitario y el del hospitalario, tienen diferencias genéticas y epidemiológicas (7,9). El comunitario, SARM-CO, se caracteriza por tener el gen *mecA* en el casete cromosómico SCCmec de tipos IV y V (10), al cual se le atribuye una diseminación más fácil pero que confiere menos resistencia a los antibióticos no β -lactámicos y, asimismo, posee la capacidad de producir la leucocidina de Pantón-Valentine (LPV), una citotoxina

que provoca destrucción de los leucocitos y necrosis tisular, lo que a su vez facilita la producción de abscesos (11-13). El hospitalario, SARM-HO, presenta resistencia a múltiples antibióticos β -lactámicos y no β -lactámicos, suele poseer el casete cromosómico- SCCmec de tipos I, II y III y causa una gran cantidad de procesos infecciosos, lo cual lo hace mucho más difícil de tratar (3).

El objetivo principal de este estudio fue determinar la prevalencia de portadores nasales de SARM y los factores asociados, en estudiantes de práctica del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad de Boyacá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio observacional, analítico y de corte transversal, para explorar la presencia de SARM en los estudiantes de práctica del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad de Boyacá.

La población correspondió a 58 estudiantes, de los cuales hicieron parte aquellos que cumplieron los criterios de inclusión como: presentar su participación voluntaria y ser estudiante de práctica del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico; los criterios para excluir participantes fueron: utilizar medicamentos intravenosos, tener cirugías faciales o estar haber estado en tratamiento con antibióticos en el último mes.

En total, se incluyeron 51 estudiantes distribuidos así: 17 de octavo semestre, 25 de noveno semestre y 16 de décimo semestre. Se practicó un hisopado de las dos fosas nasales, luego se procedió a sembrar directamente por agotamiento en agar manitol salado (Oxoid®). Las muestras se incubaron a 37 °C durante 24 horas en condición aerobia. Las colonias sugestivas de *S. aureus* se colorearon con Gram y se confirmaron mediante pruebas bioquímicas convencionales: coagulasa, catalasa, fermentación del manitol, ADNasa.

Para determinar SARM, a los 16 aislamientos identificados de *S. aureus* se les practicó prueba de sensibilidad mediante la técnica de difusión en disco, siguiendo los estándares internacionales del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (14). Los antibióticos empleados fueron: penicilina G (10 unidades), oxacilina (1 µg), cefoxitina (30 µg), vancomicina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetropin-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), eritromicina (15 µg), cefalexina (30 µg), cefaclor (30 µg) e imipenem (10 µg) (3,4,9).

Se utilizaron cepas ATCC para el control: cepa de control positivo, *S. aureus* ATCC43300, y cepa de control negativo, *S. aureus* ATCC 29213.

La resistencia a la meticilina se determinó utilizando discocefotín (30 µg), el cual es el marcador sustituto de la oxacilina para

este propósito. Otros parámetros que se tuvieron en cuenta al momento de diferenciar SARM-CO y SARM- HO, fueron el perfil de sensibilidad a penicilina G, cefalexina, oxacilina, cefoxitina y el de sensibilidad a clindamicina, eritromicina y ciprofloxacina (4,12,15,16).

Para el análisis estadístico de los datos, se utilizó el paquete estadístico Stata 11.0®; dicho análisis se adelantó con un parámetro de confiabilidad del 95 %. Para los factores de asociación, se hizo un análisis bivariado entre la variable resultado (resultados positivos para SARM) y las variables independientes exploradas, por medio de los *odd ratios* y una significancia estadística de $p < 0,05$.

El estudio se clasificó como de riesgo mínimo, según la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud, y fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Boyacá. De toda la población estudiada, se obtuvo consentimiento escrito.

RESULTADOS

La población participante en el estudio estuvo conformada por 51 personas, 93,1 % mujeres y 6,9 % hombres; la media de edad fue de 24 años (rango, 20 a 32 años; desviación estándar (DE) de 2,6.

De las 51 muestras analizadas, se obtuvieron 16 aislamientos de *S. aureus* (32 %); se

confirmaron fenotípicamente 8 aislamientos como SARM, por lo cual la prevalencia de SARM para este estudio fue del 15,6 %. Según los criterios de interpretación del CLSI, tres de estos aislamientos correspondían a SARM-HO y, cinco, a SARM-CO (tabla 1) (14). Los 16 aislamientos de *S. aureus* con patrón de resistencia se confirmaron, lo que hace sospechar que la resistencia a la meticilina

de estos aislamientos se debe a la presencia del gen *mecA* (17).

De los 8 aislamientos de SARM, tan solo uno mostró sensibilidad a todos los antibióticos. También, encontraron tres aislamientos que presentaron resistencia a la eritromicina y la clindamicina, y uno con sensibilidad a la ciprofloxacina.

Tabla 1. Interpretación del antibiograma, según el *Clinical and Laboratory Standards Institute*

SARM-CO	Concentración	Interpretación	SARM-HO	Concentración	Interpretación
Penicilina G	10 unidades	R	Penicilina G	10 unidades	R
Cefoxotina	30 µg	R	Cefoxotin	30 µg	R
Oxacilina	30 µg	R	Oxacilina	30 µg	R
Cefalexina	5 µg	R	Cefalexina	5 µg	R
Eritromicina	15 µg	S	Eritromicina	15 µg	R
Clindamicina	5 µg	S	Clindamicina	5 µg	R
Ciprofloxacina	5 µg	S	Ciprofloxacina	5 µg	R

R: resistente; S: sensible Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-Third informational supplement (M100-S23). 2013; (33)(1). ISBN 1-56238-866-5

Se exploró la asociación de variables de importancia, como el lavado de manos, el compartir habitación con más personas y el compartir utensilios personales, con el estado

de portador nasal de SARM. No se encontró significancia estadística en ninguna de las variables para asegurar que son factores de riesgo o factores protectores (tabla 2).

Tabla 2. Factores asociados a la portación de SARM

Factor	OR	p
Compartir habitación con una o más personas	2,35	0,995
Compartir utensilios personales (toallas, jabones, cepillos, etc.)	2,46	0,344
Lavado de manos (más de una vez al día o solo una vez)	0,58	0,995
Presencia de enfermedad respiratoria	3,08	0,17
OR: odds ratio; p<0,05		

Por otra parte, se encontró que el lavarse las manos más de una vez al día se comporta como un factor protector (OR=0,58), pero no hay evidencia estadística para afirmarlo (p=0,99). Teóricamente, se ha afirmado que las manos de los profesionales del área de la salud desempeñan un papel crucial en la transmisión de agentes patógenos en el ámbito hospitalario, teniendo en cuenta que pueden estar colonizadas por microorganismos potencialmente patógenos que se pueden encontrar en el área de trabajo (18).

Con respecto al uso compartido de utensilios personales, como toallas, jabones y cepillos, se comporta como un factor de riesgo (OR=2,46), dado el contacto de piel a piel, y facilita la transmisión de una persona que es portadora de SARM a otra que no lo es (19); no obstante, estadísticamente no hay evidencia para afirmar que es un factor de riesgo (p=0,34).

La presencia de enfermedades de base, principalmente las respiratorias, teóricamente facilitan la adquisición de SARM, pues están relacionadas con este agente patógeno (20,21); dentro del estudio se encontró que el tener una enfermedad respiratoria se comporta como un factor de riesgo para adquirir SARM (OR=3,08), pero no hubo significancia estadística (p=0,17) para afirmar esto. Se sabe que *S. aureus*, incluso SARM, puede llegar a colonizar a una persona por períodos largos sin ser detectado y producir infección un tiempo después; este hecho dificulta determinar el origen real de las cepas que causan la infección en la comunidad (15).

DISCUSIÓN

Se exploró la asociación de variables de importancia en los estudiantes con el estado de portador nasal de SARM, pero no se encontró significancia estadística en ninguna de ellas para afirmar que se comportaban como

factores asociados al estado de portador de SARM.

Según Alkiza, *et al.* (22), el compartir utensilios personales implica un mayor riesgo de adquirir y diseminar la bacteria; para disminuir el riesgo, se deben adoptar medidas preventivas, como desarrollar estrategias para la buena higiene general, aumentar el uso de elementos de protección personal y evitar compartir elementos que hayan sido expuestos al contacto directo con la piel (12,18).

Staphylococcus aureus es uno de los principales agentes microbianos aislados en enfermedades infecciosas, el cual, a pesar de la introducción de nuevos antibióticos y de las mejoras en la higiene –las cuales han sido fundamentales para reducir la frecuencia y la morbilidad de las enfermedades estafilocócicas– ha persistido como un importante agente patógeno en los ambientes hospitalarios y en la comunidad (11).

La presencia de esta bacteria en las fosas nasales es un factor de riesgo para desarrollar infecciones adquiridas en la comunidad y asociadas a la atención en salud; además, los individuos identificados como portadores nasales de SARM sirven como reservorio de esta bacteria y ayudan a su diseminación en la comunidad (9).

Al analizar los resultados, la frecuencia de portadores nasales de SARM obtenidos en

este estudio fue de 8, similar a los datos obtenidos en el estudio de la Corporación Universitaria Rafael Núñez en Cartagena (23).

Conviene enfatizar que la totalidad de los estudiantes cumplen con el lavado de manos durante las prácticas en el laboratorio. El cumplimiento de estas medidas evita la transmisión de *S. aureus* a otras personas y a objetos inanimados que, a su vez, pueden convertirse en focos de infección ambiental; por tal razón, las medidas de bioseguridad y el lavado de manos se consideran medidas preventivas (13).

La resistencia a la meticilina, asociada al gen *mecA*, puede involucrar a otras familias de antibióticos, como macrólidos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas, y con menor frecuencia, a las rifamicinas y tetraciclinas (13). Entre las principales características en que difieren las cepas de SARM-CO de las de SARM-HO, está la sensibilidad a otros antibióticos: por lo general, las SARM-HO son resistentes a todos los antibióticos betalactámicos y a muchos que no son betalactámicos (21,24). Esta resistencia es conferida por una proteína ligadora de penicilina (*Penicillin Binding Protein*, PBP) conocida como PBP2a o PBP2, la cual no está presente en las cepas sensibles a la meticilina y forma parte de un complejo móvil (*mec*) que reside en una isla genómica, un elemento genético denominado casete cromosómico estafilocócico (*Staphylococcal Cassette Chromosome*, SCC) (17,15).

Nuestros hallazgos son contundentes en este punto, ya que se encontró que, de los 8 aislamientos por SARM, 3 fueron descritos como SARM-HO y 5 como SARM-CO; además, pueden circular e incluso originar brotes.

SARM puede colonizar individuos sanos por largos periodos sin ser detectado y presentarse una infección tiempo después; por lo tanto, se debe tener en cuenta que estos portadores pueden actuar a su vez como diseminadores.

A pesar de la ausencia de información sobre portadores nasales en el grupo de familiares, existe la posibilidad de su participación en la transmisión, ya que podrían ser portadores intermitentes u ocasionales, en cuyo caso, sería recomendable identificar estos estados de portación para iniciar medidas de control. El presente estudio es el primero sobre portadores de SARM en este tipo de población en el departamento de Boyacá y sus resultados revelan la cotidianidad de la portación nasal de dicho microorganismo, y su circulación en ambientes comunitarios y hospitalarios. Nuestros resultados corroboraron que en Colombia y en esta población, SARM es una importante causa de infección y constituye un verdadero problema de salud pública.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de este trabajo hacen parte del grupo de Semillero de Investigación de

Microbiología de la Universidad de Boyacá (SIMUB). Los autores expresan su agradecimiento a los estudiantes del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, y a todas las personas que contribuyeron de una u otra forma en este proyecto.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2012.
2. Álvarez L, Ponce B. *Staphylococcus aureus*, evolución de un viejo patógeno. Editorial Ciencias Medicas. 2012; 84:383-391.
3. Ocampo AM, Vélez LA, Robledo J, Jiménez JN. Cambios a través del tiempo en la distribución de los complejos clonales dominantes de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en Medellín, Colombia. Biomédica. 2013;34:34-30.
4. Castro OR, Villafañe FL, Olier CD, Pinilla PM. Presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en fosas nasales en estudiantes de quinto semestre del programa de Bacteriología de la Corporación Universitaria

- Rafael Nuñez. *Ciencia y Salud Virtual*. 2011;1:1-2.
5. Gil D. *Staphylococcus aureus*: microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Rev Chilena Infectol*. 2000;17:145-52.
 6. Cunha BA. Minocycline, often forgotten but preferred to trimethoprim-sulfamethoxazole or doxycycline for the treatment of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;42:497-9.
 7. Bustos JA, Hamdan A, Gutiérrez ME. Reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Revista Biomédica*. 2006;17:287-305.
 8. Baillargeon J, Kelley MF, Leach CT, Baillargeon G, Pollock BH. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in the Texas prison system. *Clin Infect Dis*. 2004;38:e92-e5.
 9. Tamariz J, Agapito J, Horna G. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima, Perú. *Rev Med Hered*. 2010;21:4-10.
 10. Uhlemann AC, Otto M, Lowy FD, DeLeo FR. Evolution of community-and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol*. 2013;21:563-574.
 11. Bocchini CE, Hulten KG, Mason EO, González BE, Hammerman WA, Kaplan SL. Panton-Valentine leukocidin genes are associated with enhanced inflammatory response and local disease in acute hematogenous *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in children. *Pediatrics*. 2006;117:433-40.
 12. Cercenado E, de Gopegui ER. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina de origen comunitario. *Enferm Infect Microbiol Clín*. 2008;26:19-24.
 13. López M. Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las manifestaciones por *Staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad pediátrica (tesis). Madrid: Facultad de Medicina; 2012.
 14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-Third informational supplement (M100-S23). 2013; (33)(1). ISBN 1-56238-866-5
 15. Quiceno JNJ, Ochoa MMC. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. *Iatreia*. 2009;22:147-58.
 16. Castro-Orozco R, Villafaña-Ferrer LM, Álvarez-Rivera E, De Arco MM, Rambaut-Donado CL, Vitola-Heins GV. *Staphylo-*

- coccus aureus* meticilino resistente en niños escolares de Cartagena. Revista de Salud Pública. 2010;12:454-63.
17. Castellano MJ, Perozo AJ. Mecanismo de resistencia a antibióticos β -lactámicos en *Staphylococcus aureus*: Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. Kasmera. 2010;38:18-35.
 18. Organización Mundial de la Salud. La higiene de las manos en la asistencia ambulatoria y domiciliaria y en los cuidados de larga duración. Ginebra: OMS; 2013.
 19. Ochoa V, Guzmán A, Caicedo Y. Infección por estafilococo aureus meticilino-resistente adquirido en la comunidad. Gastrohup. 2012;17:46-56.
 20. Paganini H, Verdaguer V, Rodríguez AC, Della Latta P, Hernández C, Berberian G, et al. Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina en niños provenientes de la comunidad en niños de la Argentina. Arch Argent Pediatr. 2006;104:295-300.
 21. Montalvo R, Huaroto L, Alvarezcano J, Ticona E, García Y. Prevalencia de portadores nasales por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en personal de salud del servicio de cuidados intensivos, Hospital Nacional Dos de Mayo. Revista Peruana de Epidemiología. 2009;13:1-5.
 22. Alkiza M, Arriola E, Basterretxea M, Díaz I, Esparza M, García-Arenzana J, et al. Guía de actuación ante *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en centros gerontológicos, sociosanitarios y unidades de media-larga estancia. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2004;39:329-41.
 23. Villafañe FL, Pinilla PM, Carpintero PY, Cueto CV, Solís Y. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en estudiantes de Bacteriología. Revista Científica Salud Uninorte. 2013;29:151-159.
 24. Yomayusa N, Álvarez CA, Ibáñez M, Sossa MP, Suárez IC, Chavarro, B, et al. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina son un problema de salud pública. Revista Médica Sanitas. 2009;12:B-16.