

# **PATÓGENOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA:**

INVESTIGACIONES RECIENTES  
EN EL VALLE DEL CAUCA



# PATÓGENOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA:

INVESTIGACIONES RECIENTES  
EN EL VALLE DEL CAUCA

## COMPILADORAS

Alba Aydeé Álvarez Ramírez, Dolly Aristizábal García, Luisa María Nieto Ramírez, Mónica Chávez Vivas y Tania Cristina Gaviria Cantin.

## AUTORES.

Alba Aydeé Álvarez Ramírez, Dolly Aristizabal García, Alfonsina del Cristo Martínez, Mónica Chávez Vivas, Tania Cristina Gaviria Cantin, Mónica Cabrera Tello, Luisa María Nieto Ramírez, Ángela María Escudero, Ricardo Hugo Granada, Vanessa Ángel Pérez y Carlos Balsalobre Parra.

VIGILADA  
MINISTERIO DE  
EDUCACIÓN



EDITORIAL

Patógenos de importancia clínica. Investigaciones recientes en el Valle del Cauca / Luisa María Nieto Ramírez [y otros]. -- Editor Edward Javier Ordoñez. -- Cali : Universidad Santiago de Cali, 2018.

150 páginas ; 24 cm.

Incluye índice de contenido.

1. Bacteriología médica 2. Bacterias patógenas  
3. Enfermedades bacterianas 4. Investigaciones - Valle del Cauca (Colombia) I. Nieto Ramírez, Luisa María, autora. II. Ordoñez, Edward Javier, editor.

616.014 cd 22 ed.

A1619317

CEP-Banco de la República-Biblioteca Luis Ángel Arango



EDITORIAL

### **Patógenos de importancia clínica: Investigaciones Recientes en el Valle del Cauca.**

© Universidad Santiago de Cali.

© **Autores:** Alba Aydeé Álvarez Ramírez, Dolly Aristizabal García, Alfonsina del Cristo Martínez, Mónica Chávez Vivas, Tania Cristina Gaviria Cantin, Mónica Cabrera Tello, Luisa María Nieto Ramírez, Ángela María Escudero, Ricardo Hugo Granada, Vanessa Ángel Pérez, y Carlos Balsalobre Parra.

**1a. Edición 100 ejemplares**

Cali, Colombia - 2018

**ISBN:** 978-958-5522-47-3

**ISBN (Libro digital):** 978-958-5522-48-0

#### **Fondo Editorial**

##### **University Press Team**

Carlos Andrés Pérez Galindo

*Rector*

Rosa del Pilar Cogua Romero

*Directora General de Investigaciones*

Edward Javier Ordoñez

*Editor en Jefe*

#### **Comité Editorial**

##### **Editorial Board**

Rosa del Pilar Cogua Romero

Monica Chávez Vivas

Edward Javier Ordoñez

Luisa María Nieto Ramírez

Sergio Molina Hincapie

Saúl Rick Fernández Hurtado

Sergio Antonio Mora Moreno

Francisco David Moya Chaves

#### **Evaluación de contenidos/Peer-review**

##### **outcome:**

Febrero (February) de 2018

#### **Correcciones de autor/Improved version**

##### **submission:**

Junio (June) de 2018

#### **Aprobación/Acceptance:**

Septiembre (September) de 2018

#### **Diseño y diagramación**

Juan Diego Tovar Cardenas

Universidad Santiago de Cali

Tel. 5183000 - Ext. 322

Cel. 301 439 7925

#### **Impresión**

SAMAVA EDICIONES

Tel: (2) 8235737

#### **Proceso de arbitraje doble ciego:**

“Double blind” peer-review

#### **Recepción/Submission:**

Octubre (October) de 2017

#### **Distribución y Comercialización**

##### **Universidad Santiago de Cali**

Publicaciones

Calle 5 No. 62 - 00

Tel: 518 3000, Ext. 323 - 324 - 414



La editorial de la Universidad Santiago de Cali se adhiere a la filosofía del acceso abierto y permite libremente la consulta, descarga, reproducción o enlace para uso de sus contenidos, bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

# CONTENIDO

---

INTRODUCCIÓN.....	11
-------------------	----

## Capítulo 1

Caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de superficies del ambiente hospitalario de la red pública y privada en la ciudad de Cali

*Mónica Cabrera Tello*

*Mónica Chávez Vivas*..... 15

## Capítulo 2

Perfil epidemiológico y terapéutico de pacientes con tuberculosis pulmonar en la ciudad de Cali, Colombia

*Alfonsina del Cristo Martínez*..... 43

## Capítulo 3

Factores de riesgo en infección por virus del papiloma humano Tipo 16 en mucosa oral sana de pacientes atendidos en una institución odontológica de Santiago de Cali

*Dolly Aristizábal García*

*Alba Aydeé Álvarez Ramírez*

*Vanessa Ángel*

*Hugo Ricardo Granada*..... 63

## Capítulo 4

Mutaciones en ppGpp Y DksA afectan la secreción de proteínas efectoras de la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

*Tania Gaviria Cantin*

*Luisa María Nieto Ramírez*

*Carlos Balsalobre Parra*..... 93

## Capítulo 5

Prevalencia de *Staphylococcus aureus* aislado de estudiantes  
asintomáticos del Programa De Medicina de la Universidad  
Santiago de Cali

*Mónica Chávez Vivas*

*Ángela María Escudero* ..... 111

*Acerca de los autores* ..... 137

*Pares Evaluadores* ..... 145

# ÍNDICE DE FIGURAS

---

**Figura 1.** Crecimiento en agar salino manitol y coloración Gram de uno de los aislamientos de *Staphylococcus aureus*..... 26

**Figura 2.** Plano que describe la ubicación de los nueve antibiogramas de los aislados de *Staphylococcus aureus* en la Sala de Recuperación y UCINT (estudio 1). ..... 30

**Figura 3.** Plano que describe la ubicación de los aislados de *Staphylococcus aureus* en quirófanos y pasillo (estudio 2). ..... 31

**Figura 4.** Perfil de proteínas secretadas (secretoma) de las cepas WT (SV5015) y mutantes ppGpp0 y dksA. Las cepas fueron crecidas en LB a 37 °C en agitación hasta una DO600nm de 2,0 tras ser inoculadas a una DO600nm de 0,001. Los sobrenadantes obtenidos por centrifugación a partir de cultivos independientes fueron filtrados para eliminar células residuales y las proteínas presentes se precipitaron con TCA a una concentración final del 10 %. Las proteínas fueron separadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 12,5 %. Las bandas proteicas fueron visualizadas mediante tinción con azul de Coomassie. El carril M corresponde a una mezcla de proteínas con las masas indicadas en kDa. Se indican las bandas que presumiblemente corresponden a las proteínas: 1. SipA, 2. SipC y 3. SipD. .... 102

**Figura 5.** Inmunodetección de la proteína efectora SipA en extractos de proteínas intracelulares obtenidos a partir de dos cultivos independientes de las cepas WT (sipA::3Flag) y sus mutantes dksA y ppGpp0 crecidas en LB a 37 °C en agitación a una DO600nm de 2,0 tras ser inoculadas a una DO600nm de 0,001. La detección de la etiqueta 3Flag se realizó mediante el anticuerpo monoclonal anti-Flag. La detección de las bandas se llevó a cabo mediante quimioluminiscencia con el kit comercial ECL..... 104

**Figura 6.** Panel A. Observación microscópica de *Staphylococcus aureus*. Panel B. Aislamientos de bacterias del género *Staphylococcus* en agar salino manitol. Panel C, *S. aureus* en agra sangre mostrando hemólisis, Panel D, *S. aureus* un ene medio salino manitol con coloración amarilla por la degradación del manitol. .... 119



# ÍNDICE DE TABLAS

---

<b>Tabla 1.</b> Antibiotipos de <i>Staphylococcus aureus</i> de acuerdo a los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos del estudio 1.....	28
<b>Tabla 2.</b> Antibiotipos de <i>Staphylococcus aureus</i> de acuerdo a los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos del estudio 2. ....	29
<b>Tabla 3.</b> Variables sociodemográficas.....	72
<b>Tabla 4.</b> Factores de riesgo – historial de reproducción .....	73
<b>Tabla 5.</b> Contingencia estilo de vida y presencia de VPH.....	74
<b>Tabla 6.</b> Contingencia de comportamientos sexuales y presencia de VPH.....	76
<b>Tabla 7.</b> Factores de riesgo de mayor relación con presencia de VPH....	78
<b>Tabla 8.</b> Lista de cepas utilizadas en este estudio .....	98
<b>Tabla 9.</b> Frecuencia de <i>Staphylococcus Coagulasa</i> negativo que se encontraban colonizando la piel y la nariz de estudiantes de Medicina. n=63.....	122
<b>Tabla 10.</b> Frecuencia de <i>Staphylococcus aureus</i> que se encontraban colonizando la piel y la nariz de estudiantes de Medicina.....	123
<b>Tabla 11.</b> Distribución de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilcilina (SARM) de acuerdo a sitio anatómico de donde fue aislado.....	124





# **INTRODUCCIÓN**



# INTRODUCCIÓN

El presente libro *Patógenos de importancia clínica: Investigaciones Recientes en el Valle del Cauca* nace como una iniciativa para socializar los resultados obtenidos en los trabajos de investigación más recientes de los miembros del Grupo de Investigación en genética, fisiología y metabolismo –GEFIME– de la Universidad Santiago de Cali. Estas investigaciones involucran patógenos que son importantes agentes causales de infecciones y de alto impacto en la salud pública en la ciudad de Cali y en el Valle del Cauca.

Este libro consta de cinco capítulos con trabajos de investigación en bacterias resistentes a los antibióticos como *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis* y su comportamiento epidemiológico en ambientes intrahospitalarios y en poblaciones, respectivamente. En el Capítulo 3 se presenta un estudio epidemiológico que establece la presencia del virus del papiloma humano (VPH) en mucosa oral y su relación con el desarrollando cáncer oral y en el Capítulo 4 se presenta una investigación realizada con moléculas efectoras (alarmona pp-Gpp y la proteína DksA) de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y su influencia en la patogenicidad y la formación de biopelículas *in-vitro*.

Los autores esperamos que este libro sea un aporte que permita dar una visión del comportamiento epidemiológico de ciertas bacterias resistentes a los antibióticos y del virus VPH en la mucosa oral, y ampliar el conocimiento en relación a las bases moleculares que favorecen la patogenicidad.

Finalmente y retomando las palabras de Louis Pasteur, creemos firmemente tal como lo mencionó este científico en el siglo XIX y es aún cierto en nuestros días, “la ciencia es el alma de la prosperidad de las naciones y la fuente de vida de todo progreso.” Este progreso esperamos poderlo gestar desde la academia, trabajando en conjunto con las instituciones implicadas en la salud y bienestar de nuestra región.

*Los autores*

## Capítulo 1

# **Caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de superficies del ambiente hospitalario de la red pública y privada en la ciudad de Cali**

*Mónica Cabrera Tello*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Mónica Chávez Vivas*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*





# **Caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de superficies del ambiente hospitalario de la red pública y privada en la ciudad de Cali**

*Mónica Cabrera Tello*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Mónica Chávez Vivas*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

## **1.1 Introducción**

**L**as infecciones intrahospitalarias han generado problemas de salud pública debido principalmente a patógenos resistentes a los antibióticos, que ocasionan el aumento en las tasas de mortalidad, así como el aumento en el periodo de estancia hospitalarias con un elevado costo económico (Fabro-Peray et al., 2007) (Chen, Chou, & Chou, 2005; Wakefield, Helms, Massanari, Mori, & Pfaller, 1988). La diseminación de los microorganismos en el ambiente hospitalario, a menudo se origina con la transferencia de patógenos a través de las manos de los profesionales de la salud y de distintos artículos inani-

mados del ambiente hospitalario, convirtiéndose en potenciales reservorios y vehículos de transmisión de infecciones entre los pacientes (Hayden, Blom, Lyle, Moore, & Weinstein, 2008; Huang, Datta, & Platt, 2006) (De Oliveira & Damasceno, 2010; Martínez, Ruthazer, Hansjosten, Barefoot, & Snyderman, 2003). Estudios en diversos hospitales han demostrado que los pacientes admitidos en habitaciones donde habían sido tratados otros pacientes con enfermedades bacterianas, resultaron estar colonizados por el mismo microorganismo (Hayden et al., 2008; Huang et al., 2006). Otro aspecto importante que favorece la permanencia de patógenos en ambientes hospitalarios, entre los que se destaca *Staphylococcus aureus*, es la gran versatilidad que estos presentan en adquirir diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos (Lemmen, Häfner, Zolldann, Stanzel, & Lütticken, 2004). *S. aureus* causa infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario (Naimi et al., 2003). Esta bacteria es el agente causal de diferentes patologías como infecciones superficiales de la piel, endocarditis, septicemia, y enfermedades mediadas por toxinas, que a menudo son difíciles de tratar (Wakefield et al., 1988). El interés actual del estudio de este patógeno es debido a su elevada frecuencia entre brotes de infección nosocomial registrada en varios países y la multiresistencia a los antibióticos, donde se destacan las cepas con resistencia a la metilina (SARM o también comúnmente conocido por sus siglas en inglés como MRSA) (Cortes, Gómez, Cuervo, Lucía Leal, & GREBO, 2007). De hecho, esta bacteria está incluida dentro del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y especies de *Enterobacter*), también conocido como “super-bugs” o super-bacterias, que agrupan los agentes causales más frecuentes entre infecciones nosocomiales multidrogo-resistentes a nivel mundial (Santajit & Indrawattana, 2016).

Está bien establecido que la adquisición de patógenos nosocomiales depende de una compleja interacción del huésped, el patógeno y el medio ambiente (Hayden et al., 2008). El patrón analizado a partir de los resultados de la prueba de susceptibilidad a los antibióticos constituye una herramienta fenotípica que permite evaluar las bacterias que están generando un brote epidémico (Olarte et al., 2010). Estos estudios se complementan con la evaluación de la clonalidad de estos microorganismos a través del análisis de marcadores moleculares específicos. En *S. aureus* se vienen empleando diversas metodologías de genotipificación, como electroforesis de campos pulsados, análisis de múltiples locus (siglas en inglés MLST: *multilocus sequence typing*), así como el análisis del operón regulatorio accesorio (*agr*). Este operón regula la expresión de los factores de virulencia de *S. aureus*, estimulando la producción de exoenzimas como lipasas, proteasas y lipasas, de acuerdo a la densidad celular por un proceso llamado *quorum sensing* (Blanc et al., 1996; Cheung, Wang, Khan, Sturdevant, & Otto, 2011). Sin embargo, es necesario aclarar que el rol de *agr* ha sido descrito en cepas de laboratorio y se desconoce su rol específico en aislados clínicos. El polimorfismo del locus *agr*, se ha empleado para determinar la variabilidad de la bacteria y su origen, definiendo a la fecha cuatro grupos (I a IV). Estudios previos han permitido establecer que los aislados pertenecientes al *agr* del grupo III se relacionan con infecciones asociadas a la comunidad con mayor frecuencia (Stegger et al., 2014; Zhao et al., 2012), mientras que el *agr* del grupo II se detecta predominantemente en cepas aisladas a nivel intrahospitalario (Manago et al., 2006; Sakoulas et al., 2002).

SARM adquirida en comunidad fue reportada por primera vez en Colombia, en pacientes con infecciones en tejidos en el año 2006 (Alvarez et al., 2006). Posterior a este reporte, diferentes estudios se han realizado en pacientes y portadores asintomáticos con cepas de *S. aureus* (incluidos SARM) de origen no-

socomial y de la comunidad. Es así como se realizó el reporte de una población de SARM de origen nosocomial en pacientes pediátricos de Bucaramanga, donde el 72% de las cepas pertenecían al grupo *agr* I y el 11% pertenecían al *agr* del grupo II (Machuca, Sosa, & González, 2013). En Bogotá, se realizó la descripción fenotípica y molecular de aislados de *S. aureus* obtenidos de pacientes de la unidad de cuidados intensivos, encontrando cepas de origen nosocomial solo en el 16% de los aislados SARM (Olarte et al., 2010). Recientemente en Cali, se detectaron nueve cepas de SARM entre 63 aislados de *S. aureus* como colonizadores de la fosa nasal de estudiantes de medicina, distribuidos casi de manera equitativa entre los grupos *agr* I y II (44,6% y 55,6% respectivamente) (Collazos Marín, Estupiñan Arciniegas, & Chavez Vivas, 2015). Sin embargo, el conocimiento de las cepas circulantes de *S. aureus* y específicamente SARM presentes en objetos inanimados en ambientes hospitalarios del país ha sido pobremente descrito. El conocimiento de las características moleculares de los aislados de *S. aureus* presentes en el ambiente hospitalario es entonces una prioridad para la salud pública de nuestra región, debido a que es preciso conocer las características biológicas que han permitido el establecimiento de estas cepas y definir si su origen corresponde a cepas comúnmente encontradas en el ambiente comunitario o nosocomial (Acuña et al., 2015; Hardy, Kim, Ciccarelli, Hayman, & Wiecha, 2013; Naimi et al., 2003). El objetivo del presente estudio fue establecer las variantes fenotípicas y moleculares de *S. aureus* que se aislaron en diversos ambientes hospitalarios del nivel 2 de la red pública y privada de la ciudad de Santiago de Cali.

## 1.2 Materiales y métodos

Esta investigación se basó en un estudio descriptivo de prevalencia de *S. aureus* realizado en dos instituciones de nivel 2 de Cali, Colombia en diferentes periodos de tiempo. El primer escenario es una institución que presta sus servicios principalmente a la red subsidiada (pública) (estudio 1, año 2012), mientras el segundo escenario corresponde a una clínica que presta sus servicios mayoritariamente a la red contributiva (privada) (estudio 2, año 2015). En el estudio 1, se muestrearon 52 áreas de las superficies de dos salas intrahospitalarias: 14 muestras de sala de recuperación y 38 de la unidad de cuidados intermedios (UCINT). Las muestras se obtuvieron frotando con hisopos estériles las superficies de las barandas de las camas, perillas de los baños, mesón de enfermería, fonendoscopios, soporte de líquidos endovenosos, biombo de unidad de cuidados intermedios, aire acondicionado de UCINT, monitor de signos vitales y carro de medicamentos.

En el estudio 2, se tomaron, similarmente con hisopos estériles, un total de 100 muestras en cuatro áreas correspondientes todas al servicio de cirugía: pasillos, salas de espera, recuperación y quirófanos. Las muestras se recolectaron de superficies de diversos objetos tales como: computadores, muebles, mesas, tensiómetros, atriles, monitor de signos vitales, carro de medicamentos, pulsioxímetro y camillas. En ambos escenarios, las muestras se transportaron en medio de transporte Stuart (oxid) y fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la Universidad Santiago de Cali para ser procesadas.

### 1.3 Aislados bacterianos y condiciones de cultivo

Los aislados bacterianos se obtuvieron por cultivo de las muestras en agar salino manitol rojo de fenol y agar nutritivo, incubadas por 24-48 horas a 37°C. La identificación de *S. aureus* se efectuó microscópicamente, observando cocos Gram positivos en racimos y mediante pruebas bioquímicas como la fermentación del manitol, prueba de coagulasa y DNAsa.

### 1.4 Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

La prueba de susceptibilidad a los antibióticos se desarrolló empleando el método de difusión en disco en placas de agar Mueller Hinton (Scharlau Chemie), con la calibración del inóculo basado en el estándar Mc-Farland, de acuerdo con los parámetros establecidos por la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005).

Los antibióticos incluidos en la prueba de susceptibilidad, estaban contenidos en los sensidiscos (OXOID) y correspondían a oxacilina (OXA, 1 µg), cefoxitina (FOX, 30 µg), cefalexina (CS, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), ciprofloxacina (CIP, 5 µg), eritromicina (E, 15 µg), clindamicina (CC, 2 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (TMP/SUL 1,25/23,75 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), cloranfenicol (CL, 30 µg), vancomicina (VA, 30 µg), imipenem (IMP, 10 µg), y penicilina (PEN, 10U) (27). El análisis de susceptibilidad se realizó con la cepa ATCCC 25923 de *S. aureus* para verificar la acción de los sensidiscos.

La resistencia a la meticilina en los aislados de *S. aureus*, se basó en la evaluación de sensibilidad con dos antibióticos: oxacilina, penicilina y cefoxitina para el estudio 1 y oxacilina y cefoxitina para el estudio 2. La información de los resultados de susceptibilidad antimicrobiana se clasificó como sensible o

resistente, de acuerdo con los halos de inhibición establecidos por el instituto de estándares clínicos y de laboratorio (Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI). Adicionalmente, se definieron los antibiotipos 1 a 5, dependiendo del número de antibióticos a los cuales presentara resistencia, agrupando en el antibiotipo 1 aquellos aislados que fueran susceptibles a todos los antibióticos evaluados. En los antibiotipos 2, 3 y 4 se agruparon los aislados que presentaran resistencia a 1, 2 o 3 antibióticos respectivamente. Finalmente, en el antibiotipo 5 se incluyeron los aislados que presentaron resistencia a 4 o más antibióticos.

## 1.6 Técnicas genético-moleculares

Para la extracción del ADN bacteriano, se realizaron cultivos en 1,5mL de medio Luria-Bertani (LB) que se dejaron en incubación durante toda la noche. Posterior a esta incubación, el sedimento de células fue sometido a un tratamiento con buffer de extracción que contenía 10 mg/ml de lisozima y 1 mg/ml proteinasa K.

Para determinar la variabilidad y el origen de los aislados de *S. aureus* obtenidos en ambos escenarios, se empleó el análisis del polimorfismo del gen regulador accesorio (*agr*), mediante la amplificación con los cebadores pan-forward *agr* 5'-GTCA-CAAGTACTATAAGCTGCGAT-3', reverse, *agr*I 5'-GTAT-TACTAATTGAAAAGTGCCATAGC-3' para amplificar una región de 440pb, reverse, *agr*II 5'-GTATTACTAATTGAAAAGTGCCATAGC-3' para amplificar una región de 572pb, reverse *agr*III 5'-CTGTTGAAAAGTCAACTAAAAGCTC-3' de una región de 406 pb y reverse *agr* IV 5'-CGATAATGCCG-TAATACCCG-3' de una región de 588 pb16.

La PCR consistió en un ciclo de desnaturalización a 94°C por 5 minutos, seguido de treinta ciclos compuestos de un minuto a

94°C de desnaturalización, un minuto a 54°C de alineamiento y un minuto a 72°C de extensión. Finalmente se añadió un ciclo de extensión a 72°C por 10 minutos.

Adicionalmente, para el estudio 2 se logró realizar la confirmación de los aislamientos MRSA mediante la detección del gen *mecA* por PCR, empleando los primers MR1, 5' (478)-GTG-GAATTGGCCAATACAGG-(497) 3' y MR2, 5' (1816)-TGA-GTTCTGCAGTACCGGAT-(1797) 3' para amplificar una banda 1334 pb del gen *mecA* de acuerdo a las condiciones establecidas por Tokue Y, *et al* (Tokue, Shoji, Satoh, Watanaabe, & Motomiya, 1992). Se emplearon las cepas de *S. aureus* ATCC® 43300 y ATCC® 25923 como controles positivo y negativo, respectivamente. Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 30 ciclos de desnaturalización, 30 segundos a 94°C, alineamiento 30 segundos a 55°C; extensión del primer 2 minutos a 72°C. Todas las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 50 µl y se llevaron a cabo en un termociclador GeneAmp PCR system 2400 (Perkin-Elmer Instruments®, Norwalk, Conn).

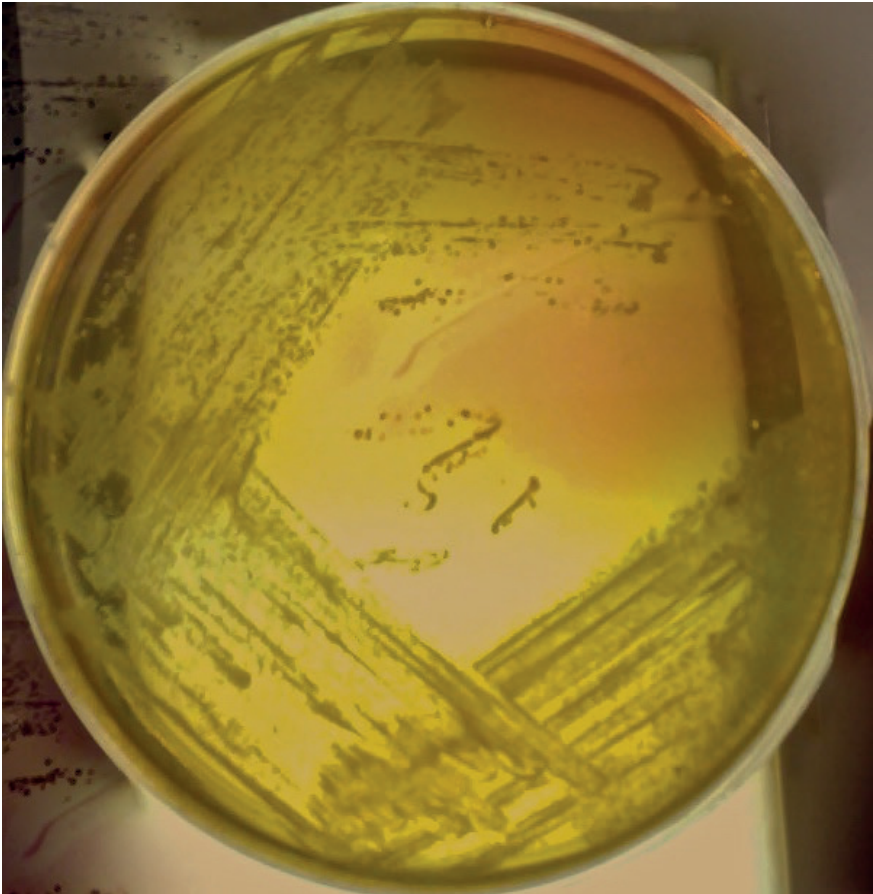
## 1.7 Resultados

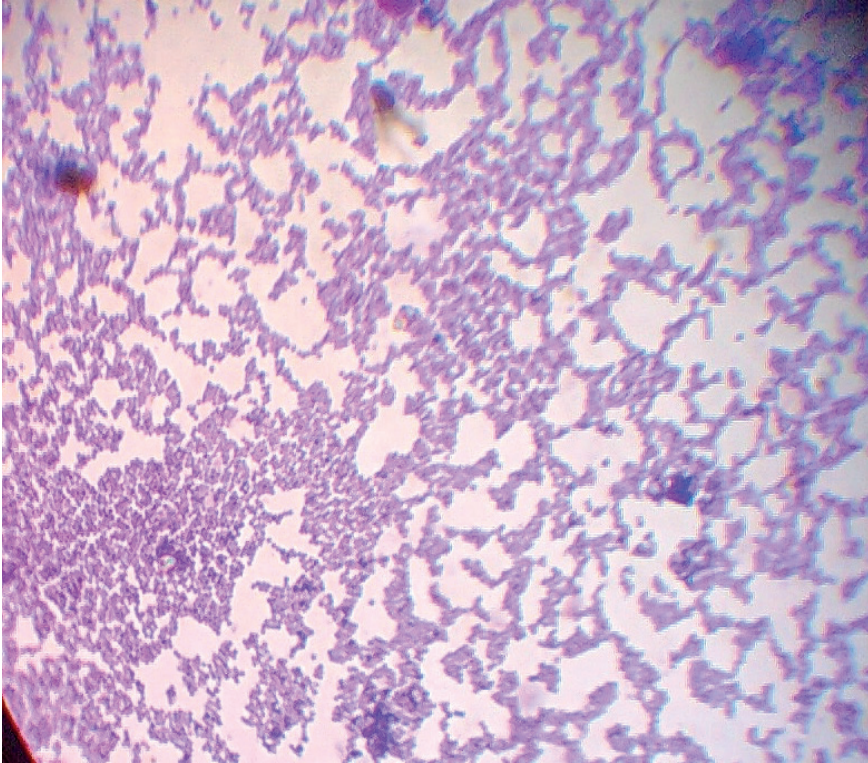
### 1.7.1 Aislamiento de *S. aureus*

En el estudio 1, 22 de las 52 muestras evaluadas (42%) presentaron crecimiento microbiano. El 59% de los cultivos positivos (13/22) fueron bacterias del género *Staphylococcus spp* y 10 de estas pertenecían a la especie *S. aureus*. El 41% restante (9/22) correspondió a bacterias Gram negativas y levaduras que no fueron incluidas en estudios posteriores. Los cultivos positivos para *S. aureus* resultaron del monitor de la cama y el fonendoscopio de la sala de recuperación y ocho de la UCINT, distribui-



das así: barandas de cama (2), el monitor de cama (2), el mesón del carro de medicamentos (1), la perilla puerta de baño (1), perilla puerta para el ingreso a la sala (1), y biombo de la cama (1). El crecimiento en agar salino manitol y la coloración Gram de uno de los aislados se muestra en la Figura 1.





*Figura 1. Crecimiento en agar salino manitol y coloración Gram de uno de los aislamientos de S. aureus.*

Fuente: Elaboración propia, 2016.

En el estudio 2, 32 de las 100 muestras evaluadas presentaron crecimiento microbiano (32%), todas ellas pertenecientes al género *Staphylococcus spp.* El 43,8% de los cultivos positivos (14/32) fue *Staphylococcus coagulasa* negativa y el 53,2% (18/32) fue *S. aureus*. Los aislamientos de *S. aureus* estaban distribuidos así: sala de espera (5), quirófanos (11), y pasillo (2). Los aislamientos identificados en los quirófanos correspondieron a cinco de seis quirófanos muestreados.

## 1.7.2 Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

El análisis de susceptibilidad de antibióticos realizado a los aislados de *S.aureus* de los estudios 1 y 2 se describen en las tablas 1 y 2 respectivamente. En el estudio 1, la mayoría de los aislados se distribuyeron con un perfil pan-sensible a los antibióticos evaluados (30%) y con resistencia a un solo antibiótico (30%), representando los antibiotipos 1 y 2, respectivamente (Tabla 1). El 50% de los aislados fueron resistentes a penicilina (SARM), 30% a tetraciclina y 20% a eritromicina. Solo uno de los aislados presentó un antibiotipo 5, que se encontró en el mesón del carro de medicamentos de la UCINT (Figura 2, Tabla 1). En este estudio, todos los aislados resistentes a penicilina fueron susceptibles a oxacilina *in vitro*. Sin embargo, según el último instructivo estándar de laboratorios CLSI, este resultado debe ser interpretado con cuidado ya que la utilidad de la oxacilina en estos aislados *in vivo* es cuestionable. En el estudio 2, contrario a lo encontrado en el estudio 1, solo uno de los aislados de *S. aureus* fue pan-susceptible (antibiotipo 1); este aislado fue encontrado en la mesa de la sala espera (Figura 3, Tabla 1). Adicionalmente, el 50% de los aislados presentaron resistencia a oxacilina, cefoxitina o a ambos (SARM), el 30% a tetraciclina y el 20% a eritromicina. Es importante señalar que el 72% de los aislados de *S. aureus* presentó un alto grado de multiresistencia perteneciendo al antibiotipo 5 (Tabla 2).

*Tabla 1. Antibiotipos de Staphylococcus aureus de acuerdo a los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos del estudio 1.*

Lugar	O X A	P E N	G E N	C I P	F O X	C L I	V A N	T E T	E R I	C H L	S X T	Antibiotipo
UCINT monitor cama 4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<b>1</b>
UCINT mesón carro medicamentos	S	R	S	I	R	I	R	R	R	S	S	<b>5</b>
UCINT baño posterior	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	<b>3</b>
UCINT biombo cama 2	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	<b>3</b>
UCINT cama 4	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	<b>4</b>
Monitor1 sala recuperación	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<b>2</b>
UCINT monitor2	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<b>2</b>
Sala Recuperación fonendoscopio	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<b>1</b>
UCINT puerta	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<b>1</b>
UCINT baranda carro medicamentos	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	<b>2</b>

OXA: oxacilina, PEN: penicilina, GEN: gentamicina, CIP: ciprofloxacina, FOX: cefoxitina, CLI: clindamicina, VA: vancomicina, TET: tetraciclina, ERI: eritromicina, CHL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol. R: resistente, I: intermedio, S: sensible.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

*Tabla 2. Antibiotipos de Staphylococcus aureus de acuerdo a los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos del estudio 2.*

Código	OXA	FOX	AMP	TYC	CH L	CL I	GEN	SXT	ER I	VA N	Antibiograma	<i>mecA</i>
SE Mouse teclado	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	5	
SE Mueble	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q4 PC Maquina	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	5	
SE Mesa II	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	5	
SE Monitor	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	2	
Q3 Baranda	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	4	
Q1 BL	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	4	
Q5 BL	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q3 P02	R	S	R	S	S	R	S	S	R	R	5	+
P Mouse	S	R		S	S	S	S	S	S	S	3	+
SE Mesa	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	
Q3 Tensiómetro	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	5	+
Q6 Teclado	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q5 PC	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	5	
Q6 AMBU	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
PA Mesa	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	5	
Q1 Silla microscopio	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q4 Bandeja Instrumentos	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+

SE: Sala de espera, Q: quirófano, PC: maquina carro de paro, BL: bolsa LEV, P: pasillo, PA: mesa para anestesia, OXA: oxacilina, PEN: penicilina, GEN: gentamicina, CIP: ciprofloxacina, FOX: cefoxitina, CLI: clindamicina, VA: vancomicina, TET: tetraciclina, ERI: eritromicina, CHL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol. R: resistente, I: intermedio, S: sensible. AMBU: instrumento de ventilación manual.

Fuente: Elaboración propia, 2016

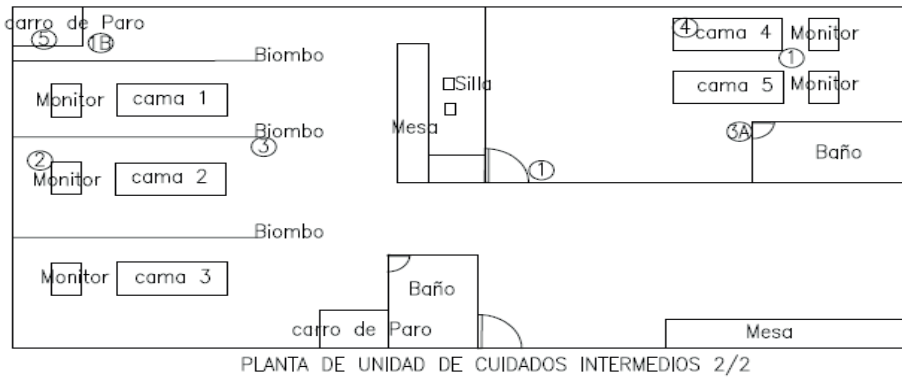
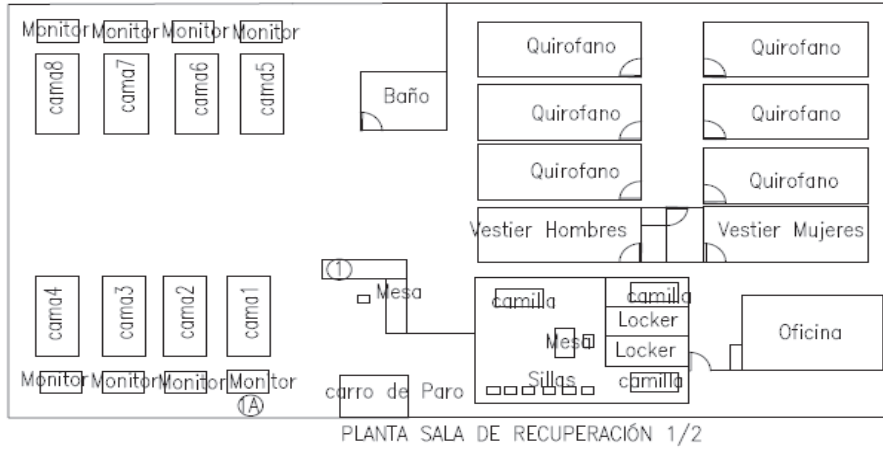


Figura 2. Plano que describe la ubicación de los nueve antibiogramas de los aislados de *Staphylococcus aureus* en la Sala de Recuperación y UCINT (estudio 1).

Fuente: Elaboración propia, 2016

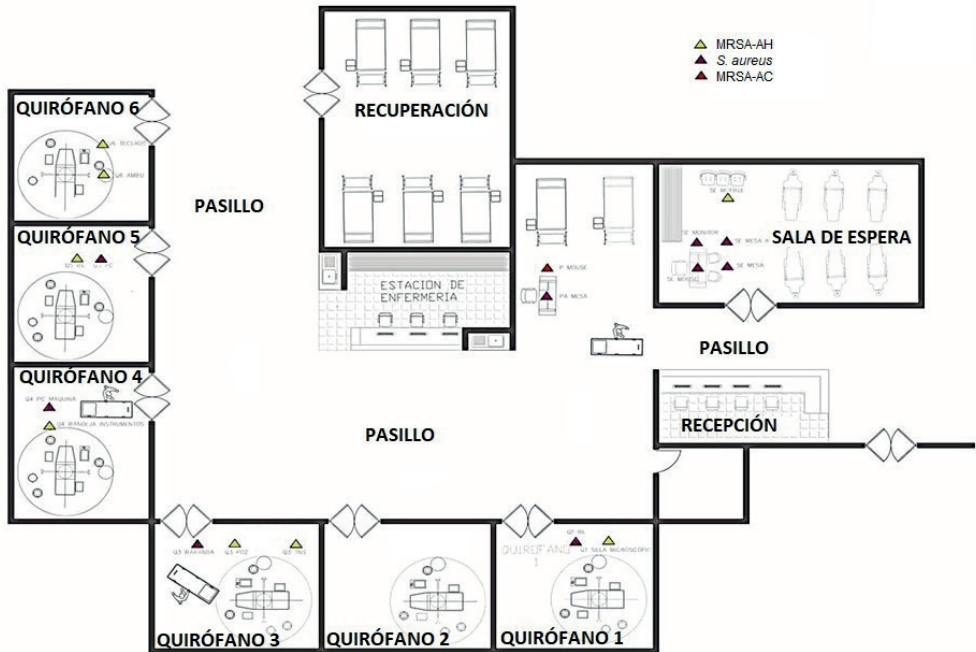


Figura 3. Plano que describe la ubicación de los aislados de *Staphylococcus aureus* en quirófanos y pasillo (estudio 2).

Fuente: Elaboración propia, 2016

### 1.7.3 Resultados moleculares

En el estudio 1, la amplificación por PCR resultó ser positiva en los diez aislados de *S. aureus* para el gen *agr* tipo III y negativa para los tipos I, II y IV.

En el estudio 2, 8 de los 9 aislados SARM presentaron amplificación de *agr* II y un aislado para *agr* III. Adicionalmente, en este estudio específicamente se confirmó la resistencia a la metilina (resistencia a oxacilina, cefoxitina o ambas) de los aislados ya que todos presentaron amplificación del gen *mecA*.



## 1.8 Discusión y conclusiones

Las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, son un problema de salud pública a nivel mundial desde que se dejaron de asociar únicamente con el ambiente hospitalario, y se empezaron a detectar en casos de origen en la comunidad (pacientes sin antecedentes de hospitalización), cuyos mecanismos de aparición siguen siendo motivo de controversia. En este trabajo, se realizó una comparación de dos estudios independientes cuyo objetivo principal fue la caracterización fenotípica y molecular de aislados de *S. aureus* en diferentes superficies de ambientes hospitalarios de dos instituciones de segundo nivel de Santiago de Cali, al que acuden pacientes de bajos ingresos principalmente (hospital de la red pública, estudio 1) y pacientes de ingresos medios (estudio 2).

Interesantemente, se encontró una distribución muy similar de los aislados de *S. aureus* en el estudio 1 (18%, que correspondía a 18 de las 100 de las superficies muestreadas) comparado con el estudio 2 (19,2%, que correspondía a 10 de las 52 superficies muestreadas). De la misma manera, en ambas instituciones públicas y privada, el porcentaje de SARM identificado entre los cultivos positivos para *S. aureus* fue del 50%, con una distribución similar en la resistencia a la tetraciclina y la eritromicina (30% y 20% respectivamente en ambos estudios). Una característica diferencial de las cepas de *S. aureus* de los estudios 1 y 2 es que en el estudio 1 se encontraron más aislados con perfiles pan-susceptibles o de resistencia a un solo antibiótico, cuando en el estudio 2, solo se encontró un aislado pan-susceptible y uno con el antibiotipo 2. Es importante señalar que la mayoría (72%) de aislados de *S. aureus* del estudio 2 presentaba un perfil de multirresistencia (antibiotipo 5), mientras en el estudio 1, solo se encontró un aislado con el antibiotipo 5, encontrado en el mesón del carro de medicamentos de la UCINT.

Continuando con el análisis de la resistencia a antibióticos del estudio 1, se encontró que cinco aislados fueron resistentes a penicilina, por lo cual podrían ser considerados MRSA. Sin embargo todos ellos fueron sensibles a oxacilina y cuatro sensibles a cefoxitina. Debido a lo anterior, es importante resaltar el comportamiento tan variable del método Kirby-Bauer en la detección de cepas de SARM y la necesidad de confirmar los resultados con pruebas moleculares, como la detección del gen *mecA*. En el estudio 2, se identificaron nueve cepas de SARM por su resistencia a oxacilina y/o cefoxitina, que pudieron ser confirmados por la amplificación del gen *mecA* (Tabla 2). Estas cepas SARM del estudio 2 fueron encontradas en diferentes superficies de quirófanos y salas de espera. En ambos estudios, los aislamientos encontrados suponen una gran amenaza para la salud pública; debido a los perfiles de resistencia permiten suponer los factores de virulencia que poseen y el riesgo latente de convertirse en la cepa de *S. aureus* más común en los aislamientos de la comunidad como ya ha sido previamente determinado en otros estudios en Colombia, especialmente en Bogotá (Cortés et al 2007; Alvarez et al 2006; Buitrago et al 2008). Este hecho implica un gran costo epidemiológico y, por supuesto económico, además del impacto sobre el uso de antibióticos en pacientes ambulatorios. A pesar de que en el estudio 1, solo un aislado resultó multirresistente (antibiotipo 5), cabe destacar el riesgo que representa la detección de esta bacteria en el carro de medicamentos que suele ser transportado por varias áreas de la institución, lo cual impone un factor de riesgo para la distribución de este microorganismo.

En la genotipificación, todos los aislados de *S. aureus* del estudio 1 amplificaron para el grupo III de *agr*, permitiendo asociar estos aislados con la comunidad. Este hallazgo se relaciona con que la mayoría presenta un perfil de alta susceptibilidad a antibióticos (60% correspondían a los antibiotipos 1 y 2). Por otro lado, la presencia de dos aislados con

antibiotipos 4 y 5 con perfil de resistencia simultánea a tres y hasta cinco antibióticos, representa una alta preocupación por la presencia de cepas de *S. aureus* con capacidad de incrementar las tasas de morbilidad, infecciones complicadas y altos costos en el tratamiento de infecciones fácilmente adquiridas en comunidad. En el estudio 2, ocho de los nueve SARM, amplificaron para el grupo de II de *agr*, asociándose a origen intrahospitalario, y efectivamente estos mismos aislados fueron los que presentaron un antibiotipo 5, conforme a lo reportado previamente respecto a la multirresistencia de *S. aureus* nosocomial (Chen et al., 2005; Wakefield et al., 1988). Es importante señalar, que trabajos previos han demostrado que los genes *agr* estarían controlando factores de virulencia secretados entre los que probablemente estarían los factores que intervienen en la formación de la biopelícula cuando el *S. aureus* se encuentra en la superficie del ambiente hospitalario (Sakoulas et al 2002). Esta genotipificación, nos haría suponer, que la asociación entre los aislados del grupo *agr* II y su resistencia simultánea a varios antibióticos puede asociarse a la capacidad de formación de biopelículas (o *biofilms*) que les confiere ventajas de resistencia ante desinfectantes, estrés medioambiental y por antibióticos; promoviendo así la supervivencia de la bacteria y facilitando su posterior dispersión.



## Referencias

- Acuña, M., Benadof, D., Jadue, C., Hormazábal, J. C., Alarcón, P., Contreras, J., Araya, P. (2015). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad (SARM-AC): comunicación de los primeros cuatro casos pediátricos descritos en Hospital de Niños Roberto del Río. *Revista chilena de infectología*, 32, 350-356.
- Alvarez, C. A., Barrientes, O. J., Leal, A. L., Contreras, G. A., Barrero, L., Rincón, S., Arias, C. A. (2006). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. *Emerg Infect Dis*, 12(12), 2000-2001. doi:10.3201/eid1212.060814
- Blanc, D. S., Petignat, C., Moreillon, P., Wenger, A., Bille, J., & Francioli, P. (1996). Quantitative antibiogram as a typing method for the prospective epidemiological surveillance and control of MRSA: comparison with molecular typing. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(10), 654-659.
- Chen, Y. Y., Chou, Y. C., & Chou, P. (2005). Impact of nosocomial infection on cost of illness and length of stay in intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 26(3), 281-287. doi:10.1086/502540
- Cheung, G. Y., Wang, R., Khan, B. A., Sturdevant, D. E., & Otto, M. (2011). Role of the accessory gene regulator agr in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Infect Immun*, 79(5), 1927-1935. doi:10.1128/IAI.00046-11
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2005). Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Collazos Marín, L. F., Estupiñan Arciniegas, G., & Chavez Vivas, M. (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates That Colonize Medical Students in a Hospital of the City of Cali, Colombia. *Int J Microbiol*, 2015, 358489. doi:10.1155/2015/358489
- Cortes, J. A., Gómez, C. A., Cuervo, S. I., Lucía Leal, A., & GREBO. (2007). Implicaciones en Salud Pública de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente Adquirido en la Comunidad en Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 9, 448-454.
- De Oliveira, A. C., & Damasceno, Q. S. (2010). [Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria: a review]. *Rev Esc Enferm USP*, 44(4), 1118-1123.
- Fabbro-Peray, P., Sotto, A., Defez, C., Cazaban, M., Molinari, L., Pinède, M., Daures, J. P. (2007). Mortality attributable to nosocomial infection: a cohort of patients with and without nosocomial infection in a French university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 28(3), 265-272. doi:10.1086/512626
- Hardy, O. T., Kim, A., Ciccarelli, C., Hayman, L. L., & Wiecha, J. (2013). Increased Toll-like receptor (TLR) mRNA expression in monocytes is a feature of metabolic syndrome in adolescents. *Pediatr Obes*, 8(1), e19-23. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00098.x
- Hayden, M. K., Blom, D. W., Lyle, E. A., Moore, C. G., & Weinstein, R. A. (2008). Risk of hand or glove contamination after contact with patients colonized with vancomycin-resistant enterococcus or the colonized patients' environment. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 29(2), 149-154. doi:10.1086/524331

- Huang, S. S., Datta, R., & Platt, R. (2006). Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. *Arch Intern Med*, 166(18), 1945-1951. doi:10.1001/archinte.166.18.1945
- Lemmen, S. W., Häfner, H., Zolldann, D., Stanzel, S., & Lütticken, R. (2004). Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *J Hosp Infect*, 56(3), 191-197. doi:10.1016/j.jhin.2003.12.004
- Machuca, M. A., Sosa, L. M., & González, C. I. (2013). Molecular typing and virulence characteristic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from pediatric patients in Bucaramanga, Colombia. *PLoS One*, 8(8), e73434. doi:10.1371/journal.pone.0073434
- Manago, K., Nishi, J., Wakimoto, N., Miyanohara, H., Sarantuya, J., Tokuda, K., Kawano, Y. (2006). Biopelícula formation by and accessory gene regulator typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains recovered from patients with nosocomial infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27(2), 188-190. doi:10.1086/500620
- Martínez, J. A., Ruthazer, R., Hansjosten, K., Barefoot, L., & Snyderman, D. R. (2003). Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant enterococci in patients treated in a medical intensive care unit. *Arch Intern Med*, 163(16), 1905-1912. doi:10.1001/archinte.163.16.1905
- Naimi, T. S., LeDell, K. H., Como-Sabetti, K., Borchardt, S. M., Boxrud, D. J., Etienne, J., Lynfield, R. (2003). Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*, 290(22), 2976-2984. doi:10.1001/jama.290.22.2976

- Olarte, N. M., Valderrama, I. A., Reyes, K. R., Garzón, M. I., Escobar, J. A., Castro, B. E., & Vanegas, N. (2010). Colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en una unidad de cuidados intensivos de adultos de un hospital colombiano: caracterización fenotípica y molecular con detección de un clon de circulación en la comunidad. *Biomédica*, 30, 353-361.
- Sakoulas, G., Eliopoulos, G. M., Moellering, R. C., Wennersten, C., Venkataraman, L., Novick, R. P., & Gold, H. S. (2002). Accessory gene regulator (agr) locus in geographically diverse *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother*, 46(5), 1492-1502.
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int*, 2016, 2475067. doi:10.1155/2016/2475067
- Stegger, M., Wirth, T., Andersen, P. S., Skov, R. L., De Grassi, A., Simões, P. M., Laurent, F. (2014). Origin and evolution of European community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *MBio*, 5(5), e01044-01014. doi:10.1128/mBio.01044-14
- Tokue, Y., Shoji, S., Satoh, K., Watanabe, A., & Motomiya, M. (1992). Comparison of a polymerase chain reaction assay and a conventional microbiologic method for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 36(1), 6-9.
- Wakefield, D. S., Helms, C. M., Massanari, R. M., Mori, M., & Pfaller, M. (1988). Cost of nosocomial infection: relative contributions of laboratory, antibiotic, and per diem costs in serious *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control*, 16(5), 185-192.



Zhao, C., Liu, Y., Zhao, M., Yu, Y., Chen, H., Sun, Q., Wang, H. (2012). Characterization of community acquired *Staphylococcus aureus* associated with skin and soft tissue infection in Beijing: high prevalence of PVL+ ST398. *PLoS One*, 7(6), e38577. doi:10.1371/journal.pone.0038577



## Capítulo 2



# **Perfil epidemiológico y terapéutico de pacientes con tuberculosis pulmonar en la ciudad de Cali, Colombia**

*Alfonsina del Cristo Martínez  
Universidad Santiago de Cali, Colombia*



# Perfil epidemiológico y terapéutico de pacientes con tuberculosis pulmonar en la ciudad de Cali, Colombia

*Alfonsina del Cristo Martínez  
Universidad Santiago de Cali, Colombia*

## 2.1 Introducción

La tuberculosis (TB), continúa siendo una de las primeras causas de mortalidad por un único agente infeccioso en personas que padecen el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (OPS, 2005). En la actualidad, la coinfección con el VIH (TB/VIH), las comorbilidades asociadas y la resistencia a fármacos ha influido de manera significativa en el incremento de los casos por tuberculosis (WHO, 2013).

Una gran variedad de cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, presenta una notable resistencia a fármacos antituberculosos de primera línea, esencialmente a isonizida y rifampicina (Fonseca, Knight, & McHugh, 2015). La presencia de cepas resistentes hace que la infección crónica se torne más severa, aumentando con ello el riesgo de muerte de aquellos pacientes que la

padecen (Fonseca, Knight, & McHugh, 2015), (WHO, 2015). En pacientes TB/VIH, la resistencia al tratamiento antituberculoso, se ha convertido hoy día en uno de los grandes problemas de salud pública, a pesar de los múltiples esfuerzos de las entidades territoriales (Hupat, 2015). Los registros estadísticos en países latinoamericanos muestran un 10% de tuberculosis multirresistente a los fármacos (Ocheretina, y otros, 2012), (Cerezales & Elorza, 2011).

En la actualidad y en la mayoría de los casos, la tuberculosis multirresistente a la terapia farmacológica se asocia con mayor frecuencia a la falta de tratamientos adecuados, al suministro irregular de las sustancias farmacológicas que en su mayoría han demostrado eficacia en la disminución de la diseminación por cepas bacterianas y a otros factores relacionados con la adherencia, la inmunosupresión generada en pacientes TB/VIH, orientación inadecuada y precisa por parte del equipo de salud (Ocheretina, y otros, 2012), (Bang, 2010).

Una prioridad en las políticas de salud pública de países como Colombia, ha sido la prevención y el control de la tuberculosis, dentro de las que se incluye el Plan Estratégico “Colombia libre de tuberculosis 2006-2015 para la expansión y fortalecimiento de la Estrategia DOTS-TAS” (OPS, 2005), (Pérez & López, 2016).

Otra de las estrategias está representada por el fortalecimiento de las acciones descritas en el plan, con el objeto de hacer frente a la coinfección TB/VIH y la multi-resistencia. A partir de ello se hace necesario establecer la magnitud de la tuberculosis farmacorresistente y los factores que de manera directa se relacionan con la aparición de casos nuevos, de forma que permitan acciones orientadas y efectivas en el fortalecimiento de programas de prevención y control.

Este capítulo basado en un estudio descriptivo, de corte transversal, proporciona información valiosa relacionada con el perfil epidemiológico y terapéutico de pacientes con tuberculosis realizado en la ciudad de Cali, donde por fenómenos, tal vez asociados a la migración, existe una alta prevalencia de pacientes infectados con el bacilo de la tuberculosis, siendo un factor epidemiológico que se debe tener en cuenta en el abordaje de los casos y en la disminución de la prevalencia de la enfermedad (Villegas, y otros, 2012), (Ferro, Nieto, Forero, & Sooligen, 2011).

## **2.2 Materiales y métodos**

El estudio se desarrolló en la ciudad de Cali, población que se caracteriza por la migración de habitantes desde diferentes sectores del occidente colombiano. Se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal, con recolección retrospectiva de la información de la base de datos del programa de tuberculosis de la Secretaría de Salud Pública Municipal, en la que se encontraban las fichas de tratamiento, de control bacteriológico y algunos datos de la historia clínica de pacientes con tuberculosis pulmonar reportados durante el año 2013.

## **2.3 Análisis estadístico.**

En el análisis se incluyeron variables sociodemográficas (edad, género, estrato socioeconómico, ocupación, procedencia), variables clínicas (estado nutricional, adicción a drogas, comorbilidades, coinfección con el virus VIH), fármaco-resistencia, adherencia al tratamiento farmacológico, además de reportes de baciloscopias y cultivos tomados a los pacientes.

La diferencia en la frecuencia de las variables entre los grupos establecidos fue determinada empleando la prueba de chi-cuadrado. La significancia estadística fue asignada para valores de  $p < 0,05$ , considerando un nivel de confianza del 95% (alfa) y un error (beta) de 5%. Se calculó el Odds Ratio (OR) como medida de fuerza de asociación con sus respectivos índices de confianza del 95%, con el empleo del programa estadístico SPSS vs 20,0. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Programa de Tuberculosis de la Secretaría de Salud Municipal de la ciudad de Cali.

## 2.4 Resultados

Un total de 566 pacientes se encontraban activos en el programa de tuberculosis, de los cuales 157 pacientes presentaban historias clínicas completas y baciloscopias positivas. La edad promedio de los pacientes fue de 39 años (DS=14,675, min=16; max=84). La mayoría de los pacientes tenían entre 25 y 54 años y por población del género masculino (62,4%) con una significancia estadística ( $p=0,0017$ ).

Los pacientes con empleo formal representaron el 24,2%, mientras mujeres que se desempeñaban como amas de casa el 19,1% y los trabajadores de la salud el 4,4 % de los casos. Con respecto a las condiciones socioeconómicas se encontró que el 40,8% de los pacientes pertenecía al estrato 1, el 31,2% al estrato 2, el 22,9% al estrato 3 y el 4,5% al estrato 4; el 17,3% de los pacientes eran habitantes de la calle (Tabla 1).

Las comunas que reportaron mayor número de pacientes con tuberculosis fueron las 8, 9 y 14 con 16,4%, 13,6% y 17,3%, respectivamente.



Con respecto a la presencia de otras comorbilidades, se encontró que el 3,8% de los pacientes presentó algún grado de desnutrición y el 8,2% de los pacientes era diabético y/o alcohólico y presentaron co-infección con el VIH.

Un total de 52 pacientes presentaron tuberculosis fármaco resistente (TB-FR), representando el 9,2% (52/566) de los pacientes con TB activa ( $p=0,0684$ ).

En la población de pacientes con TB-FR, el 2,5% presentó desnutrición (OR=4,29; IC min 0,58; max 48,48;  $p=0,075$ ) y el 5,1% era adicto a drogas y/o alcohol (OR=3,63; IC min 0,97; max 14,82;  $p=0,023$ ) representando mayor riesgo de desarrollar resistencia a la terapia antituberculosa. Aunque los pacientes TB-FR coinfectados con el VIH representaron el 3,2% y con diabetes el 3,8% de los casos, no se encontró asociación estadísticamente significativa (Tabla 2).

Durante la fase inicial, el 8,7% de los pacientes recibió una combinación de dos medicamentos, el 17,4% recibió tres medicamentos, y el 73,9% recibió un tetra-conjugado o más medicamentos.

Entre estos pacientes se observó una resistencia a isoniazida de 94,2%, a rifampicina de 78,8%, a etambutol 45% y a pirazinamida 21,2%. Se determinó que 9 pacientes (17,3%) presentaron resistencia a un solo fármaco, 19 pacientes (36,5%) a dos fármacos y 24 pacientes (46,2%) presentaron resistencia a tres o más medicamentos, principalmente a la isoniacida, rifampicina y estreptomina (Tabla 3).

## 2.5 Discusión.

Estudios epidemiológicos realizados en Colombia durante la década de los años 70's y 80's, describieron una reducción significativa en los casos de tuberculosis en Colombia, debido en gran medida al mejoramiento de la calidad de vida de los trabajadores, a la introducción de programas de salud en la población colombiana, y al tratamiento eficaz con estreptomycin (OPS, 2005), (Ordoñez & López, 2013). Sin embargo, a partir del año de 1994, los casos comenzaron a aumentar (Rojas, y otros, 2010). Es así como para el año 2006, la cifra de nuevos casos de tuberculosis fue de 10 696 y en el año 2007 la cifra aumentó en 10 950 casos, manteniéndose un incremento sostenido y para el año 2008 cuando se notificaron 11 342 casos nuevos con el aumento de la incidencia (Ordoñez & López, 2013) (Cerezo, y otros, 2012).

El mayor número de casos de tuberculosis farmacológicamente sensible y resistente se presentó en hombres (62,4%); este resultado es concordante con la tasa de incidencia estimada por la OMS para Colombia (60,08% para los hombres frente al 39,91% para las mujeres) (WHO, 2013), (WHO, 2015). Aunque la relación entre el género y la farmacorresistencia no está claramente estudiada, y no se han determinado las posibles causas, quizás por ser el grupo laboralmente más activo, se condicionó a una mayor exposición al agente (Fonseca, Knight, & McHugh, 2015), (Al-Hajoj, y otros, 2013); esta afirmación puede en parte estar sustentada porque en el estudio se encontró que el 19,1% de las mujeres con tuberculosis fueron amas de casa.

El de adultos jóvenes fue el grupo poblacional con mayor prevalencia, con un promedio de edad de 39 años, en concordancia con los datos epidemiológicos descritos en algunas regiones de Perú y Haití (Ocheretina, y otros, 2012) (Cáceres, y otros, 2014).

Otro aspecto epidemiológico, es la vulnerabilidad que presentaron los pacientes de estratos socioeconómicamente bajos a la infección. El mayor número de casos se registró en la población de estrato social 1 y 2 con una prevalencia del 40,8% y 31,2%, respectivamente, poblaciones ubicadas principalmente en las comunas 8, 9 y 14 con alto predominio de población afrodescendiente. La ciudad de Cali concentra movimientos de población desplazada, principalmente desde la costa pacífica en el occidente de Colombia, muchas veces en situación de calle, representando un alto riesgo como un foco efectivo e importante de transmisión y de difícil control que mantiene la persistencia de la endemia tuberculosa (Rojas, y otros, 2010). Adicional a esta situación se encontró que los pacientes con empleo formal infectados representaron sólo el 24,2% de la población evaluada, lo que evidencia que la infección sigue acentuada en los grupos socialmente marginados con dificultad de acceso a la educación, a los programas de salud y en condiciones de hacinamiento y de calle.

**Análisis de la prevalencia de Tuberculosis farmacorresistente**  
Una característica importante en los nuevos casos de tuberculosis es la resistencia al tratamiento farmacológico con la generación de cepas multirresistentes (resistencia demostrada al menos a isoniazida y rifampicina) (Fonseca, Knight, & McHugh, 2015). Los estudios de resistencia a medicamentos antituberculosos realizados en Colombia entre 1995 y 2007 mostraron cepas de *M. tuberculosis* aisladas en Bogotá una tasa de 2,4% de resistencia inicial a los medicamentos de primera línea en el país y con características compatibles con aislamientos del Caribe y Europa (Cerezo, y otros, 2012). Sin embargo, los estudios reportaron cifras más altas en el Valle del Cauca para en el año 2004 con una prevalencia del 6% de TB-FR con una tendencia de resistencia primaria a los medicamentos de primera línea, principalmente en el municipio de Buenaventura (Villegas, y otros, 2012), (Ferro, Nieto, Forero, & Sooligen, 2011).

En este estudio, se determinó que para el tiempo de estudio, los pacientes presentaron resistencia a los fármacos antituberculosos en un 9,2%, reforzando la idea que el problema en esta región puede ser más grande que en el resto del país.

Entre las comorbilidades se encontró que la probabilidad de contraer TB resistentes es 3.63 veces mayor en las personas que son adictas a drogas (OR=3,63; IC min 0,97; max 14,82; p=0,023). Este resultado puede ser explicado por reportes que sostienen que los factores que más afectan a los pacientes con tuberculosis eran, el estado nutricional, la alteración de las relaciones interpersonales, las dificultades laborales y la pésima utilización del tiempo libre con un exagerado consumo de bebidas embriagantes (Ahmad, 2011).

Rojas y colaboradores, establecen que entre las enfermedades concomitantes en los pacientes con tuberculosis pulmonar se encontraron, la Diabetes Mellitus tipo 2 y la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC). Los resultados de nuestro estudio muestran que 8,3% de los pacientes tuberculosos es diabético y el 3,8% de ellos presentó resistencia al tratamiento antituberculoso (Rojas, y otros, 2010).

La coinfección de pacientes TB con el virus VIH representó el 8,3% de los casos con un valor que se encuentran en el rango reportado por otros estudios como el realizado por Arenas y colaboradores, en Armenia, quienes reportaron una prevalencia del 6,8% de coinfección con el virus VIH en 10 años de estudio (Arenas, y otros, 2012) y del 10,3% para el resto del país (Cerezo, y otros, 2012). Sin embargo, una menor prevalencia de pacientes TB-FR coinfectados con el VIH (3,2 %) fue registrada en este estudio, comparada con los resultados de otros estudios como el realizado en Francia en el que estableció que el 10% de los pacientes tuberculosos coinfectados con VIH

presentaron mayor probabilidad de presentar cepas resistentes, especialmente a la rifampicina (Henry, y otros, 2016).

La presencia de cepas resistentes a la terapia anti-tuberculosa en pacientes coinfectados con VIH, diabetes, desnutridos o con adicción a sustancias psicoactivas y al alcohol, puede deberse a la baja respuesta del sistema inmune que presenta el paciente con cualquiera de estas comorbilidades dificultando la erradicación de bacterias resistentes que se generan durante la quimioterapia (Dramowski, y otros, 2012), (Prach, y otros, 2013).

Las altas cifras de prevalencia en la resistencia a los antibióticos de primera línea como la isoniazida con un 94,2%, a etambutol con un 75%, a rifampicina y pirazinamida con un 78,8%, corroboran la situación actual en la que la OMS situó a nuestra región como población de “alto riesgo”, con la circulación de cepas multirresistentes en especial a fármacos de primera línea, con 36,5% de los casos con resistencia a isoniazida y rifampicina (Shorten, y otros, 2013), (Falzon, y otros, 2011).

Algunos estudios han determinado que una de las causas para crear resistencia a los fármacos de primera línea es el uso de pautas inadecuadas, errores de prescripción, toxicidad, o falta de recursos, y la no adherencia a los tratamientos, generando aislados resistentes que pueden ser transmitidos a la comunidad (Realpe, y otros, 2014) (Puerto, y otros, 2015).

Un factor de vital importancia para evitar la propagación y disminuir los casos de tuberculosis, especialmente los casos con resistencia a los fármacos, es la adherencia del paciente al tratamiento farmacológico (WHO, 2014). Los resultados de este estudio muestran que el 23,1% de los casos sigue presentando falta de adherencia al tratamiento de forma significativa, lo que estaría afectando considerablemente la posibilidad de curación de la enfermedad.

La OMS, plantea también que la transmisión primaria se podría detener con la identificación a tiempo de los casos resistentes y el uso de regímenes de tratamiento adecuados (WHO, 2014). La implementación de estrategias de adherencia al tratamiento de los casos resistentes actuaría de forma sinérgica para eliminar la mayoría de las potenciales fuentes. La eficacia del tratamiento es cercana al 47% en países como India, China, Corea del Sur, el sudeste asiático, Sudáfrica, Costa Rica, Alemania y Perú (WHO, 2015), (Dramowski, y otros, 2012), (WHO, 2014), (Torres-Chang, 2014) (Wang, y otros, 2014). En estos casos la mayoría de los esquemas fueron individualizados y contaron con fármacos de segunda línea. Los países con tasas de cura mayores al 50% fueron Corea, Perú y Alemania (WHO, 2014).

Por otra parte, los estudios realizados en Sudáfrica reportan el surgimiento de otro grupo de cepas con una alta transmisibilidad y letalidad en población infectada por el VIH que fueron denominadas cepas extremadamente multirresistentes (XFR TB, por sus siglas en inglés) (Dramowski, y otros, 2012). De acuerdo al Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), las cepas XFR TB se definen por la resistencia simultánea a isoniazida y rifampicina, así como a algunas fluoroquinolonas y a por lo menos uno de tres medicamentos inyectables de segunda línea (p. ej., amikacina, kanamicina o capreomicina) (Marks, y otros, 2014). En este sentido, en este estudio se encontró la probable existencia de estas cepas XFR TB en el 46,2% de los pacientes que presentaron resistencia simultánea a la isoniazida, la rifampicina y la estreptomycinina.

Una limitante del trabajo fue el registro incompleto y la calidad de la información consignada en los registros del programa de tuberculosis y en las fichas epidemiológicas de los pacientes con tuberculosis que permitieran evaluar las variables clave que indiquen el fallo terapéutico, la información sociodemográfica, clínica, y la adherencia al tratamiento.

## **2.6 Conclusión.**

Los resultados que se evidenciaron en este estudio indican que la tuberculosis pulmonar afecta principalmente a adultos jóvenes, varones de bajos ingresos, en los que la adicción al alcohol y a las sustancias psicoactivas, además de enfermedades como la diabetes, la coinfección con VIH y la desnutrición constituyeron los factores de riesgo más relevantes en la población estudiada. El profesional de enfermería y el equipo multidisciplinario deben comprometerse en el control de la resistencia a los medicamentos en esta población, pues es la más vulnerable a presentar farmacorresistencia antituberculosa. Para esto, deben implantarse medidas preventivas y llevar a cabo investigaciones sobre brotes de la enfermedad –dado que se ha evidenciado que las cepas farmacorresistentes son diferentes a las sensibles (30)– y enfocarse en la educación, el seguimiento y el cuidado de la población.





## Referencias

- Ahmad, S. (2011). Pathogenesis, Immunology, and Diagnosis of Latent Mycobacterium tuberculosis Infection. *Clinical and Developmental Immunology*, 1-17.
- Al-Hajoj, S., Varghese, B., Shoukri, M. M., Al-Omari, R., Al-Herbwai, M., AlRabiah, F., Memish, Z. (2013). Epidemiology of antituberculosis drug resistance in Saudi Arabia: findings of the first national survey. *Antimicrob Agents Chemother. American Society for Microbiology*, 2161-2166.
- Arenas, N. E., Ramírez, N., González, G., Rubertone, S., García, A. M., & Gómez, J. E. (2012). Estado de la coinfección tuberculosis/virus de la inmunodeficiencia humana en el municipio de Armenia(Colombia): experiencia de 10 años. *Infectio*, 140-147.
- Bang, D. (14 de Noviembre de 2010). *The management of tuberculosis: epidemiology, resistance and monitoring, Rapid methods to improve treatment outcome*. Obtenido de Danish Medical Bulletin: <https://www.researchgate.net/publication/47699358>
- Cáceres, O., Rastogi, N., Bartra, C., Couvin, D., Galarza, M., Asencios, L., & Mendoza-Ticona, A. (2014). Characterization of the Genetic Diversity of Extensively-Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis Clinical Isolates from Pulmonary Tuberculosis Patients in Peru. *PLOS/ONE*, 15-30.
- Cerezales, S. M., & Elorza, N. (2011). Tuberculosis in special populations. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.
- Cerezo, I., Jimenéz, Y., Hernandez, J., Zozio, T., Murcia, M., & Rastogi, N. (2012). A first insight on the population structure of Mycobacterium tuberculosis complex as studied by spoligotyping and MIRU-VNTRs in Bogotá, Colom-

- bia. *Infection, Genetics and Evolution*, 657-663.
- Dramowski, A., Morsheimer, M. M., Jordaan, A. M., Victor, T. C., Donald, P. R., & Schaaf, H. S. (2012). Rifampicin-monoresistant *Mycobacterium tuberculosis* disease among children in Cape Town, South Africa. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 76-81.
- Falzon, D., Jaramillo, E., Schünemann, H. J., Arentz, M., Bauer, M., Bayona, J., Zignol, M. (2011). WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. *European Respiratory Journal*, 516-528.
- Ferro, B., Nieto, L. M., Forero, L., & Sooligen, D. V. (2011). Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Southwestern Colombia. *Emergin Infectious Diseases*, 1259-1262.
- Fonseca, J. D., Knight, G. M., & McHugh, T. D. (2015). The complex evolution of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Infect Dis. PublMed*, 94-100.
- Henry, B., Revest, M., Dournon, N., Epelboin, L., Mellon, G., Bellaud, G., Caumes, É. (2016). Preliminary Favorable Outcome for Medically and Surgically Managed Extensively Drug-Resistant Tuberculosis, France, 2009–2014. *Emerging Infectious Diseases*, 518-521.
- Hupat, E. W. (2015). Infección por virus de inmunodeficiencia humana en niños y adolescentes: Más de 25 años en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 44-56.
- Marks, S., Flood, J., Seaworth, B., Hirsch-Moverman, Y., Armstrong, L., Mase, S., Sheeran, K. (2014). Treatment Practices, Outcomes, and Costs of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 812-821.

- Ocheretina, O., Morose, W., Gauthier, M., Joseph, P., D'Meza, R., Escuyer, V. E., Fitzgerald, D. W. (2012). Multi-drug-resistant tuberculosis in Port-au-Prince, Haiti. *Rev Panam Salud Publica*, 221-224.
- OPS. (12 de Marzo de 2005). Organización Panamericana de la Salud. Obtenido de Colombia libre de tuberculosis 2006-2015 para la expansión y fortalecimiento de la estrategia DOTS/TAS: [http://www.paho.org/col/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1797:plan-estrategico-qcolombia-libre-de-tuberculosis-2006-2015-para-la-expansion-y-fortalecimiento-de-la-estrategia-dotstasq&Itemid=361](http://www.paho.org/col/index.php?option=com_content&view=article&id=1797:plan-estrategico-qcolombia-libre-de-tuberculosis-2006-2015-para-la-expansion-y-fortalecimiento-de-la-estrategia-dotstasq&Itemid=361)
- Ordoñez, S. A., & López, F. A. (2013). Tuberculosis en Colombia, de la historia al entendimiento de la enfermedad. *MedUNAB - Universidad Autónoma de Bucaramanga*, 127-142.
- Pérez, S. F., & López, M. P. (10 de Mayo de 2016). *Vigilancia y análisis de riesgo en salud pública. Protocolo para vigilancia en salud pública, Tuberculosis*. Obtenido de Instituto Nacional de Salud: <http://www.clinicamedihelp.com/documentos/protocolos/PRO%20Tuberculosis.pdf>
- Prach, L. M., Pascopella, L., Barry, P. M., Flood, J., Porco, T. C., Hopewell, P. C., & Metcalfe, J. Z. (2013). Rifampin mono-resistant tuberculosis and HIV co-morbidity in California,. *US National Institutes of Health*.
- Puerto, G., Erazo, L., Wintaco, M., Castro, C., Ribón, W., & Guerrero, M. I. (2015). Mycobacterium tuberculosis Genotypes Determined by Spoligotyping to Be Circulating in Colombia between 1999 and 2012 and Their Possible Associations with Transmission and Susceptibility to First-Line Drugs. *PLOS/ONE*, 1-11.
- Realpe, T., Correa, N., Roza, J. C., Ferro, B. H., Gomez, V., Zapata, E., Robledo, J. (2014). Population Structure among

- Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Pulmonary Tuberculosis Patients in Colombia. *PLOS/ONE*, 1-15.
- Rojas, C. M., Villegas, S. L., Piñeros, H. M., Chamorro, E. M., Durán, C. E., Hernández, E. L., Ferro, B. E. (2010). Características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de una cohorte de pacientes con tuberculosis pulmonar en Cali, Colombia. *Biomédica - Revista del Instituto Nacional de Salud*, 482-491.
- Shorten, R. J., McGregor, A. C., Platt, S., Jenkins, C., Lipman, M. C., Gillespie, S. H., McHugh, T. D. (2013). When is an outbreak not an outbreak? Fit, divergent strains of *Mycobacterium tuberculosis* display independent evolution of drug resistance in a large London outbreak. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Torres-Chang, J. (2014). Factores de riesgo en la aparición de multidrogo resistencia en pacientes con tuberculosis pulmonar. *Revista Médica Panacea*, 31-35.
- Villegas, S., Ferro, B., Perez-Velez, C., Moreira, C. A., Forero, L., Martinez, E., Caminero, J. A. (2012). High initial multidrug-resistant tuberculosis rate in Buenaventura, Colombia: a public-private initiative. *European Respiratory Journal*, 1569-1572.
- Wang, L., Zhang, H., Ruan, Y., Chin, D. P., Xia, Y., Cheng, S., Wang, Y. (2014). Tuberculosis prevalence in China, 1990-2010; a longitudinal analysis of national survey data. *The Lancet*, 1-15.
- WHO. (15 de Noviembre de 2013). *World health Organization*. Obtenido de Report, Global Tuberculosis Control: <http://www.who.int/es/>
- WHO. (2014). *Informe mundial sobre la tuberculosis 2014*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud/World Health Organization: <http://www.who.int/tb/publications/>

global\_report/gtbr14\_execsummary\_summary\_es.pdf

WHO. (11 de Enero de 2015). World Health Organization. Ginebra, Suiza 2014. Obtenido de Proposed Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015: [http://www.who.int/tb/post2015\\_strategy/en/](http://www.who.int/tb/post2015_strategy/en/)



## Capítulo 3

# **Factores de riesgo en infección por virus del papiloma humano Tipo 16 en mucosa oral sana de pacientes atendidos en una institución odontológica de Santiago de Cali**

*Dolly Aristizábal García*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Alba Aydeé Álvarez Ramírez*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Vanessa Ángel*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Hugo Ricardo Granada*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*





## Capítulo 3

# **Factores de riesgo en infección por virus del papiloma humano Tipo 16 en mucosa oral sana de pacientes atendidos en una institución odontológica de Santiago de Cali**

*Dolly Aristizábal García  
Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Alba Aydeé Álvarez Ramírez  
Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Vanessa Ángel  
Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Hugo Ricardo Granada  
Universidad Santiago de Cali, Colombia*

### **3.1 Introducción**

**E**l virus del papiloma humano (VPH) representa uno de los virus de transmisión sexual más frecuentes en el mundo, (D'Souza & col., 2007); existe evidencia de que éste actúa como agente etiológico en el cáncer cervicouterino (OMS, 2006) y a nivel bucal puede causar una transformación maligna

de células epiteliales en la orofaringeo denominado Carcinoma Escamocelular (Squamous Cell Carcinoma, SCC)(Preuss, Klusmann, Semrau, & Huebbers, 2011).

La infección por virus del papiloma humano (VPH) ocurre a través de las relaciones sexuales; tanto hombres como mujeres están involucrados en la cadena epidemiológica de la infección y son capaces, al mismo tiempo, de ser portadores asintomáticos transmisores.

Múltiples estudios alrededor del mundo han logrado establecer una íntima relación entre este agente infeccioso y los factores de riesgo que inciden en la aparición de este virus; las más comunes se asocian al comportamiento sexual del individuo.

Existe gran variedad de genotipos benignos y malignos del virus del papiloma humano; los más destacados e incidentes son los tipos 16 y 18 categorizados como tipos de alto riesgo que causan una transformación maligna del tejido de células escamosas del epitelio. Sin embargo, se consideran no solo como factor de riesgo para el carcinoma de cuello uterino y carcinoma anal, sino también para el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCC) especialmente carcinoma orofaríngeo (COCE). (Bosch, Lorincz, Muñoz, Meijer, & Shah, 2002)

Es poco lo que se conoce y reporta la literatura acerca del virus del papiloma humano (VPH) en mucosa oral sana, siendo de gran importancia conocer cómo este agente infeccioso logra estar latente sin generar signos y síntomas en el epitelio de la mucosa oral; y cómo éste logra producir a una transformación celular, desarrollando cáncer oral.

Los avances en técnicas de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa, (PCR) ha permitido detectar con mucha precisión, la presencia de tipos de VPH denomina-

dos de bajo y alto riesgo (por su frecuencia en tumores) en especial el 16 y el 18 (de Guglielmo et al., 2012). La presencia de VPH16 ha sido reportada en mucosa normal, en un rango entre 0 y 80% (Esquenazi, Filho, Carvalho, & de Barros, 2010). Un estudio realizado por Mancilla y col. (Mancilla, Aristizabal, & Acevedo, 2012) reportó, presencia del gen E7 de VPH tipo 16 amplificado en 21 de 48 (43.8%), a partir de ADN del epitelio bucal de 48 personas sin lesiones orales, empleando la técnica de PCR, en una población sana de la ciudad de Cali.

Teniendo en cuenta lo anterior y con el fin de aportar propuestas para la prevención, este trabajo se realizó con el objetivo de determinar los factores de riesgo asociados a infección por VPH16 positivo en mucosa oral sana en una población de pacientes que acudieron a una institución odontológica de la ciudad de Cali en el año 2013; a partir de la revisión de una base de datos obtenida de la aplicación de una encuesta a la población de estudio. El diseño del estudio fue descriptivo, observacional, de corte transversal. La información obtenida se ingresó a una base de datos en Microsoft Excel 2010. El análisis de los datos se hizo mediante el programa estadístico SPSS, utilizando las medidas generales estandarizadas para estudios descriptivos.

Reconocer los riesgos que pueden influir en la infección del VPH a nivel de la mucosa oral libre de lesión, es relevante para generar nuevos conocimientos que permiten crear programas de promoción, prevención y diagnóstico precoz en la salud bucal; es un propósito determinante de este capítulo.

## 3.2 Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio de corte descriptivo transversal; con aplicación de un formato para análisis de base de datos proveniente de una encuesta realizada en prueba preliminar a 70 participantes, a los que se les realizó técnica molecular de PCR convencional con hisopados de mucosa oral libre de lesión de los cuales 25 fueron positivos para VPH-16E7 (Aristizábal D & Mancilla L, 2016) con propósito de determinar factores de riesgo asociados a infección de VPH16 en cavidad oral realizados por Ángel et al., 2015.

Criterios de inclusión: pacientes con edades desde los 18 años, pacientes con VPH16 positivo libres de lesiones orales, pacientes que firmen el consentimiento informado y los criterios de exclusión: pacientes con edades menores de 18 años, encuesta no contestada o respuestas incoherentes, pacientes que no firmaron el consentimiento informado.

El diseño del instrumento de recolección de la información se estructuró fundamentado en la literatura científica y en la base de datos de una encuesta realizada en las instalaciones de la clínica odontológica en el año 2013, y convalidada por juicio de expertos, teniendo en cuenta variables, sociodemográficas, de comportamientos sexuales y biológicas.

Además, se permitió fortalecer el análisis de factores de riesgo contenidos a partir de una revisión sistemática de estudios presentes en buscadores como: Medline, Scielo, Science, Direct, Scopus, Proquest, Pubmed, Biomed. Se incluyeron artículos publicados desde el 2000 hasta el 2016 en inglés, español, y portugués con el fin de evaluar los estudios que tratan acerca de la infección por VPH en cavidad oral; se realizó una lista de referencias de artículos obtenidos manualmente para ser identificados, seleccionados y comparados con este estudio.

Los datos se registraron teniendo en cuenta los siguientes factores socio-demográficos: edad (años), género (femenino o masculino), etnia (indígena, negra, blanca, mestiza, otra), estado civil (soltero, casado, unión libre, viudo, divorciado, separado), nivel educativo (ninguno, primaria, secundaria, técnica o tecnológica, universitario, posgrado). Entre los factores de comportamiento social se incluyeron las relaciones sexuales, vida sexual activa, número de compañeros sexuales, práctica de sexo oral, consumo de alcohol, consumo de tabaco. Como factores biológicos se incluyeron el resultado de la prueba molecular de VPH y el diagnóstico de VPH en su compañero sexual.

### **3.3 Análisis de datos**

Se realizó un análisis exploratorio para identificar la frecuencia de presentación y distribución de cada una de las variables: sociodemográficas, de comportamiento social y biológico. Se hizo características sociodemográficas; factores de riesgo: estilo de vida y comportamientos sexuales. Se realizó un análisis descriptivo univariado y discriminado por género, en el cual las variables cuantitativas fueron descritas como medianas y rango intercuartílico; las variables cualitativas fueron descritas como números absolutos y porcentajes.

La distribución de las variables cualitativas se realizó con el test de  $\text{Chi}^2$  o con test exacto de Fisher, según la distribución de la variable. Se realizó un análisis bivariado con tablas de contingencias con el propósito de describir relaciones entre la variable de presencia de ADN de VPH y las características sociodemográficas; factores de riesgo: estilo de vida y comportamientos sexuales e identificar posibles relaciones estadísticas, para lo cual se establecieron como criterio de elección, valores  $p$  menores a 0.30. Las variables que cumplieron con este criterio fueron dicotomizadas y les fue calculado el OR como medi-

da de asociación, con un nivel de significancia de 0.05. Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el programa estadístico StataSE© versión 11 (StataCorp).

### **3.4 Consideraciones éticas**

Las consideraciones éticas que se describen a continuación se basan en los *Principios Bioéticos Universales* y en los artículos seleccionados de la Resolución 8430 de 1993 (4 de octubre de 1993) por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud y según su articulado correspondiente.

### **3.5 Resultados**

En este estudio, en la población *general*, de las 65 encuestas realizadas a los participantes se encontró lo siguiente: las edades oscilaban entre 18 y 75 años, siendo en su mayoría una población joven, solteros, género femenino y nivel de escolaridad universitaria. De estas encuestas, para el análisis de factores predisponentes a una infección por VPH16, se tomaron en cuenta, la población cuyos resultados fueron positivos para pruebas moleculares de  $\beta$ -globina (48 muestras) y que fueran positivas para el DNA de VPH-16 (25 muestras) representando un 52% (25/48).

### **3.5.1 Variables sociodemográficas**

Al discriminar por género, el rango intercuartílico de la edad de los hombres es más amplio (19-37 años) que el de las mujeres (20-31 años). La mayoría de los hombres son de raza blanca en un 37,5% a diferencia de las mujeres en la que predomina la raza mestiza con un 46,9%. Se evidenció un mayor porcentaje de hombres solteros (75%) que de mujeres (53,1%). La tendencia del ingreso < 1 SMMLV se conserva en ambos sexos.

En cuanto a los factores de riesgo relacionados con el estilo de vida se evidenció que la mayoría de la población consume alcohol de manera ocasional (70,8%), el 60,4% es no fumador frente a un 37,5% que sí lo es, y de los cuales el 18,7% fuma hace más de 3 años. Se encontró que el 75% de las mujeres consume alcohol de forma ocasional en comparación con los hombres con un 62,5%. Con relación al hábito de fumar, el 75% de las mujeres no fuma a diferencia del 68,8% de los hombres que si fuma. También, son más los hombres que llevan fumando hace más de 3 años (43,8%) que las mujeres (6,2%) (Tabla 3).

La preponderancia del grupo etario 18 a 25 años, en el cual se ubica el 70% de los participantes, con una mayoría claramente femenina y que, contrasta con la baja participación de personas entre los 26 y 40 años. Respecto a las variables sociodemográficas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas

Tabla 3. Variables sociodemográficas.

Característica	Masculino		Femenino		Total	
Edad (años)						
Mediana (RI)	22,5 (19-37)		22(20-31)		22	(19,5 - 32,5)
	No.	%	No.	%		
Etnia						
NS/NR	2	12,5	0	0	2	4,1
Blanca	6	37,5	9	28,1	15	31,2
Negra	3	18,7	5	15,6	8	16,8
Mestiza	5	31,3	15	46,9	20	41,7
Indígena	0	0	2	6,3	2	4,1
Otra	0	0	1	3,1	1	2,1
Nivel de escolaridad						
Primaria	1	6,3	1	3,1	2	4,2
Secundaria	4	25	8	25	12	25
Técnica	0	0	4	12,6	4	8,3
Universitaria	9	56,3	17	53,1	26	54,1
Sin estudios	1	6,2	1	3,1	2	4,2
NS/NR	1	6,2	1	3,1	2	4,2
Ingresos						
NS/NR	6	37,5	5	15,7	11	22,9
< 1SMMLV	6	37,5	15	46,9	21	43,7
2-3 SMMLV	2	12,5	6	18,7	8	16,7
> 3 SMMLV	2	12,5	6	18,7	8	16,7
Estado civil						
NS/NR	0	0	1	3,1	1	2,1
Casado	1	6,2	3	9,4	4	8,3
Soltero	12	75	17	53,1	29	60,4
Unión libre	2	12,6	9	28,1	11	22,9
Separado	1	6,2	2	6,3	3	6,3

Fuente: Elaboración propia, 2015.



### 3.5.2 Factores de riesgo – historial de reproducción

En relación los factores de riesgo de historial reproductivo, de las 32 mujeres encuestadas el 43,7% no responde o dice no saber acerca del número de sus embarazos, seguido del 25% que no han estado embarazadas y solo el 31,3% ha tenido al menos un embarazo; este mismo comportamiento se observó en la variable número de partos. Con relación al número de hijos vivos se presentó un 28% sin hijos vivos, seguido de un 12,5% con 2 hijos y 9,4% con 1 hijo vivo (Tabla 4).

*Tabla 4. Factores de riesgo – historial de reproducción*

Característica	N°	%	N° Total	% Total
<b>N° embarazos</b>				
Cero	8	25	8	25
Uno	4	12,5	4	12,5
Dos	3	9,4	3	9,4
Tres	2	6,3	2	6,3
Cinco	1	3,1	1	3,1
NS/NR	14	43,7	14	43,7
<b>Partos</b>				
Cero	8	25	8	25
Uno	4	12,5	4	12,5
Dos	3	9,4	3	9,4
Tres	2	6,3	2	6,3
Cinco	1	3,1	1	3,1
NS/NR	14	43,7	14	43,7
<b>Hijos vivos</b>				
Cero	9	28,2	9	28,2
Uno	3	9,4	3	9,4
Dos	4	12,5	4	12,5
Tres	1	3,1	1	3,1
Cinco	1	3,1	1	3,1
NS/NR	14	43,7	14	43,7

Fuente: Elaboración propia, 2015.

A continuación, se listan las tablas de contingencias generadas por el análisis bivariado, entre las variables de sociodemográficas, los factores de riesgo y la presencia o ausencia de ADN del virus VPH.

En cuanto a los factores de riesgo de estilo de vida, se encontró que hay una diferencia significativa en la frecuencia de consumo de alcohol con relación a la presencia de ADN del virus VPH ( $p=0.28$ ). De igual forma, entre los comportamientos sexuales, la práctica del sexo oral puede estar relacionada con la presencia de este ADN viral ( $p=0.23$ ) (ver Tablas 5 y 6).

*Tabla 5. Contingencia estilo de vida y presencia de VPH*

	Estilo de vida			<i>p</i> -value
	VPH			
Alcohol	Positivo	Negativo	Total	0.285
Nunca	3	2	5	
	60.00	40.00	100.00	
Ocasional	17	17	34	
	50.00	50.00	100.00	
Fin de semana	2	4	6	
	33.33	66.67	100.00	
Relativa frecuencia	3	0	3	
	100.00	0.00	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Fuma</b>				
NS/NR	0	1	1	0.541
	0.00	100.00	100.00	
Si	9	9	18	
	50.00	50.00	100.00	

No	16	13	29	
	55.17	44.83	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Tiempo que fuma</b>				
NS/NR	1	2	3	0.345
	33.33	66.67	100.00	
Nunca	16	13	29	
	55.17	44.83	100.00	
Menos de 1 año	1	4	5	
	20.00	80.00	100.00	
De 1-3 años	2	0	2	
	100.00	0.00	100.00	
Más de 3 años	5	4	9	
	55.56	44.44	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Tiempo que no fuma</b>				
NS/NR	3	5	8	0.920
	37.50	62.50	100.00	
Nunca	16	13	29	
	55.17	44.83	100.00	
Menos de 1 año	2	2	4	
	50.00	50.00	100.00	
De 1-3 años	1	1	2	
	50.00	50.00	100.00	
Más de 3 años	3	2	5	
	60.00	40.00	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	

Fuente: Elaboración propia, 2015

*Tabla 6. Contingencia de comportamientos sexuales y presencia de VPH.*

<b>Comportamientos sexuales</b>				<i>p-value</i>
<b>VPH</b>				
<b>Relación sexual</b>	Positivo	Negativo	Total	
Si	24	21	45	0.502
	53.33	46.67	100.00	
No	1	2	3	
	33.33	66.67	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Vida sexual activa</b>				
NS/NR	1	0	1	0.363
	100.00	0.00	100.00	
Si	18	20	38	
	47.37	52.63	100.00	
No	6	3	9	
	66.67	33.33	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Nº Compañeros sexuales</b>				
0	0	2	2	0.449
	0.00	100.00	100.00	
1	17	12	29	
	58.62	41.38	100.00	
2	2	5	7	
	28.57	71.43	100.00	
3	2	1	3	

	66.67	33.33	100.00	
4	2	2	4	
	50.00	50.00	100.00	
5	2	1	3	
	66.67	33.33	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Sexo oral</b>				
NS/NR	3	2	5	0.229
	60.00	40.00	100.00	
Si	14	8	22	
	63.64	36.36	100.00	
No	8	13	21	
	38.10	61.90	100.00	
Total	25	23	48	
	52.08	47.92	100.00	
<b>Edad sexual</b>				
No ha iniciado	1	2	3	0.491
	33.33	66.67	100.00	
Antes de 15 años	1	2	3	
	33.33	66.67	100.00	
Entre 15 y 18 años	18	17	35	
	51.43	48.57	100.00	
Después de 18 años	4	1	5	
	80.00	20.00	100.00	
Total	24	22	46	
	52.17	47.83	100.00	

Fuente: Elaboración propia, 2015.

### 3.5.3 Asociación de factores de riesgo con presencia de VPH

Se calculó como medida de asociación el *odds ratio* (OR) para las variables que resultaron significativas en el análisis bivariado, esto es, consumo de alcohol y práctica de sexo oral. Para este análisis, la variable consumo de alcohol tuvo que ser recodificada en una variable dicotómica, con categorías “sí” ha consumido alcohol y “no” lo ha consumido alguna vez.

Tabla 7. Factores de riesgo de mayor relación con presencia de VPH

Variable	OR	IC	<i>p</i> -value
Sexo oral	2,84	0,70 - 11,74	0,09
Consumo de alcohol	0,70	0,05 - 6,80	0,71

OR: odds ratio; IC: Intervalo de confianza.

Fuente: Elaboración propia, 2015.

En la Tabla 7 se muestra el cálculo del OR para el factor de riesgo para VPH; sexo oral, arrojo un resultado de 2,84; esto quiere decir que la oportunidad de presentarse VPH en personas que han practicado sexo oral es casi 3 veces la oportunidad de quienes no han practicado. Sin embargo, el intervalo de confianza (IC) contiene el valor nulo (1), por tanto, el hallazgo no es estadísticamente significativo. No obstante, es importante tener en cuenta este dato ya que el valor *p* está cercano a 0,05 (valor *p*=0,09) Por el contrario, la variable consumo de alcohol mostró un OR de 0.70 pero con un valor *p* de 0,71 que hace del resultado un hallazgo no significativo estadísticamente hablando.

### **3.6 Discusión**

Con relación a la distribución del género, se encontró: 18 mujeres (56.3%) y 7 hombres para un (43.7%). Las posibles condiciones que explicarían dicha prevalencia o permanencia de infección por VPH en el género femenino son la anatomía y fisiología de sus genitales y la humedad en dicha zona. Así mismo la constitución del epitelio mucoso cervical rico en células escamosas, la humedad y el calor se convierten en un reservorio importante del virus (Mosmann JP, Zayas S & Kiguen AX, 2017), como también el estado de latencia del virus en el epitelio del endocervix. A nivel celular la cavidad oral y la vagina son estructuralmente muy similares con el mismo tipo de células epiteliales, que son los blancos objetivos o células blanco de los tipos virales oncogénicos VPH-16 y VPH-18. Otra consideración importante que vincula la alta prevalencia del virus en mujeres es el consumo de anticonceptivos orales, que permite aumentar el riesgo de adquisición del VPH por lo menos en cuatro veces. Molecularmente en ausencia de hormonas el receptor para éstas es inactivo y se localiza en el núcleo celular. Pero cuando hay hormonas (estrógenos), el VPH presenta regiones de regulación de transcripción del ADN, en particular, la proteína E7 de los serotipos 16 y 18 aumenta la actividad transcripcional y las concentraciones de la oncoproteína c-Jun que reconocen hormonas y permiten aumentar la expresión de genes virales, como el E6 y el E7 que son de carácter oncogénico (Castro, Girón, & Marina, 2011) (León Cruz & Faxas, 2004).

La presencia de VPH-16 se encontró mayormente en el grupo de edades en el rango de los 18 a 25 años, con 18 positivos, representado en un 52.94%. Teniendo en cuenta lo anterior, algunos autores indican que ciertos factores pueden estar relacionados con la presencia del VPH en la población joven; tal es el caso de Wiesner et al (2009) quienes expresan que la mayoría de las

personas menores de 30 años se infectan de manera transitoria con el virus; dicha infección puede considerarse “normal”, sin embargo su persistencia puede generar daños a la salud (Ceballos, Peñaloza, del Castillo, Murillo, & Fidalgo, 2009).

En promedio la juventud inicia su vida sexual entre los 15 y los 19 años. Melo G, (2009), refiere que la edad y el incremento en el número de parejas sexuales están asociados con la posibilidad de reinfecciones. Considerar la edad y género en los comportamientos de orden social son muy influyentes, debido al cambio hormonal (Soto-De Leon et al., 2009); los comportamientos sociales y los nuevos hábitos llevan a presentar la prevalencia mayor en estos grupos (Davlin, Berenson, & Rahman, 2015).

El 43 % de los participantes de este estudio con VPH+ gana entre uno y dos salarios mínimos vigente SMMLV. La carencia de recursos económicos no permite muchas veces el alcance de un nivel educativo en la población y por ende desconocen los riesgos ante las problemáticas a las que están expuestos, además tienen menor acceso a la salud y al cribado. Se cita un estudio realizado en Estados Unidos sobre el conocimiento de VPH, en donde se evaluaron 468 madres en edades entre 9-17 años, de bajos ingresos, teniendo como resultado un 89% de positividad del virus en esta población y poco conocimiento al respecto (Dahlstrom et al., 2015).

Con respecto al grado de escolaridad, en este estudio se encontró más frecuente un nivel universitario (56.3 %), esto comparado en un estudio realizado en la universidad de Texas EE.UU en 356 jóvenes en que se evaluaron las características socioeconómicas según el comportamiento sexual arrojando que los pacientes con un mayor nivel de educación tuvieron una media más alta ( $p= 0.008$ ) relacionada con el número de parejas sexuales durante la vida ( $p= 0.070$ )(Gillison y col, 2012a).



Leigh y col, informan que las personas con alguna educación superior tienen más probabilidades de haber tenido cinco o más parejas sexuales en los últimos cinco años comparado con las personas que no han terminado sus estudios de secundaria de dos a tres parejas.

El estado civil más frecuentemente fue soltero con un 60,4%. La mayor incidencia del estado conyugal soltero en este estudio se puede atribuir a que los afectados pertenecen al grupo etario de mayor actividad sexual. Los resultados de la actual investigación se asemejan a un estudio de 63 pacientes, hombres y mujeres, en el municipio de Camagüey, Cuba, donde reportaron que la mayoría de los afectados con infección por VPH oral eran solteros, para un 66,7 %. Se evidenció un mayor porcentaje de hombres (65,0 %) que de mujeres (35,0 %) (Ramos & López, 2013, Davlin & col., 2015).

Con respecto a los factores de riesgo relacionados con el estilo de vida se evidencia en este estudio que, en las mujeres, el 75% consume alcohol de forma ocasional, en comparación con los hombres con un 62,5%. El número de positivos de VPH-16 que consumen alcohol de manera ocasional es de 17 participantes. No se encontraron reportes en la literatura acerca de que este factor se asocie con la aparición de VPH, puesto que no es muy común el consumo de alcohol en las mujeres. La infección por VPH y su relación con el alcohol, está determinada por la presencia de etanol en las bebidas alcohólicas; este compuesto genera cambios de permeabilidad al generar disolución lipídica de la membrana celular que permite una vía de entrada del virus (León Cruz et al., 2009); además inhibe la producción de la proteína p53 del ciclo celular, lo que hace que el virus pueda invadir las células (González, 2014).

En cuanto al consumo de tabaco, se encontró en este trabajo que los fumadores con VPH+ representan el 36% (9/25), y de

ellos el 55.5%(5/9) fuma hace más de tres años y los no fumadores representan el 64%. Respecto al consumo de tabaco Gillison et al. (2012b), informaron que el VPH es más frecuente en los fumadores.

Es importante destacar que el tabaco contiene hasta 50 carcinógenos potenciales, como las nitrosaminas y policíclicos hidrocarbonos aromáticos. Algunos de ellos que causan mutaciones del gen p53 supresor de tumores u otros genes que interrumpen la regulación del ciclo celular y la modulación de la respuesta inmune (Nayak et al., 2012).

En cuanto al factor de historial reproductivo, en el presente estudio, de las 32 mujeres encuestadas, solo el 31,3 % ha tenido al menos un embarazo. Este mismo comportamiento se observó en el estudio de Girón C et al. realizado a 274 mujeres embarazadas; 39% de las mujeres participantes refirieron haber tenido un embarazo. En este periodo se aumentan los niveles de estrógeno y glucógeno local en genitales que sumados a las alteraciones del sistema inmune favorecen la proliferación viral (Morales & Alejandro, 2015).

Syrjanen propone que la transmisión vertical puede ocurrir durante la transmisión periconceptual (tiempo de la fecundación), prenatal (durante el embarazo), y el período perinatal (durante el parto e inmediatamente después). La prevalencia de la transmisión vertical no se conoce a exactitud en estos periodos, pero sugiere que es un método viable de estar infectado con VPH (Syrjanen, 2010).

El 93.7 % de la población ha tenido relaciones sexuales. En cuanto a la edad de la primera relación reporta estar entre los 15 y 18 años que equivale al 76.1%. En esta investigación, los hombres son los que inician vida sexual a edades tempranas antes de los 15 años con un 13,3%, comparado con las mujeres con un 3,2%.

Las poblaciones más jóvenes con inicio de relaciones sexuales a temprana edad son vulnerables para la infección por VPH. En el inicio de las relaciones sexuales la mujer adolescente es la más vulnerable ya que existen factores biológicos que predisponen a la infección como: la inmadurez del sistema inmunológico, una gran eversión glandular en el cuello uterino (ectropión) con una metaplasia escamosa muy activa, la inadecuada producción de moco cervical favorecida por los ciclos anovulatorios (no ovulación) (Sam Soto, Ortiz de la Peña Carranza, & Lira Plascencia, 2011).

Con relación al número de compañeros sexuales, la mayoría tiene un compañero sexual y este dato se reporta más en las mujeres con un 60,4%. También se encontró que un 25% de los hombres han tenido 4 compañeras sexuales y solo un 8,3% las mujeres presentaron también 4 compañeros sexuales.

Se puede observar que los hombres, por cultura, manejan mayor número de parejas sexuales; además de las conductas homo y bisexuales, este factor genera mayor transmisión del VPH. Biológicamente se reconoce el papel del hombre como transmisor (aunque también lo desarrolla) y la mujer como reservorio y portadora teniendo en cuenta la constitución del epitelio vaginal para el establecimiento del virus.

En lo que respecta a los hombres que tienen una sola pareja, por mucho tiempo su cónyuge podría ser menos propenso a adquirir una infección por VPH porque las parejas monógamas podrían tener un estado expuesto de anticuerpos desarrollados que los protegen de la futura adquisición del mismo tipo de VPH (Beachler & D'Souza, 2013).

Una afirmación contraria a esto supone que curiosamente, el riesgo de contraer infección por VPH en la mujer no está definido solamente por el número de sus parejas sexuales, sino

también por el número de parejas sexuales de su marido: en un estudio de Castellsagué et al. demostraron que “la presencia de ADN de VPH en el pene aumenta del riesgo de cáncer de cuello uterino a sus esposas. Las probabilidades de cáncer entre monógamas aumentaron hasta de 9 a 10 veces en relación con la presencia de los tipos de VPH de alto riesgo en el pene de sus maridos (Castellsagué et al., 1997).

El 45.8% de la población ha realizado sexo oral. Se destaca un 56,3% en hombres contra un 40,6% en las mujeres. Mosher et al. realizaron una encuesta en EE.UU, en el Centro de Control de Enfermedades (CDC) y muestran que tanto el cunnilingus y la felación son comportamientos sexuales ampliamente practicados. En una gran población de (N = 12.571), el 90% de los hombres y el 88% de mujeres reportaron haber tenido sexo oral con una pareja del sexo opuesto (Mosher, Chandra, & Jones, 2005).

Cardesa y Nadal, informaron que el sexo oral es uno de los principales factores de riesgo para la progresión de la enfermedad causada por el HPV (Cardesa & Nadal, 2011)(Tristão, Ribeiro, de Oliveira, Betiol, & Bettini, 2012). Y se ha encontrado que es el modo primario de adquisición de VPH oral demostrando que tener múltiples parejas sexuales se asocia con una mayor prevalencia de la infección (Gillison & col., 2012b).

Por último, mencionamos un factor de riesgo local a tener en cuenta por cuanto el virus se inocula al contacto mucosa- mucosa, mucosa- piel en zonas erosionadas. La boca es una cavidad topográfica con alto riesgo de erosión de mucosa por diversos factores como habito de mordida, usos de prótesis total y removible , uso de aparatología ortodóntica, uso de pearcing, mucositis, higiene oral deficiente y en fluidos gingivales en periodontitis crónica como lo consideraron Escalona, Correnti, Veitia, & Perrone (2011). Además, Investigadores de la Universidad de Búfalo y el Instituto del Cáncer Roswell Park pu-

blicaron el primer estudio que muestra una asociación entre la periodontitis y el riesgo de cáncer de lengua. (*Revista Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. Tezal, 2012).

### 3.7 Conclusiones

En este estudio, en las variables de estilo de vida, se encontró una diferencia en la presencia del material genético del virus del papiloma humano respecto al consumo de alcohol; así mismo para la variable sexo oral, respecto al grupo de comportamientos sexuales. En las variables sociodemográficas no se registraron diferencias significativas. De la totalidad de los encuestados que toman alcohol con frecuencia, el 100% tuvieron muestra de ADN positiva para VPH, pero estadísticamente no fue significativo; el 66.7% ha practicado el sexo oral. El OR determinó que los que han practicado sexo oral tienen casi tres veces la oportunidad de tener ADN de VPH que los que no lo han practicado, con una significancia de 0,09.

Con relación a este estudio se encontró positividad de VPH genotipo 16 en mucosa oral sana en una población caleña que asistió a una institución odontológica de la Universidad Santiago de Cali.

Los resultados presentados pueden estar influenciados por la subjetividad y las creencias, lo que limita a los participantes a contestar con certeza y esto afectar los datos

El análisis exhaustivo de los factores de riesgo en la infección por VPH permitió a los investigadores reconocer la importancia del efecto potencial del virus en la salud bucal, su biología y manifestaciones en el hospedero, lo que contribuye como un aporte a la academia y a la comunidad en general, para fortalecer el conocimiento sobre la promoción y prevención de este agente infeccioso.



## Referencias

- Ángel Vanessa, Granada Hugo Ricardo, Aristizábal D y Álvarez Alba. (2015). Factores de riesgo asociados a infección por VPH16 en mucosa oral sana de pacientes atendidos en una institución odontológica de Santiago de Cali en el año 2013. Universidad Santiago de Cali, Cali, Colombia.
- Aristizábal D & Mancilla L. (2016). *Detección del Virus de Papiloma Humano (VPH) tipo 16 en mucosa oral sana, lesiones verrugosopapilares, leucoplasia y cáncer escamocelular*. Trabajo investigación maestría. Cali: Universidad del Valle.
- Beachler, D. C., & D'Souza, G. (2013). Natural history of oral papillomavirus infection in men. *Lancet*, 382(9895), 839–841. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61123-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61123-X)
- Bosch, F. X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C. J. L. M., & Shah, K. V. (2002). The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Bmj*, (January).
- Cardesa, A., & Nadal, A. (2011). Carcinoma of the head and neck in the HPV era. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica*, 20(3), 161–173.
- Castellsagué, X., Ghaffari, a, Daniel, R. W., Bosch, F. X., Muñoz, N., & Shah, K. V. (1997). Prevalence of penile human papillomavirus DNA in husbands of women with and without cervical neoplasia: a study in Spain and Colombia. *The Journal of Infectious Diseases*, 176(2), 353–61. <https://doi.org/10.2307/30106792>
- Castro, J. I., Girón, C. H., & Marina, V. M. (2011). La anticoncepción hormonal como factor de riesgo para cáncer cervicouterino: Evidencias biológicas, inmunológicas y epidemiológicas. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 79(9), 533–539.

- Ceballos, C. W., Peñalosa, J. A., Del Castillo, A. D., Murillo, S. T., & Fidalgo, H. S. (2009). Efectos psicológicos y sociales que genera la prueba del virus del papiloma humano: un estudio exploratorio. *Revista Colombiana de Cancerología*, 13(3), 145–156. [https://doi.org/10.1016/S0123-9015\(09\)70133-7](https://doi.org/10.1016/S0123-9015(09)70133-7)
- D'Souza, G., Kreimer, A. R., Viscidi, R., Pawlita, M., Fakhry, C., Koch, W. M., Gillison, M. L. (2007). Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *The New England Journal of Medicine*, 356(19), 1944–56. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa065497>
- Dahlstrom, K. R., Bell, D., Hanby, D., Li, G., Wang, L. E., Wei, Q., Sturgis, E. M. (2015). Socioeconomic characteristics of patients with oropharyngeal carcinoma according to tumor HPV status, patient smoking status, and sexual behavior. *Oral Oncology*, 51(9), 832–838. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.06.005>
- Davlin, S. L., Berenson, A. B., & Rahman, M. (2015). Correlates of HPV Knowledge among Low-income Minority Mothers with a Child 9-17 Years of Age. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*, 28(1), 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2014.01.109>
- De Guglielmo, Z., Ávila, M., Veitía, D., Fernandes, A., Venegas, C., & de Plata, C. M. (2012). Detección de VPH en boca y cérvix de pacientes con diagnóstico citológico sugestivo de infección genital. *Anales Del Sistema Sanitario de Navarra*, 35(3), 445–454. <https://doi.org/10.4321/S1137-66272012000300010>
- Escalona, L., Correnti, M., Veitia, D., & Perrone, M. (2011). Detection of human papillomavirus in gingival fluid of venezuelan HIV patients with periodontal disease. *Investigacion Clinica*, 52(3), 207–215.



- Esquenazi, D., Filho, I. B., Carvalho, M. da G. da C., & de Barros, F. S. (2010). The frequency of human papillomavirus findings in normal oral mucosa of healthy people by PCR. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 76(1), 78–84.
- Gillison, M. L., Broutian, T., Pickard, R. K. L., Tong, Z., Xiao, W., Kahle, L. Chaturvedi, A. K. (2012a). Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 307(7), 693–703. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.101>
- Gillison, M. L., Broutian, T., Pickard, R. K. L., Tong, Z., Xiao, W., Kahle, L., ... Chaturvedi, A. K. (2012b). Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 307(7), 693–703. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.101>
- González Melissa, M. L. A. y col. (2014). La infección por virus del papiloma humano afecta el pronóstico del cáncer orofaríngeo escamocelular. Revisión de la literatura. *Univ Odontol.*, 33(71), 55–63.
- León Cruz, G., Bosques Diego, O., Silveira Pablos, M., de la Torre, A. I., Soto, P., & Rodríguez, B. (2009). Incidencia de los factores de riesgo en mujeres cubanas con diagnóstico de lesiones oncológicas de cérvix. *Revista Cubana de Medicina*, 48(1).
- León Cruz, G., & Faxas, M. E. (2004). Cáncer de cuello uterino: Aspectos inmunológicos y genéticos de mayor relevancia. *Revista Cubana de Medicina*.
- Mancilla, L.I., Aristizabal, D., & Acevedo, S. M. (2012). Infección con papilomavirus humano tipo 16 en mucosa normal de cavidad oral en una población de la ciudad de Cali, 1(2), 11–20.

- Melo G, W.S. (2009). El virus del papiloma humano.(Condi-  
lomas). *Rev de Divulgación Científica y Tecnológica de la  
Universidad Veracruzana*.
- Morales, A.A., & Alejandro, R. (2015). Condiloma acuminado  
y embarazo. Consideraciones en la atención prenatal. *Ga-  
ceta Médica Espirituana, 17(2)*, 12.
- Mosher, W. D., Chandra, A., & Jones, J. (2005). Sexual behav-  
ior and selected health measures: men and women 15-44  
years of age, United States, 2002. *Advance Data, (362)*,  
1–55.
- Mosmann JP, Zayas S, Kiguen AX, V. R. (2017). Infección por  
Virus Papiloma Humano en mucosa oral y genital. *Rev Fac  
Ciencias Médicas, [Jornada de Investigación Científica  
2017 JICXVIII].Pag 2. ISSN1853-0605*.
- Nayak, S., Chandra, S., Mehrotra, D., Kumar, S., Agrawal, S.  
P., Kumar, S., & Goel, M. M. (2012). Effect of tobacco,  
alcohol, and smoking habits in oral precancer with histo-  
logical proven epithelial dysplasia. *Journal of Oral Biolo-  
gy and Craniofacial Research, 2(3)*, 159–162. [https://doi.  
org/10.1016/j.jobcr.2012.10.008](https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2012.10.008)
- OMS. (2006). *Preparación de la introducción de las vacunas  
contra el VPH. Orientaciones normativas y programáticas  
para los países*. Ginebra.
- Preuss, S. F., Klusmann, J. P., Semrau, R., & Huebbers, C.  
(2011). Update on HPV-induced oropharyngeal cancer.  
*HNO, 59(10)*, 1031–1038. [https://doi.org/10.1007/s00106-  
011-2391-z](https://doi.org/10.1007/s00106-011-2391-z)
- Ramos Dora Ester y López Manuel. (2013). Condiloma acu-  
minado en adolescentes y adultos jóvenes del área de salud  
“Tula Aguilera” en el municipio de Camagüey. *MEDISAN,  
17(8)*, 3060.

- Sam Soto, S., Ortiz de la Peña Carranza, A., & Lira Plascencia, J. (2011). Ginecología y obstetricia de México. Virus. Artículo de revisión. *Ginecol Obstet Mex*, 79(4), 214–224.
- Soto-De Leon, S. C., Camargo, M., Sanchez, R., Leon, S., Urquiza, M., Acosta, J., Patarroyo, M. A. (2009). Prevalence of infection with high-risk human papillomavirus in women in Colombia. *Clin. Microbiol. Infect*, 15(1), 100–102. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02120.x>
- Syrjanen, S. (2010). Current concepts on human papillomavirus infections in children. *APMIS*, 118(6–7), 494–509. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02620.x>
- Terai, M., Hashimoto, K., Yoda, K., & Sata, T. (1999). High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults. *Oral Microbiology and Immunology*, 14(4), 201–5. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.1999.140401.x>
- Tezal, M. (2012). Interaction between Chronic Inflammation and Oral HPV Infection in the Etiology of Head and Neck Cancers. *International Journal of Otolaryngology*, 2012(Table 1), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2012/575242>
- Tristão, W., Ribeiro, R. M. P., de Oliveira, C. A., Betiol, J. C., & Bettini, J. de S. R. (2012). Epidemiological study of HPV in oral mucosa through PCR. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 78(4), 66–70. <https://doi.org/10.1590/S1808-86942012000400013>



## Capítulo 4

# **Mutaciones en *ppGpp* y *dkxA* afectan la secreción de proteínas efectoras de la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium**

*Tania Gaviria Cantin*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Luisa María Nieto Ramírez*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Carlos Balsalobre Parra*  
*Universidad de Barcelona, España*



# Mutaciones en *ppGpp* y *dksA* afectan la secreción de proteínas efectoras de la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

*Tania Gaviria Cantin*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Luisa María Nieto Ramírez*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Carlos Balsalobre Parra*  
*Universidad de Barcelona, España*

## 4.1 Introducción

**E**l género *Salmonella*, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, está compuesto por bacterias Gram negativas, no esporuladas, en forma de bacilo. *Salmonella* tiene importante relevancia a nivel de salud pública ya que es uno de los principales patógenos entéricos tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Diferentes serovares pueden causar dos patologías claramente diferenciadas, salmonelosis y fiebres tifoideas. La salmonelosis es una gastroenteritis cuyos síntomas son diarrea, fiebre, vómito y dolor abdo-

minal, causada por toda una serie de serovares no tifoideos, que también pueden infectar un amplio rango de animales. Los serovares más relevantes son Typhimurium y Enteritidis, (Ohl & Miller, 2001; Gordon, 2008). En Colombia, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium es el serovar más prevalente. El último reporte del Instituto Nacional de Salud mostró que, de los 23 serovares incidentes en el país, el serovar *Typhimurium* representa el 30% del total de los aislamientos que se realizaron entre los años 1997 y 2016.

Los genes de virulencia de *S. Typhimurium* están localizados mayoritariamente dentro de islas de patogenicidad (SPI, del inglés *Salmonella pathogenicity island*). Si bien se ha identificado un elevado número de SPIs, hay cinco que se encuentran ampliamente distribuidas entre los serovares no tifoideos. De éstas, la denominada SPI-1 es una de las más caracterizadas. SPI-1 codifica para proteínas efectoras y para un sistema de secreción de tipo III (T3SS) requerido para secretar proteínas efectoras, codificadas tanto dentro como fuera de la SPI-1. Una vez en el citoplasma de la célula hospedadora, estas proteínas efectoras desencadenan el proceso de invasión de *Salmonella* en células no fagocíticas mediante la reordenación del citoesqueleto de actina (Marcus, Brumell, Pfeifer, & Finlay, 2000) (SPI). Se han identificado al menos trece proteínas cuya secreción es mediada por el T3SS de la SPI-1 (T3SS-1): AvrA, SipA, SipB, SipC, SipD, SlrP, SopA, SopB/SigD, SopD, SopE, SopE2, SptP y SspH, cuya función principal es inducir el ondulamiento de la membrana de la célula hospedadora, resultando en la entrada de la bacteria.

La alarmona (p)ppGpp, tetra- o penta-fosfato de guanosina, es un nucleótido modificado que actúa como mensajero secundario en respuesta a diferentes tipos de estrés. En enterobacterias su síntesis está catalizada por RelA y SpoT. RelA es la principal proteína productora de ppGpp en condiciones de carencia de



aminoácidos. SpoT es capaz de sintetizar ppGpp en respuesta a otras condiciones de estrés y es la enzima responsable de su degradación (Cashel, M; Gentry, D; Hernandez, V; y Vinella, 1996). ppGpp es la molécula efectora de lo que se conoce como respuesta estricta, inicialmente descrita como la respuesta por la que se regula el número de ribosomas atendiendo a la cantidad de aminoácidos presentes en el medio. La represión de la producción de ribosomas en situaciones de carencia de aminoácidos tiene un efecto global en la célula causando una reducción de la síntesis proteica y de la tasa de crecimiento (Sands & Roberts, 1952) (Stent & Brenner, 1961).

DksA es una proteína de 151 aminoácidos y un tamaño de 17 kDa, que se encuentra en muchas bacterias incluyendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* y *Salmonella*. Estudios previos han relacionado DksA con multitud de procesos celulares tales como división celular, respuesta estricta, *quorum sensing* o virulencia, tanto en *E. coli* como en otras proteobacterias relacionadas (Paul et al., 2004) ppGpp and the initiating NTP, that bind to RNA polymerase (RNAP. Se ha demostrado que DksA potencia el efecto represor de ppGpp sobre los promotores de los ARNr y su efecto estimulador sobre los promotores de los operones de algunos genes responsables de la síntesis de aminoácidos, sugiriendo que ppGpp y DksA son cofactores (Paul et al., 2004) ppGpp and the initiating NTP, that bind to RNA polymerase (RNAP. Además, se ha determinado que DksA se une al centro catalítico de la ARNpol junto con ppGpp (Perederina et al., 2004). ppGpp y DksA conjuntamente reprimen y/o estimulan directamente la transcripción al causar alteraciones en la formación del complejo abierto de la ARNpol durante el inicio de transcripción. Además se ha propuesto que ppGpp junto con DksA pueden afectar la expresión de otros muchos genes al afectar la afinidad de la ARNpol por la interacción con subunidades sigma alternativas como  $\sigma^s$  y  $\sigma^{54}$  (Gourse, Ross, & Rutherford, 2006) (Magnusson, Farewell, &

Nyström, 2005). También se ha descrito que *DksA* y *ppGpp* incrementan la fidelidad de la transcripción al disminuir la tasa de incorporación incorrecta de nucleótidos (Roghanián, Zenkin, & Yuzenkova, 2015).

En este capítulo se presentan los resultados de un estudio donde se analizó el efecto de la alarmona *ppGpp* y la proteína *DksA* en la secreción de proteínas efectoras de la isla de patogenicidad 1.

## 4.2 Materiales y métodos

Para analizar el efecto de la proteína *DksA* y la alarmona *ppGpp* sobre la secreción de proteínas efectoras en *Salmonella*, fue necesario crear mutantes para ambos factores. Para ello se llevó a cabo la técnica de inactivación de genes cromosómicos por reemplazamiento alélico (Datsenko & Wanner, 2000). Se obtuvo una cepa en la que se eliminaron los genes *relA* y *spoT* obteniéndose una cepa incapaz de sintetizar *ppGpp*, denominada mutante *ppGpp*<sup>0</sup>. Por otro lado, también se obtuvo una cepa mutante *dksA*. Como control en todos los experimentos, se utilizó la cepa salvaje (*wild type*: WT) SV5015 (SL1344 *his*<sup>+</sup>). En la Tabla 8 se encuentran todas las cepas utilizadas en este trabajo.

Tabla 8. Lista de cepas utilizadas en este estudio.

Cepa	Genotipo relevante	Referencia
SV5015	<i>Salmonella entérica</i> serovar Typhimurium SL1344 <i>his</i> <sup>+</sup>	(Vivero et al., 2008)
SV5015 <i>ppGpp</i> <sup>0</sup>	Mutación genes <i>relA</i> y <i>spoT</i>	Este estudio
SV5015 <i>dksA</i>	Mutación gen <i>dksA</i>	Este estudio
SV5015 <i>ppGpp</i> <sup>0</sup> SipA::3flag	Transducción SipA::3flag	Este estudio
SV5015 <i>dksA</i> SipA::3flag		

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## 4.3 Técnicas experimentales con proteínas

### 4.3.1 Precipitación de proteína total secretada

Las proteínas secretadas por las diferentes cepas de *Salmonella* fueron analizadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Para ello se utilizaron cultivos bacterianos en LB a una densidad óptica a una longitud de onda de 600 nm ( $DO_{600nm}$ ) de 2,0. Se obtuvieron sobrenadantes libres de células por centrifugación a 5 000 rpm durante 10 minutos y la remoción final de células y fragmentos celulares usando filtros de 0,22  $\mu$ m (Millex-GP; poliétersulfona, 50 mm). Las proteínas presentes se precipitaron por incubación con ácido tricloroacético (TCA) frío a una concentración final del 10% durante 1 hora en hielo. A continuación, se centrifugó la muestra 20 min a 13 000 rpm a 4 °C, se retiró el sobrenadante y se añadió acetona al 80% fría. Se centrifugó a 13 000 rpm durante 2 min a temperatura ambiente, y se retiró el sobrenadante. El sedimento con las proteínas precipitadas se resuspendió en tampón de carga para proteínas (5 % glicerol, 2,5 %  $\beta$ -mercaptoetanol, 1,15% SDS, 31,25mM Tris, 0,05% azul de bromofenol). La presencia de restos de ácido tricloroacético provocó una acidificación del medio que se evidenció por el viraje de color del tampón de proteínas de azul a amarillo. Se añadió Tris-Base saturado para neutralizar el pH, retornando el color azul a la muestra. Las muestras se incubaron durante 5 min a 100°C. Se guardaron a -20°C hasta su análisis.

### 4.3.2 Obtención de extractos celulares

Este método se utilizó para detectar proteínas intracelulares. Para ello, se recogieron las células de 1 ml de cultivo por centrifugación a 5 000 rpm durante 10 minutos. El sedimento obtenido se resuspendió en tampón de carga para proteínas. El volumen utilizado en cada caso fue el valor de la  $DO_{600nm}$  dividido entre 4 en ml. De esta manera se consiguió normalizar la concentración de proteína atendiendo a la biomasa de los cultivos. Una vez resuspendido el sedimento celular en el tampón de proteínas, se incubó durante 5 min a 100°C para lisar las células.

### 4.3.3 Inmunodetección de proteínas por Western Blot

Las proteínas separadas por electroforesis en geles de poliacrilamida fueron transferidas a un soporte sólido para ser posteriormente detectadas mediante anticuerpos específicos.

Las proteínas separadas por electroforesis fueron electrotransferidas del gel de poliacrilamida a una membrana de PVDF (fluoruro de polivinilideno) utilizando el EBU 4000: Semy-Dry Blotting System CE (C. B. S. Scientific). El gel de poliacrilamida se depositó encima de la membrana, y el conjunto se situó entre ocho piezas de papel de transferencia (Whatman 3 mm). Se aplicó un amperaje de 60 mA (4-10 voltios) durante 1 hora.

Tras la transferencia, la membrana de PVDF se bloqueó mediante incubación durante una hora a temperatura ambiente en PBS-T (80 mM  $Na_2HPO_4$ , 20 mM  $NaH_2PO_4$ , 100 mM NaCl pH 7,3, 0,2 %Tritón™ X-100) conteniendo leche descremada en polvo al 5 % como agente de bloqueo. A continuación, se descartó la solución de bloqueo y se incubó la membrana a la

misma temperatura durante 1 hora con el anticuerpo contra la proteína que se quería detectar (anti-Flag: 1:10000 (Sigma)), diluido en 10 ml de tampón PBS-T con leche descremada al 2,5%. El exceso de anticuerpo fue eliminado con tres lavados de 10 min cada uno en PBS-T. Posteriormente se incubó la membrana con el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa que permitía la detección del anticuerpo primario, diluido en PBS-T. El exceso de anticuerpo secundario también fue eliminado con tres lavados de 10 min cada uno en PBS-T.

Para iniciar el revelado mediante detección de quimioluminiscencia se utilizó el kit ECLTM Western Blotting, GE Healthcare o LUMI-LIGHT (Roche) siguiendo las recomendaciones del fabricante. La detección y cuantificación se llevó a cabo con el equipo Molecular Imager ChemiDoc XRS System de Bio Rad y el software Quantity One 4.6.6.

## 4.4 Resultados

### 4.4.1 Perfil de proteínas secretadas en las cepas mutantes ppGpp<sup>0</sup> y *dksA*

Se caracterizaron los perfiles de las proteínas secretadas (secretoma) en cultivos de la cepa WT (de ahora en adelante denominada “wild type” (WT)) y en los mutantes ppGpp<sup>0</sup> y *dksA*, en LB en fase estacionaria (DO<sub>600nm</sub> de 2,0) a 37 °C en agitación. Estas son condiciones descritas para la inducción de la expresión de la SPI-1 (Bustamante et al., 2008). Los extractos de proteínas secretadas fueron analizados por electroforesis en geles de poliacrilamida y posterior tinción con azul de Coomassie. En la Figura 4 se muestran los resultados.

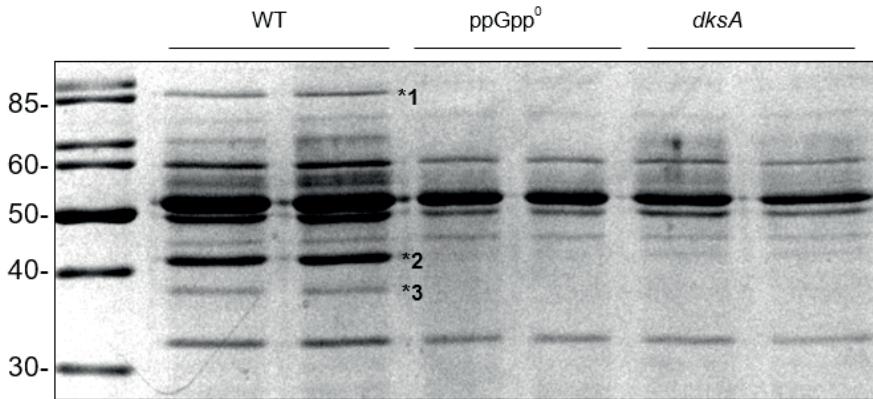


Figura 4. Perfil de proteínas secretadas (secretoma) de las cepas WT (SV5015) y mutantes *ppGpp*<sup>0</sup> y *dksA*. Las cepas fueron crecidas en LB a 37 °C en agitación hasta una  $DO_{600nm}$  de 2,0 tras ser inoculadas a una  $DO_{600nm}$  de 0,001. Los sobrenadantes obtenidos por centrifugación a partir de cultivos independientes fueron filtrados para eliminar células residuales y las proteínas presentes se precipitaron con TCA a una concentración final del 10 %. Las proteínas fueron separadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 12,5 %. Las bandas proteicas fueron visualizadas mediante tinción con azul de Coomassie. El carril M corresponde a una mezcla de proteínas con las masas indicadas en kDa. Se indican las bandas que presumiblemente corresponden a las proteínas: 1. *SipA*, 2. *SipC* y 3. *SipD*.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Como se puede observar, al comparar el perfil proteico de la cepa WT con las mutantes *ppGpp*<sup>0</sup> y *dksA*, se observan varias diferencias reveladas por la intensidad de las bandas observadas. Atendiendo a su peso molecular estimado y a trabajos previos publicados, algunas de las bandas de la WT correspon-

den a las proteínas: 1. SipA 2. SipC y 3. SipD, descritas como proteínas efectoras secretadas por el T3SS y codificadas en la SPI-1 (Komoriya et al., 1999) (Mizusaki, Takaya, Yamamoto, & Aizawa, 2008). En la cepa mutante ppGpp<sup>0</sup> se observa ausencia total de estas tres proteínas, lo que no ocurre en la cepa mutante *dksA* donde están ausentes las proteínas SipA y SipD, pero SipC se encuentra con una intensidad disminuida mas no ausente. Estos resultados sugieren que ppGpp y DksA estarían jugando un papel importante en la secreción de las proteínas efectoras de la SPI-1.

Estudios de inmunodetección de la proteína SipA fueron realizados para confirmar los resultados del secretoma de las diferentes cepas de *Salmonella*. Se llevó a cabo la inmunodetección de la proteína SipA, utilizando una cepa derivada de SV5015, en la que la proteína SipA se expresa conteniendo una etiqueta 3Flag en el extremo carboxi-terminal (Hüttener, Dietrich, Paytubi, & Juárez, 2014) (Uzzau, Figueroa-Bossi, Rubino, & Bossi, 2001). La construcción génica que permite expresar SipA::3Flag fue transducida a las cepas ppGpp<sup>0</sup> y *dksA*. Extractos de proteínas intracelulares de las diferentes cepas fueron obtenidos a partir de cultivos independientes crecidos en LB a 37 °C y en agitación hasta una DO<sub>600nm</sub> de 2,0. La detección de la etiqueta 3Flag se realizó mediante el uso de un anticuerpo monoclonal anti-Flag. Se puede observar que la cantidad de proteína SipA está importantemente reducida en las cepas mutantes ppGpp<sup>0</sup> y *dksA* respecto a la cepa WT (Figura 5). Estos resultados confirman lo anteriormente mostrado en el secretoma, donde la cantidad de proteína SipA secretada al medio extracelular es prácticamente ausente en las cepas mutantes.

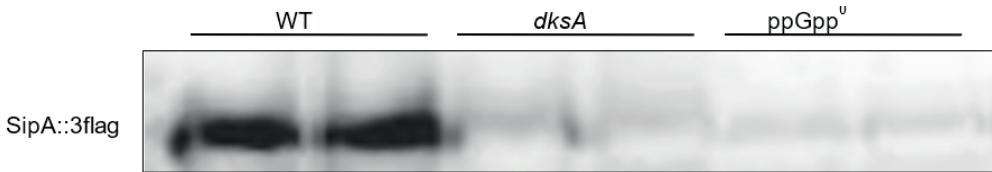


Figura 5. Inmunodetección de la proteína efectora SipA en extractos de proteínas intracelulares obtenidos a partir de dos cultivos independientes de las cepas WT (*sipA::3Flag*) y sus mutantes *dksA* y *ppGpp<sup>u</sup>* crecidas en LB a 37 °C en agitación a una DO600nm de 2,0 tras ser inoculadas a una DO600nm de 0,001. La detección de la etiqueta 3Flag se realizó mediante el anticuerpo monoclonal anti-Flag. La detección de las bandas se llevó a cabo mediante quimioluminiscencia con el kit comercial ECL.

Fuente: Elaboración propia, 2016

## 4.5 Discusión

Se ha descrito que en *E. coli*, la proteína DksA actúa como un cofactor que se une directamente al canal secundario de la ARN polimerasa, potenciando el efecto de ppGpp durante la respuesta estricta. Además, se ha demostrado que ppGpp juega un papel importante en relación a la virulencia en varias bacterias incluyendo *E. coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *Vibrio cholerae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Aberg et al., 2006) (Klinkenberg et al., 2010) (Hammer, Tateda, & Swanson, 2002) (Zusman, Gal-Mor, & Segal, 2002) (Haralalka, Nandi, & Bhadra, 2003) (Erickson, Lines, Pesci, Venturi, & Storey, 2004).

En *Salmonella spp*, las proteínas efectoras presentes en la SPI-1, son importantes para llevar a cabo el proceso de invasión de células epiteliales. Se ha descrito que dentro de las proteínas



que llevan a cabo una alteración de la membrana plasmática de la célula hospedadora permitiendo la entrada de la bacteria, se encuentran las proteínas Sip. En este capítulo, se observó primero que la ausencia de DksA y ppGpp, impide que *Salmonella* lleve a cabo la secreción de las proteínas SipA, SipC y SipD en fase de crecimiento estacionaria. Teniendo en cuenta que los niveles de ppGpp incrementan drásticamente en el inicio de fase estacionaria, los resultados sugieren que ppGpp podría estar implicado en la regulación fisiológica de la producción de estas proteínas. También observamos que hubo una disminución importante en la proteína SipA intracelular en ausencia de DksA y ppGpp, sugiriendo por tanto que ppGpp podría estar afectando la expresión de los genes que codifican para las proteínas Sip. Estos resultados, concuerdan con lo previamente descrito por Pizzaro y Cerdá, indicando que ppGpp juega un importante papel como regulador de la expresión de los genes de virulencia en *S. Typhimurium*. Ellos observaron que cepas de *Salmonella* mutantes *relA spoT*, mostraron ser no invasivas en ensayos *in vivo* e *in vitro*. Estas cepas presentaban una reducción importante en la expresión de los genes *hilA* e *invF* que codifican para los principales activadores transcripcionales de la isla de patogenicidad 1 (SPI-1). Ninguna de las condiciones de crecimiento probadas que simulaban las condiciones intestinales, fueron capaces de inducir la expresión de *hilA* en ausencia de ppGpp (Pizarro-Cerdá & Tedin, 2004). Más adelante, Thompson y colaboradores describieron que ppGpp estaría involucrado en la transducción de señales ambientales que regulan los genes de virulencia. Thompson y sus colaboradores observaron que ppGpp era necesario para la expresión de *hilA*, *hilC*, *hilD* e *invF*, y, por tanto, para la expresión de los genes de la SPI-1, en condiciones limitantes de oxígeno (Thompson et al., 2006). Por otro lado, Azriel y colaboradores demostraron que DksA regula positivamente los genes de la SPI-1 mediante ensayos de invasión de células epiteliales, en mitad de la fase exponencial de crecimiento (Azriel, Goren, Rahav, &

Gal-Mor, 2016), apoyando nuestros hallazgos. Curiosamente, nuestros resultados fueron contrarios a los reportados por Rice y colaboradores, donde ellos observan mediante ensayos transcripcionales que cepas carentes de DksA aumentan los niveles de expresión de genes de la SPI-1 en fase estacionaria (Rice, Ramachandran, Shearer, & Thompson, 2015). Cabe mencionar, que nuestros resultados fueron confirmados con estudios transcripcionales de microarrays, donde se observa que en ausencia de *dksA*, los genes *sipA*, *sipC* y *sipD* disminuyen su expresión con valores de fold change de -8,69, -3,67, -10,28, respectivamente, en comparación con la cepa WT (datos completos no mostrados).

## **4.6 Conclusiones**

Las proteínas efectoras SipA, SipC y SipD, no son secretadas en las cepas mutantes para la proteína DksA y la alarmona ppGpp.

La proteína SipA disminuye su expresión en ausencia de DksA y ppGpp.

## **Agradecimientos**

A la Universidad de Barcelona, por ser la entidad en donde se financió y ejecutó este estudio. A todo el grupo de investigación de factores de virulencia bacteriana (Laboratorio 4) del departamento de Genética, Microbiología y Estadística de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona y al grupo de investigación de la Doctora Ute Römling del Instituto Karolinska de Estocolmo, Suecia por el acompañamiento y colaboración durante la ejecución de los experimentos.



## Referencias

- Cashel, M.; Gentry, D.; Hernandez, V.; Vinella, D. (1996). The stringent response in *Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular biology. *ASM Press Washington DC, 1*, 1458–1489.
- F., Juárez, A., & Madrid, C. (2008). Modulation of horizontally acquired genes by the Hha-YdgT proteins in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology*, *190*(3), 1152–6. <https://doi.org/10.1128/JB.01206-07>
- Gordon, M. (2008). *Salmonella* infections in immunocompromised adults. *The Journal of Infection*, *56*(6), 413–422.
- Gourse, R. L., Ross, W., & Rutherford, S. T. (2006). General pathway for turning on promoters transcribed by RNA polymerases containing alternative sigma factors. *Journal of Bacteriology*, *188*(13), 4589–91. <https://doi.org/10.1128/JB.00499-06>
- Magnusson, L. U., Farewell, A., & Nyström, T. (2005). ppGpp: a global regulator in *Escherichia coli*. *Trends in Microbiology*, *13*(5), 236–42. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.03.008>
- Marcus, S. L., Brumell, J. H., Pfeifer, C. G., & Finlay, B. B. (2000). *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, *2*(2), 145–56. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10742687>
- Ohl, M. E., & Miller, S. I. (2001). *Salmonella*: a model for bacterial pathogenesis. *Annual Review of Medicine*, *52*, 259–74. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.52.1.259>
- Paul, B. J., Barker, M. M., Ross, W., Schneider, D. A., Webb, C., Foster, J. W., & Gourse, R. L. (2004). DksA: a critical component of the transcription initiation machinery that

- potentiates the regulation of rRNA promoters by ppGpp and the initiating NTP. *Cell*, *118*(3), 311–22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.009>
- Perederina, A., Svetlov, V., Vassilyeva, M. N., Tahirov, T. H., Yokoyama, S., Artsimovitch, I., & Vassilyev, D. G. (2004). Regulation through the secondary channel--structural framework for ppGpp-DksA synergism during transcription. *Cell*, *118*(3), 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.06.030>
- Roghanian, M., Zenkin, N., & Yuzenkova, Y. (2015). Bacterial global regulators DksA/ppGpp increase fidelity of transcription. *Nucleic Acids Research*, *43*(3), 1529–36. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv003>
- SANDS, M. K., & ROBERTS, R. B. (1952). The effects of a tryptophan-histidine deficiency in a mutant of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, *63*(4), 505–11. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=169301&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- STENT, G. S., & BRENNER, S. (1961). A genetic locus for the regulation of ribonucleic acid synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *47*, 2005–14. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=223254&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Vivero, A., Baños, R. C., Mariscotti, J. F., Oliveros, J. C., García-del Portillo,

Capítulo 5

**Prevalencia de *Staphylococcus aureus*  
aislado de estudiantes asintomáticos  
del Programa De Medicina de la  
Universidad Santiago de Cali**

*Mónica Chávez Vivas*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Ángela María Escudero*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*





# Prevalencia de *Staphylococcus aureus* aislado de estudiantes asintomáticos del Programa De Medicina de la Universidad Santiago de Cali

*Mónica Chávez Vivas*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

*Ángela María Escudero*  
*Universidad Santiago de Cali, Colombia*

## 5.1 Introducción

**S** *taphylococcus aureus* es la principal especie patógena de su género, causa común de infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario (Olaechea, 2010, p.256). El interés actual del estudio de este patógeno deriva, bien de su elevada frecuencia, o por representar, en el caso de cepas resistentes a meticilina (aislados SARM), una de las principales causas de brotes de infección nosocomial en nuestro país (Buitrago, 2008; Escobar et al., 2008; Jiménez, 2008 y Cortes, 2007).

La infección intrahospitalaria ha generado problemas de salud pública, lo que supone un enorme costo económico anual, además de duplicar las posibilidades de muerte en los pacientes que la desarrollan (Tong, Davis, Eichenberger, Holland y

Fowler, 2015, p.603) y han contribuido a la aparición de nuevas cepas multirresistentes.

*S. aureus* coloniza el cuerpo humano y presenta gran versatilidad en adquirir diferentes mecanismos de resistencia, el cual durante décadas ha logrado evadir los diferentes antibióticos; esto ha generado que esté presente en ambientes hospitalarios generando la mayoría de las enfermedades nosocomiales (Ospina, 2008 y Cruz et al., 2005)

La diseminación en el ambiente hospitalario a menudo se origina a partir de la contaminación cruzada; el medio más común de transferencia de patógenos se produce a través de las manos de los profesionales de la salud y de los pacientes (Wertheim et al., 2005). La inadecuada asepsia aporta a la diseminación de patógenos que transmiten los microorganismos directamente a otras salas o instrumentales de la misma, creando un ambiente hostil para el personal de salud y para los pacientes y/o familiares (Kluytmans y Wertheim, 2005, p.3).

El problema se agrava porque en la actualidad han emergido cepas de SARM en infecciones asociadas a la comunidad, principalmente en gente joven, causando infecciones de piel y de tejidos blandos con la generación de enfermedades más severas que las nosocomiales (Gimeno, 2007, p.448). La preocupación ahora es que estas cepas entren al ambiente hospitalario y aumente los riesgos de morbi-mortalidad a nivel nosocomial.

Existen múltiples evidencias que demuestran que el personal de salud se encuentra colonizado por bacterias, convirtiéndose en potenciales diseminadores de bacterias multirresistentes a pacientes hospitalizados (Chávez, 2014; Arteaga, 2016 y Al Laham, 2016). En este grupo se encuentran también los estudiantes del área de la salud. Diversos estudios han demostrado

la colonización nasal de *S. aureus* con resistencia a los antibióticos (incluidos aislamientos SARM) en estudiantes de Medicina (Vasanthakumari, 2009; Zakai, 2015 y Collazos, 2015).

La prevalencia de SARM nosocomial, es alta, es poco lo que se sabe sobre su epidemiología y aún menos sobre el comportamiento en la comunidad (Gimeno, 2007, p.448). Lo anterior sugiere la necesidad de trabajar localmente en este campo para poder conocer la magnitud real de la prevalencia de SARM y la dinámica de su transmisión tanto a nivel nosocomial como a nivel comunitario.

Una mayor comprensión de la epidemiología molecular de *S. aureus* posibilitará el establecimiento de medidas eficientes en el manejo racional de las infecciones que produce, lo cual redundará en el mejoramiento de las condiciones de salud de la población (Ridenour, Wong, Call y Climo, 2006, p.271).

La prevención y control de infecciones reduce la carga de bacterias multirresistentes en las instituciones hospitalarias y esta prevención depende de prácticas clínicas seguras y apropiadas, que se deben incorporar en toda la atención rutinaria del paciente (Gurieva, Bootsma y Bonten, 2012. p.302).

El personal de salud y los estudiantes deben desempeñar un papel fundamental en ayudar a disminuir la propagación de las enfermedades infecciosas y la diseminación de bacterias con la implementación de estrategias adecuadas que ayuden a reducir este problema en el entorno hospitalario y en la comunidad.

Los beneficios que puede reportar la promoción eficaz de higiene de las manos, el empleo de barreras de contención, la adherencia a los protocolos y la administración de antibióticos a cargo del personal de salud afecta en gran medida la calidad

de la atención y la seguridad de los pacientes, con costos adicionales evitables, por lo que debe apoyarse su amplia difusión. Es importante considerar la presencia de estas cepas de origen comunitario que potencialmente pueden ser introducidas al ambiente hospitalario, a fin de elaborar estrategias para contenerlas y evitar su propagación (De Giusti, et al., 2011)

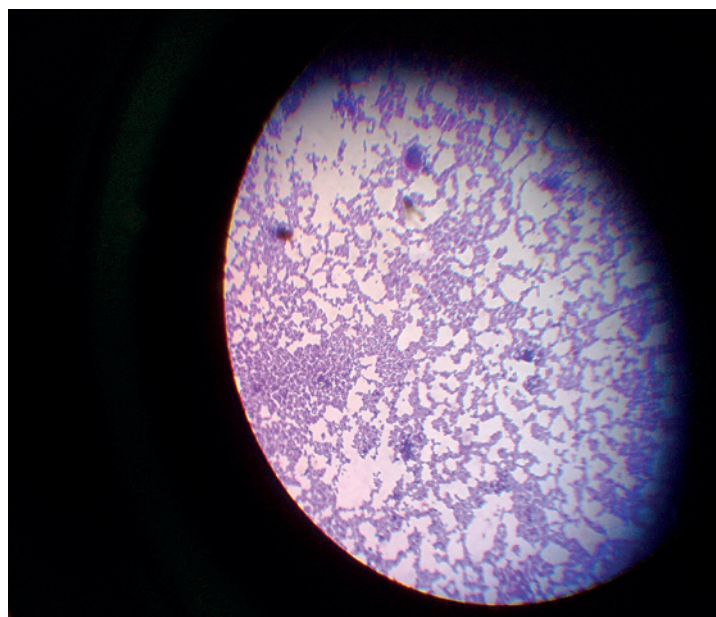
El propósito de este estudio fue ampliar el conocimiento acerca de la colonización de bacterias resistentes en los estudiantes que aún no tienen contacto con el ambiente hospitalario, a fin de contribuir a la implementación de medidas estrictas tendientes a emplear de forma efectiva las barreras de contención y la adecuada higiene de manos.

## **5.2 Materiales y métodos**

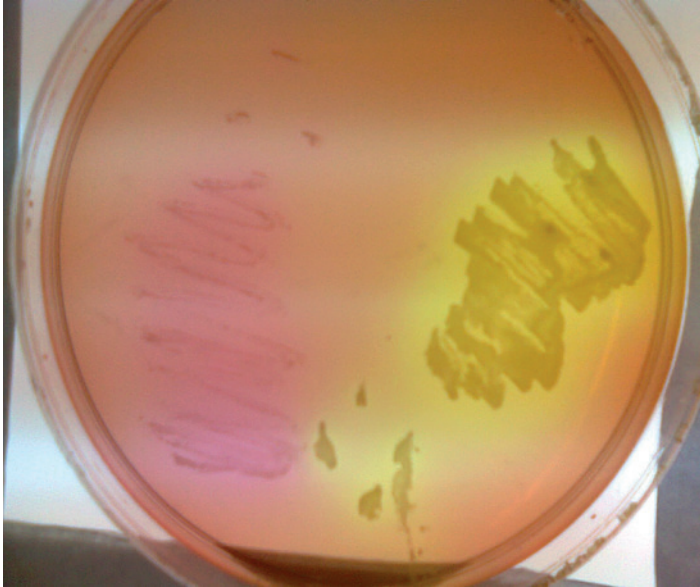
El estudio desarrollado es de tipo descriptivo, de corte transversal, que empleó muestras de estudiantes para estudiar la colonización por *S. aureus*. El estudio fue avalado por el Comité de Bioética y Ética de la Facultad de Salud de la Universidad. La población de estudio correspondió a estudiantes del Programa de Medicina de la Facultad de la Salud de la Universidad Santiago de Cali que se encuentran en los semestres uno al cinco del ciclo básico de formación. Los estudiantes que firmaron el consentimiento informado y que no habían consumido antibióticos los últimos tres meses fueron los criterios de inclusión.

### 5.3 Aislamiento de *S. aureus*.

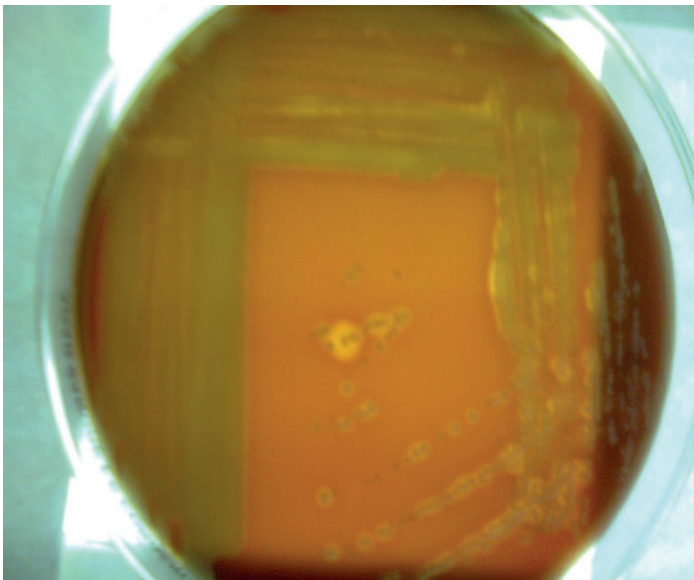
Las muestras de los estudiantes se obtuvieron por frotis de piel en el área de la nuca y de la mucosa nasal y los aislados bacterianos se obtuvieron por cultivo de las muestras en el medio selectivo y diferencial, agar salino manitol rojo de fenol e incubadas por 24-48 horas a 37°C. La identificación de *S. aureus* se efectuó por la fermentación del manitol (coloración amarilla del medio) y por la hemólisis en agar sangre (Figura 6). Las colonias identificadas como probables de *S. aureus* se confirmaron observando la presencia de cocos Gram positivos en racimos, a partir de un extendido directo con tinción de Gram y con la prueba de coagulasa (positiva para *S. aureus*). El *S. aureus* se diferenció del estafilococo coagulasa negativo con el empleo de la prueba de la dnasa.



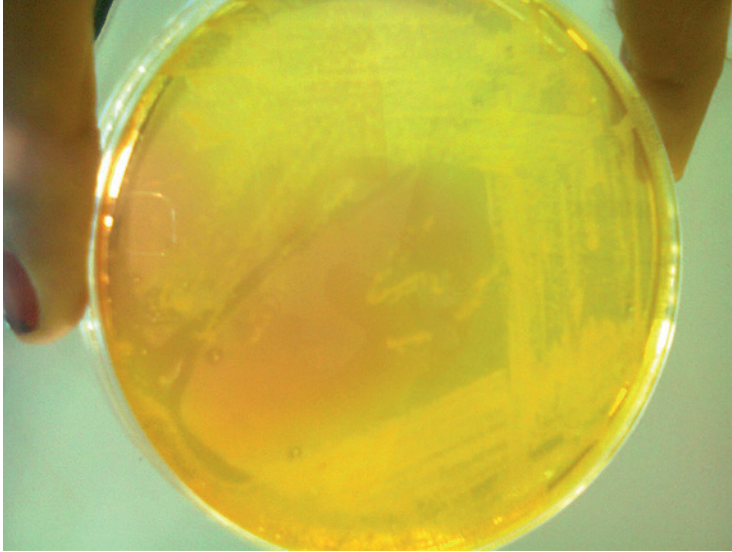
A



**B**



**C**



**D**

*Figura 6. Panel A. Observación microscópica de Stahylococcus aureus. Panel B. Aislamientos de bacterias del género Stahylococcus en agar salino manitol. Panel C, S. aureus en agra sangre mostrando hemólisis, Panel D, S. aureus un ene medio salino manitol con coloración amarilla por la degradación del manitol.*

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## 5.4 Pruebas de sensibilidad a los antibióticos

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se realizaron por dilución en agar de acuerdo a la técnica de Kirby-Bauer y el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión en agar con discos, según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (14).

Para llevar a cabo este ensayo, se inoculó una cantidad estandarizada (estándar 0.5 de Mc Farland) de *S. aureus* en un medio de agar Mueller-Hinton; a continuación se colocaron discos de susceptibilidad antibiótica, los cuales correspondieron: oxacilina (OXA, 1 µg), cefoxitina (FOX, 30 µg), cefalexina (CS, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), ciprofloxacina (CIP, 5 µg), eritromicina (E, 15 µg), clindamicina (CC, 2 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (TMP/SUL 1,25/23,75 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), cloranfenicol (CL, 30 µg), vancomicina (VA, 30 µg), imipenem (IMP, 10 µg), penicilina (PEN, 10U).

Para conocer el *S. aureus* meticilino-resistente se determinó el resultado de sensibilidad con los sensidiscos de oxacilina y cefoxitina. La información de los resultados de susceptibilidad antimicrobiana fue clasificados como sensibles, sensibilidad intermedia o resistente de acuerdo a los puntos de corte utilizados para cada antibiótico determinado a partir de las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015).



## 5.5 Análisis estadísticos de los resultados.

Las variables del estudio fueron: tipo de muestra, resultado del antibiograma, semestre académico y género. Se utilizaron los siguientes parámetros que justificaron su representatividad: 95% de nivel de confianza, un valor z de 1.96, un error estimado de 0.05, empelando el paquete estadístico SPSS vs22.

## 5.6 Resultados.

36 estudiantes (24,3%) presentaron colonización nasal por *Staphylococcus* coagulasa-negativa, 27 de estos estudiantes (18,1%) presentaron colonización en piel.

Seis estudiantes que estaban cursando segundo semestre resultaron ser portadores nasales de *Staphylococcus* coagulasa-negativa, representando el 4%. Sin embargo, dos de estos estudiantes estaban colonizados en piel también. Un número mayor de estudiantes colonizados por *Staphylococcus* coagulasa-negativa se determinó en aquellos que estaban cursando quinto semestre, con 29 (19,5%) estudiantes portadores nasales de esta bacteria; 25 de ellos presentaron colonización simultánea en piel. Los estudiantes de cuarto semestre no presentaron colonización por esta bacteria. Finalmente, un número mayor de colonizados por *Staphylococcus* coagulasa-negativa se determinó en estudiantes que estaban cursando quinto semestre presentando un alto riesgo de colonización nasal, (19,5%; OR= 22,965; 5,189-101,634;  $p < 0,05$ ) y 25 (16,7%) de ellos presentaron colonización simultánea en piel (Tabla 9). La distribución de la bacteria entre los estudiantes de los diferentes semestres fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Tabla 9. Frecuencia de *Staphylococcus Coagulasa* negativo que se encontraban colonizando la piel y la nariz de estudiantes de Medicina, n=63.

Semestre	Staphylococcus Coagulasa negativo			OR	IC 95% min-max	P
	Aislado	Piel	Nariz			
	n (%)	n (%)	n (%)			
2	8 (12,7)	2 (1,7)	6 (4,02)	0,173	0,040-0,785	0,012
4	1 (1,6)	0	1 (0,7)	0,052	0,007-0,395	0,000
5	54 (85,7)	25 (16,7)	29 (19,5)	22,965	5,189-101,634	0,000
total	63 (42,3)	27 (18,1)	36 (24,2)	-	-	-

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de confianza con un 95%; P: Grado de significancia al 95%

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Los estudiantes colonizados por *S. aureus* representaron el 47,7%, con una colonización nasal del 45% y 33,6% de piel. La distribución de los aislamientos de *S. aureus* entre los estudiantes de diferentes semestres fue de la siguiente forma: 5,4% de los estudiantes de segundo semestre presentaron colonización significativa del *S. aureus* y el 14,8% de los estudiantes de cuarto semestre estuvieron colonizados con un 12,7% de colonización nasal y el 6,7% presentaron colonización simultánea en piel y nariz (datos no mostrados). Los estudiantes de quinto semestre fueron los que más estuvieron colonizados por *S. aureus*, presentando el 22,5% de colonización nasal, con un riesgo de tres veces de estar en este grupo (OR=3,212, IC<sub>95%</sub> min=1,636, max=6,299; p=0,001). En este grupo de estudiantes el 18,8% estuvieron colonizados en nariz y piel simultáneamente por *S. aureus* (Tabla 10).

Tabla 10. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* que se encontraban colonizando la piel y la nariz de estudiantes de Medicina.

Semestre	Staphylococcus aureus			OR	IC 95% min- max	P
	Total n (%)	Piel n (%)	Nariz n (%)			
2	8 (5,4)	4 (2,7)	7 (4,7)	0,173	0,071- 0,426	0,000
4	22 (23,5)	16 (10,7)	19 (12,7)	1,080	0,125- 2,222	0,835
5	41 (27,5)	30 (20,1)	41 (27,5)	3,212	1,638- 6,299	0,001
total	71 (47,7%)	50 (33,6)	67 (45%)	-	-	-

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## 5.7 Análisis de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos.

La frecuencia en que *S. aureus* se encuentra colonizando a los estudiantes de medicina con resistencia a: oxacilina y cefoxitina fue del 18,2%, a cefalexina del 14,7%, a penicilina del 50,3%, a gentamicina del 9,8%, a tetraciclina del 44,1%, a vancomicina del 10,5%, a trimetoprim/sulfametazona del 19,6%, a eritromicina del 30,8%, a clindamicina del 14,7%, a ciprofloxacina del 12,6% y a cloranfenicol del 21,0%.

La resistencia a meticilina entre los aislados de *S.aureus* (SARM) se evaluó determinando la resistencia simultánea a oxacilina y cefoxitina; de acuerdo a esta aproximación 25,6% fueron SARM. La colonización nasal por SARM tanto en piel y nariz fue de 12,8% y no fue estadísticamente significativo ( $p < 0,005$ ) (Tabla 9).

Los aislados de SARM de origen hospitalario (SARM-AH), se determinaron basados en la resistencia simultánea a todos los antibióticos evaluados, excepto vancomicina; en este sentido, el 19,6% fueron considerados SARM-AH. La colonización nasal por SARM-AH en los estudiantes correspondió al 10,3% y en piel fue del 9,4%, sin ser estadísticamente significativo ( $p < 0,005$ ).

En el caso de los aislados SARM de origen comunitario (SARM-AC) se determinaron de acuerdo con la sensibilidad simultánea que presentaron a clindamicina, eritromicina y trimetropin/sulfametazona y la resistencia simultánea a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos; estos estuvieron en los estudiantes en el 5,1% de los casos, y no representó una cifra estadísticamente significativa ( $p = 0,906$ ).

La presencia de SARM, SARM-AH y SARM-AC no representó riesgo alguno entre los estudiantes de medicina.

*Tabla 11. Distribución de S.aureus resistente a metilcilina (SARM) de acuerdo a sitio anatómico de donde fue aislado.*

Bacteria	Sitio Anatómico	N (%)	OR	IC 95-% min - max	P
SARM	Nariz	15 (12,8)	0,806	0,367 – 1,773	0,592
	Piel	15 (12,8)	0,931	0,424 – 2,048	0,860
	Total	30 (25,6)			
SARM-AH	Nariz	12 (10,3)	1,055	0,432 – 2,577	0,906
	Piel	11 (9,4)	0,980	0,401 – 2,393	0,964
	Total	23 (19,6)			
SARM-AC	Nariz	4 (3,4)	0,957	0,230 – 3,983	0,951
	Piel	2 (1,7)	0,338	0,066 – 1,736	0,176
	Total	6 (5,1)	-	-	-

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## 5.8 Discusión

El *S. aureus* es un patógeno humano importante que causa una amplia variedad de enfermedades, desde infecciones cutáneas superficiales, hasta enfermedades sistémicas potencialmente letales. El hombre es el principal reservorio de *S. aureus*, colonizando piel nasofaringe y periné en un 50% de los adultos (Zakai, 2015, p.807).

En este estudio, se encontró que los estudiantes de Medicina que aún no han tenido contacto con la clínica se encuentran ya colonizados por esta bacteria en un 47,7%, cifra que se encuentra en el rango determinado en diferentes estudios. Este hallazgo constituye una alerta por ser potenciales fuentes de diseminación intrahospitalaria cuando lleguen a este servicio. Resultados similares se han encontrado en estudiantes de Medicina en Cartagena donde encontraron una prevalencia del 27,2% de *S. aureus* en el año 2012 (Bettin, Causil, y Reyes, 2012, p.329) y con un 87,8% de colonización obtenido de un estudio realizado en la ciudad de Bogotá en el año 2013 en estudiantes de medicina que se encontraban en rotación hospitalaria (Méndez et al., 2013). En Chile se reporta una colonización del 23% (Ortega et al., 2001), 18,4% en Iraq para el 2014 (Habeeb, Hussein, Assafi y Al-Dabbagh, 2014, p.59), 16,8% en Taiwan (Chen, Chen y Huang, 2012, p.799) y 31,5% en estudiantes de Malasya (Vasanthakumari et al., 2009). Lo que indica que la colonización en este grupo de personas es más alta en países de Latinoamérica que en países asiáticos.

También se puede establecer, que entre más avanza en el grado académico mayor es el riesgo de estar colonizados por *S. aureus*, como se evidenció en los estudiantes de quinto semestre (OR=3,212, IC<sub>95%</sub> min=1,636, max=6,299; p=0,001).

Los aislamientos de *S. aureus* presentan además resistencia a los antibióticos, en este caso, el 9,8% de las cepas fueron resistentes a gentamicina, 14,7% a cefalexina y 44,1% a tetraciclina; en el estudio realizado en Chile, no se reportaron aislamientos resistentes a gentamicina y sólo el 3,6% de estos fueron resistentes a cefalexina y tetraciclina (Ortega et al., 2001). En Bogotá, los aislamientos con resistencia a clindamicina fueron del 45% y a trimetoprim/sulfametazona del 65% (Méndez et al., 2013), lo que evidencia que en nuestro medio además de una alta colonización entre los estudiantes, se da la presencia de aislamientos resistentes a antibióticos de uso común.

Otro aspecto importante fue la sensibilidad intermedia a vancomicina detectada en el 10,5% de los aislamientos que también fue evidenciada en los resultados obtenidos en el estudio en Bogotá (20 %) (Méndez et al., 2013). El aumento de la prevalencia de SARM en todo el mundo, junto con la descripción de cepas con sensibilidad disminuida a los glucopéptidos, que en la práctica se traduce en una pérdida de posibles opciones terapéuticas, hace necesario detectar y controlar la propagación de este tipo de aislamientos (Gurieva et al., 2012).

Entre los aislamientos de *S. aureus* reviste vital importancia la presencia de SARM; en el mundo se reporta una prevalencia de colonización por SARM de 2,04% en estudiantes de Iraq (Habeeb et al., 2014), 2,2% en estudiantes de Taiwan (Chen et al., 2012) y del 0,4% en estudiantes internos de Medicina (Trepanier, Remblay y Ruest, 2013) y en Malasia del 54,9% de colonización nasal (Vasanthakumari et al., 2009). En la India se reporta una alta colonización nasal por SARM, en este caso ya los escolares presentan una prevalencia del 16,3% (Pathak et al., 2010). La colonización nasal por SARM obtenida en este estudio (12,8%) y la reportada en el estudio de Bogotá (22,2%) se encuentran en el rango de los países con alta prevalencia de SARM (Trepanier et al., 2013)

El personal de salud (incluidos los estudiantes de medicina) que es portador nasal de SARM presenta un riesgo para el propio portador y para la comunidad, con el aumento potencial de los costos de la atención de los pacientes con infecciones nosocomiales por esta bacteria, especialmente por el aumento de los días de la estancia hospitalaria; la prevención del personal colonizado disminuiría los costos (Ospina, 2008 y Cruz et al., 2005, Wertheim et al., 2005).

Finalmente, encontramos que los aislamientos con un fenotipo hospitalario (SARM-AH) fueron del 19,6% y los de origen comunitario representaron un 5,1%. Aunque los primeros reportes hablaban de la presencia de sólo SARM-AH (Tong et al., 2015); a partir de los años noventa aparece el SARM-AC en la población de niños y jóvenes (2-5). Por lo tanto, actualmente tenemos estos dos tipos de cepas circulantes en el hospital (Jiménez, 2008 y Cortes, 2007; Cruz et al., 2005). Las diferencias entre estas dos cepas están también en que la SARM-AH es resistente a todos los antibióticos, dejando como única opción terapéutica la vancomicina y actualmente para las cepas VISA el linezolid y la tigeciclina (Tong et al., 2015). Mientras que las cepas de origen comunitario son más virulentas, poseen mayor capacidad de colonización, crecimiento y diseminación, así como mayor producción de factores de virulencia que las SARM-AH (Buitrago, 2008; Escobar et al., 2008 y Jiménez, 2008).

Poco se conoce sobre los patrones de colonización de SARM-AC, su forma de diseminación entre individuos o su relación con la infección; en el caso de las infecciones adquiridas en la comunidad, la colonización previa parece no ser tan relevante (Buitrago, 2008 y Escobar et al., 2008). Por lo tanto, nuestro estudio es un aporte epidemiológico al conocimiento del estado del portador asintomático de esta bacteria.

La mayor limitante de este estudio fue la selección de la muestra, que no permitió hacer el estudio sobre la población total de

estudiantes que se encuentran en el ciclo básico, porque en el momento de realizar la investigación, no existían estudiantes de primer y tercer semestre.

Otra limitante fue la no evaluación de factores como el consumo de alcohol o tabaco entre los estudiantes, la convivencia con más de diez miembros en la familia y el sufrir infecciones de piel y respiratorias frecuentemente, son factores de riesgo para la colonización por *S. aureus*.

Por otro lado, encontramos que el 24,2% presentó colonización nasal por *Staphylococcus* coagulasa-negativa y el 18,1% presentaron colonización en piel. Los *Staphylococcus* coagulasa negativos por lo general son habitantes inocuos de la piel. Sin embargo, bajo condiciones especiales se pueden convertir en agentes patógenos importantes. La posibilidad de su patogenicidad parece estar relacionada, con el uso de aparatos artificiales, principalmente catéteres endovasculares en pacientes críticamente enfermos (Cercenado, 2009, p.139).



## 5.9 Conclusión.

Los hallazgos del presente estudio son una advertencia sobre la circulación de cepas de *S. aureus* con características fenotípicas de resistencia a meticilina entre los estudiantes de medicina que integrarán al personal de salud de los hospitales donde realizarán sus prácticas clínicas; asimismo, aporta información relevante en relación al perfil de resistencia a los antimicrobianos de *S. aureus*. Con base en estos resultados del estudio, se recomienda elaborar estrategias que permitan controlar o atenuar la diseminación de estas cepas, debido a que los portadores nasales de *S. aureus* son considerados como una de las principales fuentes de infección endógena y en el caso de los trabajadores en el área de la salud son un factor de riesgo de diseminación de cepas nosocomiales.



## Referencias

- Al Laham, N. (2016). Detection and Antibiotic Resistance Pattern of *Staphylococcus aureus* and MRSA Isolated from Healthcare Workers Nares at Gaza Hospitals, Palestine. *The International Arabic Journal Of Antimicrobial Agents*, 5(4). DOI:10.3823/779
- Arteaga Delgado, L., Espinosa López, Y., & Chávez Vivas, M. (2016). Prevalencia de *Staphylococcus aureus* que coloniza el personal de salud de un hospital de la ciudad de Cali. *Revista Ciencias de la Salud*, 14(01), 9-19. DOI:/10.12804/revsalud14.01.2016.01
- Bettin, A., Causil, C., & Reyes, N. (2012). Molecular identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* nasal isolates from medical students in Cartagena, Colombia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(4), 329–334. DOI/10.1016/j.bjid.2012.06.017
- Buitrago G, Cortés JA, Castillo JS, Leal AL, Sánchez R, Alvarez CA. (2008) Emergencia de Staphylococcus aureus resistente a meticilina con perfil comunitario en hospitales de Bogotá. *Infectio*, 12: 64.
- Cercenado, E. (2009). *Staphylococcus lugdunensis*: un estafilococo coagulasa negativo diferente de los demás. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(3), 139–142. DOI/10.1016/j.eimc.2009.01.001
- Chávez, M., Mancilla, L. I., & Lucumí, A. (2014). Caracterización de *Staphylococcus Aureus* aislados del personal de salud de un hospital de mediana complejidad de la ciudad de Cali en el año 2012. *Revista Medicina*, 36(1–104), 13–26. Tomado de <http://revistamedicina.net/ojsanm/index.php/Revistamedicina/article/view/20/63>

- Chen, C.-S. C.-Y., & Huang, Y.-C. (2012). Nasal carriage rate and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among medical students at a Taiwanese university. *International Journal of Infectious Diseases*, 4–8. DOI/10.1016/j.ijid.2012.07.004
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). M100-S25: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement.
- Collazos Marín, L. F., Estupiñan Arciniegas, G., & Chavez Vivas, M. (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates That Colonize Medical Students in a Hospital of the City of Cali, Colombia. *International Journal of Microbiology*, 2015. DOI /10.1155/2015/358489
- Cortés, J. A., Gómez, C. A., Cuervo, S. I., & Leal C, A. L. (Grebo). (2007). Implicaciones en Salud Pública de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente Adquirido en la Comunidad en Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Publica*, 9(3), 448–454.
- Cruz, C., Moreno, J., Renzoni, A., Hidalgo, M., Reyes, J., Schrenzel, J., Arias, C. A. (2005). Tracking methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Colombian hospitals over 7 years (1996-2003): Emergence of a new dominant clone. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(6), 457–462. DOI 10.1016/j.ijantimicag.2005.08.013
- De Giusti, M., La Torre, G., Aurigemma, C., Solimini, A. G., Mannocci, A., Marinelli, L., & Boccia, A. (2011). Knowledge, attitude and behaviour toward MRSA: Results from a survey among biomedical students and the general population. *Journal of Public Health*, 19(6), 527–534.

- Escobar J, Moreno J, Díaz P, Castro B, Leal A, Vanegas N. (2008) Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad (SARM-AC) en Colombia. *Infectio*; 12: 72.
- Gurieva, T. V., Bootsma, M. C. J., & Bonten, M. J. M. (2012). Decolonization of patients and health care workers to control nosocomial spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A simulation study. *BMC Infectious Diseases*, 12. DOI/10.1186/1471-2334-12-302
- Hussein, N. R., Basharat, Z., Muhammed, A. H., & Al-Dabagh, S. A. (2015). Comparative Evaluation of MRSA Nasal Colonization Epidemiology in the Urban and Rural Secondary School Community of Kurdistan, Iraq. *PLOS ONE*, 10(5), e0124920. DOI/10.1371/journal.pone.0124920
- JAJ, K., & HFL, W. (2005). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infectio*, 33 (1) 3e8
- Jiménez JN, Correa M, Rúa A, Zapata M, Riaño R, Báez P, et al. (2008) Detección molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad (SARM-AC) en Colombia. *Infectio*; 12: 72.
- Méndez IA, Holguín-Riaño DF, Pachón-Barinas DP, Africano FJ, González IM, Rojas NA. (2013) Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from medical students. *Rev CES Med*, 27(1):21-30.
- Olaechea, P. M., Insausti, J., Blanco, A., & Luque, P. (2010). Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. *Medicina Intensiva*, 34(4), 256–267. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2009.11.013>

- Orsi, G. B., Marrone, R., Ferraro, F., Tavella, F., & Colosi, A. (2008). Low colonization with MRSA among health-care workers in an Italian hospital. *Ann Ig*, 20(5), 503–508.
- Ortega C, Gonzalez L, Yaquich P, Alfaro M, Cares C, Navia M et al. (2001). Estudio de Portación Nasal de *Staphylococcus aureus* en Estudiantes de Medicina de la Universidad de Santiago de Chile. *Clínica y Ciencia*. 1(1):10-14.
- Ospina S. (2008) *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) colonizando manos de individuos de la población general. *Infection*, 12: 73.
- Pathak, A., Marothi, Y., Iyer, R. V., Singh, B., Sharma, M., Eriksson, B., Lundborg, C. S. (2010). Nasal Carriage and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* in healthy preschool children in Ujjain, India. *BMC Pediatrics*, 10. DOI.org/10.1186/1471-2431-10-100
- Ridenour, G. A., Wong, E. S., Call, M. A., & Climo, M. W. (2006). Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in the intensive care unit: implications for intervention. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27(3), 271–278. DOI /10.1086/500649
- Tong, S. Y. C. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. DOI /10.1128/CMR.00134-14
- Trepanier PT, Remblay C, Ruest A. (2013) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among medical student. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*.; 24(2): 39-e41.

- Vasanthakumari, N., Alshrari, A. S. D., Rad, E. G., Moghaddam, H. G., Van Belkum, A., Alreshidi, M. A., Shamsudin, M. N. (2009, November). Highly dynamic transient colonization by *Staphylococcus aureus* in healthy Malaysian students. *Journal of Medical Microbiology*. DOI/10.1099/jmm.0.011692-0
- Wertheim, H. F. L., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 5(12), 751–62. DOI 10.1016/S1473-3099(05)70295-4
- Zakai, S. A. (2015). Prevalence of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* nasal colonization among medical students in Jeddah, Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 36(7), 807–812. DOI/10.15537/smj.2015.7.11609







**ACERCA  
DE LOS  
AUTORES**



## ACERCA DE LOS AUTORES

### **Mónica Cabrera Tello**

Colombiana. Especialista médico-quirúrgica en Otorrinolaringología y Broncoesofagoscopia de la Universidad Federal Fluminense de Río de Janeiro, Brasil. Médica y Cirujana de la Universidad Libre de Cali. Miembro del Grupo de Investigación Genética, Fisiología y Metabolismo (GEFIME) y del Centro de Estudios e Investigación en Salud (CEIS). Docente de Medicina de la Universidad Santiago de Cali en la cátedra de Otorrinolaringología y la Coordinación del mismo curso. Premio “Doctor Honoris Causa en Salud” y “Magister en Salud Pública”.

*Orcid: 0000-0002-8986-8572*

### **Mónica Chávez**

Colombiana. Doctora en Ciencias de la Universidad Santiago de Chile. Maestría en Ciencias Biomédicas, énfasis en Microbiología en la Universidad del Valle. Licenciada en Biología y Química de la Universidad del Valle. Líder del Grupo de Investigación Genética, Fisiología y Metabolismo (GEFIME) del Centro de Estudios e Investigación en Salud (CEIS). Profesora del Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Salud, Universidad Santiago de Cali.

*Orcid: 0000-0001-9996-3744*

## **Tania Cristina Gaviria Cantin**

Colombiana. Doctora en Microbiología ambiental y Biotecnología y Magister en Biotecnología Molecular por la Universidad de Barcelona. Bióloga con énfasis en genética de la Universidad del Valle. Miembro del Grupo de Investigación de Genética, Fisiología y Metabolismo (GEFIME). Profesora auxiliar de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali. Sus áreas de interés incluyen mecanismos de regulación génica en bacterias Gram negativas, ingeniería genética usando como herramientas poblaciones bacterianas y caracterización del bacterioma en muestras clínicas dentales.

*Orcid: 0000-0001-7837-339*

## **Luisa María Nieto Ramírez**

Colombiana. Doctora en Microbiología de Colorado State University. Bacterióloga y Laboratorista clínica de la Universidad del Valle. Miembro del Grupo de Investigación de Genética, Fisiología y Metabolismo (GEFIME) y del Grupo de Investigación en Microbiología, Industria y Ambiente (GIMIA). Profesora auxiliar de dedicación exclusiva de la Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali. Áreas de interés incluyen el estudio de la virulencia, resistencia a drogas y otros fenotipos de interés clínico en bacterias, así como metodologías de biología molecular agrupadas bajo el término de “omics”.

*Orcid: 0000-0003-1566-5876*

## **Carlos Balsalobre Parra**

Español. Doctor en Ciencias Biológicas y Biólogo especialista en Microbiología y Genética Microbiana de la Universidad de Barcelona. Post-Doc por siete años en la Universidad de Umea (Suecia) donde inició su propio grupo de investigación. Profesor titular del Departamento de Genética, Microbiología y Estadística de la Universidad de Barcelona. Áreas de interés incluyen la patogénesis molecular y los mecanismos de regulación de la expresión génica en bacterias Gram-negativas.

*Orcid: 0000-0002-4147-219X*

## **Dolly Aristizábal García**

Colombiana; Magister en Ciencias Biomédicas, Universidad del Valle, Cirujana y Patóloga Bucal, Pontificia Universidad Javeriana, Odontóloga, Universidad del Valle. Grupo de investigación de Genética, Fisiología y Metabolismo (GEFIME). Docente tiempo completo del programa de Odontología, Facultad de Salud, Universidad Santiago de Cali. Miembro de la Academia Iberoamericana de Patología y Medicina Bucal (AIPMB)

*Orcid: 0000-0002-5158-964X*

## **Alba Aydee Álvarez Ramírez**

Colombiana; Magister en Educación Superior, Universidad Santiago de Cali Magister en Microbiología, Universidad Católica de Manizales, Especialista en Docencia para la Educación Superior, Universidad Santiago de Cali, Bacterióloga y Laboratorista clínica, Universidad Católica de Manizales. Miembro del Grupo de Investigación de Genética, Fisiología y Metabolismo (GEFIME). Docente tiempo completo del Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Salud, Universidad Santiago de Cali. Miembro del Colegio de Bacteriólogos del Valle (COLBAV).

*Orcid: 0000-0002-3569-4626*

## **Alfonsina del Cristo Martínez Gutiérrez**

Colombiana, Magister en Enfermería del Adulto. Universidad del Valle; Magister en Ciencias: Farmacología. Universidad Nacional, Sede Bogotá, Especialista en Cuidado del Paciente en Estado Crítico. Universidad Mariana, San Juan de Pasto; Enfermera. Universidad de Cartagena, miembro del Grupo de Investigación: GEFIME; docente del departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Salud. Universidad Santiago de Cali y miembro de la Asociación Colombiana de Farmacología. (ACF)

*Orcid:0000-0002-8205-5747*

**Vanessa Ángel Pérez**

Colombiana; Odontóloga, Universidad Santiago de Cali.

**Hugo Ricardo Granada López**

Colombiano; Odontólogo, Universidad Santiago de Cali.





## **PARES EVALUADORES**

**Enrique Pardo Pérez**

Universidad de Córdoba

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6467-5790>

**Edisson Duarte Restrepo**

Universidad de Cartagena

**Adriana Correa Bermúdez**

Corporación Centro Internacional de Entrenamiento e  
Investigaciones médicas CIDEIM

**Alexander Luna Nieto**

Fundación Universitaria de Popayán

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9297-8043>

**Alexander López Orozco**

Universidad de San Buenaventura

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0068-6252>

**Carlos Andrés Rodríguez Torijano**

Universidad de los Andes

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0401-9783>

**Carlos David Grande Tovar**

Universidad del Atlántico

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6243-4571>

**Ingrid Paola Cortes Pardo**

Pontificia Universidad Javeriana

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0282-0259>

**Jean Jader Orejarena Torres**

Universidad Autónoma de Occidente

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0401-3143>

**John James Gómez Gallego**  
Universidad Católica de Pereira  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6685-7099>

**Juan Manuel Rubio Vera**  
Servicio Nacional de Aprendizaje Sena  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1281-8750>

**Margaret Mejía Genéz**  
Universidad de Guanajuato  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5142-5813>

**María Alexandra Rendón Uribe**  
Universidad de Antioquia  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-1062-6125>

**Willian Fredy Palta Velasco**  
Universidad de San Buenaventura  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1888-0416>

**Yenny Patricia Ávila Torres**  
Universidad Tecnológica de Pereira  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1399-7922>

**Diana Milena Díaz Vidal**  
Universidad de San Buenaventura  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6428-8272>

**Marco Antonio Chaves García**  
Fundación Universitaria María Cano  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7226-4767>

**Nelson Jair Cuchumbé Holguín**  
Universidad del Valle  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9435-9289>

**Ángela María Salazar Maya**  
Universidad de Antioquia  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7599-1193>



Este libro fue diagramado utilizando fuentes tipográficas Times New Roman en sus respectivas variaciones a 10 puntos para el cuerpo del texto, y 12 puntos para títulos. Se Terminó de imprimir en noviembre en los talleres de SAMAVA EDICIONES E.U.  
POPAYÁN - COLOMBIA 2018

Fue publicado por la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali.