

Caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de superficies del ambiente hospitalario durante 2012

Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from surfaces of the hospital environment during 2012

Fenotípica e molecular caracterização de *Staphylococcus aureus* isolados de superfícies do ambiente hospitalar durante 2012

COLCIENCIAS TIPO 1. ARTÍCULO ORIGINAL

RECIBIDO: DICIEMBRE 1, 2013; ACEPTADO: ENERO 3, 2014

Mónica Chávez Vivas, Ph.D
monikchavez@gmail.com

Hugo A. Cuarán, MD
hugoalex433@hotmail.com

Lina M. Pérez, MD
lina.perez02@hotmail.com

Paula A. Quintero, MD
paulandrea_0220@hotmail.com

Gleydinth J. Vallejo, MD
gleydinth33@hotmail.com

Universidad Santiago de Cali

Resumen

Con el fin de caracterizar fenotípica y molecularmente el *Staphylococcus aureus* aislado del ambiente hospitalario, se tomaron muestras de superficies de equipos, elementos e instrumental, presentes en una sala de recuperación y una de unidad de cuidados intermedios. Se realizó, la caracterización fenotípica, con base en pruebas de sensibilidad a los antibióticos, y la caracterización molecular, con base en la amplificación por PCR de los genes *Agr* tipo I, II, III y IV, para determinar el origen de los aislados. 8 y 14 aislados microbianos fueron obtenidos, respectivamente, de la Sala y la Unidad, 10 de ellos identificados como *S. aureus*. La prueba de susceptibilidad a los antibióticos permitió establecer la existencia de cinco filotipos. Todos los aislados presentaron sensibilidad a la oxacilina y a la cefoxitina –un indicador de su origen comunitario–, y solo uno presentó resistencia simultánea a más de cinco antibióticos. Según los resultados moleculares, los diez aislados se ubicaron en el grupo *Agr* III, compatible con un origen comunitario. La investigación evidencian fallas en la asepsia y desinfección del ambiente hospitalario y da a conocer que los microorganismos son introducidos desde la comunidad al ambiente intrahospitalario.

Palabras Clave

Staphylococcus aureus; resistencia; antibióticos; ambiente hospitalario.

Abstract

Samples surfaces of equipment and instrumental from recovery room and intermediate care unit was taken to characterize phenotypically and molecularly nosocomial *S. aureus*, isolated in hospital environment. Phenotypic characterization was done testing antibiotic susceptibility; molecular characterization, was based on PCR amplification of genes *Agr* type I, II, III and IV, to determine the origin of the isolates. Eight microbial isolates were obtained in the recovery room and 14 in the Unit, ten identified as *S. aureus*. The test of antibiotic susceptibility reveals the existence of 5 phylotypes. All isolates showed sensitivity to oxacillin and cefoxitin –indicating a community origin–, and one shows simultaneous resistance to more than five antibiotics. According to the ten isolated molecular results were in the support group *Agr* III, community origin, corroborating the phenotypic results. Failures in the mechanisms of sterilization and disinfection of the hospital environment are shown. Also discloses that microorganisms are being introduced from the community to inpatient environment.

Keywords

Staphylococcus aureus; resistance; antibiotics; hospital environment.

Resumo

O objetivo deste estudo foi caracterizar fenotípicamente e ambiente Hospital molecularmente hospitalar *S. aureus* isolado. Amostras de superfícies de equipamentos e elementos instrumentais que estavam na Sala de Recuperação e Unidade de Cuidados Intermediários (UCI) foi tirada. Caracterização fenotípica base os testes de susceptibilidade aos antibióticos e caracterização molecular foi baseada na amplificação por PCR dos genes tipo *Agr* I, II, III e IV para determinar a origem das amostras foi realizada. Oito isolados microbianos foram obtidos na sala de recuperação e 14 em UCI. Dez isolados bacterianos foram identificados como *S. aureus*. De acordo com o resultado do teste de sensibilidade aos antibióticos de cinco filotipos existência estabelecida. Todos os isolados apresentaram sensibilidade à oxacilina e cefoxitina indicando uma origem comunidade. Apenas um isolado tinha resistência simultânea a mais de cinco antibióticos. De acordo com os dez resultados moleculares isolados estavam no grupo *Agr* III de origem Comunidade, corroborando os resultados fenotípicos. Os resultados de nossas falhas de controle nos mecanismos de esterilização e desinfecção do ambiente hospitalar. Também revela que os microorganismos estão sendo introduzidos na comunidade com o ambiente de internação.

Palavras chave

Staphylococcus aureus; resistência; antibióticos; meio hospitalar.

Los autores agradecen al Hospital San Juan de Dios y a la Dirección General de Investigaciones de la Universidad Santiago de Cali, por el apoyo financiero.

I. INTRODUCCIÓN

La infección intrahospitalaria ha generado problemas de salud pública debido, principalmente, a patógenos resistentes a los antibióticos; ella ocasiona el aumento del riesgo de muerte en los pacientes que la desarrollan y del periodo de estancia hospitalaria, lo que representa un enorme costo económico¹⁻³.

La diseminación de los microorganismos en el ambiente hospitalario se debe a múltiples factores. A menudo se origina a partir de la contaminación cruzada, aunque lo más común es que la transferencia de patógenos se de a través de las manos de los profesionales de la salud y de la flora de los pacientes⁴.

El ambiente del hospital puede contribuir a la diseminación de patógenos⁵⁻⁷. Estudios realizados en dichos ambientes han demostrado que los pacientes admitidos en habitaciones donde habían sido tratados pacientes por infecciones resultaron estar colonizados por el mismo microorganismo^{4,5}.

La inadecuada asepsia permite la diseminación de los microorganismos de una sala a otras o a los instrumentos de la misma, creando un ambiente hostil, tanto para el personal de salud, como para los pacientes y los familiares^{8,9}.

Otro aspecto importante que favorece la permanencia de patógenos en los ambientes hospitalarios –entre los que se destaca el *S. aureus*–, es la gran versatilidad que presentan en adquirir diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos¹⁰. Esta bacteria causa infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario¹¹. El actual interés por el estudio de este patógeno se deriva de su elevada frecuencia y su multirresistencia a los antibióticos, especialmente las cepas con resistencia a metilina (SARM), una de las principales causas de brotes de infección nosocomial en Colombia¹².

Está bien establecido que la adquisición de patógenos nosocomiales depende de una compleja interacción del huésped, el patógeno y el medio ambiente⁹.

El conocimiento de las características moleculares de los aislados de *S. aureus* presentes en el ambiente hospitalario tiene una alta prioridad, debido a que las cepas comunitarias presentan sus propias características microbiológicas, que las hacen no solo diferentes, sino más resistentes que las cepas nosocomiales, y con mayores probabilidades de establecerse, por efecto de una

diseminación más rápida, tanto en la comunidad como en el ambiente hospitalario^{11,13,14}.

Para determinar el origen y el patrón de diseminación de los aislados bacterianos se han empleado aproximaciones fenotípicas. El patrón analizado a partir de los resultados de la prueba de susceptibilidad a los antibióticos constituye una herramienta fenotípica que permite evaluar el origen clonal de las bacterias que están generando un brote epidémico¹⁵.

Otra aproximación se realiza mediante marcadores moleculares. En el caso del *S. aureus* se viene empleando el análisis del operón regulatorio accesorio [*Agr*]; este operón regula la expresión de los factores de virulencia de *S. aureus*, especialmente las proteínas secretadas¹⁶. El polimorfismo determinado en el locus *Agr*, se ha empleado para determinar la variabilidad de la bacteria y su origen. En este sentido, se han definido, hasta la fecha, cuatro grupos (I a IV). Los aislados pertenecientes al *Agr* del grupo III se relacionan con infecciones asociadas a la comunidad, mientras que el *Agr* del grupo II se detecta predominantemente en cepas aisladas a nivel intrahospitalario.

El objetivo de este estudio fue establecer las variantes fenotípicas y moleculares de *S. aureus* con resistencia a los antibióticos que se encuentran colonizando el ambiente de la sala de recuperación y la unidad de cuidados intermedios de un hospital de la ciudad de Cali en 2012, con la finalidad de conocer el origen de los aislados y su diseminación en el ambiente hospitalario.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se basó en un estudio descriptivo de prevalencia realizado en el Hospital San Juan de Dios (Cali, Colombia), institución de segundo nivel de atención. Fueron tomadas: cincuenta y dos muestras en las áreas de las superficies de dos salas intrahospitalarias; catorce en la sala de recuperación; y treinta y ocho en la Unidad de Cuidados Intermedios. Las muestras se obtuvieron frotando con hisopos estériles las superficies de las barandas de las camas (C- R1I, C- R2D, C- R3I), las perillas de los baños, el mesón de enfermería, los fonendoscopios, el soporte de líquidos endovenosos, el biombo y el aire acondicionado de la Unidad de Cuidados Intermedios, el monitor de signos vitales y el carro de medicamentos; y fueron procesadas por el laboratorio de microbiología de la Universidad Santiago de Cali.

A. Aislados bacterianos y condiciones de cultivo

Los aislados bacterianos se obtuvieron por cultivo de las muestras en agar salino manitol rojo de fenol, agar nutritivo y agar MacConkey, incubadas por 24-48 horas a 37°C. La identificación de *S. aureus* se efectuó por la fermentación del manitol (coloración amarilla del medio). Las colonias identificadas como probables aislados 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. Las bacterias de la familia enterobacteriacea se identificaron por su crecimiento en el Agar MacConkey y se determinó su carácter de fermentadoras de lactosas en este mismo medio por la presencia de color rosados en las colonias. Otras bacterias ambientales no identificadas se aislaron en agar nutritivo. El estudio microscópico se basó en el método de Gram para establecer la morfología y la tinción bacteriana.

B. 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 CLSI¹⁷.

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), Gentamicina (GEN, 10 µg), Ciprofloxacina (CIP, 5 µg), Eritromicina (ERI, 15 µg), Clindamicina (CLI, 2 µg), Trimetoprima-Sulfametoxazol (SXT, 1,25/23,75 µg), Tetraciclina (TET, 30 µg), Cloranfenicol (CHL, 30 µg), Vancomicina (VAN, 30 µg), Penicilina (PEN, 10U)²⁷.

La cepa ATCCC de *S. aureus* fue empleada como control de calidad, para verificar la acción de los sensidiscos.

La resistencia a la metilina en los aislados de *S. aureus* se basó en la evaluación de sensibilidad con dos antibióticos: oxacilina y cefoxitina. La información de los resultados de susceptibilidad antimicrobiana se clasificó como: sensible, sensibilidad intermedia o resistente.

C. Técnicas genético-moleculares

El sedimento de células de un cultivo de toda la noche (1,5 ml) en caldo Luria-Bertani [LB] fue sometido a la extracción del ADN bacteriano por tratamiento con buffer de extracción conteniendo 10 mg/ml de lisozima y proteinasa K 1 mg/ml.

Para determinar la variabilidad y el origen de los aislados del *S. aureus* se empleó el análisis del polimorfismo del gen regulador accesorio (*Agr*), que regula la expresión de los factores de virulencia de *S. aureus*, especialmente las proteínas secretadas AGR, mediante la amplificación de fragmentos de este gen con los cebadores pan forward agr 5'-GTCACAAGTACTATAAGCTGCGAT-3', reverse agrI 5'-GTATTACTAATTGAAAAGTGCCATAGC-3' para amplificar una región de 440pb, reverse agrII 5'-GTATTACTAATTGAAAAGTGCCATAGC-3' para amplificar una región de 572pb, reverse agrIII 5'-CTGTTGAAAAGTCAACTAAAAGCTC-3' de una región de 406 pb y reverse agrIV 5'-CGATAATGCCGTAATACCCG-3' de una región de 588 pb¹⁶.

La amplificación del gen *VanA* se realizó con los cebadores A1: 5' (175)-GGGAAAACGACAATTGC-(191) 3', y A2: 5' (907)-GTACAATGCGGCCGTTA-(891) 3'¹⁸.

5µl de ADN se amplificó en 50 µl de reacción de mezcla, conteniendo 2,5 mM MgCl₂, 25 mM dNTP's, 0,5 U de Taq ADN polimerasa (Invitrogen®) y 10pmol/µl de cada cebador.

Para la amplificación de los grupos *Agr* se inició con un ciclo a 94°C por 5 minutos de denaturación, seguido de treinta ciclos compuesto de un minuto a 94°C de denaturación, un minuto a 54°C de alineamiento y un minuto a 72°C de extensión, y un ciclo extensión a 72°C por 10 minutos. La amplificación de gen *VanA* se realizó en treinta ciclos, y consistió en un paso de denaturación por 30 segundos a 94°C, alineamiento por 30 segundos a 55°C y el paso de extensión por un minuto a 72°C, y un ciclo de extensión a 72°C por 10 minutos. Todas las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador GeneAmp PCR system 2400 (Perkin-Elmer Instruments).

III. RESULTADOS

Este estudio evidenció que el 42% (22/52) de las áreas muestreadas presentó crecimiento microbiano, 15,4% (8/52) en la sala de Recuperación y 26,9% (14/52) en la

Unidad de Cuidados Intermedios. Siete muestras de sala de recuperación y tres muestras de la Unidad de Cuidados Intermedios presentaron crecimiento microbiano mixto (cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos y levaduras).

A. Aislamiento de *S. aureus*

El crecimiento de bacterias del género *Staphylococcus* se observó en once muestras de la Unidad de Cuidados Intermedios y en dos de la sala de Recuperación. Ocho muestras tomadas en la Unidad de Cuidados Intermedios resultaron positivas para el crecimiento de *S. aureus*; estas se detectaron en la baranda de la cama 4, el monitor de la cama 2, la baranda y el mesón del carro de medicamentos, la perilla de la puerta del baño posterior, la perilla de la puerta para el ingreso a la sala 2, el biombo de la cama 2 y en el monitor de signos vitales de la cama 4. En la sala de recuperación la bacteria se detectó en el monitor de la cama 1 y en el fonendoscopio.

B. Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

En el análisis de susceptibilidad a los antibióticos realizado a los diez aislados de *S. aureus*, se encontró que cinco de ellos (50%), presentaban resistencia a la penicilina (2.3 M2, 2.5 B2P, 2.6. C2, 1.2 RM1 y 2.2 M2), tres a la tetraciclina (2.3 M2, 2.5 B2P y 2.3 B1), y dos a la eritromicina (2.3 M2 y 2.1.1 C4). El resto de aislados presentó resistencia a un sólo antibiótico.

El aislado de *S. aureus* presente en la muestra 2.3. M2, obtenida del mesón del carro de medicamentos de la Unidad de Cuidados Intermedios presentó la mayor multiresistencia, con resistencia simultánea a cinco antibióticos (i.e., penicilina, cefoxitina, tetraciclina, eritromicina y vancomicina) y sensibilidad intermedia a dos más (i.e., clindamicina y ciprofloxacina).

El aislado obtenido en la muestra 2.1.1C4 de la cama 4 de la Unidad de Cuidados Intermedios presentó resistencia simultánea a la gentamicina, la eritromicina y la ciprofloxacina. El aislado de la muestra 2.5B2P, obtenido a partir de la perilla de la puerta del baño posterior de la Unidad de Cuidados Intermedios, presentó resistencia a la penicilina y la tetraciclina, mientras que, el aislado de la muestra 2.6.C2, presente en el biombo de la Unidad de Cuidados Intermedios, presentó resistencia a la penicilina y a la trimetoprima-sulfametazol.

Las muestras 1.2. RM1 obtenida del monitor de la cama

1 de la sala de recuperación y 2.2. M2 del monitor de la cama 2 de la Unidad de Cuidados Intermedios presentaron aislados con resistencia a la penicilina; la muestra 2.3.B1 de la baranda del carro de medicamentos de la Unidad de Cuidados Intermedios, por su parte, presentó un aislado con resistencia a la tetraciclina.

De acuerdo con el patrón de susceptibilidad se realizó una caracterización fenotípica clasificando los diez aislados en cinco perfiles de susceptibilidad o antibiotipos.

- El antibiograma 1, con sensibilidad a todos los antibióticos evaluados, se detectó en tres muestras: en el fonendoscopio de la Sala de Recuperación; y en la perilla de la puerta de la sala dos y el monitor de la cama 4 de la Unidad de Cuidados Intermedios.
- El antibiograma 2, con un perfil de resistencia a un solo antibiótico (tetraciclina o penicilina), se determinó en dos muestras obtenidas en la Unidad de Cuidados Intermedios –en el monitor de la cama 2 y en la baranda del carro de medicamentos– y en una obtenida en la Sala de Recuperación –en el monitor de la cama 1–.
- El antibiograma 3, con un perfil de resistencia a dos antibióticos, se presentó en dos muestras de la Unidad de Cuidados Intermedios, la perilla del baño y el biombo de la cama 2.
- El antibiograma 4, con resistencia simultánea a tres antibióticos, se detectó en la baranda de la cama 4 de la Unidad de Cuidados Intermedios.
- El antibiograma 5, con resistencia simultánea a cinco antibióticos y sensibilidad intermedia a la ciprofloxacina y a la clindamicina, se detectó en el mesón del carro de medicamentos de la Unidad de Cuidados Intermedios.

En la sala de la Unidad de Cuidados Intermedios se detectaron los cinco antibiotipos, mientras en la Sala de Recuperación, los antibiotipos 1 y 2.

C. Resultados moleculares

La amplificación por PCR resultó ser positiva en los diez aislados de *S. aureus* para el gen *Agr* tipo III, con una banda aproximada de 400 pb (datos no mostrados), y negativa para los tipos I, II y IV. Sin embargo, no se presentó amplificación del gen *VanA* en el aislado 2.3 M2 que registró resistencia a la vancomicina en la prueba de susceptibilidad a los antibióticos.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados de crecimiento de microorganismos, entre los que se destacaron cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos fermentadores de lactosa y no fermentadores de lactosa y levaduras, están en concordancia con numerosos estudios que han demostrado que el ambiente que rodea al paciente se encuentra colonizado por bacterias como especies de ERV⁶, SARM¹³, *Acinetobacter spp*¹, *Pseudomonas aeruginosa*²⁰, y *Clostridium difficile*¹⁰. A su vez, los estudios demuestran que en brotes epidémicos existe la tendencia al predominio de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*; mientras, en situaciones endémicas, predominan los organismos Gram positivos, especialmente ERV y SARM¹⁰.

Estudios realizados en ambientes hospitalarios en Estados Unidos, Francia, Irlanda, Suiza, Hawái, México, Japón, Reino Unido, Alemania y Qatar, durante el periodo 2000-2008 reportan la presencia de SARM, ERV, *Ps. aeruginosa*, *C. difficile* y *A. baumannii*²¹; sus resultados apoyan los obtenidos en la presente investigación.

Bacterias Gram negativas compatibles con la familia *Enterobacteriaceae* fueron detectadas, tanto en la Sala de Recuperación, como en la Unidad de Cuidados Intermedios; este hallazgo puede ser explicado por el alto número de intervenciones quirúrgicas en cavidad abdominal, las cuales facilitan la introducción de estos microorganismos, por el tratamiento inadecuado por parte del personal de salud.

Una evidencia que puede apoyar las hipótesis de la presente investigación son los estudios realizados por Huang, Datta y Platt⁵, quienes demostraron que los pacientes que ingresaron a cuartos ocupados previamente por pacientes diagnosticados con ERV, tenían mayor probabilidad de ser colonizados por este microorganismo.

En el presente estudio los microorganismos se detectaron en diferentes reservorios del ambiente hospitalario de la Unidad de Cuidados Intermedios y de la Sala de Recuperación, como en las barandas de las camas, el carro de medicamentos, el monitor, la perilla del baño, el fonendoscopio, el mesón, el soporte de líquidos endovenosos, el biombo y el monitor de signos vitales. En otros estudios documentan también presencia de bacterias en el teclado del computador y las llaves de grifos^{7,21,22}. Sin embargo, el mayor número de aislados correspondió a *S. aureus*, con predominio en la Unidad de Cuidados Intermedios; estos resultados concuerdan con los

obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en ambientes hospitalarios en los Estados Unidos, los cuales reportan una alta prevalencia de SARM en el ambiente hospitalario²³.

El mayor número de aislados de *S. aureus* presentó resistencia a la penicilina (5 aislados); le siguen la resistencia a la tetraciclina y la eritromicina. La resistencia a penicilina en *S. aureus* se ha reportado desde hace más de 70 años, lo que explica el gran número de aislados resistentes a este antibiótico hallados en el presente estudio²⁴.

Para determinar el origen de las cepas *S. aureus* se ha empleado con éxito el análisis fenotípico basado en la susceptibilidad a los antibióticos²⁵. De esta forma, se ha establecido que las cepas *S. aureus* asociadas al Hospital (SA-AH) son resistentes a los antibióticos β -lactámicos y a múltiples antibióticos. Las cepas de *S. aureus* asociadas a la comunidad (SA-AC) presentan sensibilidad a la oxacilina y a la cefoxitina y los aislados con resistencia a la oxacilina son sensibles a la clindamicina, la fluoroquinolonas, eritromicina y el trimetoprim/sulfametoxazol^{25,26}.

En Colombia, se reporta que la mayoría de las cepas *S. aureus* con resistencia a la oxacilina determinadas son de origen nosocomial^{12,27,28}). En el presente estudio, nueve aislados fueron susceptibles a la oxacilina y la cefoxitina. De acuerdo con el análisis de susceptibilidad a los antibióticos, sólo el aislado 2.3 M1, obtenido en la Unidad de Cuidados Intermedios, presentó resistencia a la cefoxitina. Esta característica fenotípica en los aislados es sugerente de un origen comunitario (SA-AC). Además, siete de estos aislados presentaron sensibilidad simultánea a la eritromicina, la ciprofloxacina y la clindamicina (2.1.0 M4, 2.6. C2, 1.2 RM1, 2.2 M2, 1.5 F, 2.5 P2, 2.3 B1), lo que refuerza el patrón sugerente de origen comunitario²⁷.

Aunque estos aislados ambientales no presentan resistencia a la meticilina, se debe tener precaución e intensificar los protocolos de barrera y limpieza, debido a que el *S. aureus* resistente a la meticilina adquirido en la comunidad (SARM-AC) ha emergido durante los últimos años como un microorganismo de gran importancia en países desarrollados, en aislamientos de pacientes sin ningún nexo con los servicios hospitalarios^{11,12}. Estos aislamientos suponen una gran amenaza para la salud pública, debido a los perfiles de resistencia que exhiben, 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 determinado en otros estudios realizados en Colombia^{12,27,28}. Este hecho implica un gran costo epidemiológico y, por supuesto, económico, además del impacto sobre el uso de antibióticos en pacientes ambulatorios.

De acuerdo con los resultados de las pruebas moleculares, la amplificación del *Agr* tipo III en los diez aislados confirma su origen comunitario, de acuerdo con los resultados obtenidos en la caracterización fenotípica^{16, 29}. Además se observa una baja variabilidad entre los aislados con el predominio de un solo clon. Los resultados de la presente investigación se ven apoyados por los del estudio de tipificación molecular realizado en hospitales de Bogotá y Manizales entre 1996 y 1998, el cual demostró que todos los aislamientos compartían propiedades idénticas a las de un solo clon –el denominado Clon pediátrico–, descrito en los años 90 en Europa, Nueva York y Sur América³⁰.

Los cinco antibiogramas presentes en los aislados *S. aureus* relacionados en el presente estudio, poseen baja variación en el patrón de sensibilidad, con predominio de aislados sensibles a todos los antibióticos y resistentes a un solo antibiótico. Sin embargo, es preocupante encontrar aislados ambientales con resistencia simultánea a tres y hasta cinco antibióticos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, aunque todos los aislados presentaron un perfil sensible a la meticilina, la prueba de susceptibilidad a los antibióticos realizada en el aislado de la muestra 2.3 M2 (obtenido del monitor 2 de la cama 2 de la Unidad de Cuidados Intermedios) registró un halo de resistencia a la vancomicina. La resistencia de *S. aureus* a la vancomicina (SARV) se reportó por primera vez en once aislados obtenidos en diferentes hospitales de los Estados Unidos²³.

En las últimas dos décadas se ha evidenciado el aumento de SARM, incremento que, a su vez, ha aumentado el uso de la vancomicina y demás antibióticos de amplio espectro, generando, en el caso de la vancomicina, reportes de *S. aureus* con susceptibilidad intermedia a ella, desde 1996³¹. El mecanismo exacto de resistencia es desconocido, aunque parece involucrar alteraciones en la pared celular y una hiper-expresión de las proteínas unidas a la penicilina [PBP]. Esta resistencia está mediada por el gen *VanA* obtenido por transferencia horizontal a partir de *Enterococcus spp* resistente a la

vancomicina^{32,33}. Sin embargo, en las pruebas moleculares realizadas en el presente estudio, la amplificación del gen *VanA* fue negativa para este aislado (datos no mostrados). Existen varios informes similares a nuestro resultado que reportaron resistencia a vancomicina en aislados *S. aureus* de la India, Irán, entre otros; pero a ninguno de estos aislados se le detectó la presencia del gen *VanA*³³.

Se plantea entonces que un mecanismo que puede estar implicado en la resistencia intermedia a la vancomicina en *S. aureus* está relacionado con el secuestro del antibiótico por muropéptidos no aminados presentes en su gruesa pared celular, lo que causaría que la bacteria se haga impermeable al antibiótico^{34,35}.

El trabajo realizado por Coelho, Souza, Ferreira, Guimarães, Ferreira-Carvalho y Figueiredo³⁴ ha 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. De esta forma, se podría considerar que la sensibilidad reducida a la vancomicina del aislado 2.3 M2 de *S. aureus* estaría relacionada con la presencia de biopelícula bajo la regulación de los genes accesorios *Agr*^{34,35}. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que el método de difusión en disco, empleado en el presente estudio, no es el más adecuado para diferenciar las cepas con susceptibilidad reducida a la vancomicina (rango de la Concentración Mínima Inhibitoria, CMI de 4-8 ug/ml) de las cepas susceptibles (0,5 - 2 ug/ml); por lo que, en este caso, las guías recomiendan determinar la resistencia a la vancomicina por el método de dilución, para establecer el CMI³⁶. Por lo tanto, la resistencia a la vancomicina obtenida en el aislado en mención debe ser vista con mucho cuidado, hasta que no se disponga de datos de su prevalencia y significancia clínica.

Los resultados del presente estudio son un aporte a los programas de vigilancia epidemiológica porque ponen en evidencia fallas en las prácticas de asepsia y esterilización que garanticen –a los pacientes y al personal que labora en la Sala de Recuperación y en la Unidad de Cuidados Intermedios– la prevención del riesgo de adquirir infecciones nosocomiales, y dan a conocer que los microorganismos están siendo introducidos desde la comunidad al ambiente intrahospitalario.

La prevención de enfermedades nosocomiales exige un

programa integrado y vigilado, para lo cual se tiene en cuenta: el control de los riesgos ambientales de infección; la protección de los pacientes con el uso apropiado de antimicrobianos profilácticos, nutrición y vacunación; la delimitación del riesgo de infecciones endógenas, con reducción al mínimo de los procedimientos invasivos y el fomento del uso óptimo de antimicrobianos; la vigilancia de las infecciones y la identificación y el control de brotes; la prevención de la infección de los miembros del personal; la mejora de las prácticas –del personal– en atención de pacientes; y la educación del paciente³⁷⁻³⁹.

V. REFERENCIAS

1. Febrero-Peray P, Sotto A, Defez C, Cazaban M, Molinari L, Pinède M, et al. Mortality attributable to nosocomial infection: a cohort of patients with and without nosocomial infection in a French university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007; 28: 265-272.
2. Wakefield DS, Helms CM, Massanari RM, Mori M, Pfaller M. Cost of nosocomial infection: relative contributions of laboratory, antibiotic, and per diem cost in serious *Staphylococcus aureus* infections. *Amer J Infect Control.* 1988; 16:185-219.
3. Yin-Yin Ch, Yi-Chang Ch, Pesus Ch. Impact of nosocomial infection on cost of illness and length of stay in Intensive Care Units. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005; 26(3): 281-287.
4. Hayden MK, Blom DW, Lyle EA, Moore CG, Weinstein RA. Risk of hand or glove contamination after contact with vancomycin resistant Enterococcus or the colonized patients' environment. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29(2):149-154.
5. Huang SS, Datta R, Platt R. Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. *Arch Intern Med.* 2006; 166: 1945-1951.
6. Martinez JA, Ruthazer R, Karen H, Barefoot L, Snyderman DR. Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant Enterococci in patients treated in a medical intensive care unit. *Arch Inter Med.* 2003;163(16):1905-1912
7. Oliveira AC, Damasceno QS. Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria. *Rev Esc Enferm USP.* 2010; 44(4):1112-1117.
8. Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis.* 2004; 39:1182–1189.
9. Hayden MK, Bonten MJM, Blom DW, Lyle EA, van de Vijver DAMC, Weinstein RA. Reduction in acquisition of vancomycin-resistant Enterococcus after enforcement of routine environmental cleaning measures. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(11):1552-1560.
10. Lemmen SW, Häfner H, Zolldann D, Stanzel S, Lüttichen R. Distribution of multi-resistant gram-negative versus grampositive bacteria in the hospital inanimate environment. *J Hosp Infect.* 2004; 56(3):191-197.
11. Naimi T, Le Dell K, Como-Sabetti K, Borchardt S, Boxrud D, Etienne J, et al. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA.* 2003; 290: 2976-2984.
12. Cortes J, Gomez C, Cuervo S, Leal A. Implicaciones en salud pública de *Staphylococcus aureus* Meticilino resistente adquirido en la comunidad en Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública.* 2007; 9(3): 448-454.
13. Hardy KJ, Oppenheim BA, Gossain S, Gao F, Hawkey PM. A study of relationship between environmental contamination with Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) and patients acquisition of MRSA. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006; 27(2):127-132.
14. Escobar J, Moreno J, Díaz P, Castro B, Leal A, Vanegas N. Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad (SARM-AC) en Colombia. *Infectio.* 2008; 12:72.
15. Blanc D S, Petignat C, Moreillon P, Wenger A, Bille J, Francioli P. Quantitative antibiogram as a typing method for the prospective epidemiological surveillance and control of MRSA: comparison with molecular typing. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996; 17(10): 654-669.
16. Azimian A, Najar-Pirayeh S, Mirab-Samiee S, Naderi M. Occurrence Of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Among Clinical Samples In Tehran-Iran And Its Correlation With Polymorphism Of Specific Accessory Gene Regulator (Agr) Groups. *Brazilian J Microbiol.* 2012; 43(2):779-785.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 6th ed. Approved standard M7-A6. Wayne, PA: NCCLS; 2003.
18. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of Glycopeptide Resistance Genotypes and Identification to the Species Level of Clinically Relevant Enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(1):24-27.
19. El Shafie SS, Alishaq M, Garcia ML. Investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in trauma intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2004; 56(1):101-105.
20. Kayabas U, Bayraktar M, Otlu B, Ugras M, Ersoy Y, Bayindir Y, et al. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* because of inadequate disinfection procedures in a urology unite: A pulsedfield gel electrophoresis – based epidemiologic study. *Am J Infect Control.* 2008; 36(1):33-38.
21. Sexton T, Clark P, O'Neill E, Dillane T, Humphreys H. Environmental reservoirs of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. *J Hosp Infect.* 2006; 62(2):187-194.
22. Bures S, Fishbain JT, Uyehara CFT, Parker JM, Berg BW. Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in intensive care unit. *Am J Infect Control.* 2000; 28(6):465-470.
23. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical Intensive Care Units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000; 21(8): 510-515.
24. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002; 99:7687-7692.
25. Seid K, Chen L, Bayer AS, Hady WA, Kreiswirth BN, Xiong YQ. Combinatorial phenotypic signatures distinguish persistent from resolving methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55:575-582.
26. Moellering RC Jr. Current treatment options for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis.* 2008; 46:1032–1037.
27. Álvarez C, Barrientos O, Leal A, Contreras G, Barrero L, Rincón S, et al. Community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12:2000-2001.
28. Buitrago G, Cortés JA, Castillo JS, Leal AL, Sánchez R, Álvarez CA. Emergencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina con perfil comunitario en hospitales de Bogotá. *Infectio.* 2008; 12:61-64.
29. Jarraud, S.; Mougél, C.; Thioullous, J.; Lina, G.; Meugnier, H.; Forey, F.; Nesme, X.; Etienne, J.; Vandenesch, F. Relation between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, Agr groups (alleles) and human diseases. *Infect Immun.* 2002; 70:631-641.
30. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin-United States, 1997. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 1997; 46(35):813-815.
31. Geisel, R., F. J. Schmitz, A. C. Fluit, and H. Labischinski. Emergence, mechanism, and clinical implications of reduced glycopeptide susceptibility in *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001; 20:685-697.
32. Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, Daum RS, Labischin-Ski H, Hiramatsu K. Activated cell wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. *J Antimicrob Chemother.* 1998; 42:199-209.
33. Tiwari HK, Sen MR. Emergence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. *BMC Infect Dis.* 2006;6:156.
34. Coelho LR, Souza RR, Ferreira FA, Guimarães MA, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AM. Agr RNIII divergently regulates glucose-induced biofilm formation in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology.* 2008;

154, 3480-3490.

35. Sakoulas G, Eliopoulos GM, Moellering Jr RC, et al: Accessory gene regulator (*Agr*) locus in geographically diverse *staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46:1492-1502.
36. Low DE. Clinical microbiology: issues in identification and susceptibility testing. En: Crossley KB, Archer GL (Eds). *The Staphylococci in human disease.* Nueva York, NY: Churchill Livingstone; 1997: 233-252
37. WHO guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge clean care is safer care. Ginebra, Suiza: OMS; 2009.
38. CDC guidelines for hand washing and hospital environmental control. *Amer J Infect Control.* 1986; 14:110-129.
39. Kluytmans-Vanden B, Kluytmans J, Voss. Dutch guideline for preventing nosocomial transmission of highly resistant microorganisms (HRMO). *Infection.* 2005; 33(5-6):309-313.

CURRÍCULOS

Mónica Chávez Vivas. Ph.D en Ciencias de la Universidad de Chile. Tecnóloga Química, Licenciada en Biología y Química y Magister en Ciencias Básicas de la Universidad del Valle (Colombia). Profesora de dedicación exclusiva del Departamento de Ciencias Biomédicas y miembro del Grupo de Investigación GEFME de la Facultad de Salud de la Universidad Santiago de Cali.

Hugo A. Cuarán. Médico General de la Universidad Santiago de Cali (2013). Se desempeñó como Médico Rural en el Hospital José María Hernández en Mocoayo (Putumayo, Colombia).

Lina M. Pérez. Médico General de la Universidad Santiago de Cali (2013). Durante 2011 y 2012 realizó su práctica, como estudiante de quinto año de Medicina, en el Hospital San Juan de Dios, en Cali (Colombia).

Paula A. Quintero. Médico General de la Universidad Santiago de Cali (2013). Durante 2011 y 2012 realizó su práctica, como estudiante de quinto año de Medicina, en el Hospital San Juan de Dios, en Cali (Colombia).

Gleydinth J. Vallejo. Médico General de la Universidad Santiago de Cali (2013). Durante 2011 y 2012 realizó su práctica, como estudiante de quinto año de Medicina, en el Hospital San Juan de Dios, en Cali (Colombia).