UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO:

"Staphylococcus aureus METICILINO RESISTENTE EN PERSONAL DE SALUD DE LAS ÁREAS DE NEONATOLOGÍA Y QUEMADOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA."

Tesis previa a la obtención
Del título de Licenciada en
Laboratorio Clínico.

Autora:

Eulalia Betzabé Cuenca Riascos.

Directora:

Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc.

Loja- Ecuador
2015

CERTIFICACIÓN

Licenciada

Carmen Ullauri Mg.

DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación: ***"Staphylococcus aureus*** **METICILINO RESISTENTE EN PERSONAL DE SALUD DE LAS ÁREAS DE NEONATOLOGÍA Y QUEMADOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA."**, elaborado por la proponente Eulalia Betzabé Cuenca Riascos estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico, ha sido ejecutado y revisado bajo mi dirección de manera que certifico que cumple con los requerimientos institucionales, autorizando su presentación para los fines legales consiguientes.

Loja, Septiembre de 2015

……

Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo **Eulalia Betzabé Cuenca Riascos** declaro ser autor (a) del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Eulalia Betzabé Cuenca Riascos.

Firma:

Cédula: 1104966294

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR, PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo **Eulalia Betzabé Cuenca Riascos**, declaro ser autora de la Tesis titulada ***"Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE EN PERSONAL DE SALUD DE LAS ÁREAS DE NEONATOLOGÍA Y QUEMADOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA.",** como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDL, en las redes de información del País y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los cuatro días del mes de diciembre del 2015.

Firma:… ……

Autora: Eulalia Betzabé Cuenca Riascos

Cedula: 1104966294

Dirección: Los Molinos de la U.T.P.L.

Correo: betznegy@hotmail.com

Teléfono: 072615171 **Celular:** 0993439462

Datos Complementarios:

Directora de Tesis: Lic. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg. Sc.

Tribunal de Grado:

Presidenta: Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

Vocal: Lic. María del Cisne Loján González, Mg. Sc.

Vocal: Dra. Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín.

AGRADECIMIENTO

Primero me gustaría agradecer a Dios por permitirme lograr una meta más en mi vida llenándola así de dicha y bendiciones.

A mis padres, hermanas y tía; quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica, creyeron en mí en todo momento. Gracias por su amor, generosidad y paciencia.

A mi directora y tutora de Tesis, Lic. Carmen Ullauri. Mg., sus conocimientos, orientaciones, su manera de trabajo, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación. Ella ha inculcado en mí un sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico sin los cuales no podría tener una formación completa como profesional.

Al personal de salud y administrativo del Hospital General "Isidro Ayora", quienes gentilmente colaboraron para llevar a cabo este trabajo de investigación, favoreciendo al progreso investigativo.

A todos mis profesores a lo largo de toda mi formación académica, a quienes le debo gran parte de mis conocimientos y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad la cual abrió y abre sus puertas a jóvenes como yo, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

La Autora

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A ti mi Dios: Que me diste la oportunidad de vivir y de regalarme una familia maravillosa.

A mis Padres: Pilares fundamentales en mi vida, sin ellos jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora, su tenacidad y lucha insaciables han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar que no solo para mí sino para mis hermanas y familia, es por ellos que soy lo que soy ahora. Los amo con toda mi vida

A mis Hermanas: Por estar siempre presentes apoyándome y ser ejemplos de hermanas y de las cuales he aprendido el valor de la confianza.

A mi segunda madre mi tía Veva: Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos y sus valores.

A todos ellos, muchas gracias de todo corazón

Eulalia Betzabé

1. TÍTULO

“*Staphylococcus aureus* METICILINO RESISTENTE EN PERSONAL DE SALUD DE LAS ÁREAS DE NEONATOLOGÍA Y QUEMADOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA.”

2. RESUMEN

El *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM), expresa el gen determinante *mecA* que le confiere resistencia a penicilinas y betalactámicos siendo una bacteria causante de infecciones complicadas de tipo nosocomial como por ejemplo la neumonía nosocomial, bacteriemia relacionada con el uso de catéteres vasculares y las del tracto urinario asociadas a la cateterización de las vías urinaria. El portador nasal de SARM es el principal reservorio y fuente de infección para las personas con sistema inmune debilitado, si estos portadores son profesionales de la salud, existiría un factor de riesgo para los pacientes que están bajo el cuidado y atención de los mismos. (Chavéz, Mancilla, & Lucumi, 2012) (Koneman , 2008). El presente estudio de tipo descriptivo trasversal, se realizó en el Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, durante el período Marzo – Agosto 2015, teniendo como objetivo principal la identificación de SARM en el personal de salud del área de neonatología y quemados. Para el análisis e identificación de SARM se utilizó técnicas de bacteriología convencional y normas estandarizadas como el protocolo 3E del manual M100-S24 del CLSI. La muestra estudiada fue de 54 personas que cumplieron con los criterios de inclusión. Se obtuvieron los siguientes resultados el 31,82% del personal de salud del área de quemados son portadores de *Staphylococcus aureus;* en el área de neonatología lo son un 59,38%. Teniendo una distribución mayor en el género femenino con un 42,59%. No se aislaron cepas productoras de meticilino resistencia.

Palabras claves: SARM (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente), personal de salud, neonatología, área de quemados

SUMMARY

The methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) expresses the determinant mecA gene that confers resistance to penicillin and beta-lactam being a bacterium that causes complicated infections of nosocomial type. The nasal bearer MRSA is the main reservoir and source of infection for individuals with a weakened immune system, if such bearers are healthcare professionals, there would be a risk factor for the patients who are under the care and attention of them. The present descriptive cross-sectional study was performed in the General Hospital Isidro Ayora from the City of Loja, during the period March to August 2015, having as main objective the identification of MRSA in healthcare personnel of the area of neonatology and burned. For the analysis and identification of MRSA there were used conventional bacteriology techniques and standardized guidelines such as 3E protocol of the manual CLSI M100-S24. The sample under study was from 54 individuals which fulfilled the criteria for inclusion. The following outcomes were obtained 31.82% of the health personnel of the area of burned are bearers of Staphylococcus aureus; in the area of neonatology there are a 59.38%. Having a most widely distribution in the masculine sex with a 60%. There were not isolated producers strains of methicillin resistance.

Keywords: MRSA (methicillin-resistant Staphylococcus aureus), health personnel, neonatology, burned area

3. INTRODUCCIÓN

El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo Gram positivo oportunista, parte de la microflora humana de la piel y las mucosas y en determinadas ocasiones pueden ser causantes de infecciones en el ser humano. (Jawetz, Melnick, & Adelbe, 2011).

El *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM); cepa que expresa el gen determinante *mecA* confiere a la bacteria resistencia absoluta contra las penicilinas semisintéticas (meticilina), otorgando al microorganismo resistencia también a los antibióticos betalactámicos. (Koneman , Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas a color, 2008).

El portador nasal de SARM es el principal reservorio y fuente de infección para el ser humano especialmente para aquellas personas que se encuentran con su sistema inmune debilitado; siendo un patógeno prevalente en infecciones intrahospitalarias causante de infecciones nosocomiales, esto desencadena un factor de riesgo para los pacientes de neonatología y quemados que son atendidos por el personal de salud. (Escobar, y otros, 2014) (Koneman, 2008). En un estudio investigativo realizado en trabajadores del Hospital Regional de Ica, Perú en Noviembre del 2011, los resultados obtenidos de la prevalencia de *Staphylococcus aureus* en fosas nasales fue de 5.3%, la edad de mayor prevalencia fue entre 48 y 59 años predominando el sexo femenino, sin embargo dentro del mismo estudio los resultados no mostraron resistencia a meticilina. (Córdova R. , Cavero, Huaranga , & Pachas, 2011). (Alvarez, 2010)

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* en nuestro país en el año 2011 fue de 5,1%. En el 2012 se han reportado casos alarmantes de neumonía lo cual indica que es un problema grave que aumenta cada año siendo el principal factor causante de infecciones severas el *Staphylococcus aureus*. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

En la Unidad de Quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja en el año 2012 la bacteria aislada en muestras de hisopado de herida con mayor frecuencia y presentando una mayor incidencia en comparación con otras bacterias fue *Staphylococcus aureus* con un 36%. (Yaguana Romero , 2012)

Las infecciones por SARM actualmente son consideradas una enfermedad emergente que involucra a países desarrollados y en desarrollo como el nuestro, por ello el tratamiento

adecuado y oportuno de las mismas, tendrá un impacto importante para evitar graves complicaciones.

Con estos antecedentes se realizó esta investigación para identificar *Staphylococcus aureus* meticilino resistente del personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja en el mes marzo del 2015; circunstancia que podría poner en riesgo a los pacientes; así mismo investigar si la distribución de esta bacteria varía según sexo y función del personal.

Para el desarrollo y cumplimiento de la presente investigación se planteó como objetivo general identificar *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja; el análisis e identificación de SARM se lo realizó utilizando técnicas de bacteriología convencional y normas estandarizadas como el protocolo 3E del manual M100-S24 del CLSI. La muestra estudiada fue de 54 personas que cumplieron con los criterios de inclusión.

En la investigación no se encontró portadores nasales de S*taphylococcus aureus* meticilino resistente siendo estos *mecA* negativo; sin embargo, se identificó un alto porcentaje de S*taphylococcus aureus* en el género femenino con un 42,59% y su distribución según función del personal en donde se encontró con mayor frecuencia fue en el sexo femenino con un 42% ; quienes tienen contacto continuo con los pacientes; de manera que la presencia de esta bacteria aún sin ser meticilino resistente podría causar infecciones en los pacientes hospitalizados de estas áreas críticas.

La confirmación de la presencia de SARM y su genotipo mediante la prueba multiplex PCR, no fue necesario realizarla debido a que no se aisló ninguna cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (*mec A* positivo), por lo que no fue necesaria su confirmación.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. *Staphylococcus aureus*

4.1.1. Generalidades

A nivel mundial, Staphylococcus aureus es una de las causas más comunes de infecciones nosocomiales y de infecciones purulentas agudas. Ocupando un lugar protagónico dentro de las causas de infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemias, tanto en adultos como en niños. (Ryan & Ray, 2011). Productora de coagulasa y catalasa que se encuentra ampliamente distribuida. (Koneman , 2008)

- ✓ **Taxonomía**

Pertenece al Reino Bacteria, filo Firmicutes, Clase Bacilli, Familia *Staphylococcaceae* del género *Staphylococcus*, especie *S. aureus;* Nombre binomial *Staphylococcus aureus*. (Koneman , 2008) (Veracruzana, 2011)

- ✓ **Morfología**

Son cocos grampositivos, en cuanto a su pared celular está compuesta por una gruesa capa de peptidoglicano, no es flagelado, inmóvil y no forma espora, se desarrollan mejor en condiciones aeróbicas, pero es anaerobio facultativo. Tienen una tendencia a formar racimos (del griego *staphyle*), de tamaño regular, se unen en racimos con la precisión de bolas de billar. (Ryan & Ray, 2011).

La pared celular de *S. aureus* consiste en un típico peptidoglucano grampositivo entreverado con cantidades considerables de ácido teicoico. El peptidoglucano de la pared celular por lo común se encuentra cubierto de polisacáridos y proteínas de superficie. (Ryan & Ray, 2011).

En el cultivo las colonias son lisas, brillantes, convexas y grandes de consistencia cremosa aunque ciertas cepas pueden ser de apariencia húmeda o “viscosas”. Posee un endopigmento color amarillo – naranja a blanco porcelana color dorado. (Veracruzana, 2011) (Koneman , 2008)

- ✓ **Flora normal**

Población de microorganismos que habita en la piel y en las mucosas de personas normales y sanas. El *Staphylococcus aureus* es parte de la microbiota normal de piel, orofaringe y fosas nasales formando parte de la flora transitoria es variables de un ser humano a otro y está compuesta por gérmenes que colonizan un determinado sector.

Esta flora puede incluir bacterias potencialmente patógenas para el propio individuo u otras personas que entran en contacto con el *Staphylococcus aureus*. (Koneman , 2008) (Torres, 2009).

4.2. Variante Meticilino Resistente

Las cepas de *S. aureus* que expresan el gen *mecA* se denominan *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR). La bacteria presenta el gen *mecA* que se encuentra localizado en el cassette cromosómico estafilocócico; el gen *mecA* es estructural para una proteína de unión a la penicilina de baja afinidad (PBP 2ª) que se encuentra en las cepas de S. aureus resistentes a meticilina/oxacilina (SARM); este gen contiene loci distintos; el *mec* A, gen que tiene baja afinidad por todos los antibióticos beta – lactámicos, incluidas las cefalosporinas (cefixime, ceftibuten, carbapenémicos (imipenem, meropenem). (Koneman , 2008). Siendo el SARM una causa más importante de infecciones asociadas a la atención sanitaria, siendo el más frecuentemente aislado en hospitales. Si bien los antimicrobianos son indispensables para la medicina, humana, se considera también que son responsables del surgimiento de la resistencia en todo tipo de microorganismos. (Koneman, 2008)

En surgimiento de cepas de *S. aureus* multirresistente representa una respuesta secuencial a la presión selectiva impuesta por la terapia antimicrobiana; sin embargo se menciona y se ha observado que la acumulación y la diseminación de resistencia en *S. aureus* es producto del intercambio de determinantes de resistencia pre-existentes portados por elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones y secuencias de inserción. (Castellano & Perozo, 2010).

La resistencia conferida por este gen se extiende a otras familias antibióticas como las quinolonas y lincosamidas lo que limita el armamento terapéutico.

Es así que la resistencia es dependiente de la variabilidad genética que sufre la bacteria en su evolución a través del tiempo como también la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio, y su continua adquisición de determinantes de resistencia antibiótica, han hecho de éste un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multirresistencia, ocasionalmente importantes. (Camarena & Sanchéz, s.f.).

4.3. Infecciones

El *Staphylococcus aureus* puede causar diversos procesos infecciosos que van desde infecciones cutáneas relativamente benignas hasta enfermedades sistémicas potencialmente mortales. (Koneman, 2008).

Los profesionales de la salud y los miembros de la familia que tienen colonización de la bacteria en sus narinas actúan como reservorio importante para la transmisión a los pacientes. (American , 2009). Debido a ello, el personal sanitario debe utilizar técnicas adecuadas de bioseguridad para evitar la transmisión de estafilococos a sus pacientes. (Ryan & Ray, 2011)

El destino de las lesiones depende de la capacidad del hospedador para localizar el proceso, que difiere dependiendo del tejido implicado. (Ryan & Ray, 2011).

La neumonía estafilocócica adquirida en la comunidad suele observarse en individuos ancianos y está asociada con neumonía viral como factor predisponente.

La neumonía hospitalaria debida a *S. aureus* se produce en un contexto clínico de pacientes con enfermedad obstructiva crónica e individuos sometidos a intubación y aspiración de secreciones. Las enfermedades malignas subyacentes se reconocen como factores importantes de riesgo para el desarrollo de bacteriemia por *S. aureus.* (Koneman, 2008).

La vancomicina, trimetropin, clindamicina, daptomicina y la teicoplanina constituyen, en la actualidad, los fármacos de primera elección en el tratamiento de las infecciones causadas por cepas SARM.

Se prueban en la actualidad nuevos antibióticos para combatir a este microorganismo, entre los que se encuentran: quinupristina – dalfopristina, linezolido, daptomicina, tigeciclina, dalbavancina y telavancian. Se espera que alguno de estos antibióticos, la mayoría todavía en estudio, sirvan para controlar la infección por *S. aureus.* (Proaño & Pazmiño, 2010).

La descolonización de un portador de *S. aureus* es con frecuencia pasajera y seguida de recolonización; la utilización de agentes antimicrobianos para la descolonización conlleva el riesgo de crear resistencias a estos agentes. Se han utilizado mupirocina nasal. (Health, 2011).

Para evitar la diseminación de *S. aureus* se recomienda seguir las medidas de bioseguridad; haciendo obligatorio el cumplimiento de las medidas de bioseguridad y

profilácticas en el manejo de los pacientes; evitando así que la infección se propague en el contexto nosocomial. (Proaño & Pazmiño, 2010).

4.4. Métodos diagnósticos

Los procedimientos de laboratorio que ayudan a la identificación de infecciones por *Staphylococcus aureus* son sencillos.

Para el análisis e identificación de SARM se utilizó técnicas de bacteriología convencional y normas estandarizadas internacionales; se realizara un hisopado de las fosas nasales se sembrara en agar sangre; *Staphylococcus* aureus está formado por cocos Gram positivos, no móviles, aerobios facultativos, fermentadores de glucosa, coagulasa y catalasa positivo; agrupados como células únicas o formando un racimo de uvas; crece en un período de 24 – 48 horas de incubación en agar sangre. Las colonias en el agar sangre en cuanto a su morfología son circulares, lisas, elevadas, de bordes enteros y generalmente pigmentadas con un color amarillo; a menudo con hemólisis, el crecimiento es abundante. (Ryan & Ray, 2011). (Jawetz, Melnick, & Adelbe, 2011)

A través de la Microscopía que se realiza mediante un frotis que se tomará una colonia de un cultivo de 24 horas se extenderá en un porta objetos y se la tiñe con Gram, esta técnica se basa en las características de la pared celular de las bacterias; en las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglucano y no cuentan con membrana celular externa y además contienen ácido teicoico de esta manera los Staphylococcus aparecen como cocos grampositivos en racimos de color azul violeta. (Jawetz, Melnick, & Adelbe, 2011).

Observada la disposición e identificación de los coco se procede a realizar la prueba de catalasa; siendo una enzima (oxidorreductasa), se lleva a cabo directamente a partir de las colonias, esta prueba detecta la presencia de enzimas citocromo oxidasas La prueba de la catalasa se realiza con 3% de peróxido de hidrogeno sobre un portaobjetos de vidrio. Un burbujeo vigoroso e inmediato indica la conversión del H2O2 en agua y oxigeno gaseoso indica una prueba positiva. (Jawetz, Melnick, & Adelbe, 2011) (Koneman , 2008).

El *S. aureus* es la única especie de origen humano capaz de producir catalasa; siendo ideal la prueba de catalasa para diferenciar al *Staphylococcus* (catalasa positivo) del *Streptococcus* (catalasa negativo).

A las cepas con resultado de catalasa positiva se realizará la prueba de coagulasa o factor de aglutinación en la superficie de la pared celular. La coagulasa es una enzima que tiene actividad similar a la protrombina, capaz de convertir el fibrinógeno en fibrina dando como resultado la coagulación del plasma. La coagulasa detectada por el método prueba de la coagulasa en tubo se segrega de forma extracelular y reacciona con una sustancia en el plasma llamada factor de la reacción coagulasa para formar un complejo que, a su vez, reacciona con el fibrinógeno para formar fibrina (coágulo) en un lapso de 1 a 4 horas, la prueba es positiva. Las pruebas que son negativas después de 4 horas de incubación a 35 °C deben mantenerse a temperatura ambiente y leerse nuevamente después de 18 a 24 horas porque algunas cepas producirán fibrinolisina en la incubación prolongada a 35 °C, causando la disolución del coagulo durante el periodo de incubación. (Jawetz, Melnick, & Adelbe, 2011) (Koneman, 2008).

Prueba de fermentación del Manitol Sal este medio contiene manitol (1%), NaCl 7,5%, rojo de fenol y peptonas; siendo un medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos e identificación de *S. aureus*. La elevada concentración salina inhibe el desarrollo de otros microorganismos (excepto el de enterococos) y permite el crecimiento selectivo de los estafilococos. *S. aureus* puede ser detectado por la presencia de una zona amarilla alrededor de las colonias, lo que indica la producción de ácido a partir del manitol. (Koneman , 2008). Finalmente se realiza la prueba de tamizaje que se ensaya con un disco de 30 ug de Cefoxitina que induce la producción de PBP2a (proteína de unión a la penicilina) teniendo así la confirmación de SARM según el documento de la CLSI que se obedecen las recomendaciones del mismo. (CLSI, 2014).

En la actualidad se han desarrollado medios de cultivo que contiene agar base cromogénico específico para la detección de S. aureus resistentes a la meticilina de muestras clínicas; en presencia de enzimas específicas, los sustratos son modificados y los cromógenos tiñen específicamente las colonias, permitiendo realizar la identificación directa de S. aureus.

4.5. Técnicas de Biología Molecular

Las técnicas moleculares se basan en el análisis de los ácidos nucleicos extraídos de los microorganismos en forma directa o bien de una muestra conteniendo el microorganismo en cuestión.

La introducción de métodos de biología molecular en los laboratorios de microbiología clínica supone un gran apoyo a la hora de obtener diagnósticos sensibles y específicos.

Los métodos para tipificación de microorganismo pueden clasificarse en dos grandes grupos: fenotípicos y genotípicos. Los métodos fenotípicos se basan en la determinación de características bioquímicas y/o fisiológicas; mientras que las técnicas de tipificación genotípicas involucran el estudio del genoma del microorganismo causal de la enfermedad, permitiendo analizar propiedades, características o polimorfismos genéticos presentes en los agentes etiológicos; detectando el material genético del organismo, por lo tanto son independientes de los cambios en el patrón de expresión genética y de las influencias ambientales, ofreciendo una alternativa con mayor estabilidad y reproducibilidad. (Aguadero, 2014).

Se ha propuesto una gran variedad de técnicas moleculares para la detección de microorganismos como lo es: técnicas basadas en la Hibridación de ADN siendo la más utilizada la RFLP's (fragmentos de restricción de longitud polimórfica).

El desarrollo de métodos de PCR (Reacción en cadena de Polimerasa); son específicos, sensibles y rápidos para la identificación de *S. aureus* y de sus genes de resistencia ha tenido gran relevancia.

La técnica de PCR permite la amplificación enzimática in vitro de un segmento de ADN específico para amplificar una región específica del ADN que reconoce la detección de determinado locus de virulencia.

La PCR múltiple (multiplex) es una variante de la PCR tradicional (PCR punto final) en la que dos o más loci se amplifican simultáneamente en la misma reacción, siendo una técnica de biología molecular usada en todo el mundo que usa la reacción en cadena de la polimerasa para amplificar distintos fragmentos de ADN diana simultáneamente (como si se realizaran muchas reacciones en cadena de la polimerasa individuales en una misma reacción). La amplificación de las dianas se logra mediante el uso de múltiples pares de cebadores en una mezcla de reacción; el diseño de los cebadores para todos los pares de éstos tiene que ser optimizado para que pueden trabajar a la misma temperatura de hibridación durante la PCR.

De esta manera el PCR multiplex consiste en la amplificación de varias secuencias a la vez en donde permite la detección del gen mecA, nuc ; en donde el primero otorga la meticilino resistencia que codifica la síntesis de la PBP2a, teniendo localización cromosómica y el segundo es específico para detectar a la bacteria *S. aureus*. (Koneman, 2008). Reacciones que consiguen amplificar simultáneamente en un único tubo (y por

ende una única reacción), múltiples parejas de cebadores para obtener diferentes secuencias diana.

La realización del PCR multiplex (múltiple) se lleva a cabo mediante la reacción de PCR tradicional, pero con más de 2 primers para amplificar varias regiones al mismo tiempo; la PCR es una reacción que ocurre en un único tubo tras mezclar en él los componentes necesarios e incubarlos en un termociclador, aparato que permite variar la temperatura de incubación a lo largo del tiempo de forma programada. Los protocolos básicos de PCR constan de los siguientes pasos fundamentales:

- Desnaturalización térmica (95º C que provoca la separación de las dos cadenas de ADN); el ADN que se va a usar como molde, (ADN de *S.aureus* extraído a partir de colonias bacterianas portador del gen *mecA*)*;* la extracción del ADN se realiza por el método de ebullición; las colonias frescas de 24-48 horas son suspendidas en 400 ul de agua destilada estéril, llevadas a ebullición por 15 minutos y luego centrifugadas por 5 min a 1500 rpm. El sobrenadante conteniendo el ADN se conserva a -20ºC.

  Este proceso de desnaturalización permite que la cadena de ADN quede en forma de cadena sencilla.
- A una temperatura menor (55 º C) que la de la desnaturalización, anillamiento o alineamiento de cebadores sintéticos cuya secuencia les permite hibridar uno a cada lado de la secuencia diana. los cebadores o primers utilizados son *mecA-R* y nuc; estos cebadores son de temperaturas de hibridación similares.
- Extensión por parte de la ADN polimerasa (taq polimeraza) a una temperatura de 72 º C de los oligonucleótidos anillados que actúan como cebadores; la Taq polimerasa promueve la síntesis de ADN en la región de doble cadena. La síntesis ocurre a una tasa de aproximadamente 20 nucleótidos por segundo, y en un minuto es sintetizada una nueva copia del fragmento que se quiere analizar.
- Este proceso de tres pasos es repetido un número determinado de veces, duplicándose cada vez el número de moléculas de producto. Estos ciclos son repetidos varias veces en un aparato llamado termociclador. Al final de los 30 ciclos de amplificación existen aproximadamente un millón de copias del segmento de ADN de interés (*S.aureus*) por cada molécula molde original de la muestra inicial. (Carpinelli, Guillén , Fariña , Basualdo, & Aquino, 2012).

En los productos de amplificación de la PCR múltiple para la detección de los genes mecA y nuc utilizan los siguientes controles: control negativo de la reacción de PCR (agua tridestilada) y control positivo cepa ATCC 43300.

Los tamaños de los fragmentos obtenidos son de 533 pb para el gen *mecA*. Con límite de detección de 0,5 ng/uL que corresponde aproximadamente a $5x10^3$ UFC/uL.

También existe la PCR en tiempo real en donde se realiza una extracción de ADN a partir de la muestra del paciente y posteriormente se amplifica un fragmento genómico de *S. aureus* meticilino-resistente. Para ello, se emplean cebadores específicos para el gen mecA, involucrado en la resistencia antibiótica de la bacteria y un control de amplificación; los productos amplificados y los controles son detectados por medio de un equipo de PCR en tiempo real, gracias a la fluorescencia emitida por sondas de hibridización marcadas con fluorocromos. La técnica detecta por encima de 10 copias de ADN de MRSA. (Biotecgen, 2011).

4.6. Personal de Salud

Staphylococcus aureus siendo un patógeno humano; supone uno de los principales motivos de preocupación en el ámbito de la salud pública por su capacidad de permanencia en sus reservorios, su transmisibilidad, su capacidad destructora y su creciente resistencia a toda clase de antimicrobianos.

Los portadores nasales de *Staphylococcus aureus* son considerados como uno de los reservorios de la diseminación de infecciones nosocomiales. El personal de la salud tiene un papel importante en la transmisión de dichas infecciones. Debido a que la contaminación es de persona a persona el personal de salud se encuentra expuesto, pudiendo constituir un reservorio importante que repercute sobre los pacientes.

El área de neonatología es una rama de la pediatría dedicada a la atención del recién nacido. Se denominaría crítica debido a las características especiales de los pacientes que ingresan o acuden a esta área. Desde el punto de vista epidemiológico, el paciente neonato puede ser infectado por SARM siendo el personal de Salud reservorio de transmisión a los neonatos; el personal de salud puede ser colonizado por SARM debido a la a permanencia en el hospital, contacto con pacientes infectados con SARM, falta de adhesión a las medidas de precaución estándar todos estos factores hace que los profesionales de salud

queden sujetos a la colonización por microorganismos típicamente hospitalarios y frecuentemente multirresistentes lo cuan repercute sobre pacientes con su sistema inmune bajo (neonatos). (Pacheco , 2011).

Así mismo el área de quemados es una zona definida como crítica de alto riesgo. La unidad de quemados suele ser atendida por cirujanos plásticos, enfermeras y auxiliares de enfermería pudiendo ser el ente de transmisión de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en los pacientes (sistema inmune bajo). Los pacientes que son internados en esta Área son foco susceptible para adquirir SARM; que tiene una estrategia eficaz para evadir la respuesta inmune del hospedador y de esta forma sobrevivir en los tejidos estableciendo así una infección crónica recalcando que el SARM es considerado un germen exclusivamente nosocomial. (Pacheco , 2011).

Por tal razón el personal que es portador de *Staphylococcus aureus* podría causar en los pacientes de estas zonas críticas como lo es neonatología y quemados un amplio abanico de infecciones siendo un factor de riesgo elevado para subsiguientes infecciones invasivas; entre las cuales se menciona: infecciones de piel y partes blandas como foliculitis llegando así al progreso del forúnculo; impétigo infección superficial que afecta más a los niños o a los adultos inmunodeprimidos. Infecciones respiratorias como lo es las neumonías, en donde el *Staphylococcus aureus* coloniza la vía respiratoria. También se menciona la bacteremia siendo un cuadro grave que consiste en el aislamiento del patógeno en la sangre junto con síntomas clínicos. (Aguadero, 2014). Es así que el *Staphylococcus aureus* puede causar diversos procesos infecciosos que van desde infecciosos cutáneas relativamente benignas hasta enfermedades sistémicas potencialmente mortales. (Koneman, 2008).

5. METODOLOGÍA

5.1. TIPO DE ESTUDIO

Trabajo descriptivo de tipo transversal, se realizó en el Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja en el período Marzo – Agosto 2015.

5.2. ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la ciudad de Loja, ubicada al este de la Provincia de Loja en el Sur de la Sierra Ecuatoriana. El lugar de estudio fue el Hospital General Isidro Ayora, ubicado en el barrio Sucre, entidad pública que presta servicios de salud de segundo nivel; brindando a la comunidad la oportunidad de acceder a una atención de calidad científica y humanística que recibe a pacientes referidos de tres centros de salud de la ciudad y de veinte y tres unidades operativas de la provincia. Cuenta con las siguientes especialidades y Áreas: Clínica General, Neonatología, Unidad de Quemados, Traumatología, Cirugía, Hematología, Fisiatría, Medicina Interna, Clínica de VIH, Gastroenterología, Dermatología, Nefrología, Virología, Gineco Obstetricia, Cirugía, Pediatría, Sala de emergencia, Medicina Interna, Cardiología, Geriatría, Inmunología, Oncología, Oftalmología, Diabetología, Psiquiatría, Neurología, Unidad de Cuidados Intensivos, Imagenología, Odontología y departamento de Laboratorio Clínico.

El muestreo se realizó en las Áreas de Neonatología y Quemados. La primera dotada de 15 incubadoras y la segunda con 12 camas.
En el año 2014 se atendieron 360 pacientes en el Área de Quemados, y 96 neonatos en el Área de Neonatología.

5.3. UNIVERSO Y MUESTRA

5.3.1. Universo

Personal de Salud de las Áreas de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja conformado por 63 personas.

5.3.2. Muestra

Estuvo conformado por 54 personas que constituye el Personal de Salud de las Áreas de Neonatología y Quemados distribuidas de las siguiente manera 22 corresponden al Área de Quemados y 32 del Área de Neonatología.

Se excluyeron de la muestra a 2 personas del Área de Quemados porque estaban con permiso, y 7 personas del Área de Neonatología porque no firmaron el consentimiento.

5.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

5.4.1. Criterios de Inclusión

- Personal de Salud de las Áreas de Neonatología y Quemados.
- Aquellas que dieron su consentimiento informado y contestaron la encuesta.

5.4.2. Criterios de Exclusión

- Personal de salud de otras Áreas del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja.
- Personal de Salud que notifique estar tomando antibióticos o haber tomado 7 días antes.

5.5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Dentro del desarrollo del trabajo investigativo se cumplieron tres fases específicas:

5.5.1. Fase Pre – Analítica:

1. Envío de oficio al Director del Hospital General Isidro Ayora, para adquirir la autorización respectiva y desarrollar el presente estudio. ***(Anexo 1)***
2. Solicitud dirigida a la Directora del Área de la Salud Humana, pidiéndole que se facilite la utilización del Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Médico, durante el proceso de análisis de las muestras. ***(Anexo 2)***
3. Registro de datos de profesionales de Salud que trabaja en las Área de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja 2015. ***(Anexo 3).***
4. Elaboración y aplicación del consentimiento informado y encuesta a los profesionales de Salud del Área de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja. ***(Anexo 4)***
5. Protocolo con las medidas de bioseguridad durante la ejecución del estudio. ***(Anexo 5)***
6. Toma de muestra, recolección y transporte de las mismas. ***(Anexo 6)***

5.5.2. Fase Analítica:

1. Se realizaron medios de cultivo Agar Sangre, Agar Mueller Hinton y Manitol Sal. ***(Anexo 7)***
2. Siembra de muestras en el medio de cultivo: Agar Sangre. ***(Anexo 8)***
3. En las muestras que hubo crecimiento se realizó la prueba bioquímica de Catalasa y pase al agar Manitol Sal. ***(Anexo 9) (Anexo 10)***
4. Tinción de Gram. ***(Anexo 11)***
5. A las cepas con resultados de catalasa positiva y fermentación de Manitol sal se realizó la prueba bioquímica de Coagulasa ***(Anexo 12)***
6. A las cepas que dieron coagulasa positivo se las identificó como *Staphylococcus aureus.*
7. Preparación del inóculo para la prueba de resistencia a la meticilina ***(Anexo 13).***
8. Se concluyó con la prueba de tamizaje y confirmación de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Se utilizó el protocolo de la Tabla 3E, utilizando disco de cefoxitina de 30ug y cepa control positivo de *S.aureus* 43300 del Manual M100-S24 del CLSI. ***(Anexo 14).***
9. Lectura e interpretación, se comparó con las cepas control de *S.aureus* ATCC 43300-mecA positivo (zona $\leq$ 21mm). Para realizar el control de calidad se usó la cepa de *S.aureus* ATCC 43300-mecA positivo, la cual fue resembrada cada 15 muestras para su identificación. ***(Anexo 15).***
10. El cuarto objetivo propuesto en la investigación no está expreso en los resultados debido a que no se aisló ninguna cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente por lo que no fue necesario su confirmación.

5.5.3. Fase Post – Analítica

1. Reporte de Resultados. Se realizó un informe con los resultados obtenidos los cuales se enviaron al departamento de Coordinación de Docencia e Investigación del Hospital General Isidro Ayora.
2. Certificado de proceso de las muestras microbiológicas en el Centro de Diagnóstico Médico"CDM" ***(Anexo 16).***
3. Fotos relatoría del trabajo de ensayo. ***(Anexo 17).***

5.6. ANALISIS Y TABULACIÓN DE DATOS.

Los resultados se tabularon mediante el cálculo de frecuencias utilizando estadística descriptiva, lo que se presenta en tablas y gráficos de barras porcentuales para su interpretación

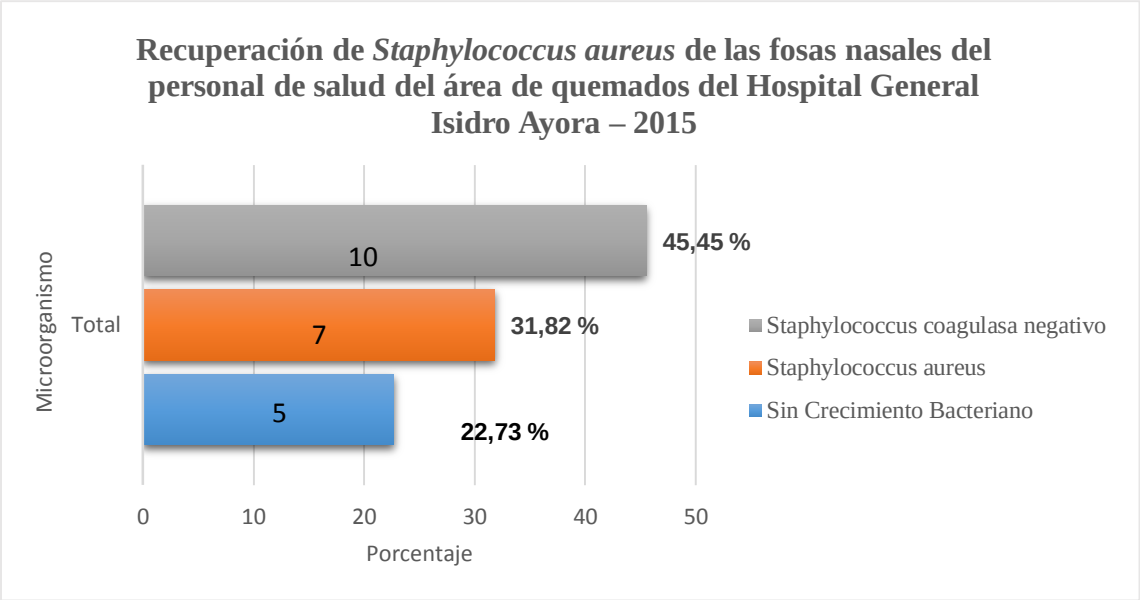
6. RESULTADOS

TABLA N. 1. Recuperación de *Staphylococcus aureus* de las fosas nasales del personal de salud del área de quemados del Hospital General Isidro Ayora – 2015

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	%
Staphylococcus aureus	7	31,82
Staphylococcus coagulasa negativo	10	45,45
Sin Crecimiento Bacteriano	5	22,73
TOTAL	**22**	**100**

FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

GRÁFICO 1.



FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

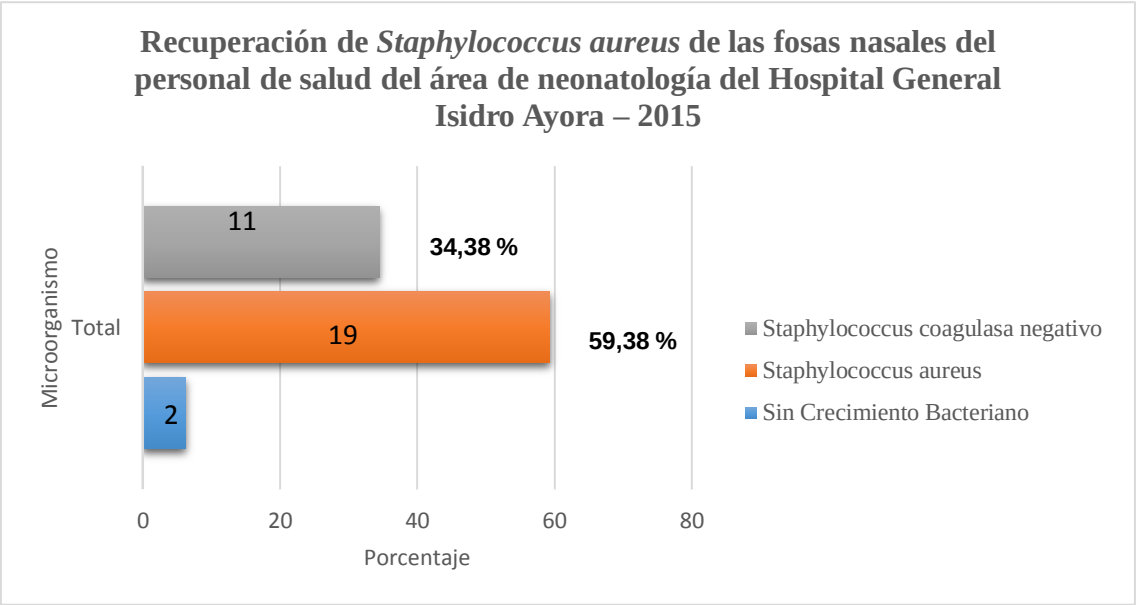
INTERPRETACIÓN: Los microorganismos aislados con mayor frecuencia son *Staphylococcus* coagulasa negativo con un porcentaje del 45,45%. Estos microorganismos son habitantes de microbiota de piel y mucosas del ser humano; son mucho menos virulentos que el *S. aureus* aunque puede actuar como oportunista. (Ossa & Boehme, 2015); suelen asociarse a la presencia de un cuerpo extraño (especialmente catéteres intravasculares, de diálisis peritoneal, infecciones en piel y tejidos blandos e infecciones urinarias. *(Norma, y otros, 2013).*

TABLA N. 2. Recuperación de *Staphylococcus aureus* de las fosas nasales del personal de salud del área de neonatología del Hospital General Isidro Ayora – 2015

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	%
Staphylococcus aureus	19	59,38
Staphylococcus coagulasa negativo	11	34,38
Sin Crecimiento Bacteriano	2	6,25
TOTAL	**32**	**100**

FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

GRÁFICO 2.



FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

INTERPRETACIÓN: El microorganismo aislado con mayor frecuencia es *Staphylococcus aureus* con un 59,38%.

A pesar que *Staphylococcus aureus* posee factores de virulencia, siendo un microorganismo patógeno importante que puede producir muchas infecciones; puede convivir con el huésped humano formando parte de su flora normal sin causar ningún daño. *(Seija, 2008) (Spicer, 2009)*

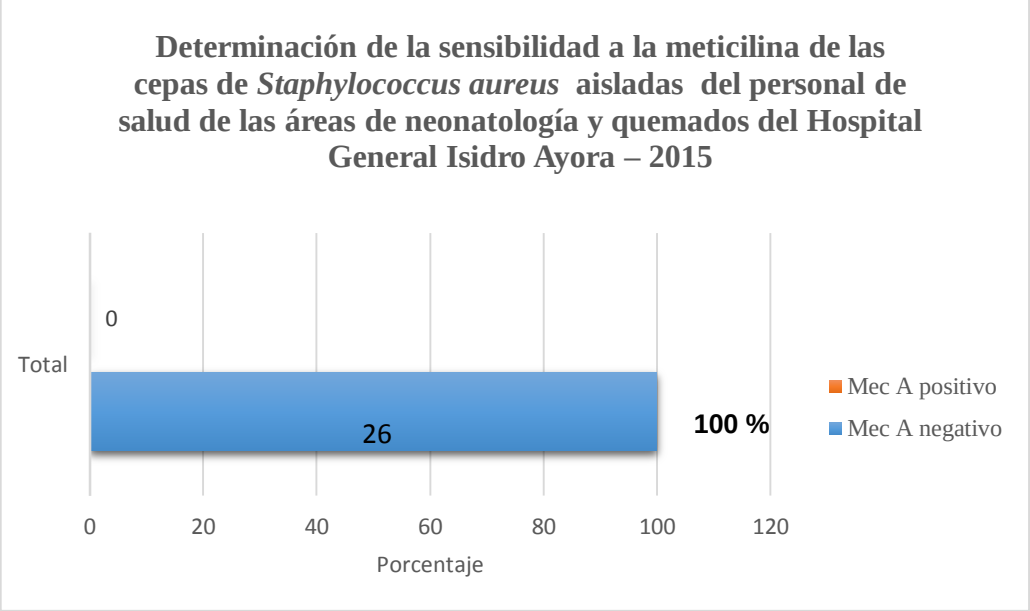
En un estudio realizado por Zhumi, Torres y Vivar en personal de Salud describe un porcentaje de 30% de portadores de *S.aureus*; en relación a la presente investigación se confirma que hay un porcentaje elevado de portadores de *S.aureus* en el personal de salud los mismos que deberían aplicar siempre medidas preventivas durante el contacto con los neonatos puesto que el *S.aureus* puede actuar como patógeno capaz de colonizar, invadir y diseminarse *(Zhumi, Torres, & Vivar, 2013) (Seija, 2008)*.

TABLA N. 3. Determinación de la sensibilidad a la meticilina de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas del personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora – 2015

MICROORGANISMO	CEFOXITINA 30 ug				TOTAL
	Mec A positivo		Mec A negativo		
	≤21mm		≥22mm		
Staphylococcus aureus	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
	0	0	26	**100**	**26**

FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

GRÁFICO 3.



FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

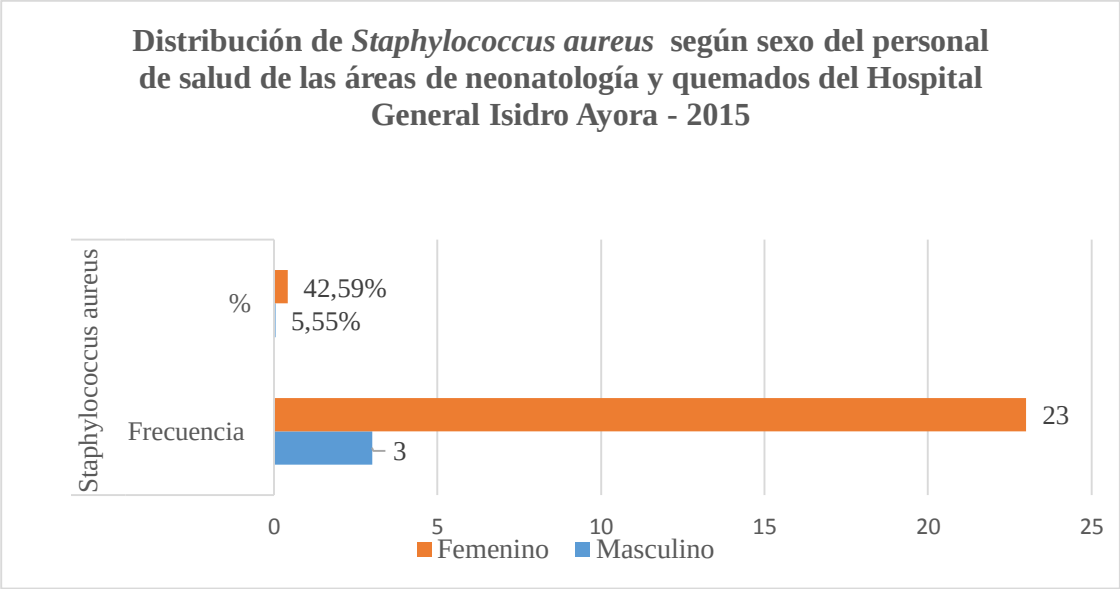
INTERPRETACIÓN: No se encontró presencia de portadores de SARM (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente) en el personal de Salud de las Áreas de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora, por lo tanto los pacientes de estas áreas no están en riesgo de contraer infecciones nosocomiales por este microorganismo por contacto con el personal de salud.

TABLA N. 4.Distribución de *Staphylococcus aureus* según sexo del personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora - 2015

SEXO	*Staphylococcus aureus*	
	Frecuencia	**%**
Masculino	3	5,55
Femenino	23	42,59
TOTAL	**26**	**48,14**

FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

GRÁFICO 4.



FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

INTERPRETACIÓN: Ya que en el presente estudio no se encontró personal de salud portador de SARM (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente), pero sí de *Staphylococcus aureus*, se realizó la distribución de este microorganismo de acuerdo al objetivo número tres según sexo; ya que siendo parte del equipo de salud que labora en estas áreas críticas podría exponer a los pacientes a infecciones de piel, neumonía nosocomial, bacteriemia y endocarditis, lo cual puede desencadenar un amplia gama de infecciones localizadas o sistémicas de severidad variable. *(Ossa & Boehme, 2015), (Spicer, 2009) (Morales, 2014).*

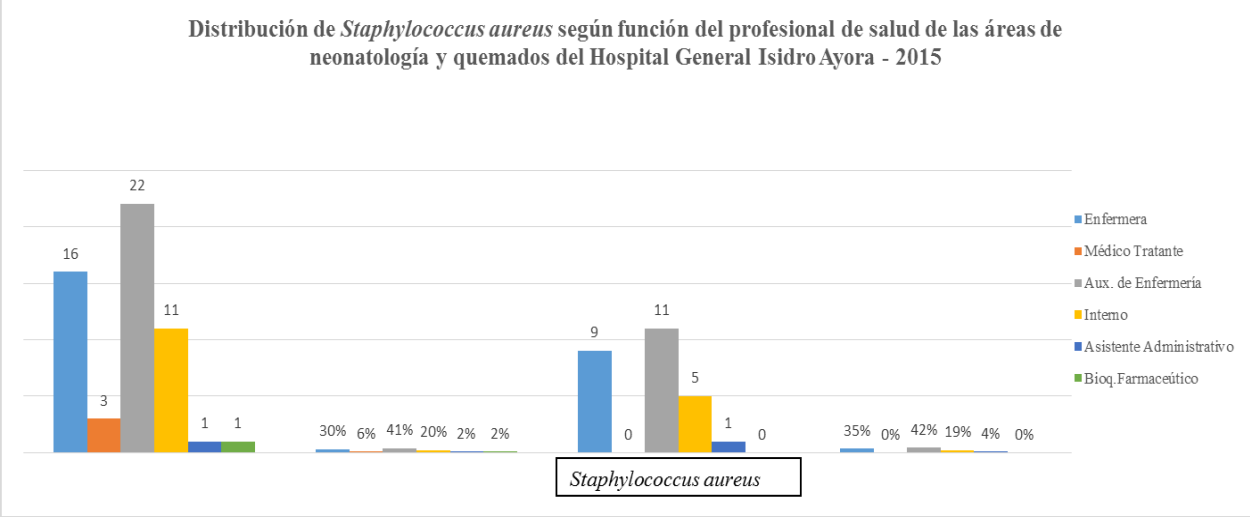
En esta investigación se observa mayor frecuencia de *Staphylococcus aureus* en el sexo femenino con un 42,59%.

TABLA N. 5.Distribución de *Staphylococcus aureus* según función del profesional de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora – 2015

PERSONAL DE SALUD			PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus*	
	FRECUENCIA	**%**	**FRECUENCIA**	**%**
Enfermera	16	24	9	35
Médico Tratante	3	6	0	0
Aux. de Enfermería	22	44	11	42
Interno	11	20	5	19
Asistente Administrativo	1	2	1	4
Bioq.Farmaceútico	1	2	0	0
TOTAL	**54**	**100**	**26**	**100**

FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

GRÁFICO 5.



FUENTE: Investigación de campo
ELABORADO POR: Eulalia Cuenca

INTERPRETACIÓN: La distribución de *Staphylococcus aureus* según función se presenta con mayor frecuencia en las Auxiliares de Enfermería con un 42 % seguida de las Enfermeras con un 35%; las cuales tienen contacto continuo con los pacientes; distintos estudios han demostrado que la presencia de *Staphylococcus aureus* puede causar infecciones que por lo general son causadas por la propia flora residente pudiendo así afectar a los pacientes hospitalizados de estas áreas críticas. *(Zhumi, Torres, & Vivar, 2013). (Arévalo & Sarmiento, 2014 - 2015).*

7. DISCUSIÓN

En la presente investigación el porcentaje de portador nasal de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) en el personal de salud del área de quemados es de 31,82%; en el área de neonatología corresponde al 59,38%. No se aislaron cepas de *S. aureus* meticilino resistente.

La distribución de *S. aureus* según sexo del personal de salud es mayor en el género femenino con un 42.59% y, según el trabajo desempeñado es mayor en las profesionales de auxiliar de enfermería con un 42% seguido de las enfermeras con un 35% respectivamente.

En un estudio realizado por Zhumi, Torres y Vivar (2014) en personal médico se describe un porcentaje de 30% de portadores de *S. aureus;* mientras que en otro estudio realizado en Hospital de mediana complejidad de la ciudad de Cali por Mónica Chávez, Lida Mancilla y Armando Lucumi (2012), menciona que el 17,7% de profesionales de salud son portadores de *S. aureus;* en relación a la presente investigación los resultados son comparables con el primer estudio citado, confirmando en ambas porcentajes elevados de portadores de *S. aureus* en personal de salud. *(Zhumi, Torres, & Vivar, 2013).* En cuanto al segundo estudio comparado con esta investigación los profesionales portadores de *S. aureus* resulta ser más bajo. (Chavéz, Mancilla, & Lucumi, 2012).

Un estudio realizado en trabajadores del Hospital Regional de Ica, Perú 2011 por Córdova Rocío, Cavero Patricia, Huaranga Julissa y Pachas Carlos; indican que el 5,3% son portadores de *S. aureus* en fosas nasales; porcentaje menor al determinado en este estudio, lo cual probablemente estaría relacionado como mencionan los autores al uso de alcohol glicerinado para desinfección de superficies y uso de personal de todos los servicios. (Córdova, Cavero, Huranga, & Pachas, 2011).

El mayor porcentaje de portadores de *S. aureus* en este estudio corresponde al personal de neonatología que es de 59,38% que se asemeja al estudio realizado en el 2010 en Cuenca por Marlene Álvarez y Mónica Alao con el 39% en la población antes mencionada. (Alvarez & Alao, 2010)

De las muestras aisladas de *S. aureus* en esta investigación ninguna fue productora de meticilino resistencia; lo que indica que no se encontró presencia de portadores de SARM (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente) en el personal de salud de las área de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora, dato que es importante ya que

los pacientes de estas áreas críticas no corren el riesgo de contraer infecciones nosocomiales por contacto con el personal de salud; un estudio realizado por Córdova Rocío, Cavero Patricia, Huaranga Julissa y Pachas Carlos (2011) en el Hospital de Ica, en trabajadores del Hospital , muestran resultados similares a este estudio; mientras difiere de los resultados presentados por otra investigación realizada en Cuenca en el 2011 por Zhumi, Torres y Vivar (2014) en la que señala que en las cepas aisladas del personal médico un 36,1% muestran resistencia a la meticilina lo cual es un riesgo para los pacientes; cabe recalcar que el antibiótico ensayado para detectar *S. aureus* meticilino resistente fue la oxacilina; caso contrario en el estudio por Marlene Álvarez y Mónica Alao, el disco utilizado fue cefoxitina (30ug) para detectar *S. aureus* meticilino resistente, dato que concuerda en este estudio en donde se utilizó técnicas de bacteriología convencional y normas estandarizadas como el protocolo 3E del manual M100-S24 del CLSI 2014; dato que también coincide con un estudio realizado por Horna Gertrudis, Astocondor Lizeth, Jacobs Jan y García Coralith en donde realiza la evaluación de métodos fenotípicos para la detección de *S. aureus* resistente a meticilina; indicando que el disco de cefoxitina (30ug) es un potente inductor del gen *mecA*; actualmente es usado como método de detección presuntiva para la identificación de *S. aureus* meticilino resistente. Los procedimientos para identificar *S.aureus* fueron realizadas con pruebas estándar comparándolas con la cepa control de *S.aureus* meticilino resistente ATCC 43300 cumpliendo el control de calidad en todos los ensayos del estudio; criterios que se cumplieron de igual manera en esta investigación. (Córdova, Cavero, Huranga, & Pachas, 2011)(Alvarez & Alao, 2010) (Zhumi, Torres, & Vivar, 2013) (CLSI, 2014) (Horna, Astocondor, Jacobs, & García, 2015).

Según la investigación realizada por Dora Morales en Venezuela (2014) la distribución de *S. aureus* fue mayor en el sexo femenino con un 60,8% sobre el masculino con 39,2%, en relación con este estudio, no tiene diferencia estadística entre la prevalencia obtenida y el género de la población estudiada, obteniendo un resultado de 42,59% en el género femenino. (Morales, 2014).

La distribución de *S. aureus* según función en esta investigación se presenta con mayor frecuencia en las profesionales de auxiliares de enfermería con un 42%, seguida de las enfermeras con un 35%, situación contrastada con el estudio de Marlene Álvarez y Mónica Alao en el que señala que el 50% de portadores fue el personal médico seguida de los paramédicos con un 32,45%; sin embargo estos profesionales de la salud tienen contacto directo y continuo con los pacientes; varios estudios han demostrado que la presencia y más

aún el ser portador nasal de *S. aureus* juega un papel importante en la epidemiología pudiendo causar infecciones graves que pueden afectar a los pacientes hospitalizados como es el caso de esta investigación en estas dos área críticas como lo es neonatología y quemados.

En el estudio no se llevó a cabo la confirmación de SARM mediante la prueba multiplex PCR, debido a que no se aisló ninguna cepa de *S. aureus* meticilino resistente por lo que no fue necesario su confirmación; caso contrario en un estudio realizado por Carpinelli Acevedo, Guillén Fretes, Fariña , Basualdo, Aquino R; se llevó a cabo la detección del gen *mecA* en *S. aureus;* en donde indica que los productos de amplificación de la PCR múltiple presentó tamaño esperado de 533pb para el gen *mecA;* en donde indica que la presencia del gen mecA tuvo 100% de concordancia con los métodos fenotípicos. Esta técnica es una herramienta útil en la confirmación de cepas de Estafilococos meticilino resistentes e identificación de los genes *mecA* y nuc, además de ser relativamente sencilla con la ventaja de detectar dos genes en una sola reacción. (Carpinelli, Guillén , Fariña , Basualdo, & Aquino, 2012).

8. CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas en la presente investigación son las siguientes:

1. Recuperación de *Staphylococcus aureus* de las fosas nasales del personal de salud del área de neonatología lo son un 59,38%, en el área de quemados un 31,82%.

2. Durante la determinación de la sensibilidad a la meticilina de las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus*, se comprobó que el personal de salud de las áreas de neonatología y quemados no son portadores de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.

3. La presencia de *Staphylococcus aureus* tiene una mayor distribución de (42,59%) en muestras del sexo femenino y un (5,55%) en el sexo masculino; la distribución de la bacteria según el trabajo desempeñado se presentó con mayor frecuencia en el personal femenino con un 42%.

4. La confirmación de la presencia de SARM y su genotipo mediante la prueba de multiplex PCR, no se cumplió ya que no hubieron cepas productoras de meticilino resistencia.

9. RECOMENDACIONES

1. Es necesario que el personal de salud siga adoptando y aplicando las medidas profilácticas e higiénicas para prevenir infecciones nosocomiales en los pacientes de las áreas de neonatología y quemados.

2. Es preciso continuar con la realización de este tipo de estudios lo cual ayuda al monitoreo, seguimiento y vigilancia de la presencia de algún agente patógeno como fuente de infección; de esta manera se contará con datos estadísticos actualizados y así se podría contribuir con información eficaz y veraz para que se implanten las medidas de prevención y control de infecciones nosocomiales.

10. BIBLIOGRAFÍA

Aguadero, V. (2014). *Tipificacion Molecular y estudio de clonalidad de staphylococcus aureus resistente a meticilina, productores de infecciones intrahospitalarias y extrahospitalarias en Extremadura* . Obtenido de http://dehesa.unex.es:8080/xmlui/bitstream/handle/10662/1165/TDUEX_2014_Aguadero_Acera.pdf?sequence=1

Alvarez, M. (2010). Prevalencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus en el personal del Hospital Vicente Corral Moscoso y Hospital Militar. *Facultad de Ciencias Médicas Universidad de Cuenca*, 8.

Alvarez, M., & Alao, M. (2010). Prevalencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus en el personal del Hospital Vicente corral Moscoso y Hospital Militar. Patrón de sensibilidad antinicrobian. Cuenca. *Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de Cuenca*, 8. Obtenido de http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20620/1/Marlene%20Alvarez%20Serrano%20y%20M%C3%B3nica%20Alao%20M..pdf

American , A. (2009). *Atlas de Enfermedades Infecciosas en Pediatría.* Madrid - España: Médica Panamericana .

Arévalo , C., & Sarmiento, B. (Noviembre - Febrero de 2014 - 2015). *Prevalencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente en estudiantes de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca* . Obtenido de http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21632/1/TESIS.pdf

Avilés, M. (2008). *Descolonización de pacientes por patógenos resistentes*. Obtenido de http://www.himfg.edu.mx/descargas/documentos/epidemiologia/IN2013/Mar23abril13/Descolinizacion%20de%20pacientes%20por%20patogenos%20resistentes.pdf

Biotecgen. (2011). *Análisis Molecular y Laboratorio Clínico*. Obtenido de http://web.umb.edu.co/sites/biotecgen/tres.html

Britania, L. (2010). *Laboratorios Britania. Agar Sangre*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/359_hoja_tecnica_es.pdf

Britania, L. (2010). *Laboratorios Britania. Manitol Salado Agar*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/309_hoja_tecnica_es.pdf

Britania, L. (2010). *Laboratorios Britania. Mueller Hinton Agar*. Obtenido de http://www.britanialab.com/productos/335_hoja_tecnica_es.pdf

Cáceres , M. (2011). *Frecuencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus resistente a meticilina en personal de salu de hospitales de Nicaragua* . Obtenido de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:FoKH0lTg6RAJ:www.paho.org/journal/index.php%3Fgid%3D359%26option%3Dcom_docman%26task%3Ddoc_download+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec

Camarena , J., & Sanchéz, R. (s.f.). *Infección por Staphylococcus aureus resistente a la meticilina* . Obtenido de Control Calidad SEIMC: https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf

Carmona, E., Sandoval, S., & García, C. (2012). *Scielo.* Obtenido de Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342012000200006

Carmona, E., Sandoval, S., & García, C. (2012). *Scielo. Revista Peruan de Medicina Experimental y Salud Pública.* Obtenido de http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342012000200006

Castellano , M., & Perozo, A. (Junio de 2010). *Mecanismos de resistencia a antibióticos β-lactámicos en Staphylococcus aureus.* Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0075-52222010000100003&script=sci_arttext#fig6

Chavéz, M., Mancilla, L., & Lucumi, A. (2012). Caracterización de Staphylococcus aureus aislados del personal de salud en un hospital de mediana complejidad de la ciudad de Cali en el año 2012. *Revista Medicina*, 14. Obtenido de http://revistamedicina.net/ojsanm/index.php/Revistamedicina/article/view/20/116

Chiriboga , D., Abarca, X., Franco, F., Solórzano, X., Laspina, C., & Martín, J. (30 de Noviembre de 2010). *Reglamento "Manejo de los desechos infecciosos para la red de servicios de salud en el Ecuador".* Obtenido de http://simce.ambiente.gob.ec/sites/default/files/documentos/Jackson/Control%20y%20mejoramiento%20de%20la%20salud%20p%C3%BAblica%20-%20Salud%20Ambiental.pdf

CLSI, I. (2014). *Microbilogy Standars.*

Córdova , R., Cavero, P., Huaranga , J., & Pachas, C. (Noviembre de 2011). *Portadores asintomáticos de staphylococcus aureus en trabajadores del Hospital Regional de Ica. Perú 2011.* Recuperado el 28 de Noviembre de 2014, de Portadores asintomáticos de staphylococcus aureus en trabajadores del Hospital Regional de Ica. Perú 2011.: http://rev.med.panacea.unica.edu.pe/index.php/med/article/view/16/19

Córdova , R., Cavero, P., Huarange, J., & Pachas, C. (2011). PORTADORES ASINTOMÁTICOS DE Staphylococcus aureus EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL REGIONAL DE ICA, PERÚ 2011. *Revista Médica Paracea*, 8.

Córdova, R., Cavero, P., Huranga, J., & Pachas, C. (2011). *Portadores asintomáticos de Staphylococcus aureus en trabajadores del Hospital Regional de Ica,Perú* . Recuperado el Lunes de Julio de 2015, de http://www.unica.edu.pe/rev.med.panacea/index.php/med/article/viewFile/16/19

Cuba, B. (s.f.). *BVS Cuba. Libros de Autores Cubanos.* Obtenido de http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0preclini--00-0----0-10-0-

--0---0direct-10---4-------0-1l--11-mi-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0gbk-00&a=d&c=preclini&cl=CL1&d=HASH01ebc63ab80c0bbb5a182dab.16.8

Escobar, J., Castro , B., Márquez, R., Gaines , S., Chavarro, B., Moreno, J., . . . Vanegas , N. (2014). Asilamiento de Staphylococcus aureus. . *Biomédica*, 13.

Espinoza, C., Romero, M., Rincón, G., Jácome, M., & Arámbula, A. (2011). Pon Hospital de Santanderrtadores nasales de Staphylococcus aureus en personal de labora en. *Scielo*, 7. Obtenido de http://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/v29n2/a06v29n2.pdf

Fernández, Y. (2011-2012). *La vigilancia activa del Staphylococcus aureus meticilin resistente en el Hospital Universitario de Canarias: su impacto clínico y epidemiológico.* Canarias.

Forbez , B., Sahm, D., & Weissfeld, a. (2009). *Diagnóstico Microbiológico* . Buenos Aires: Médica Panamericana.

Fosch, S., Yones, C., Troserro , M., Grosso, O., & Nepote, A. (2012). Portación nasal de Staphylococcus maureus en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. *Scielo*, 9.

Greenwich, H. (2010). Staphylococcus Aureus resistente a la meticilina (SARM). *Yale New Haven Health*, 3.

Guzmán Mejía. (2009). Epidemiology of Meticilllin - resistant Staphylococcus aureus (MRSA in Latin America). *International Journal of Antimicrobial Agent*.

Guzmán, & Mejía. (2009). Epidemiology of meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in latin America. *International Journal OF antimicrobial Agents*. Recuperado el 28 de Noviembre de 2014

Health, t. C. (Enero de 2011). *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina*.Obtenido de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/mrsa.pdf

Herrero, D., González, J., & Aliaga, V. (Dicembre de 2011-2012). *Proyecto de Investigación.* Obtenido de http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/28903/1/coneix_professionals.pdf

Horna, G., Astocondor, L., Jacobs, J., & García, C. (2 de Enero de 2015). *Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de Staphylococcus aureus resistente a meticilina*. Obtenido de http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/2/horna.pdf

Jawetz, Melnick, & Adelbe. (2011). *Microbiología Médica.* México: Mc Graw Hill.

Koneman , E. (2008). *Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas a color.* Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Koneman, E. (2008). *Diagnóstico Microbiológico.* Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Laboratorio, I. d. (2014). *Microbiology Standards.*

Leal , A., Schmalbach, J., & Alvarez, C. (28 de Mayo de 2006). *Canales endémicos y marcadores de resistencia bacteriana, en instituciones de tercer nivel de Bogotá, ColombiaCanales endémicos y marcadores de resistencia bacteriana, en instituciones de tercer nivel de Bogotá, ColombiaCanales endémicos y marcadores de r*. Recuperado el 2014 de Noviembre de 2014, de Canales endémicos y marcadores de resistencia bacteriana, en instituciones de tercer nivel de Bogotá, Colombia: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0124-00642006000400006&script=sci_arttext

Lozano, D., Díaz, L., Echeverry, M., Pineda , S., & Máttar, S. (2010). Staphylococcus aureus resistentes a meticilina (SARM) positivos para PVL aislados en individuos sanos de Montería-Córdoba. *Redalyc*, 8. Recuperado el Diciembre de 2014, de http://www.oalib.com/paper/2387204#.VLx7eUeG-Sk

Malbrán , C. (2013). *Servicio Antimicrobiano - CLSI*. Obtenido de http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/02/NOVEDADES-CLSI-2013.pdf

Manual de Laboratorio. (s.f.). *Prácticas de Seguridad Estándar en el Laboratorio de Microbiología* . Obtenido de Medios, Reactivos y Control de Calidad: http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_apendices_spa.pdf

Morales, D. (Mayo de 2014). *Portación nasal de staphylococcus aureus en estudiantes de medicina de la universidad de Zulia.* Recuperado el 18 de Mayo de 2015, de http://tesis.luz.edu.ve/tb_acen_inv/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1224

Morales, D. (Mayo de 2014). *Portación nasal deStaphylococcus aureus en estudiantes de medicina de la Universidad del Zulia.* Obtenido de http://tesis.luz.edu.ve/tb_acen_inv/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1224

MSP, M. (2013). *MSP*. Obtenido de https://public.tableausoftware.com/profile/javier.gaona#!/vizhome/PRODUCCION_HOSPITALARIA_2011_AL_2013/INTER_QUIRRGICAS

MSP, M., Váscones , N., & Molina, S. (2011). *Manual de Normas de Bioseguridad Para la Red de Servicios de Salud en el Ecuador.* Ecuador.

Norma, F., Carpinelli, L., Samudio, M., Guillén, R., Laspina, F., Sanabria, R., . . . M, H. (19 de Julio de 2013). *Staphylococcus coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia.* Obtenido de http://www.scielo.cl/pdf/rci/v30n5/art03.pdf

OMG, O. (2010). *SlidePlayer*. Obtenido de http://slideplayer.es/slide/1554685/

Organización Mundial de la Salud. (Mayo de 2013). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs19/es/

Ortiz, M. (31 de Julio de 2013). *Slideshare.* Obtenido de http://es.slideshare.net/Maria_Clodynel/muestras-24785070

Ossa, G., & Boehme, C. (2015). Infecciones Estafilocócicas. *Unidad de Infectología*, 1-17. Recuperado el 16 de Mayo de 2015, de http://www.med.ufro.cl/clases_apuntes/medicina-interna/infectologia/docs/infecciones-estafilococicas.pdf

Pacheco , J. (2011). *PROYECTO DE ACTUALIZACIÓN DE CONOCIMIENTOS DEL HOSPITAL GENRAL ISIDRO AYORA.* Loja.

Proaño, D., & Pazmiño, F. (2010). Prevalencia de portadores nasales asintomáticos de Staphylococcus aureus meticilino-resistente y su relación con factores de riesgo y protectores en el personal de salud del Hospital General de las Fuerzas Armadas . *www.medigrphic.org.com*, 9. Obtenido de http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2010/pt104g.pdf

Rhode, Y. (veintidos de Enero de 2014). *Slideshare. Salud y Medicina*. Obtenido de http://es.slideshare.net/rhode22/microflora-normal-del-cuerpo-humano

Richmond , J., & Mckinney, R. (2011). *Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina.* Atlanta: CDC.

Rocha, R., Lozano, P., & Martínez, Y. (2007). *Mecanismos de Patogenicidad e Interacción parásito - hospedero.* México: Universidad Autónoma de Puebla.

Ryan, K., & Ray, G. (2011). *Sherris Microbiología Médica.* México: Mc Graw Hill.

S.A, A. (2012). Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SAMR). *Adox*, 1.

Salud, L. O. (2012). *Código de Salud*. Obtenido de http://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/04/LEY-ORGANICA-DE-SALUD1.pdf

Schnurman, K. (2014). El estafilococo aureus y sus características bioquímicas. *eHow*, 1.

Seija, V. (2008). *Etipatogenia Microbiológica. Género Staphylococcus.* Recuperado el 16 de Mayo de 2015, de http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf

Spicer, W. J. (2009). *Microbiología clínica y enfermedades infecciosas.* España: S.A. Elseiver España.

Streitenberger, L. (2009). *SickKids.* Recuperado el Noviembre de 2014, de http://www.aboutkidshealth.ca/En/HealthAZ/Multilingual/ES/Pages/Methicillin-Resistant-Staphylococcus-aureus-MRSA.aspx

Torres, M. (Julio de 2009). *Slideshare*. Obtenido de Salud y Medicina: http://es.slideshare.net/grupofarmacoudea/flora-normal?next_slideshow=1

Van de Griend, P. (Octubre de 2009). *Community-associated Methicilin Resisitant Staphylococcus aureus*. Obtenido de Community-associated Methicilin Resisitant Staphylococcus aureus: http//www.cdc.gov/eid

Velasco, J., Araque, M., Araujo , E., Longa, A., Nieves, B., Ramírez, A., . . . Velazco, E. (2011). *Manual Práctico de Bacteriología Clínica.* Obtenido de http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf

Veracruzana, P. d. (Junio de 2011). *Personales bonilla*. Obtenido de www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/Staphylococcus-aureus.pdf

Wikisspace. (2013). *Procedimientos Microbiólogicos*. Obtenido de http://procedimientosmicrobiologicos.wikispaces.com/EXUDADO+FAR%C3%8DNGEO

Yaguana Romero , L. M. (Agosto de 2012). *Detección de Bacterias Causantes de Infección en Pacientes de la Unidad de Quemados, del Hospital Isidro Ayora.* Recuperado el Octubre de 2014, de http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/6432/1/Yaguana%20Romero%20Lida%20Mar%C3%ADa.pdf

Zhumi, R., Torres, D., & Vivar, J. (2013). *Frecuencia de Staphylococcus aureus metilicin resistente en la flora nasofaríngea del personal médico del Hospital Vicente Corral Moscoso.* Obtenido de http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20274/1/TESIS.pdf

11. ANEXOS

ANEXO N. 1
OFICIO DE AUTORIZACIÓN Y DESARROLLO DEL PROYECTO DE TESIS

Ministerio de Salud Pública

HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
GERENCIA

Of. Nº 0180-02-2015-SDG-HIAL
Loja, 03 de Febrero de 2015.

Señorita
Eulalia Betzabé Cuenca Riascos
Estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico
Ciudad.-

De mi consideración:

Me permito informar que autorizo el permiso correspondiente para trabajar con el personal de salud de las Áreas de Neonatología y Quemados de esta Casa de Salud, a través de la toma de muestras para determinar la presencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente.

Con sentimientos de consideración y estima.

Atentamente,

Ing. Byron Guerrero Jaramillo
GERENTE DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA
BG/jr

ACCIÓN	APELLIDOS Y NOMBRES	CÉDULA DE CIUDADANÍA	FECHA	HORA	FIRMA
RECIBIDO POR:	Eulalia Betzabe Cuenca Riascos	1104966294	03-02/15	17:00	

Av. Manuel Agustín Aguirre y Juan José Samaniego
Teléfono: 2570540
isidro.ayora@hial.gob.ec

ANEXO N. 2

UTILIZACIÓN DEL CDM (CENTRO DE DIAGNÓSTICO MÉDICO) PARA EL ANÁLISIS DE MUESTRAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
DIRECCIÓN

Oficio Nro. 20150187-D-ASH-UNL
Loja, 13 de febrero de 2015

Señorita
Eulalia Cuenca Riascos
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNL
Ciudad.-

De mi consideración:

En atención a la solicitud Nro. 20150080, con trámite Nro. 003568 de fecha 30 de enero de 2015, visto en esta Dirección el 03 de febrero de 2015, y luego del informe presentado por Lic. Carmen Ullauri, le informo que el Laboratorio Clínico cuenta con las instalaciones y equipos necesarios para la ejecución de su trabajo de investigación; sin embargo no cuenta con los discos de cefoxitina y agar sangre idóneo, mismos que deberían ser adquiridos por usted, tomado en cuenta que la ejecución de la parte analítica del trabajo de tesis no forma parte de la colegiatura.

Particular que pongo en su conocimiento para los fines consiguientes.

Muy atentamente,

EN LOS TESOROS DE LA SABIDURÍA,
ESTÁ LA GLORIFICACIÓN DE LA VIDA.

Lic. Rosa A. Rojas Flores, Mg. Sg.
DIRECTORA (E)

cc. Archivo
RARF/pss

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
DEPARTAMENTO DE ARCHIVO
AREA DE LA SALUD HUMANA
RECIBIDO POR: .....
FECHA: 18-02-2015
HORA: 10h10

Recibido
18-02-2015
11h05

Dirección Manuel Y. Monteros V.
TELEFAX: (593)(7) 2571379
Loja-Ecuador

ANEXO N. 3

REGISTRO DE DATOS DE PROFESIONALES DE SALUD QUE TRABAJA EN LAS ÁREA DE NEONATOLOGÍA Y QUEMADOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA 2015

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
CONTROL CEPA ATCC 43300							Staphylococcus aureus	21mm		x		Cocos gram positivos	x		x	
1		x	53		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
2		x	53		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
3		x	48		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
4		x	56	x		No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
5		x	67		x	No	Staphylococcus aureus		29 mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
6		x	45		x	No	Sin crecimiento bacteriano									
7		x	59		x	No	Staphylococcus aureus		28mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
8		x	40		x	No	Sin crecimiento bacteriano									

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A- ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
9		x	54		x	No	Sin crecimiento bacteriano									
10		x	46		x	No	Sin crecimiento bacteriano									
11		x	59		x	No	Sin crecimiento bacteriano									
12		x	62		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
13		x	28	x		No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
14		x	58		x	No	Staphylococcus aureus		29mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
15		x	24		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
	CONTROL CEPA ATCC 43300						Staphylococcus aureus	21mm		x		Cocos gram positivos	x		x	
16		x	55		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A- ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
17		x	28		x	No	Staphylococcus aureus		29mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
18		x	29		x	No	Staphylococcus aureus		29mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
19		x	35		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
20		x	40		x	No	Staphylococcus aureus		25mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
21		x	25		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
22		x	27		x	No	Staphylococcus aureus		31mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
23	x		30		x	No	Sin crecimiento bacteriano									
24	x		28		x	No	Staphylococcus aureus		30mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
25	x		32		x	No	Sin crecimiento bacteriano									

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A- ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
26	x		30		x	No	Staphylococcus aureus		27mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
27	x		25	x		No	Staphylococcus aureus		31mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
28	x		35		x	No	Staphylococcus aureus		28mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
29	x		25		x	No	Staphylococcus aureus		29 mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
30	x		57		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
CONTROL CEPA ATCC 43300							Staphylococcus aureus	21mm		x		Cocos gram positivos	x		x	
31	x		43		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
32	x		31		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A- ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
33	x		33		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
34	x		25	x		No	Staphylococcus aureus		33mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
35	x		28		x	No	Staphylococcus aureus		32mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
36	x		25	x		No	Staphylococcus aureus		30mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
37	x		33		x	No	Staphylococcus aureus		30 mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
38	x		30		x	No	Staphylococcus aureus		33mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
39	x		29		x	No	Staphylococcus aureus		30mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
40	x		32		x	No	Staphylococcus aureus		40mm	x		Cocos gram positivos	x		x	

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A- ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
41	x		31		x	No	Staphylococcus aureus		30mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
42	x		30		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
43	x		29		x	No	Staphylococcus aureus		28mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
44	x		25		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
45	x		30		x	No	Staphylococcus aureus		36 mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
CONTROL CEPA ATCC 43300							Staphylococcus aureus	21mm		x		Cocos gram positivos	x		x	
46	x		35		x	No	Staphylococcus aureus		27mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
47	x		23		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
48	x		31		x	No	Staphylococcus aureus		28mm	x		Cocos gram positivos	x		x	

Nro. De Muestra	ÁREA DE TRABAJO		EDAD	SEXO		TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO (Hace 7 días)	GERMEN AISLADO	CEFOXITINA 30 ug		PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN						
	Neon.	Quem.		Masc.	Feme.			Mec A+ ≤ 21mm	Mec A- ≥ 22mm	Catalasa		Gram	Coagulasa		Fermentación Manitol Sal	
										+	-		+	-	+	-
49	x		32		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
50	x		32		x	No	Staphylococcus aureus		30mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
51	x		39		x	No	Staphylococcus aureus		32mm	x		Cocos gram positivos	x		x	
52	x		37		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
53	x		27		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x
54	x		30		x	No	Staphylococcus coagulasa negativo			x		Cocos gram positivos		x		x

ANEXO N. 4

CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha:……...de 2015

Declaro que he sido informado de los aspectos concernientes al estudio **"Staphylococcus *aureus* meticilino resistente en el personal de salud de las Áreas de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja"** en el cual deseo participar voluntariamente como sujeto:

1. Me será realizada una toma de muestra de la parte anterior de la fosa nasal, la misma que será tomada de acuerdo a lo observado en los protocolos estandarizados y medidas de bioseguridad, por lo que no representara ningún riesgo para mi integridad física.
2. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.
3. Mi participación en este proyecto es de carácter voluntario, y en caso de no participar en él, esta decisión no afectará ni en mi situación laboral

Declaro que estoy de acuerdo con lo anterior y que participo voluntariamente y no he sido sometido a ninguna intervención con coacción en esta decisión. En constancia firmo a continuación.

……

Firma

ENCUESTA AL PERSONAL DE NEONATOLOGÍA Y QUEMADOS DEL HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA

Yo, Eulalia Cuenca Riascos estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, solicito a usted muy comedidamente se digne contestar las siguientes preguntas, con la finalidad de obtener datos referente al trabajo de investigación de **"Staphylococcus *aureus* meticilino resistente en el personal de salud de las Áreas de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora de la Ciudad de Loja 2015".**

Desde ya anticipo mis más sinceros agradecimientos.

DATOS INFORMATIVOS:

Sexo

a. Masculino ( )
b. Femenino ( )

Edad: ……

DATOS LABORALES:

Cargo: ……
Área en la que labora: …….
Horas diarias que labora en el Hospital: ……
Años laborando en el Hospital: ……...

1. **¿Ha recibido usted tratamiento con antibióticos?**

   Si ( ) No ( )

   Cuáles:……..

   Hace que tiempo:……

2. **¿Aplica usted las medidas de bioseguridad antes, durante y después del contacto con el paciente?**

   Si ( ) No ( )

   Cuáles:

……....……
……..

ANEXO N. 5

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD OBLIGATORIAS

Las prácticas de seguridad y las técnicas de laboratorio tienen que complementarse con un diseño de instalación, equipos de seguridad y prácticas de manejo adecuadas. (Richmond & Mckinney, 2011)

- ✓ Se debe usar en todo momento el traje protector; traje interno, mandil y mascarilla para la toma de muestra y para el trabajo en el laboratorio. (Richmond & Mckinney, 2011).

- ✓ Es indispensable el uso de guantes de manejo para los procedimientos. Terminada la utilización de los mismos se retiraran de forma aséptica y se los eliminará en el recipiente de desechos infecciosos, no se reutilizan (MSP, Váscones , & Molina, 2011).

- ✓ En el área de neonatología se usa toda la vestimenta quirúrgica desechable; usando bata, gorro, mascarilla desechable y sin portar ningún tipo de bisutería.

- ✓ Debe lavarse las manos antes y después de manipular el espécimen biológico, así como también antes de abandonar la zona de trabajo del laboratorio. (MSP, Váscones , & Molina, 2011).

- ✓ Utilizar la cámara de bioseguridad para proporcionar contención de salpicaduras generadas por los diferentes procedimientos microbiológicos. (Richmond & Mckinney, 2011).

- ✓ La eliminación adecuada de residuos para evitar posteriores contaminaciones. (Richmond & Mckinney, 2011). Se realiza: comunes o generales son depositados en recipiente plástico rígido, resistente y con paredes uniformes con tapa de color negro el mismo que contenga una funda plástica color negro; infecciosos son colocados en recipientes de plástico, resistente de color rojo con fundas plásticas rojas, los recipientes para los desechos especiales fue un cartón doble y resistente, para los desechos corto punzantes deben ser de plástico rígido, resistente a prueba de perforaciones y opaco (guardián) no sobrepasar el límite hasta las ¾ partes de su

capacidad. Para que los desechos vayan a su almacenamiento final las fundas o recipientes deben estar rotuladas de acuerdo al tipo de desecho, nombre del servicio que los genera, peso, fecha y nombre del responsable del manejo de los desechos, en los recipientes para corto punzantes deben estar bien sellados con cinta alrededor de la tapa para garantizar hermeticidad. (Chiriboga , y otros, 2010).

Los residuos de agares y cultivos microbiológicos fueron sometidos a un método de tratamiento que fue esterilizar (autoclave) que consiste en la inactivación de la contaminación bacteriana se realiza a temperatura de 121°C y presión de 1,2 a 1,2 atmósferas; posteriormente se descartó el contenido líquido en un recipiente grande, resistente boca ancha para su posterior eliminación, las cajas vacías se colocó en una funda roja con su respectiva rotulación. (Chiriboga , y otros, 2010).

ANEXO N. 6

TOMA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Toma y recolección de la muestra

La toma de la muestra se realizó al personal de Salud de Neonatología y Quemados de acuerdo al cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

Área de Quemados:

- ✓ La recolección de la muestra se la realizó en la sala de recepción del área de quemados; tomando en cuenta medidas de bioseguridad antes mencionadas.
- ✓ El hisopado nasal se lo realizó utilizando material estéril.
- ✓ Se pidió al paciente que incline la cabeza y se colocó el hisopo en la fosa nasal introduciéndolo hasta los cornetes nasales manteniéndolo inmóvil por cinco segundos, se retiró el hisopo y se realizó la siembra en el agar sangre. Se usó lámpara de alcohol en el lugar de toma de muestra. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)(OMG, 2010).
- ✓ Se repite el procedimiento en la otra fosa nasal utilizando nuevo material estéril. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

Área de Neonatología:

- ✓ Se realizó la toma en la sala de vestuario del personal de dicha área; en donde utilicé equipo de protección acorde al área; usé bata para prevenir cualquier contaminación a la vestimenta del personal ya que son quienes prestan atención al recién nacido, como también usé botas quirúrgicas, guantes, mascarilla, sin portar bisutería; teniendo la precaución de no ingresar a la sala de incubación para evitar cualquier contagio accidental a los neonatos.
- ✓ El hisopado nasal se lo realizó utilizando material estéril.
- ✓ Se pidió al paciente que incline la cabeza y se colocó el hisopo en la fosa nasal introduciéndolo hasta los cornetes nasales manteniéndolo inmóvil por cinco segundos, se retiró el hisopo y se realizó la siembra en el agar sangre. Se usó lámpara de alcohol en el lugar de toma de muestra. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)(OMG, 2010).

- ✓ Se repite el procedimiento en la otra fosa nasal utilizando nuevo material estéril. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008).

Transporte de la muestra

Las cajas conteniendo la muestra de exudado nasal del personal de salud de las Áreas de Neonatología y Quemados del Hospital General Isidro Ayora se las colocó boca abajo previamente rotulada en una caja térmica (temperatura ambiente), posteriormente se las transportó en un lapso no mayor a 1 hora al Centro de Diagnóstico Médico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja en donde fueron incubadas para su posterior y respectivo análisis. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

ANEXO N. 7

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO AGAR SANGRE

Uso:

Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de numerosos microorganismos. Al ser suplementado con sangre ovina, permite el crecimiento de microorganismos nutricionalmente exigentes y la clara visualización de reacciones de hemólisis. (Britania L. , 2010)

Fundamento:

La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante. El agregado de 5-10 % sangre ovina desfibrinada estéril promueve el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la adecuada observación de las reacciones de hemólisis. (Britania L. , 2010)

Fórmula: (en gramos por litro)

Infusión de músculo de corazón: 375.0

Peptona: 10.0

Cloruro de sodio: 5.0

Agar: 15.0

pH final: 7.3$\pm$ 0.2 (Britania L. , 2010)

Instrucciones:

Suspender el polvo en agua purificada. Dejar reposar 5 minutos y mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Calentar con agitación frecuente y hervir 1 minuto para disolución total. Esterilizar a 121 ºC durante 20 minutos. (Britania L. , 2010)

Preparación de Agar Sangre:

Agregar 5 – 10 % de sangre ovina desfibrinada estéril al medio esterilizado, se utilizó BBL Hemoglobina fundido y enfriado a 45-50 ºC. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles. (Britania L. , 2010).

Control de Calidad

Se utilizó la cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, para verificar el crecimiento de la bacteria controlando el medio preparado. (Manual de Laboratorio)

Control de Esterilización

Una vez solidificado el medio colocar las cajas en la incubadora por 48 horas a temperatura 35^0C; luego verificar que no haya crecimiento (contaminación) en el lote.

Almacenamiento

Se selló las cajas, se las etiquetó con la fecha de preparación y finalmente se envolvieron en papel aluminio para refrigerar a 6.9°C. (Britania L. , 2010)

Este procedimiento se realizó tres días antes de la toma de muestras usando así medios de cultivo frescos para asegurar la calidad del procesamiento de la muestra.

PREPARACIÓN DEL
MEDIO DE CULTIVO MANITOL SAL

Uso:

Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos a partir de diversas muestras. (Britania L. , 2010)

Fundamento:

Se trata de un medio altamente selectivo por la alta concentración salina y diferencial debido a la capacidad de fermentación del manitol por los microorganismos. Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. Los estafilococos coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color. (Britania L. , 2010)

Fórmula: (en gramos por litro)

Extracto de carne: 1.0
Peptona de carne: 5.0
Tripteína: 5.0
Manitol: 10.0
Cloruro de sodio: 75.0
Rojo de fenol: 0.025
Agar: 15.0
pH final: 7.4$\pm$ 0.2

Instrucciones:

Suspender 111 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos y calentar con agitación frecuente, llevando a ebullición durante 1 o 2 minutos para disolución total.

Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 118-121°C durante 15 minutos. (Britania L. , 2010)

Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

Control de Calidad

Se utilizó la cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, para verificar el crecimiento de la bacteria controlando el medio preparado. (Manual de Laboratorio)

Control de Esterilización

Una vez solidificado el medio colocar las cajas en la incubadora por 48 horas a temperatura 35^0C; luego verificar que no haya crecimiento (contaminación) en el lote.

Almacenamiento

Se selló las cajas, se las etiquetó con la fecha de preparación y finalmente se envolvieron en papel aluminio para refrigerar a 6.9°C. (Britania L. , 2010).

Este procedimiento se realizó dos tres días antes de la toma de muestras usando así medios de cultivo frescos para asegurar la calidad del procesamiento de la muestra.

PREPARACIÓN DEL
MEDIO DE CULTIVO AGAR MUELLER HINTON

Uso:

Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos. *(Britania L. , Laboratorios Britania. Mueller Hinton Agar, 2010*)

Fundamento:

Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido depositando en la superficie del medio adecuado y previamente inoculado con la bacteria, discos de papel filtro que contiene el antibiótico que al ponerse en contacto con el medio se difunde. Presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad garantizado con el agar M6.

En un lapso de 24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por un halo de inhibición. *(*Britania L. , Laboratorios Britania. Mueller Hinton Agar, 2010*)*

Fórmula: (en gramos por litro)

Infusión de carne: 300.0

Peptona ácida de caseína: 17.5

Almidón: 1.5

Agar: 15.0

pH final: 7.3$\pm$ 0.1 para una mejor actividad del antibiótico evitando falsas resistencias y sensibilidades. (Britania L. , Laboratorios Britania. Mueller Hinton Agar, 2010)

Instrucciones:

Suspender el polvo en agua purificada. Dejar embeber de 10 a 15 minutos. Calentar con agitación frecuente para permitir la solubilización de los componentes.

Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°-50°C y distribuir en placas de Petri estériles, el grosor del medio debe ser de 4mm que es aproximadamente 23 ml en cada caja; puesto que si el medio es pequeño la difusión de los antibióticos será mayor y si es grueso será menor. Verter sobre una superficie horizontal cámara de bioseguridad. *(*Britania *L. ,* Laboratorios *Britania. Mueller Hinton Agar, 2010)*.

Control de Calidad

Se utilizó la cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, para verificar el crecimiento de la bacteria controlando el medio preparado. (Manual de Laboratorio).

Control de Esterilización

Una vez solidificado el medio colocar las cajas en la incubadora por 48 horas a temperatura 35^0C; luego verificar que no haya crecimiento (contaminación) en el lote.

Almacenamiento

Se selló las cajas, se las etiquetó con la fecha de preparación y finalmente se envolvieron en papel aluminio para refrigerar a 6.9°C. (Britania L. , Laboratorios Britania. Mueller Hinton Agar, 2010).

Este procedimiento se realizó dos tres días antes de la toma de muestras usando así medios de cultivo frescos para asegurar la calidad del procesamiento de la muestra.

ANEXO N. 8

SIEMBRA DE MUESTRA EN EL MEDIO DE CULTIVO AGAR SANGRE

- ✓ La siembra se realizó en cada Área de Quemados y Neonatología.
- ✓ Tomada la muestra, se tomó el hisopo que contiene la muestra y se colocó en un punto cerca de la periferia de la placa de siembra a lo que se denomina inoculación primaria.
- ✓ Una vez realizado el inóculo primario, se estría con el hisopo para esparcir el material dentro del cuadrante de la placa, realizando líneas horizontales, con un movimiento hacia atrás y hacia adelante dentro del cuadrante. El propósito del proceso es diluir suficientemente el inóculo sobre la superficie del medio con agar sangre de manera de obtener colonias de bacterias bien aisladas, conocidas como unidades formadoras de colonias (UFC). (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)
- ✓ Se transportó las cajas Petri en forma invertida en una caja térmica, se incubó a 35ºC, durante 48 horas revisándolas desde las primeras 24 horas para determinar el crecimiento.

ANEXO N. 9

PRUEBA BIOQUÍMICA: CATALASA

Principio

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. Químicamente, es una hemoproteína de estructura similar a la hemoglobina. Excepto los estreptococos, la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas tienen actividad catalasa. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

El peróxido de hidrogeno se forma como uno de los productos finales de oxidación del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule, resulta letal para las células bacterianas. La catalasa convierte el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

Reactivos

- ✓ Peróxido de hidrogeno al 3% almacenado en frascos color caramelo, en frio.
- ✓ Un cultivo de 18 a 24 horas del microorganismo por probar.

Control de calidad

El reactivo peróxido de hidrogeno se debe probar con microorganismos control negativos y positivos, todos los días o inmediatamente antes de probar bacterias desconocidas.

Control positivo: *Staphylococcus aureus.*ATCC 43300

Procedimiento

Con un palillo de madera, transferir parte del centro de una colonia a la superficie de un portaobjetos de vidrio.

Agregar una gota de peróxido de hidrogeno al 3% y observar la formación de burbujas.

Resultados

- ✓ **Interpretación**

La aparición rápida y sostenida de burbujas o de efervescencia constituye una reacción positiva. Como algunas bacterias tienen enzimas distintas de la catalasa que pueden descomponer el peróxido de hidrogeno, la formación de unas pocas burbujas pequeñas

después de 20 a 30 segundos no se considera un resultado positivo. Además, los eritrocitos tienen catalasa, por lo cual debe tenerse cuidado de no tomarlos junto con el material de la colonia. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

ANEXO N. 10

FERMENTACIÓN MANITOL SAL.

La capacidad del *Staphylococcus aureus* para fermentar el manitol por lo cual es necesario el uso del medio manitol sal para la confirmación de la bacteria.

- ✓ Realizar un pase de la colonia de crecimiento del agar sangre al medio manitol sal.
- ✓ Se estría con el hisopo para esparcir el material dentro del cuadrante de la placa, teniendo en cuenta la siembra en estría (líneas horizontales), con un movimiento hacia atrás y hacia adelante dentro del cuadrante.) *(Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)*
- ✓ Incubar a 35^0C por 18 a 24 horas.

En **Manitol sal** la reacción es detectada por la presencia de colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color. , lo que indica la producción de ácido a partir del manitol. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008) (Britania L. , 2010).

ANEXO N. 11

TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram es fundamental para diferenciar las bacterias Gram positivas y Gram negativas, tiñendo así a las bacterias Gram positivas de color violeta y a las Gram negativas de color rosado o rojo.

- **Preparación del frotis**
  - Se tomará una colonia de un cultivo de 24 horas y se la extenderá en un porta objetos.
  - Se fija la muestra pasándola tres o cuatros veces a través de la llama de un mechero Bunsen de manera que el material no se lave durante la tinción y se tiñe. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)
- **Tinción**
  1. Colocar el frotis en un soporte para tinción y recubra la superficie con solución de violeta de genciana
  2. Luego de un minuto lave exhaustivamente con agua destilada o buffer.
  3. Cubra el frotis con lugol durante un minuto. Nuevamente lave con agua destilada.
  4. Colocar alcohol cetona por 10 segundos o hasta que la decoloración sea evidente. Enjuagar suavemente con agua destilada.
  5. Cubrir el frotis con safranina diluida 1:10 por 30 segundos.
  6. Enjuagar suavemente con agua destilada
  7. Colocar el frotis en posición vertical, para permitir que el exceso de agua drene y el frotis se seque.
  8. Posteriormente se observará al microscopio con el objetivo de 100x (de inmersión), utilizando aceite de inmersión. Las bacterias grampositivas se tiñen de azul oscuro. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

ANEXO N. 12

PRUEBA BIOQUÍMICA: COAGULASA

Principio

La coagulasa es una proteína de composición química desconocida, que tiene actividad similar a la protrombina capaz de convertir el fibrinógeno en fibrina. Como resultado se forma un coagulo visible. En el laboratorio, la prueba de la coagulasa se utiliza para identificar Staphylococcus aureus y diferenciarlo de la mayoría de las otras especies de estafilococos.

La coagulasa existe en dos formas: **libre y unida**; cada una tiene diferentes propiedades que requieren el uso de distintos procedimientos de ensayo.

Se describirá:

Coagulasa libre (prueba en tubo): la coagulasa libre es una sustancia similar a la trombina presente en filtrados de cultivos. Cuando en un tubo de ensayo se prepara una suspensión en plasma de microorganismos productores de coagulasa, se forma un coagulo visible como resultado de la reacción de la coagulasa con una sustancia del suero (factor de reacción con la coagulasa), para formar un complejo que a su vez reacciona con el fibrinógeno para producir el coagulo de fibrina. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

Medios y reactivos

Plasma con EDTA (en el comercio se obtiene en forma liofilizada). El plasma reconstituido debe refrigerarse

Control de calidad

La coagulabilidad del plasma puede comprobarse agregando una gota de cloruro de calcio al 5% a 0,5 ml del plasma reconstituido.

Debe formarse un coagulo en el término de 10 a 15 segundos. Una cepa conocida de *Staphylococcus aureus* y una de *S. epidermidis* pueden servir de control positivo y negativo, respectivamente.

Procedimiento

Prueba en tubo (coagulasa libre):

- ✓ Emulsionar una pequeña cantidad de la colonia del microorganismo en un tubo que contenga 0,5 mL de plasma para la prueba de la coagulasa.

- ✓ Incubar el tubo a 35 °C durante 4 horas y observar si se forma un coágulo inclinando suavemente el tubo. Si en ese momento no se observan coágulos, reincubar el tubo a temperatura ambiente y leer otra vez después de 18 horas.

Resultados

- ✓ **Interpretación**

Prueba en tubo: la prueba de la coagulasa en tubo se considera positiva si se detecta cualquier grado de formación de coágulos.

El tubo debe inclinarse con suavidad y no agitarse, ya que la agitación puede deshacer los coágulos parcialmente formados. Las fibrinolisinas producidas por los microorganismos también pueden disolver los coágulos poco después de su formación. Los tubos que son negativos después de 4 horas deben incubarse a temperatura ambiente durante la noche y leerse después de 18 horas. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008)

ANEXO N. 13

PRUEBA DE TAMIZAJE Y CONFIMACION DE SARM

TABLA 3E. SCREENING DE TEST PARA DETECCIÓN DE METICILINO RESISTENTE (RESISTENTE EN ESPECIES DE STAPHYLOCOCCUS)

TEST DE SCREEN	**OXACILINA RESISTENTE**	**mecA – MEDIANTE OXACILINA RESISTENTE USANDO CEFOXITINA**		
GRUPO DE ORGANISMO	*S. aureus*	*S. aureus y S. lugdunensis*	Coagulasa negativa para *Staphylococcus*	*S. aureus y S. lugdunensis*
MÉTODO DE PRUEBA	Dilusión de Agar	Difusión en disco		Caldo de microdilusión
MEDIO	Agar Mueller Hinton con 4% de Cloruro de Sodio	Agar Mueller Hinton		Caldo de Mueller Hinton
CONCENTRACIÓN ANTIMICROBIANA	6 ug/ml oxacilina	Disco de Cefoxitina de 30 ug		4 ug/ml cefocitina
INÓCULO	Suspender una colonia para obtener una turbidez de 0.5McFarland. Usando 1 microlitro, que es sumergido en el lugar de la suspensión de área de 10 – 15 mm de diámetro. Alternativamente se va usando una torunda sumergida en la suspensión y se expresa en un lugar similar al área o raya de todo un cuadrante.	Procedimiento estándar de difusión en disco.		Procedimiento estandarizado de caldo de microdilusión.
CONDICIONES DE INCUBACIÓN	33 a 35^{0}C a temperatura ambiente (Test de temperatura sobre una temperatura superior a 35^{0}C no se detecta SARM)	33 a 35^{0}C a temperatura ambiente (Test de temperatura sobre una temperatura superior a 35^{0}C no se detecta SARM)		33 a 35^{0}C a temperatura ambiente (Test de temperatura sobre una temperatura superior a 35^{0}C no se detecta SARM)
TIEMPO DE INCUBACIÓN	Leer en 24 horas con transmisión de luz.	16 – 18 horas	Puede ser reportado después de 18 horas si es resistente.	16 – 20 horas

Tomado de: Documento **CLSI – M 100 S 24**. Pág. 107.

ANEXO N. 14

PREPRARACIÓN DE INÓCULO PARA LA PRUEBA DE RESISTENCIA A LA METICILINA

- ✓ Se realizó cogiendo varias colonias del cultivo de crecimiento de agar sangre de 24 horas con un hisopo estéril y colocar en un tubo con 3ml de solución salina mezclar y agitar, para ajustar el inóculo a la turbidez equivalente al tubo número 5 de la de la escala Mac Farland, para este procedimiento se utilizó el densitómetro teniendo una densidad de 0.5 unidades Mac Farland. (CLSI, 2014).
- ✓ La placa de Mueller Hinton rotulada y a temperatura ambiente se procede a inocular, sin dejar zonas libres, deslizando así el hisopo 3 veces rotando la placa 60ºC.
- ✓ Esperar de 3 a 5 minutos para que se seque antes de colocar los discos.
- ✓ Colocar el disco de cefoxitina de 30 ug presionando ligeramente el agar.
- ✓ Flamear la pinza en cada procedimiento.
- ✓ Finalmente incubar las placas invertidas en la incubadora a 35^0C de 18 a 24 horas.

Leer el diámetro de inhibición con regla milimetrada por el reverso de la placa y comparar con la tabla 3E del documento M100-S24 Página 108. (Koneman, Diagnóstico Microbiológico, 2008). . (CLSI, 2014).

ANEXO N. 15

LECTURA MEDIANTE EL *SCREENING DE TEST PARA DETECCIÓN DE METICILINO RESISTENTE (OXACILINA RESISTENTE EN ESPECIES DE STAPHYLOCOCCUS)*

TEST DE SCREEN	**OXACILINA RESISTENTE**	**mecA – MEDIANTE OXACILINA RESISTENTE USANDO CEFOXITINA**		
GRUPO DE ORGANISMO	*S. aureus*	*S. aureus y S. lugdunensis*	Coagulasa negativa para *Staphylococcus*	*S. aureus y S. lugdunensis*
MÉTODO DE PRUEBA	Dilusión de Agar	Difusión en disco		Caldo de microdilusión
RESULTADOS	Examine cuidadosamente con un transmisor de luz mayor a una colonia o luz de crecimiento 1 colonia es oxacilina resistente	≤ 21 mm = *mecA* positivo ≥22 mm = *mecA negativo*	≤ 24 mm = *mecA* positivo; ≥25 mm = *mecA negativo*.	> 4 ug/mL = *mecA* positivo ≤ 4 ug/mL= *mecA* negativo.
PRUEBA DE REPORTE	*Staphylococcus* oxacilina resistente son resistentes a todo agente betalactámico; otros agentes betalactámicos podrían ser reportados como resistentes o no pueden ser reportados.	Cefoxitina es usada como sustituto de *mecA*- mediante oxacilina resistente. Los aislamientos de prueba como *mecA* positivo podría reportarse como Oxacilina (no Cefoxitina) resistente; otros agentes betalactámicos, excepto estos con actividad anti SARM, puede ser reportado como resistente o no puede ser reportado.		Cefoxitina es usada como sustituto de *mecA*- mediante oxacilina resistente. Los aislamientos de prueba como *mecA* positivo podría reportarse como Oxacilina (no Cefoxitina) resistente; otros agentes betalactámicos puede ser reportado como resistente o no puede ser reportado. Porque de esta rara ocurrencia de los mecanismos de oxacilina resistente otros como *mecA*. Aislando cada test como *mecA* negativo, pero para cada cual la oxacilina en concentración inhibitoria mínima son resistentes (MIC ≥ 4 ug/mL), puede ser reportado como oxacilina resistente.
Control de calidad Recomendaciones o Rutina	*S. aureus* ATCC 29213- Susceptible (con cada teste diario)	*S. aureus* ATCC 25923 – *mecA* negativo (zona de Cefoxitina 23-29 mm)		*S. aureus* ATCC 29213- *mecA* negativo (Cefoxitina Concentración Inhibitoria Mínima 1-4 ug/mL)
Control de calidad Recomendaciones	*S. aureus* ATCC 43300 – Resistente	*S. aureus* ATCC 43300 – *mecA* positivo (zona ≤ 21 mm)		*S. aureus* ATCC 43300- *mecA* positivo (Concentración Inhibitoria Mínima >4 ug/mL)

ANEXO N. 16

CERTIFICADO DE PROCESO DE LAS MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS EN EL CENTRO DE DIAGNÓSTICO MÉDICO"CDM"

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO "CENTRO DE DIAGNÓSTICO MÉDICO"

Of. Nª. 222- CDM- ASH-UNL

Loja, 25 de mayo del 2015

Srta.

Eulalia Cuenca Riascos

ESTUDIANTE DE LA CARRERA LABORATORIO CLÍNICO DEL ÁREA DE SALUD HUMANA DE LA UNL

Presente.-

De mi consideración:

La presente tiene la finalidad de CERTIFICAR que:

La Srta. Eulalia Betzabé Cuenca Riascos procesó 54 muestras microbiológicas en el Laboratorio Clínico "Centro de Diagnóstico Médico" del ASH desde el 16 de marzo hasta el 23 de abril del 2015, como parte del trabajo de titulación denominado: "*Staphylococcus aureus* meticilino resistente en personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora". Loja.

Es importante mencionar que las actividades se cumplieron satisfactoriamente, con puntualidad y dedicación y se cubrieron los gastos de insumos y reactivos demandados.

Por la atención prestada a la presente antelo mis agradecimientos

Atentamente,

Lic. Carmen Ullauri González

RESPONSABLE DEL CDM.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
Centro de diagnóstico F.C.M.

ANEXO N. 17

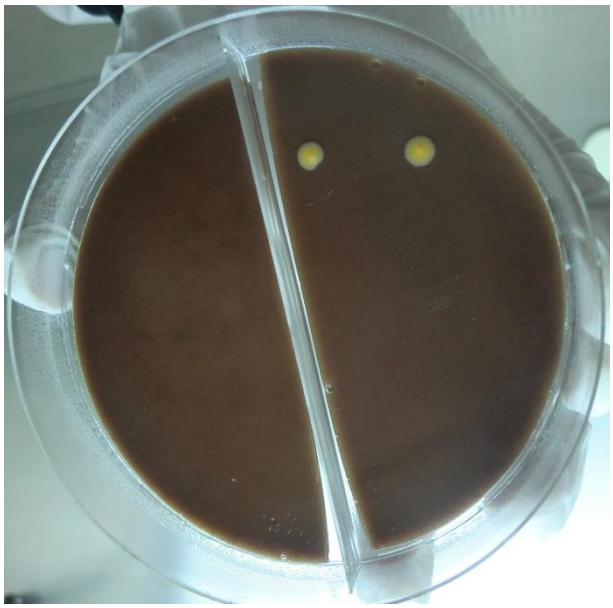
FOTO RELATORIA:

MÉTODO DE DETECCIÓN:

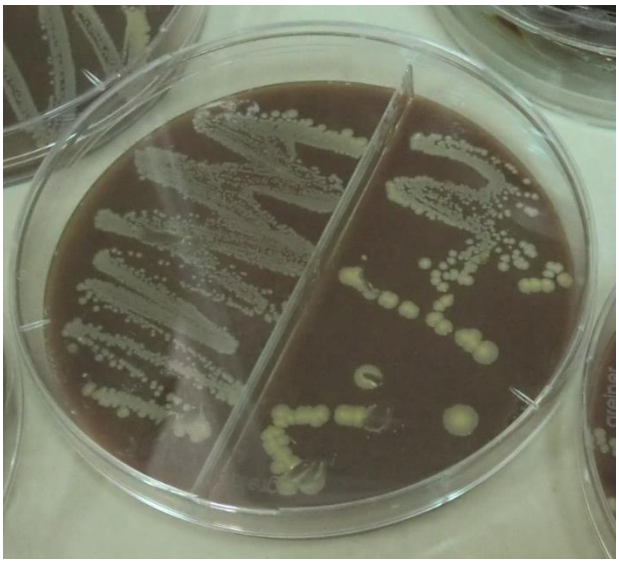
Crecimiento en agar sangre:

Cepa control de *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300



Muestra problema

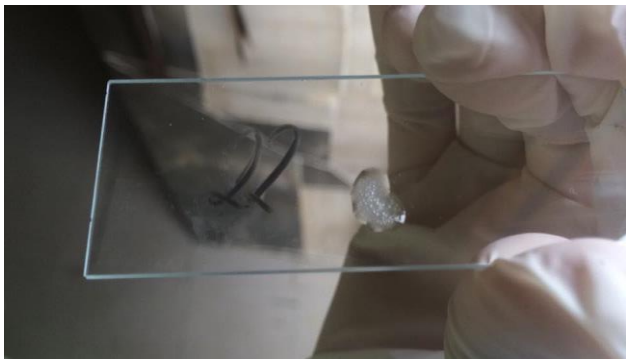


Prueba de Catalasa

Cepa control de *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300

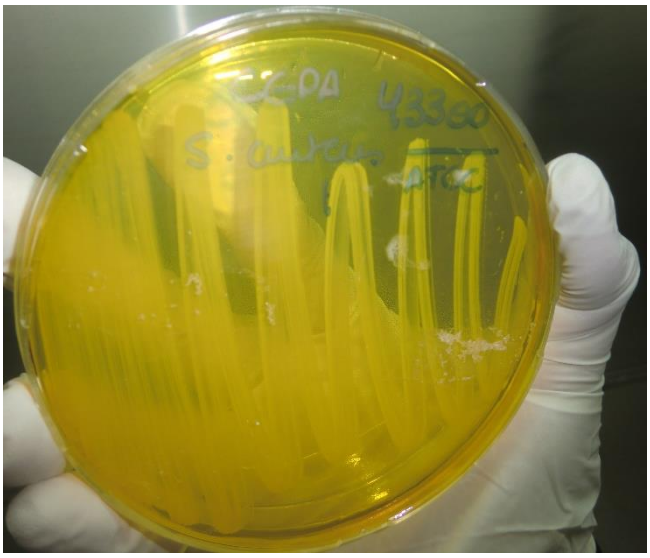
Muestra problema



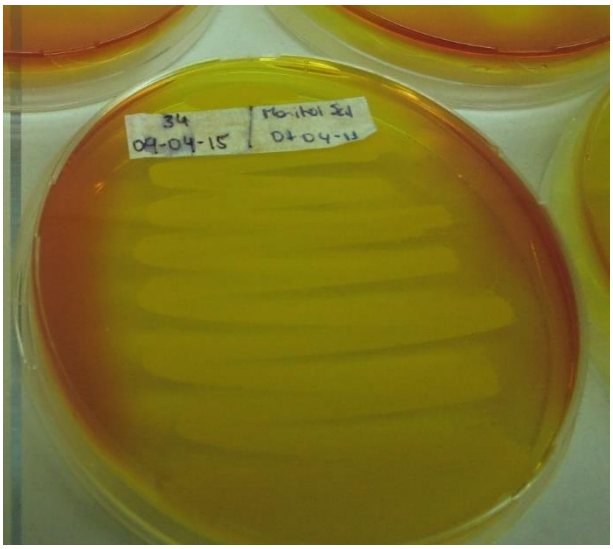
Fermentación Manitol Sal

Cepa control de *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300



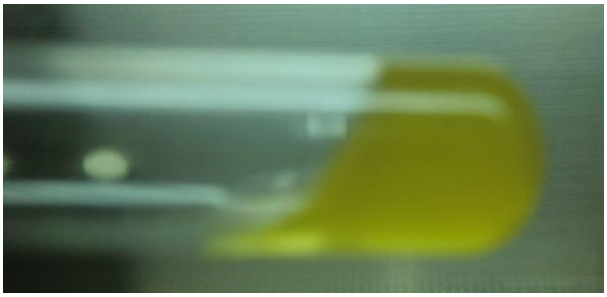
Muestra problema



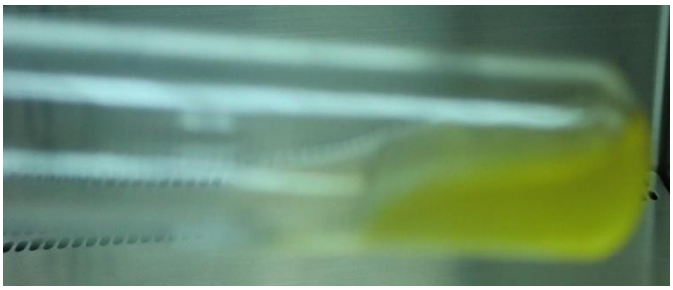
Prueba de Coagulasa

Cepa control de *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300



Muestra problema



Prueba de tamizaje de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente

Cepa control de *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300

Muestra problema

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN ii
AUTORÍA iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN iv
AGRADECIMIENTO v
DEDICATORIA vi
1. TÍTULO 1
2. RESUMEN 2
SUMMARY 3
3. INTRODUCCIÓN 4
4. REVISIÓN DE LITERATURA 6
4.1. ***Staphylococcus aureus*** 6
4.1.1.Generalidades 6
4.2.Variante Meticilino Resistente 7
4.3.Infecciones 8
4.4.Métodos diagnósticos 9
4.5.Técnicas de Biología Molecular 10
4.6. Personal de Salud 13
5. METODOLOGÍA 15
5.1. TIPO DE ESTUDIO 15
5.2. ÁREA DE ESTUDIO 15
5.3. UNIVERSO Y MUESTRA 15
5.3.1. Universo 15
5.3.2. Muestra 15
5.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN 16
5.4.1. Criterios de Inclusión 16
5.4.2. Criterios de Exclusión 16
5.5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS 16
5.5.1. Fase Pre – Analítica: 16
5.5.2. Fase Analítica: 17
5.5.3. Fase Post – Analítica 17
5.6. ANALISIS Y TABULACIÓN DE DATOS. 18
6. RESULTADOS 19
7. DISCUSIÓN 24
8. CONCLUSIONES 27
9. RECOMENDACIONES 28
10. BIBLIOGRAFÍA 29

11. ANEXOS 35
ÍNDICE GENERAL…….....70
ÍNDICE DE TABLAS…….....72
ÌNDICE DE ANEXOS……..…..73

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

TABLA N^{O}1. Recuperación de *Staphylococcus aureus* de las fosas nasales del personal de salud del área de quemados del Hospital General Isidro Ayora 2015…….....19

TABLA N^{O} 2. Recuperación de *Staphylococcus aureus* de las fosas nasales del personal de salud del área de neonatología del Hospital General Isidro Ayora – 2015……...20

TABLA N^{O} 3. Determinación de la sensibilidad a la meticilina de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas del personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora 2015…….…21

TABLA N^{O} 4.Distribución de *Staphylococcus aureus* según sexo del personal de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora – 2015…….22

TABLA N^{O} 5.Distribución de *Staphylococcus aureus* según función del profesional de salud de las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora – 2015……..23

ÍNDICE DE ANEXOS

Pág.

ANEXO N. 1: Oficio de autorización y desarrollo del Proyecto de tesis……..….35

ANEXO N. 2: Utilización del cdm (Centro de Diagnóstico Médico) para el análisis de muestras…….....36

ANEXO N. 3: Registro de datos de profesionales de salud que trabaja en las áreas de neonatología y quemados del Hospital General Isidro Ayora de la ciudad de loja 2015…….....37

ANEXO N. 4: Consentimiento informado…….....44

ANEXO N. 5: Medidas de bioseguridad obligatorias……..46

ANEXO N. 6: Toma y transporte de las muestras…….…..48

ANEXO N. 7: Preparación del Medio de cultivo agar sangre…….....50

ANEXO N. 8: Siembra de muestra en el medio de cultivo agar sangre…….....56

ANEXO N. 9: Prueba bioquímica: catalasa..…….....57

ANEXO N. 10: Fermentación manitol sal…….….59

ANEXO N. 11: Tinción de Gram……....60

ANEXO N. 12: Prueba bioquímica: coagulasa……..….61

ANEXO N. 13: Prueba de tamizaje y confirmación de sarm……..63

ANEXO N. 14: Preparación de inóculo para la prueba de resistencia a la meticilina….....64

ANEXO N. 15: Lectura mediante el *screening de test para detección de meticilino resistente (oxacilina resistente en especies de staphylococcus)*……..…65

ANEXO N. 16: Certificado de proceso de las muestras microbiológicas en el centro de diagnóstico médico”CDM”…….....66