

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



**COLONIZACIÓN POR *Staphylococcus aureus* EN UNA COHORTE DE PACIENTES QUE ASISTEN
A PROGRAMA VIH**

**Leidy Xiomara Rayo Ortiz
TRABAJO DE GRADO**

Presentado como requisito parcial para optar por al título de
BACTERIÓLOGA

**DIRECTORA
MARYLIN HIDALGO
Bacterióloga M. Sc. Ph.D**

BOGOTA D.C., Junio 2012

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

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

RESUMEN

El género *Staphylococcus* sp. se caracteriza por estar presente en la mucosa y en la piel de los humanos, sin embargo hay especies que se asocian aún más a la producción de enfermedades infecciosas como lo es caso de *Staphylococcus aureus*, la bacteria más virulenta y más reconocida de este género. Debido a sus características generales, se evaluó la presencia de esta especie en 283 pacientes que acuden a control de VIH en el Hospital San Ignacio realizar una caracterización fenotípica y molecular. Para ello, se tomaron muestras de fosas nasales y axilas derecha e izquierda con escobillones medio AMIES para luego ser sembrados masivamente en medio de cultivo salado manitol. Transcurrido el tiempo de incubación ($35^{\circ}\text{C} \pm 2$ por 24-48h), se tomaron colonias sospechas por aislamiento, para ser resembradas en medio salado manitol e incubarse a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ por 24-48h. Como paso a seguir se seleccionaron entre dos y cuatro colonias por cada punto de muestreo para realizarles coloración de Gram, prueba de catalasa, prueba de DNAsa en agar DNAsa con adición de azul de toluidina y prueba de coagulasa a partir del StaphyloTest. A partir de esto se obtuvieron 64 aislamientos positivos para *Staphylococcus aureus* pertenecientes a 60 pacientes VIH positivo. Luego se procedió a realizar PCR múltiple para la detección del gen de resistencia a metilina *mecA*, gen *16sRNA* y un gen específico de *S. aureus*, en el cual 58 aislamientos no presentaban el fragmento del gen *mecA*, y 6 aislamientos si mostraban la presencia del gen *mecA*. Posteriormente se realizó concentración mínima inhibitoria para los siguientes antibióticos: oxacilina, eritromicina, tetraciclina, clindamicina, sulfametoxazol/trimetropin, ciprofloxacina, gentamicina, vancomicina, a través del método de dilución en agar. El objetivo de este estudio es evaluar la presencia de *Staphylococcus aureus* en pacientes inmunosuprimidos del programa VIH positivo del Hospital Universitario San Ignacio y realizar caracterización fenotípica y molecular.

COLONIZACIÓN POR *Staphylococcus aureus* EN UNA COHORTE DE PACIENTES QUE ASISTEN A PROGRAMA VIH

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus se caracteriza por ser un microorganismo que hace parte de la flora normal del hombre y es considerado la principal causa de infecciones intrahospitalarias y de la comunidad [1,2]. El principal sitio de colonización de *S. aureus* son las fosas nasales, además es una bacteria asociada a una gran gama de patologías como neumonía, osteomielitis, meningitis, artritis, infecciones piógenas, intoxicación alimentaria, síndrome de piel escaldada y síndrome de shock séptico [1,2,3]. El modo de transmisión de *S. aureus* es por contacto directo, usualmente contacto piel a piel con un individuo infectado o colonizado, por contacto indirecto a través de objetos inanimados, o por contacto con trabajadores hospitalarios cuya bioseguridad es escasa o no hay [4]. Existen diferentes factores de riesgo que contribuyen con la colonización a nivel nasal, los cuales son la edad especialmente en individuos neonatos y adultos mayores, y en el caso de género, se reporta mayor incidencia en hombres que en mujeres; otras causas que predisponen a la transmisión o colonización por *S. aureus* son enfermedades como la sinusitis crónica, la diabetes mellitus o pacientes que se encuentran inmunosuprimidos como en el caso de pacientes con VIH [5]. Los pacientes con VIH tienen predisposición a presentar infecciones bacterianas ocasionadas por *S. aureus*, que es una de las complicaciones más frecuentes, siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en la población de pacientes con VIH [5,6], debido a que la colonización por *S. aureus* ocurre principalmente a nivel nasal, en donde el microorganismo se comporta como comensal, que una vez coloniza la mucosa nasal puede diseminarse y producir neumonía, bacteriemia, endocarditis, infección en los tejidos blandos como principales cuadros clínicos asociados a *S. aureus* [7]. Es importante realizar estudios sobre la colonización de *S. aureus* en pacientes VIH ya que estos permiten conocer la situación epidemiológica actual de *S. aureus* y así poder generar guías o protocolos que eviten una complicación clínica ocasionada por el microorganismo.

JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Históricamente *S. aureus* es uno de los patógenos más importantes a nivel hospitalario y en la comunidad ya que ocasiona la gran mayoría de las infecciones nosocomiales considerándose esto como un problema de salud pública [5,8]. A través del tiempo se han conocido tres grupos de estado de portador nasal los cuales son: portadores nasales persistentes de *S. aureus* que son el 20% aproximadamente de la población, portadores intermitentes (30%) y no portadores [9]. La colonización nasal es considerada un factor de riesgo para la patogénesis en poblaciones de riesgo como es el caso de pacientes VIH [9,10], debido a que existe una relación causal entre portadores nasales de *S. aureus* e infección, evidenciado por estudios que demuestran que la cepa de *S. aureus* nasal y la cepa infectante comparten características genéticas similares [9], los pacientes VIH presentan una carga microbiológica nasal alta (44%) en comparación con la población sana (23%) por lo tanto tienen una probabilidad mayor de adquirir una infección, ocasionada por la misma cepa [6,11]. Un estudio realizado por Ramsetty en Estados Unidos demostró que el 55% de los pacientes VIH, colonizados por SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a metilicina) desarrollaron infecciones causadas por este microorganismo. A nivel mundial una de las poblaciones con mayor riesgo en adquirir infecciones por *Staphylococcus aureus* son los pacientes VIH positivos que presentan un alto riesgo de infecciones de piel y tejidos blandos a tal punto que puede causar una bacteriemia como complicación mayor [6,11]. Colombia ha reportado casos de SARM adquirido en la comunidad especialmente en pacientes sin ningún antecedente hospitalario, sin embargo son muy pocos y se desconocen las características clínicas, factores de riesgo y características moleculares para cierto grupo de individuos como las personas VIH positivo [12]. Por tal motivo los estudios sobre la

epidemiología de *Staphylococcus aureus* encaminados al conocimiento de la distribución, factores de riesgo, determinar estado de portador, caracterización genética y molecular de este microorganismo en pacientes VIH son de gran importancia y así apoyar programas de vigilancia para proporcionar herramientas de predicción clínica y así establecer medidas dirigidas al control de la incidencia de infección por cepas de *S. aureus*. Es por ello que el objetivo de este estudio es evaluar la presencia de *Staphylococcus aureus* en pacientes inmunosuprimidos del programa VIH positivo del Hospital Universitario San Ignacio y realizar caracterización fenotípica y molecular.

MARCO TEORICO

Staphylococcus aureus es un coco Gram positivo, ampliamente distribuido en la naturaleza de 0.5-1.5 μm de diámetro, que se encuentran microscópicamente aislados, en pares, formando racimos irregulares [14], son inmóviles, no formadores de esporas, tiene un metabolismo de tipo fermentativo y anaerobio facultativo, catalasa positivo y oxidasa negativo, capaz de fermentar la glucosa sin producción de gases, fermentan también el manitol con formación de ácidos. Su temperatura óptima de crecimiento está entre 35° a 40 C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos. Poseen una enzima coagulasa, que los diferencia del resto de las especies del género ya que ésta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina, también presentan la enzima termoestable DNAsa que es capaz de clivar los enlaces fosfodiéster internos de la molécula de DNA que se puede identificar fácilmente en medio DNAsa con adición de azul de toluidina [14]. *S. aureus* puede comportarse como un microorganismo comensal, colonizando frecuentemente fosas nasales, manos, axilas, área perineal; y ocasionando procesos infecciosos, cuando se expresan los factores de virulencia propios del microorganismo y cuando se alteran las barreras naturales del hospedero por trauma, cirugía o alteración del estado inmune, causando infecciones en la piel, bacteriemia, endocarditis, síndrome de shock tóxico, síndrome de piel escaldada entre otros [1, 2,15].

Las infecciones por *S. aureus*, fueron inicialmente tratadas con penicilina, sin embargo este microorganismo desarrolló rápidamente la producción de β -lactamasas, responsables de la resistencia a este antimicrobiano [16]. Posteriormente se desarrollaron penicilinas semi-sintéticas como la meticilina. En 1960 se reportó por primera vez en Europa una cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) posteriormente en Estados Unidos en 1968 se reportó una cepa con iguales características. Actualmente la resistencia a la meticilina es un hallazgo frecuente debido a la adquisición del gen *mecA*, representando un problema importante de salud pública a nivel mundial ya que en los últimos 45 años, varios clones de SARM hospitalarios y comunitarios se han diseminado a nivel mundial [16,17]. La colonización por *S. aureus* en pacientes VIH positivos representa un alto riesgo ya que diversos estudios han sugerido que la tasa de (SARM) asociado a la comunidad es 18 veces más alta en pacientes VIH comparado con la población general [18,20]. Es también conocido que la razón para el incremento en el riesgo de infecciones por SARM-asociado a comunidad en este tipo de pacientes es multifactorial, entre los factores de riesgo para la infección por (SARM) en estos pacientes se encuentran: el uso reciente de antibióticos β -lactámicos, drogas intravenosas y el estado inmune deficiente [18,19,20]. Los individuos infectados con VIH presentan un elevado riesgo de infecciones en piel y tejidos blandos, estas pueden ser iniciales y recurrentes [18], además pueden presentar bacteriemia como complicación mayor, además está asociada a mal pronóstico; éste tipo de infección es la responsable de la muerte en aproximadamente 32% de pacientes infectados con VIH y SARM ha sido reportado como un importante agente causal de bacteriemia en esta población [19].

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Evaluar la presencia de *Staphylococcus aureus* en pacientes inmunosuprimidos que asisten al programa VIH positivo del Hospital Universitario San Ignacio y realizar caracterización fenotípica y molecular.

Objetivos Específicos:

- Determinar el estado de portador en un periodo de tiempo determinado de *Staphylococcus aureus* en una población de riesgo pacientes (VIH) positivos.
- Caracterizar fenotípicamente y genotípicamente 64 aislamientos de *Staphylococcus aureus* recolectados de individuos con edades entre 20 y 40 años de edad.
- Caracterizar por medio de la técnica de PCR genes de especie y de resistencia a meticilina de *Staphylococcus aureus* recuperados a partir de los pacientes (VIH) positivos.

METODOLOGÍA

Tamaño de la población: 1100 pacientes incluidos en el programa de VIH en el hospital san Ignacio

Prevalencia esperada en la población: 45%

Diferencia máxima esperada: 5%

Tamaño de la muestra: 283

Obtención de los Pacientes

Se tomó una muestra significativa de los pacientes de control infectados con VIH del Hospital Universitario San Ignacio, los cuales fueron invitados a participar en el presente estudio y a contestar una encuesta, para obtener información sobre el paciente, además firmaran un consentimiento informado aprobado por el comité de ética e investigación de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana.

Criterios de Inclusión

Pacientes con diagnóstico de VIH que se encuentren vinculados al programa de seguimiento y control en el departamento de Infectología del Hospital San Ignacio.

Criterios de Exclusión

1. Pacientes en terapia antimicrobiana
2. Mujeres en embarazo o lactantes
3. Pacientes diagnosticados por primera vez para VIH.
4. Pacientes con enfermedades psiquiátricas.

Toma de Muestras

Se tomaron muestras de ambas fosas nasales y axilas con un escobillón flexible. Cada escobillón se mantuvo en medios de transporte AIMES por un transcurso no mayor a las 24h, y luego fueron analizados en el laboratorio de Bacteriología Especial de la Pontificia Universidad Javeriana.

Análisis Microbiológico

Cada muestra se sembró masivamente en agar salado manitol, luego se realizó aislamiento de las colonias presuntivas positivas en agar salado manitol y posteriormente se realizaron aislamientos en agar BHI y a partir de ellas se hizo la identificación fenotípica por medio de coloración de Gram, prueba de catalasa, coagulasa mediante la prueba de aglutinación *staphylo*test y la prueba de DNAsa. Una vez se tenga los respectivos aislamientos se procedió a determinar la concentración mínima inhibitoria del microorganismo a evaluar frente a oxacilina, eritromicina, clindamicina, sulfametoxazol/trimetropin, ciprofloxacina, gentamicina, vancomicina, tetraciclina, usando el método de microdilución en agar, dados los criterios del *Clinical and Laboratory Standards Institute* [34]. La conservación de todos los aislamientos se realizó en caldo BHI con glicerol al 20 % en crioviales por duplicado, los cuales fueron almacenados a -20°C para su posterior uso. Posteriormente se determinó la concentración mínima inhibitoria por el método de dilución en agar. Para ello se tuvo en cuenta los puntos de corte de cada uno de los antibióticos a probar y de la cepa control ATCC 29213, los cuales aparecen en la Tabla 1

Análisis Molecular A los 64 aislamientos obtenidos se les corrió la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple para la identificación de un gen determinado de *Staphylococcus aureus*, el gen resistente a la meticilina (*mecA*), y el gen 16sRNA como control interno de PCR, según lo descrito por Martineau et al, 2000 [21]. Los amplificados se visualizaron con la electroforesis en gel de agarosa para los aislamientos correspondientes a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Resultados

En el estudio participaron 283 pacientes cada uno con sus tres respectivas muestras (fosas nasales, axila derecha e izquierda), todos ellos dieron su consentimiento informado por escrito y diligenciaron la encuesta, de estos pacientes 95 (33,5%) estuvieron colonizados por *S. aureus* y 188 (66,5%) fueron no portadores. De los 283 pacientes se obtuvieron 849 muestras para el procesamiento, de las cuales el 753 (88,7%) fueron negativas para las pruebas fenotípicas de tamizaje y 96 (11,3%) fueron catalogadas como *S. aureus* basados en las pruebas fenotípicas de identificación. Se seleccionaron 64 aislamientos que corresponde a 60 (21,2%) pacientes VIH que estaba entre las edades de 20-40 años.

A los 64 aislamientos se les realizó la prueba molecular reacción en cadena de la polimerasa PCR utilizando los primers específicos para la detección de un gen determinado de *S. aureus*, el gen *mecA* que otorga resistencia a la meticilina y el gen 16s RNA, como control interno de PCR utilizando la metodología de Martinau et al, [21]. Con esta prueba molecular se confirmó especie de *S. aureus* en todos los aislamientos previamente analizados por las pruebas fenotípicas. En 6 (2,1%) aislamientos la banda de *mecA* amplificó lo que indica resistencia a meticilina (*050FN2*, *086A11*, *179A11*, *232FN1*, *245FN1*, *276FN1*), los 58 (20,4%) aislamientos restantes amplificaron el gen de *S. aureus*, y el gen 16s RNA.

Los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CIM) fueron los siguientes, para oxacilina 6 (9,3%) fueron resistentes con una CIM de 64µg/ml. Estos aislamientos corresponden a los que amplificaron el gen *mecA*. A la eritromicina 6 (9,3%) aislamientos presentaron resistencia con una CIM de 64µg/ml. A gentamicina 5 (7,8%) aislamientos presentaron resistencia. De los 6 aislamientos resistentes a oxacilina 4 (6,25%) presentaron resistencia y 21 (32,8%) resistencia intermedia a ciprofloxacina. A tetraciclina 1 (0,3%) aislamiento fue resistente y 2 (3,1%) presentaron resistencia intermedia. Para vancomicina 2 (3,1%) presentaron resistencia intermedia. Tres aislamientos presentaron multiresistencia a oxacilina, eritromicina, gentamicina y ciprofloxacina. Cabe resaltar que todos los aislamientos fueron resistentes a clindamicina, y a sulfametoxazol/trimetropin fueron sensibles.

Discusión

En los pacientes con VIH se encontró un porcentaje de colonización del (33,5%) en 95 pacientes, diferentes estudios reportan que entre el 20% y 30% de pacientes pueden estar colonizados de manera persistente o transitoria siendo las fosas nasales el principal reservorio y fuente de Infección para el ser humano [25]. Según se ha reportado la colonización se presenta a nivel nasal o en sitios extra nasales como piel, faringe, tracto gastrointestinal y axilas [25,26]. En este estudio se evidenció la presencia de *S. aureus* en el 70,3% de fosas nasales y el 29,7% en axilas.

Según los resultados obtenidos en la PCR, todos los aislamientos identificados como *S. aureus* meticilino resistentes mostraron la presencia de un fragmento correspondiente al gen *mecA*. Lo anterior concuerda con lo reportado en la literatura, ya que la prueba de oro para detectar el gen *mecA* en *Staphylococcus aureus* es la PCR, según lo indican las normas del CLSI [22], ofreciendo una identificación más rápida, sencilla y precisa que otras técnicas. En el estudio de Birgit Strommenger y colaboradores evaluaron 30 cepas de *S. aureus*, en el cual los resultados de PCR se correlacionaron con los datos de las pruebas fenotípicas y la resistencia a antibióticos obtenidos en la CIM [27]. El estudio de Martineau y colaboradores también demuestran la correlación entre las pruebas de susceptibilidad y la PCR, al comparar los resultados de oxacilina, gentamicina, eritromicina, con los resultados obtenidos mediante los ensayos de PCR [21]. Tal como sucedió en este estudio los resultados de la PCR y la CIM, se correlacionaron debido a que los 6 aislamientos resistentes a oxacilina, todos ellos también presentaban el fragmento para el gen *mecA*.

La tasa de colonización por *S. aureus* meticilino resistente (SARM), en los últimos años ha aumentado entre 1,6% a 34,8% en la población VIH, se ha reportado que el 22% de estos individuos pueden desarrollar infecciones por SARM [11]. Un estudio realizado por Kepler A. reporta que la prevalencia de colonización por SARM fue del 3,4% en pacientes VIH [28]. Igualmente informan Huang y Platt en un estudio de 2009 pacientes VIH que el 3,7% presento SARM, los cuales tenían una media de edad de 40 años, y el 97% eran hombres [28]. En este estudio la edad media fue de 35 años (rango 20-40 años) y el 82,8% fueron hombres, muy similar en comparación con el estudio anterior. La presencia de SARM es un problema de salud pública debido a que Las infecciones causadas por SARM usualmente son tratadas con glicopéptidos tales como vancomicina y teicoplanina, sin embargo se han reportado cepas de *S. aureus* con resistencia intermedia a los glicopéptidos con una concentración mínima inhibitoria para vancomicina de 4 a 16 ug/ml [27]. Estos aislamientos pueden comportarse como sensibles o resistentes a oxacilina, lo que demuestra la importancia de realizar una minuciosa vigilancia epidemiológica de esta resistencia en todos los aislamientos de *S. aureus* [27]. En este estudio se reportan dos aislamientos con resistencia intermedia a vancomicina. J.S Villacian y colaboradores, en Singapur encontraron una prevalencia de colonización por SARM de 3% [29]. Adicionalmente, otro estudio realizado en 554 pacientes de un hospital en Nairobi, Kenia también detectó un 3% de colonización nasal por SARM [30]. Aunque la prevalencia de SARM en la comunidad en general es baja, en pacientes infectados con el VIH, hay una mayor tasa de infección y de complicación ya que puede llegar a ocasionar neumonía, bacteriemia, endocarditis, infección en los tejidos blandos como principales cuadros clínicos asociados a SARM [7]. Un estudio realizado durante 10 años en pacientes homosexuales infectados con VIH en San Francisco, demostró un aumento en la prevalencia de infección por SARM de 7% en 1996 a 76% en 2005 en el cual el 45% de los pacientes presentaban estos cuadros clínicos [31]. En otro estudio con 32 pacientes VIH positivos y con infección en piel y tejidos blandos por SARM, se pudo establecer una relación entre la presentación de una infección por SARM y factores de riesgo como edad, género y raza. [32]A. Uche y colaboradores encontraron que la mortalidad en pacientes VIH con bacteriemia causada por SARM aumenta dependiendo de la severidad de la enfermedad inicial y de la selección inicial de la terapia antimicrobiana [33].

Sin embargo en este estudio, no se encontró relación alguna dentro de los posibles factores de riesgo reportados ya que se obtuvo resultados positivos en todas las edades evaluadas, (20-40 años) aunque si se presentó un mayor porcentaje de colonización en hombres con respecto a las mujeres.

La presencia de *S. aureus* como colonizador de fosas nasales, y el fenómeno de la resistencia a metilina en este microorganismo, se vuelve un aspecto cada vez más importante en la epidemiología de nuestro medio, ya que afecta tanto a la población general, como a grupos poblacionales expuestos a diversos factores de riesgo, como es el caso de pacientes VIH positivo [23]. Por lo anterior, la realización de estudios orientados a la detección oportuna de portadores asintomáticos, es de gran importancia ya que, darán origen a futuras medidas de prevención que permitirán disminuir la propagación de dichos aislamientos en el ambiente comunitario e intrahospitalario, y por ende permitirán impactar positivamente el perfil epidemiológico de nuestro medio. Además la detección temprana de estos aislamientos en grupos poblacionales susceptibles ayuda a disminuir la tasa de infecciones y por tanto la incidencia de complicaciones, favoreciendo desde todo punto de vista el contexto epidemiológico de los pacientes.

CONCLUSIONES

- Se logró evaluar el estado de portador de *Staphylococcus aureus* en 60 de los 283 pacientes que acuden a la Unidad de Infectología y consulta externa del Hospital San Ignacio al control mensual o bimensual encontrando que el 33,5% de ellos pertenecen al grupo de portadores.
- Se logró realizar la caracterización fenotípica a 64 aislamientos pertenecientes a los 60 pacientes, entre 20-40 años de edad, portadores de *Staphylococcus aureus*, a través de las pruebas DNAsa, Coagulasa, Catalasa y Coloración de Gram.
- La caracterización molecular se realizó en los 64 aislamientos obtenidos como *Staphylococcus aureus* positivo, confirmando a través de la PCR 6 aislamientos como SARM.
- Se determinó la prevalencia de colonización en la población estudiada, y los hallazgos microbiológicos se correlacionaron con los resultados de las pruebas moleculares, en la cual se evidenció la presencia de los genes (*16sRNA*, *mecA*, *S. aureus*).

RECOMENDACIONES

- Es importante hacerle un seguimiento más detallado a cada uno de los pacientes para observar si el microorganismo fue adquirido dentro del Hospital San Ignacio o proviene del exterior, y a su vez poder determinar si el estado de portador puede pertenecer al grupo intermitente.
- La detección temprana en pacientes VIH contribuye a disminuir la tasa de infección, y así poder desarrollar programas de vigilancia que reduzcan la morbi-mortalidad que son de importancia, ya que proporcionan herramientas de predicción clínica, para establecer medidas dirigidas al control y así disminuir la incidencia de infección por cepas de *S. aureus*.
- Se recomienda realizar diluciones en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de *Staphylococcus aureus* a antibióticos como linezolid, rifampicina y cloranfenicol.

BIBLIOGRAFÍA

1. Madigan Michael, Martinko John, Parker Jack. (2004) Brock Biología de los Microorganismos. 10ª edición. Editorial Pearson Prentice Hall, España. Pág. 59, 160, 399, 666, 712, 721, 728, 733, 735, 738, 739, 753, 754, 777,
2. Shrestha, B., B.M. Pokhrel, and T.M. Mohapatra, Molecular epidemiology of *S. aureus* among nasal carriers in a tertiary care hospital: first report from Nepal. *J Hosp Infect*, 2010. 74(3): p. 294-
3. Fluck, R., J. Wilson, and C.R. Thomson 2008, *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 339:520-32
4. Kluytmans, J.A., et al., Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as a major risk factor for wound infections after cardiac surgery. *J Infect Dis*, 2005. 171(1): p. 216-9.
5. Van Belkum A, Verbrugh H. 2007. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 2007; 10: 505-520
6. Crum-Cianflone, N., J. Weekes, and M. Bavaro, Recurrent community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among VIH-infected persons: incidence and risk factors. *AIDS Patient Care STDS*, 2009. 23(7): p. 499-502.
7. Pahissa Albert. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. Editorial Marge Medical Books. 2009 p. 851-875.
8. Velázquez Meza ME. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* Meticilinoresistente. *Salud Pública* 2005; 47: 381-387.
9. Eveillard, M., et al., Impact of screening for SARM carriers at hospital admission on risk-adjusted indicators according to the imported SARM colonization pressure. *J Hosp Infect* 2005. 59(3): p. 254-8
10. Von Eiff, C., et al., Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med*, 2001. 344(1): p. 11-6.
11. Ramsetty, S.K., et al., Risks for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization or infection among patients with VIH infection. *VIH Med*, 2010. 11(6): p. 389-94 Broseta
12. Cortes Jorge, Gómez Carlos, Cuervo Sonia, Leal Aura. Implicaciones en salud pública de *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad en Bogotá, Colombia. *Rev. Salud Pública* vol.9 no.3 Bogotá, 2007.
13. Popovich, K.J., et al., Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and VIH: intersecting epidemics. 2006 *Clin Infect Dis*. 50(7): p. 979-87
14. Freeman-Coo L, Freeman-Coo K. *Staphylococcus aureus* infections. 2006. Consultado en línea: <http://books.google.com.co/books> el día 6 de enero de 2012.
15. Justos JA, Handan A, Gutierrez M. *Staphylococcus aureus*: La Reemergencia de un Patógeno en la comunidad. 2006 *Rev Biomed* 17 (4): 287-305.
16. Daza Pérez R.M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud* 2008; 22: 57-67.
17. Echevarria Zarate J, Iglesias Quilca D. *Staphylococcus aureus* Meticilinoresistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Med Hered* 2003; 14 (4): 195-199 Rev
18. Crum-Cianflone NF, Shadyab AH, Weintrob A. Association of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) Colonization With High-Risk Sexual Behaviors in Persons Infected With Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Medicine* (Baltimore). 2011 Oct 25.
19. Mootsikapun, P., Bacteremia in adult patients with acquired immunodeficiency syndrome in the northeast of Thailand. *Int J Infect Dis*, 2007. 11(3): p. 226-31.
20. L Clifford McDonald, Tsai-Ling Lauderdale, Hsiu-Jung Lo, Jih-Jin Tsai and Chien-Ching Hung. Colonization of HIV-infected outpatients in Taiwan with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *J STD AIDS*. 2003; 14: 473-477.
21. Martineau, F., et al., Correlation between the resistance genotype determined by multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus*

- aureus and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000. 44(2): p. 231-8.
- 22 Jaffe RI, Lane JD, Albury SV, Niemeyer DM. rapid Extraction from and Direct Identification in Clinical samples of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Using the PCR. *J Clin Microb*. 2000 38 (9): 2407-3412
 - 23 J.S Villacian, T.Barkham, A.Earnest, N.I. Paton. Prevalence of and Risk Factors for Nasal Colonization with *Sthaphylococcus aureus* Among Human Immunodeficiency Virus- Positive Outpatients in Singapore *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:438-440.
 - 24 McAllister SK, Albrecht VS, Fosheim GE, Lowery HK, Peters PJ, Gorwitz R, Guest JL, Hageman J, Mindley R, McDougal LK,Rimland D, Limbago B.Evaluation of the Impact of Direct Plating, Broth Enrichment, and Specimen Source on Recovery and Diversity of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* among HIV-Infected Outpatients. *J Clin Microbiol*. 2011 Oct 12
 - 25 Ridley M. perineal carriage of *Staph. Aureus*. *Br. Med. J* 1959; 34 270-73.
 - 26 Rimland D, roberson B. gastrointestinal carriage of methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. In healthy women: *Ann intern med* 1992;115:51-60
 - 27 Birgit Strommenger, Christiane Kettlitz, Guido Werner, and Wolfgang Witte Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detection of Nine Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2003 September; 41(9): 4089–4094.
 - 28 Kepler A. Davis, Justin J. Stewart, Helen K. Crouch,Christopher E. Flórez, Duane R. Hospenthal Resistente a la meticilina *Staphylococcus aureus* (SARM) Nares Colonización al ingreso hospitalario y su efecto sobre la infección por SARM posterior. *Oxford Journals Medicina Clinical Infectious Diseases Volumen 39 , Número 6 Pp. 776-782.*
 - 29 J.S Villacian, T.Barkham, A.Earnest, N.I. Paton. Prevalence of and Risk Factors for Nasal Colonization with *Sthaphylococcus aureus* Among Human Immunodeficiency Virus- Positive Outpatients in Singapore. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:438-440
 - 30 M. Amir, J. Paul, B. Batchelor, S. Kariuki, J. Ojoo, R Waiyaki and C. Gilks. Nasopharyngeal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Carriage of Tetracycline-Resistant Strains Associated with HIV-Seropositivity. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1995, 14:34-40.
 - 31 Coello R, Glynn JR, Gaspar C, Picazo JJ, Fereres J. Risk factors for developing clinical infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) amongst hospital patients initially only colonized with SARM. *J Hosp Infect* 1997; 37:39–46.
 - 32 Vyas K, Hospenthal DR, Mende K, Crum-Cianflone NF. Recurrent community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in an HIV-infected person.
 - 33 A. Uche. Outcomes of SARM Bacteremia in HIV Infected Patients: ICAAC San Francisco Septiembre 2006. pg. 324 Abstract K-77
 - 34 Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. 2010. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement CLSI document M100-S20;Vol 29 No1

ANEXO 1

**COLONIZACIÓN POR *Staphylococcus aureus* EN UNA COHORTE DE
PACIENTES QUE ASISTEN A PROGRAMA VIH**

**Anexo 1. Registro del paciente
REGISTRO INDIVIDUAL DE PACIENTE - VIH**

Fecha: / /

Número de Encuesta:

Nombre Paciente: _____

Temperatura al momento de la toma: _____ °C

1. Edad:

2. Sexo: 0 masculino 1 femenino

4. Con que frecuencia asiste al control: días

4. Enfermedad crónica de base:

- (1) Insuficiencia renal moderada o severa (2) Enfermedad pulmonar crónica
(3) Enfermedad vascular periférica (4) Enfermedad hepática sin complicaciones con complicaciones
(5) Leucemia (6) Neoplasia sólida sin metástasis (7) con metástasis
(8) Endocarditis (9) Infecciones cutáneas

Otras _____

5. Durante los últimos seis (6) meses ha usted tenido alguna infección:

- Ocular Sistémica Dérmica
 Urinaria Respiratoria Nosocomial

6. Se encuentra tomando algún medicamento en estos momentos:

Si su respuesta es Sí por favor mencione cual(es): _____

Análisis De Laboratorio

1. Resultado del Cultivo:

- Fosas Nasales
Axila Izquierda
Axila Derecha

2. *Staphylococcus aureus*:

- Negativo SARM SASM

Colonización por *Staphylococcus aureus* en una cohorte de pacientes (VIH y Hemodiálisis) con riesgo de adquirir una infección. Caracterización fenotípica y molecular

**Pontificia Universidad Javeriana
Hospital San Ignacio
Universidad El Bosque**

Información sobre el Estudio

Lo invitamos a que haga parte del estudio de investigación titulado “Colonización por *Staphylococcus aureus* en una cohorte de pacientes con riesgo de adquirir una infección (VIH y Hemodiálisis) y en una población de individuos sanos. Caracterización fenotípica, genética y molecular” que estamos realizando la Universidad Javeriana, El Hospital San Ignacio y la Universidad El Bosque para determinar el riesgo que personas que como usted pueden tener de presentan infecciones causadas por el *Staphylococcus aureus*.

Su decisión de tomar parte en esto es enteramente voluntaria. Por favor lea este formulario de consentimiento cuidadosamente y haga cuantas preguntas considere, antes de decidir si quiere participar. Si usted decide participar podrá abandonar el estudio en cualquier momento sin perder algún beneficio que pudiera tener. El abandono del estudio tempranamente no afectará su cuidado médico presente o futuro.

Propósito del estudio

El propósito del estudio es realizar una caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* como portador en poblaciones de riesgo y saludable. Se tomarán muestras de diferentes lugares anatómicos del individuo participante y se cultivarán en medios microbiológicos para el aislamiento de un microorganismo llamada *Staphylococcus aureus*, al cual se le realizarán diferentes pruebas que nos permitirán conocer la susceptibilidad a diferentes antibióticos

Procedimiento del estudio

Usted será contactado por un profesional de la salud quien le entregará este formulario, una vez haya aceptado la participación en el estudio, entonces:

1. Toma de muestra: Se le tomarán muestras de cada una de las fosas nasales con un escobillón flexible, de este procedimiento usted sentirá una pequeña molestia en la nariz que se le pueden ver reflejadas en picazón y ganas de estornudar. Se le tomará muestras de cada una de sus axilas con un escobillón, este procedimiento no es invasivo y no representará mayor incomodidad para usted.
2. Encuesta: Usted contestará una serie de preguntas relacionadas con características sociodemográficas y clínicas, esta encuesta se realizará por un profesional de la salud capacitado.
3. Los resultados de esta investigación se le informarán a usted y a su médico tratante, de una forma oportuna.

4. Los resultados de investigación serán aplicados en las Líneas de Investigación: de las

diferentes entidades participantes, y como datos para las publicaciones que de ella surjan en un medio de divulgación estrictamente académico. En ninguno de los informes o publicaciones resultantes del proyecto de investigación se identificará el nombre del participante, con el fin de preservar en anonimato de su participación.

5. Los investigadores no obtendrán ningún beneficio económico de este proyecto sin su Consentimiento.

Intervenciones

Por ingresar al estudio no recibirá usted ningún examen o tratamiento diferente al estrictamente necesario para tratar la infección que lo aqueja.

Confidencialidad

Los resultados que se obtengan de este estudio y la información sobre el estado de salud del voluntario se mantendrán de manera confidencial respetándose en todo momento su identidad. Es necesario aclarar que la participación en el estudio no modificará la conducta médica ni el curso de la enfermedad; sin embargo, usted podrá conocer los resultados obtenidos en su muestra oportunamente

El consentimiento deberá ser firmado por usted o un familiar en caso de que usted no esté en condiciones físicas o mentales de expresar su consentimiento personalmente.

Los resultados del presente estudio permitirán proponer estudios de mayor envergadura que permitirán generar recomendaciones específicas de prevención, diagnóstico y tratamiento para el personal profesional de salud, las autoridades sanitarias y la comunidad en general con el propósito de disminuir el riesgo de infección por *Staphylococcus aureus*

Si tiene preguntas ahora, por favor hágala saber. Si tiene otras preguntas luego o desea saber los resultados del estudio debe contactar a la Dra. Marylin Hidalgo Investigadora en la Universidad Javeriana teléfono 3-20-83-20 extensión 4153.

Mi participación en este proyecto es de carácter voluntario, y en caso de no participar en él, esta decisión no afectará la relación médico – paciente.

Continuación

Consentimiento informado

N° _____

“Colonización por *Staphylococcus aureus* en una cohorte de pacientes con riesgo de adquirir una infección (VIH y Hemodiálisis). Caracterización fenotípica y molecular”

Yo, _____ como sujeto del estudio me comprometo a que toda la información que brinde será ajustada a la verdad.

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.

Se me ha explicado la naturaleza y el propósito de la investigación señalada y me ha informado de manera clara que puedo retirarme del estudio en cualquier momento y que recibiré trato igualitario si no participo.

Manifiesto que he sido informado sobre las normas éticas que regulan las investigaciones, que las muestras serán usadas exclusivamente para el propósito de la investigación y se manejará reservadamente los datos que se obtengan.

Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas sobre la investigación mencionada y estas han sido contestadas satisfactoriamente.

Manifiesto que he leído y comprendido perfectamente lo anterior. En constancia firmo a continuación.

Nombre: _____ Firma: _____

ANEXO 2

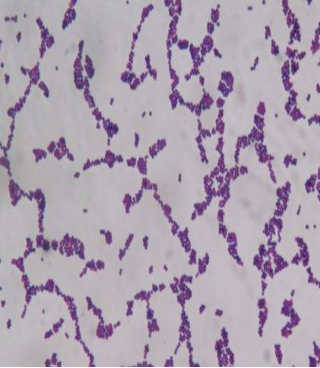


Aislamientos obtenidos de pacientes VHI del Hospital San Ignacio.

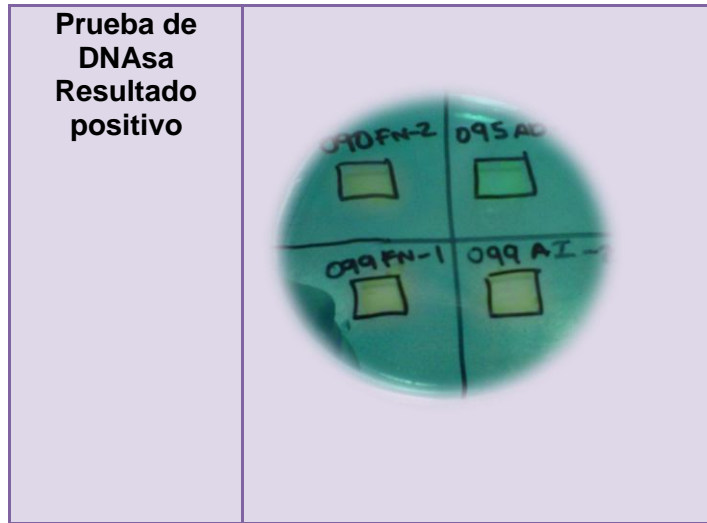
<i>Aislamientos obtenidos</i>				<i>Aislamientos obtenidos</i>			
N°	CODIGO	EDAD	SEXO	N°	CODIGO	EDAD	SEXO
1	036-AD2	30	M	33	131-FN1	24	F
2	037-FN1	39	M	34	133-FN1	30	M
3	043-FN1	40	M	35	136-FN1	32	M
4	043-AD2			36	143-FN1	39	M
5	045-FN2	31	M	37	144-FN1	31	M
6	047-FN2	34	M	38	164-AD1	27	M
7	050-FN2	36	M	39	172-FN1	38	M
8	052-AD1	27	F	40	173-FN1	31	M
9	052-FN3			41	179-AI1	26	M
10	054-FN1	32	M	42	195AD-1	25	M
11	057-FN1	40	M	43	206FN-1	29	M
12	063-FN1	30	M	44	211AI-1	35	
13	067-FN2	31	M	45	211FN-1		M
14	068-FN3	39	M	46	215AD-1	40	M
15	072-AD1	36	M	47	217AD-1	32	M
16	073-AD1	40		48	221AI-1	23	M
17	073-FN1		M	49	223FN-1	22	F
18	074-FN1	32	M	50	225AD-1	38	M
18	076-AD1	40	M	51	227AD-1	29	M
20	077-FN1	35	M	52	232FN-1	32	F
21	084-FN2	31	M	53	245FN-1	30	M
22	085-FN1	40	M	54	251FN-1	29	M
23	086-AI1	39	M	55	252FN-1	21	M
24	090-FN2	33	M	56	260AI-1	33	F
25	105-FN1	24	M	57	264FN-1	23	F
26	107-FN1	23	M	58	265FN-1	31	F
27	108-AD1	24	M	59	266FN-1	32	M
28	111-FN2	38	M	60	268AI-1	32	M
29	113-FN1	22	M	61	269FN-1	34	M
30	117-FN1	39	M	62	271FN-1	35	M
31	128-FN1	36	F	63	272FN-1	23	M
32	129-FN1	30	M	64	276FN-1	31	M

FN: FOSAS NASALES AD: AXILA DERECHA AI: AXILA IZQUIERDA

ANEXO 3

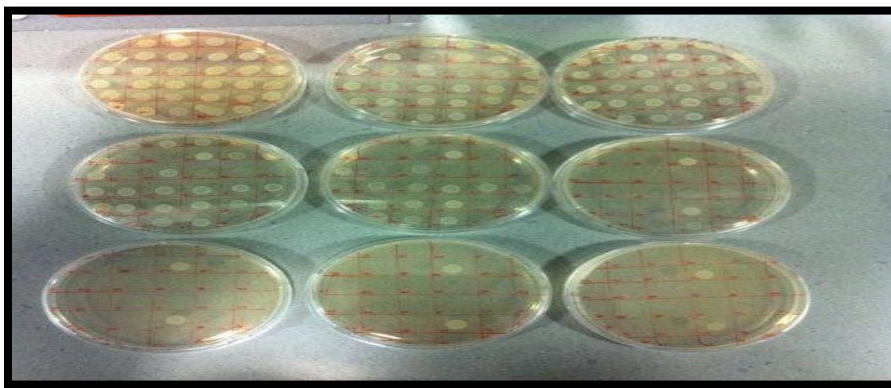
DESCRIPCIÓN	FOTOGRAFÍA
<p>Agar Salado Manitol con colonias redondas amarillas que hidrolizaron el manitol presente en el medio, generando su acidificación.</p>	 A petri dish containing a yellow agar medium. The surface is covered with a dense layer of small, round, yellow colonies. The agar has a slightly textured appearance. The label '086 AI' is written in black ink at the top of the dish.
<p>Agar Salado Manitol con colonias redondas de color rosado-fucsia que no hidrolizaron el manitol presente en el medio, por lo cual no hubo acidificación.</p>	 A petri dish containing a pink agar medium. The surface is covered with a dense layer of small, round, pink colonies. The agar has a smooth, slightly glossy appearance. The label '089 AI' is written in black ink at the top of the dish.
<p>Aislamiento de colonias manitol positivo y selección de las cepas a estudiar.</p>	 A petri dish containing agar that has been divided into several sectors by a sterile loop. Each sector contains a different color of agar, representing different bacterial strains or conditions. The colors include yellow, pink, and white. The label '086 AI' is written in black ink at the top of the dish.

<p>Coloración de Gram: cocos Gram positivos agrupados en cadenas</p>	
<p>Prueba de catalasa: se observan burbujas al emulsionar la colonia en la gota de peróxido, comprobando la presencia de la enzima catalasa.</p>	
<p>Prueba de coagulasa a resultado positivo en la formación de coagulo</p>	

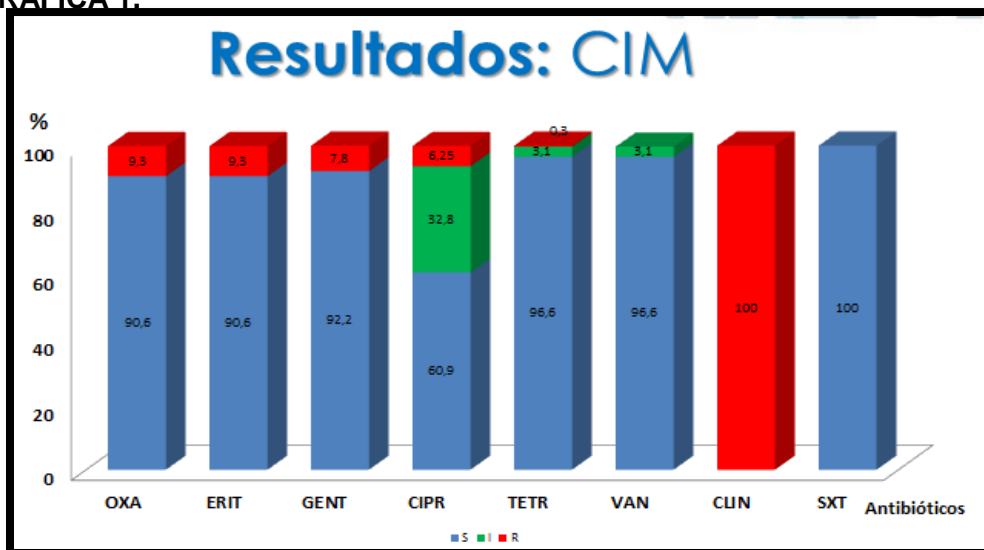


ANEXO 4.

Resultados de la microdilución para el antibiótico Oxacilina desde la concentración más diluida a la más concentrada



GRAFICA 1.



RESULTADOS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA

No	CEPA	OXA	Inter.	ERI	Inter.	GENT	Inter.	CIPRO	Inter.	TETRA	Inter.	CLIND	Inter.	TMSMZ	Inter.	VAN	Inter.
1	036-AD2	0,5	S	0,25	S	0,5	S	2	I	0,06	S	8	R	0,12	S	0,25	S
2	037-FN1	0,5	S	0,25	S	0,5	S	0,5	S	0,06	S	8	R	0,12	S	0,5	S
3	043-FN1	0,25	S	0,25	S	0,25	S	0,5	S	0,12	S	8	R	0,06	S	0,25	S
4	043-AD2	0,25	S	0,12	S	0,25	S	0,25	S	0,12	S	8	R	0,06	S	0,25	S
5	045-FN2	0,25	S	0,25	S	0,25	S	0,25	S	0,06	S	8	R	0,06	S	0,25	S
6	047-FN2	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	0,06	S	8	R	0,06	S	0,25	S
7	050-FN2	64	R	64	R	64	R	16	S	0,25	S	8	R	0,06	S	0,25	S
8	052-AD1	0,5	S	4	S	0,5	S	1	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
9	052-FN3	1	S	4	S	0,25	S	1	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
10	054-FN1	1	S	4	S	0,25	S	1	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
11	057-FN1	0,5	S	4	S	0,25	S	1	S	0,25	S	4	I	0,03	S	0,25	S
12	063-FN1	0,5	S	2	S	0,5	S	1	S	0,25	S	4	I	0,03	S	0,25	S
13	067-FN2	0,15	S	2	S	0,5	S	0,25	S	0,25	S	4	I	0,03	S	0,25	S
14	068-FN3	11	S	0,25	S	0,5	S	0,5	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
15	072-AD1	0,5	S	0,5	S	0,5	S	0,5	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
16	073-AD1	1	S	0,5	S	0,5	S	0,5	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,5	S
17	073-FN1	1	S	0,5	S	0,5	S	0,5	S	0,12	S	4	R	0,03	S	0,25	S
18	074-FN1	1	S	0,25	S	0,25	S	0,5	S	0,12	S	4	I	0,03	S	0,25	S
19	076-AD1	0,5	S	0,12	S	0,25	S	0,12	S	0,12	S	4	I	0,03	S	0,25	S
20	077-FN1	1	S	0,12	S	0,25	S	0,12	S	0,5	S	8	R	0,03	S	0,25	S
21	084-FN2	1	S	0,25	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	8	R	0,03	S	0,25	S
22	085-	0,5	S	0,25	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	8	R	0,03	S	0,25	S

	FN1																
23	086-AI1	64	R	64	R	64	R	16	S	8	I	32	R	0,06	S	0.5	S
24	090-FN2	1	S	4	S	0,5	S	2	I	2	S	8	R	0,03	S	0,25	S
25	105-FN1	1	S	0,12	S	0,25	S	2	I	2	S	8	R	0,03	S	0,25	S
26	107-FN1	1	S	0,25	S	0,25	S	2	I	2	S	8	R	0,03	S	0,25	S
27	108-AD1	1	S	0,25	S	0,25	S	2	I	2	S	8	R	0,03	S	0,25	S
28	111-FN2	2	S	0,12	S	0,5	S	2	I	2	S	8	R	0,03	S	0,25	S
29	113-FN1	2	S	0,12	S	0,5	S	2	I	1	S	32	R	0,03	S	0,25	S
30	117-FN1	2	S	0,25	S	0,25	S	0,5	S	1	S	32	R	0,03	S	0,25	S
31	128-FN1	2	S	1	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
32	129-FN1	0,1 2	S	0,25	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
33	131-FN1	0,1 2	S	1	S	0,5	S	2	I	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
34	133-FN1	0,2 5	S	1	S	0,5	S	2	I	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
35	136-FN1	0,2 5	S	0,5	S	0,25	S	2	I	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
36	143-FN1	0,5	S	2	S	0,25	S	2	I	0,12	S	8	R	0,03	S	0,25	S
37	144-FN1	0,5	S	2	S	0,25	S	2	I	0,12	S	8	R	0,03	S	0,25	S
38	164-AD1	0,5	S	4	S	0,5	S	2	I	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
39	172-FN1	0,5	S	4	S	0,25	S	0,5	S	0,25	SS	8	R	0,03	S	0,25	S
40	173-FN1	1	S	0,12	S	0,25	S	0,5	S	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
41	179-AI1	64	R	16	R	64	R	16	S	4	S	16	R	0,06	S	0.5	S
42	195AD-1	0,5	S	0,5	S	0,5	S	0,25	S	0,12	S	8	R	0,03	S	0,25	S
43	206FN-1	1	S	0,5	S	0,25	S	2	I	0,12	S	8	R	0,03	S	0,25	S
44	211AI-1	1	S	0,5	S	0,25	S	2	I	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
45	211FN-1	1	S	0,5	S	0,25	S	2	I	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S
46	215AD-	1	S	0,12	S	0,5	S	2	I	0,25	S	8	R	0,03	S	0,25	S

	1																
47	217AD-1	1	S	0,12	S	0,5	S	2	I	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
48	221AI-1	1	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
49	223FN-1	0,5	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
50	225AD-1	0,2 5	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
51	227AD-1	0,2 5	S	0,5	S	0,5	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
52	232FN-1	64	R	64	R	64	R	16	S	16	R	16	R	0,03	S	4	I
53	245FN-1	64	R	64	R	64	R	16	S	8	I	16	R	0,03	S	8	I
54	251FN-1	1	S	2	S	0,25	S	1	S	1	S	8	R	0,06	S	0,25	S
55	252FN-1	1	S	4	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,06		0,25	S
56	260AI-1	1	S	4	S	0,5	S	0,5	S	1	S	16	R	0,03	S	0,5	S
57	264FN-1	0,5	S	0,25	S	0,5	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
58	265FN-1	0,2 5	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
59	266FN-1	1	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
60	268AI-1	2	S	0,5	S	0,25	S	0,5	S	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
61	269FN-1	0,2 5	S	0,5	S	0,5	S	2	I	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
62	271FN-1	0,2 5	S	0,5	S	0,5	S	2	I	1	S	8	R	0,03	S	0,25	S
63	272FN-1	0,5	S	4	S	1	S	2	I	2	S	8	R	0,03	S	0,25	S
64	276FN-1	64	R	64	R	4	s	16	R	2	S	8	R	0,03	S	0,2	S
	ATCC 29213	0,5	S	1	S	1	S	0,12	S	0,25	S	1	S	0,12	S	0,25	S

Tabla 1. Puntos de corte de los antibióticos y la cepa control. Diluciones realizadas por cada antibiótico.

ANTIBIOTICO	puntos de corte			ATCC 29213	DILUCIONES PROBADAS
	S	I	R		
OXACILINA	≤2	-	≥ 4	0.12-0.5	64-0.03
ERITROMICINA	≤0.5	1-4	≥8	0.25-1	64-0.06
CIPROFLOXACINA	≤1	2	≥4	0.12-0.5	32-0.03
GENTAMICINA	≤4	8	≥16	0.12-1	64-0.06
TETRACICLINA	≤4	8	≥16	0.12-1	64-0.06
CLORANFENICOL	≤8	-	≥16	2-16	128-0.5
TRIMETHOPRIM	≤2/38	-	≥4/76	<0.25	64-0.03
SULFAMETOXAZOL				4.75	1216-0.6
CLINDAMICINA	≤0,05	1-4	≥8	<0.5	64-0.03
VANCOMICINA	≤2	4-8	≥16	<0.25	64-0.03

Tabla 2. Resultados CIM de las cepas *S. aureus* positivas

FN: Fosas nasales

AD: axila derecha

AI: axila izquierda

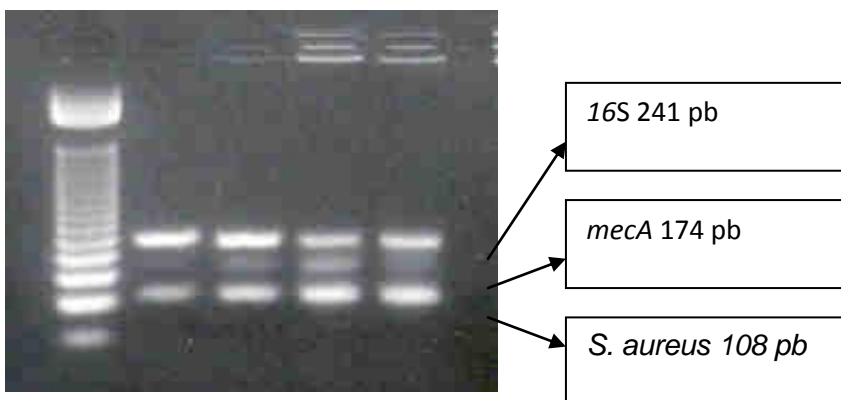
R: resistente

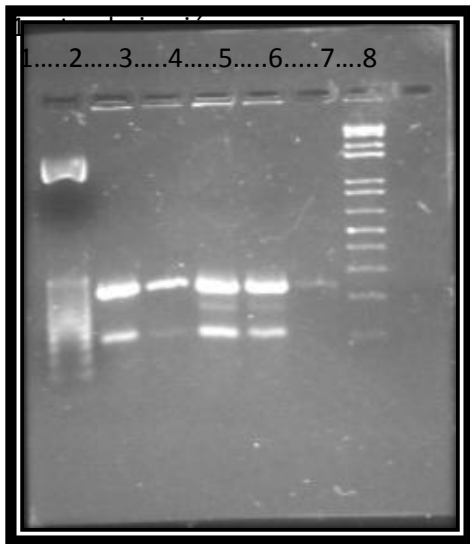
S: sensible

I: Intermedio

ANEXO 5.

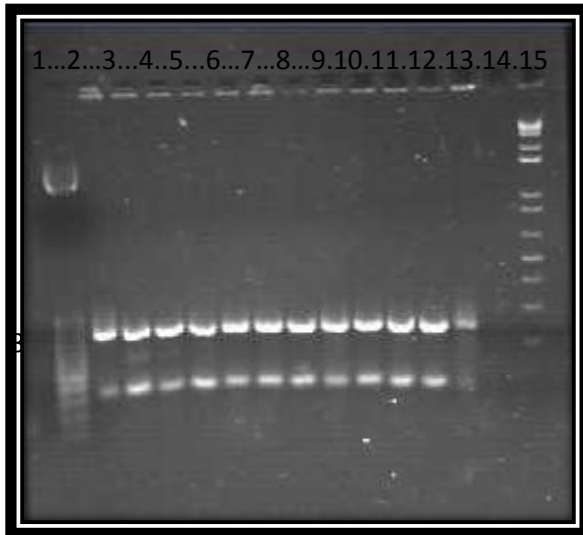
Resultados de la PCR múltiple.





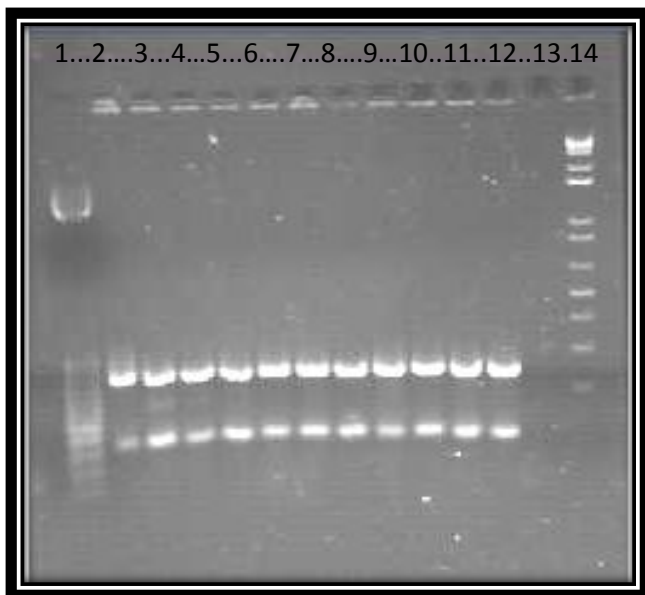
PCR estandarización

1. Mpm promega
2. ATCC 2943
3. ATCC *S. aureus*
4. MRST
5. SARM
6. Control negativo
7. Mpm clcuervo



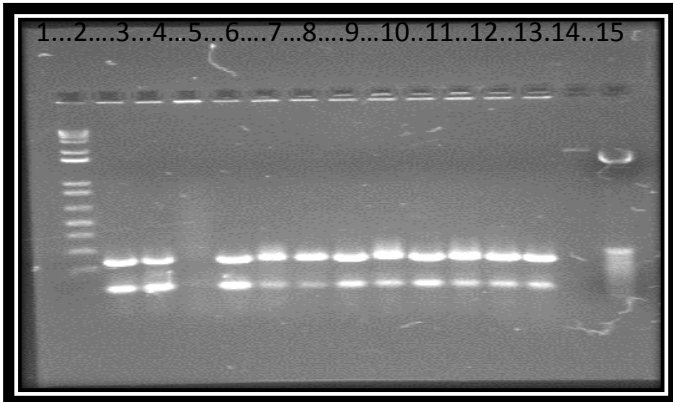
PCR: MUESTRAS

1. Mpm promega
2. ATCC 2943
3. MRST
4. SARM
5. 036 AD1
6. 037 FN1
7. 043 FN1
8. 043 AD2
9. 045 FN2
10. 047 FN2
11. 050 FN2
12. 052 AD1
13. 052 FN3
14. Control negativo
15. Mpm clcuervo



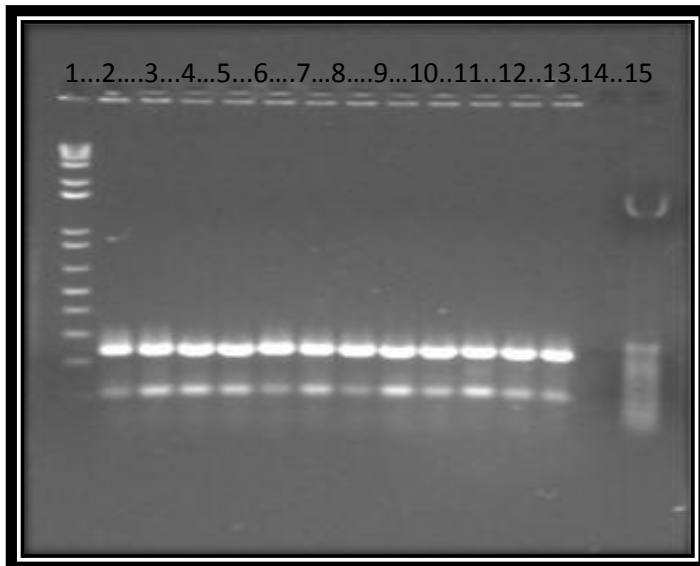
PCR: MUESTRAS

1. Mpm promega
2. ATCC 2943
3. MRST
4. SARM
5. 052 FN3
6. 054 FN1
7. 057 FN1
8. 063 FN1
9. 067 FN2
10. 068 FN3
11. 072 AD1
12. 072 AD1
13. Control negativo
14. Mpm clcuervo



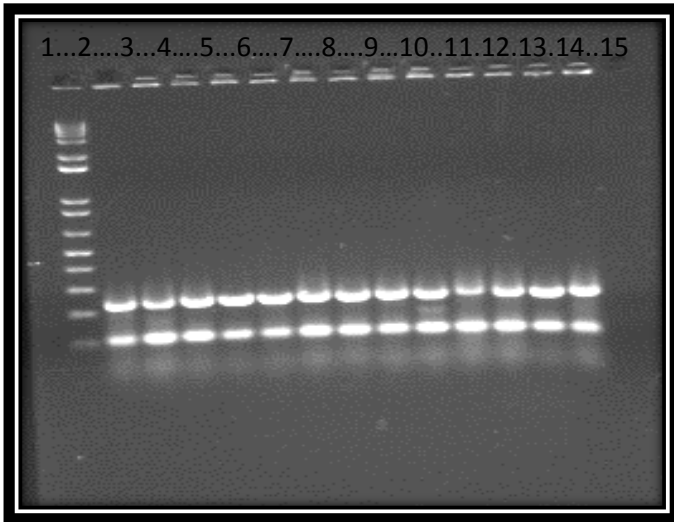
PCR: MUESTRAS

1. Mpm clcuervo
2. ATCC 2943
3. MRST
4. 073 AD1
5. 073 FN1
6. 074 FN1
7. 076 AD1
8. 077 FN1
9. 084 FN2
10. 085 FN1
11. **086 AI1**
12. 090 FN2
13. 105 FN1
14. Control negativo
15. Mpm promega



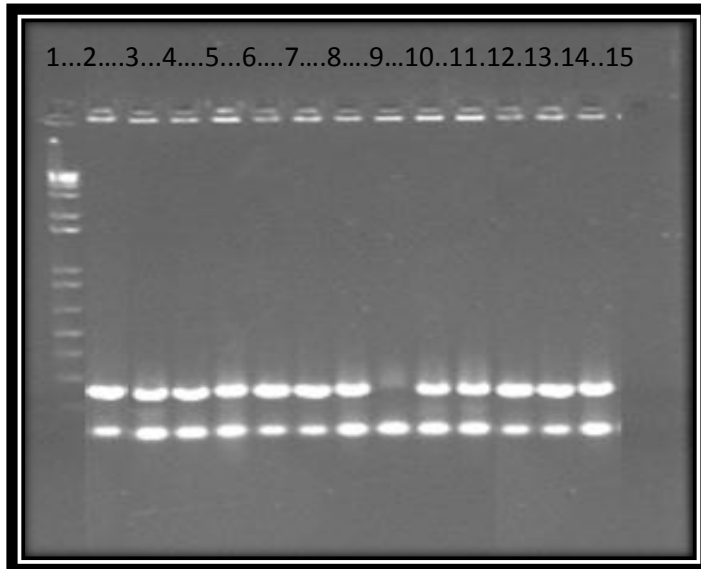
PCR: MUESTRAS

1. Mpm clcuervo
2. ATCC 2943
3. MRST
- 4.
5. 108 AD1
6. 111 FN2
7. 113 FN1
8. 117 FN1
9. 128 FN1
10. 129 FN1
11. 131 FN1
12. 133 FN1
13. 136 FN1
14. Control negativo
15. Mpm promega



PCR: MUESTRAS

1. Mpm clcuervo
2. ATCC 2943
3. MRST
4. 107 FN1
5. 143 FN1
6. 144 FN1
7. 164 AD1
8. 172 FN1
9. 173 FN1
- 10. 179 AI 1**
11. 195 AD1
12. 206 FN1
13. 211 AI1
14. 211 FN1
15. Control negativo



PCR: MUESTRAS

1. Mpm clcuervo
2. ATCC 2943
3. MRST
4. 215 AD1
5. 217 AD1
6. 221 AI1
7. 223 FN1
8. 225 AD1
9. 227 AD1
- 10. 232 FN1**
- 11. 245 FN1**
12. 251 FN1
13. 252 FN1
14. 260 AI1
15. Control negativo

