

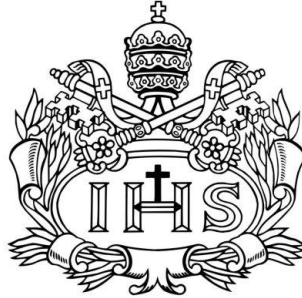


Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá



Grupo de investigación
enfermedades infecciosas

**FRECUENCIA Y PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE
Staphylococcus aureus AISLADAS EN UNA POBLACIÓN CON RIESGO DE
ENDOCARDITIS INFECCIOSA QUE ACUDE A CONSULTA ODONTOLÓGICA**



Presentado por:

VIDA DIANA SMITH MAY

Director: Dr. HUGO DIEZ ORTEGA, Ph.D

TRABAJO DE GRADO

**Presentado como requisito parcial para optar al título de
BACTERIÓLOGA**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA
BOGOTÁ D.C, MAYO DE 2013**



Facultad de Ciencias-Departamento de Microbiología



NOTA DE ADVERTENCIA

ARTICULO 23 DE LA RESOLUCION N° 13 DE JULIO DE 1946

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





DEDICATORIA

A Dios quien me ha guiado y me ha dado la fortaleza de seguir adelante, por ser mi padre y confidente y regalarme cada maravilloso día para cumplir cada una de mis metas.

A mis padres ÁNGELA MAY BRITTON y FRED REYES SMITH BERNARD, gracias por su apoyo, ejemplo, comprensión y apoyo he logrado alcanzar una de mis metas.

A mis hermanos ALEXANDER REYES SMITH MAY y JACK JAIME SMITH MAY, por sus consejos, apoyo y cariño que me brindan.

A mi novio por su amor, compañía, paciencia y comprensión.

A mis amigas, por ser mi guía y soporte en momentos difíciles.

A mis amigos y compañeros del laboratorio, por su acompañamiento y hacer más ameno el trabajo diario, por sus consejos y asesorías durante el desarrollo de este estudio.

A los profesores que me acompañaron y contribuyeron en el proceso de formación no solo académica sino para mi vida.

A todas aquellas personas especiales que me acompañaron en algún momento de mi vida, que aportaron para bien en mi vida, ayudándome a trascender en mi proyecto de vida.

Dedico esta tesis a todos aquellos que no creyeron en mí, a aquellos que esperaban mi fracaso en cada paso que daba hacia la culminación de mis estudios, a aquellos que nunca esperaban que lograra terminar la carrera, a todos aquellos que apostaban a que me rendiría a medio camino, a todos ellos les dedico esta tesis.

A todas las personas que participaron e hicieron posible este proyecto, muchas gracias por su apoyo y enseñanza.





AGRADECIMIENTOS

A Dios quien me ha dado la fortaleza de seguir adelante, por ser mi creador, el amigo que nunca falla y la luz que guía cada día mi camino.

A mi director el DOCTOR HUGO DIEZ ORTEGA por haber confiado en mí, por su paciencia, colaboración y consejos para la realización de este trabajo.

A la Doctora DIANA PATIÑO, Directora de la carrera de Bacteriología.

A la Doctora ADRIANA RODRÍGUEZ, mi par evaluador, por su colaboración, opiniones y comentarios en todo el proceso de elaboración de la tesis y sus atinadas correcciones.

AI CENTRO DE INVESTIGACIÓN ODONTOLÓGICO DE LA UNIVERSIDAD JAVERIANA quienes me dieron la oportunidad de pertenecer a su grupo de investigación en este gran macro proyecto, además, por la financiación de los materiales necesarios para hacer posible el estudio.

AI LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA ESPECIALIZADA, que aportaron materiales y además me facilitaron sus instalaciones y equipos para el desarrollo del proyecto.

A KARENT BELTRÁN por los consejos, el apoyo y el ánimo que me brindó.





FRECUENCIA Y PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* AISLADAS EN UNA POBLACIÓN CON RIESGO DE ENDOCARDITIS INFECCIOSA QUE ACUDE A CONSULTA ODONTOLÓGICA

RESUMEN

Introducción: Las bacterias del género *Staphylococcus* y dentro de ellas *Staphylococcus aureus* *meticilino resistente* (SAMR) en pacientes sometidos a tratamientos odontológicos invasivos es un factor de riesgo para el desarrollo de Endocarditis bacteriana (E.I), infección que cursa con alta morbimortalidad, y refractariedad a los antibióticos de elección utilizados en los protocolos odontológicos.

Objetivo: Establecer la frecuencia de SAMR en cavidad oral en un grupo de pacientes con riesgo de endocarditis que acuden a consulta odontológica.

Materiales y Métodos: 52 pacientes mayores de edad que asistieron al servicios de Cardiología y Estomatología del Hospital Central de la Policía Nacional durante el período abril-agosto 2012 y que cumplieron con el criterio de pacientes con alto riesgo de Endocarditis Infecciosa se les tomó muestra oral por técnica de barrido con hisopo para identificación microbiológica/perfil de resistencia antibiótica por MicroScan y aquellas muestras positivas para SAMR se extrajo ADN a partir de los cultivos para determinar la presencia del gen *mecA* por PCR convencional previa estandarización de las variables técnicas.

Resultados: De los 52 pacientes se identificó *E. faecalis* en 5.77%, *E.coli* en 3,85%, *K. pneumoniae* en 1,92%, *S. viridans* en el 50% y *Staphylococcus* en 38.46% de los cuales 15,38% fue SAMR, y se observó resistencia a Eritromicina 34.78%, Clindamicina 34.78%, Amoxicilina/Clavulánico 34.78%.

Conclusiones: El porcentaje de SAMR aislado es clínicamente significativo e infiere crear alternativas para controlar las tasas de portadores y conocer la resistencia de los antibióticos permite reevaluar los protocolos terapéuticos de prevención para E.I.





TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION.....	12
2. MARCO TEÓRICO.....	13
3. PROBLEMA Y JUSTIFICACION.....	17
4. OBJETIVOS.....	18
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	18
4.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	18
5. MATERIALES Y METODOS.....	19
5.1. Población estudio.....	19
5.2. Criterios de inclusión.....	19
5.3. Criterios de exclusión.....	20
5.4. Muestra.....	20
5.5. Transporte.....	20
5.6. Identificación microbiológica y perfil de resistencia.....	20
5.7. Extracción de ADN.....	22
5.7.1. Método de “boiling”.....	22
5.7.2. Método comercial.....	22
5.8. Estandarización de la técnica de amplificación del ADN por PCR.....	23
5.9. PCR para genes <i>mecA</i> , 16S y SA.....	24
5.9.1. Amplificación del DNA.....	25
5.9.2. Detección e Interpretación de los resultados.....	26
5.10. Conservación de las cepas.....	26
5.10.1. Conservación en solución salina.....	26
5.10.2. Conservación en glicerol al 30%.....	27
5.11. Análisis de resultados.....	27





6. RESULTADOS	27
6.1. Características de la población de estudio.....	27
6.2. Identificación fenotípica y prevalencia de <i>S. aureus</i>	30
6.3. Identificación y prevalencia de SAMR.....	31
6.4. Estandarización de PCR	35
6.5. Verificación del gen <i>mecA</i> , 16S y SA en las cepas SAMR	36
6.6. Determinación del fenotipo SAMR prevalente.....	38
7. DISCUSION	39
8. CONCLUSIONES	48
9. SUGERENCIAS	49
10. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	50



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporción de los componentes para PCR.....	24
Tabla 2. Secuencias de los iniciadores que amplifican los genes <i>mecA</i> , 16S y <i>S. aureus</i>	25
Tabla 3. Distribución de factores de riesgo en los pacientes.....	28
Tabla 4. Tratamientos odontológicos previamente realizados en los pacientes.....	29
Tabla 5. Profilaxis antibióticas previamente realizadas en los pacientes.....	30
Tabla 6. Perfil de resistencias de las cepas de <i>S. aureus</i> fenotipo BLAC.....	32
Tabla 7. Perfil de resistencias de las cepas de SAMR.....	33
Tabla 8. Perfil de resistencias de las cepas de <i>S. epidermidis</i>	34
Tabla 9. Características fenotípicas y genotípicas de las cepas controles.....	35
Tabla 10. Concordancia entre los métodos fenotípicos y resultados de la PCR.....	36
Tabla 11. Porcentaje de Sensibilidad y Resistencia de las cepas de <i>Staphylococcus</i> aisladas.....	38



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características de la población de estudio.....	28
Figura 2. Porcentaje de pacientes con sospecha de <i>Staphylococcus</i> spp.....	31
Figura 3. Porcentaje de pacientes con <i>Staphylococcus aureus</i> en la población de estudio.....	31
Figura 4. Porcentaje de SAMR aisladas de la población de estudio.....	31
Figura 5. Amplificación de los genes 16S, <i>S. aureus</i> y <i>mecA</i> por PCR.....	37





1. INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus (SA) es un coco Gram positivos habitante normal de la cavidad oral que cada día adquiere mayor importancia epidemiológica debido a las diferentes patologías que causa y a su alta resistencia a antibióticos betalactámicos (1). SA tiene dos fenotipos definidos de acuerdo al perfil de resistencia. El fenotipo SABLAC (*Staphylococcus aureus* productor de betalactamasas) y el fenotipo SAMR (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente). El papel e impacto de cada uno está definido y clínicamente caracterizado, más los protocolos odontológicos no contemplan medidas de prevención específicas para el microorganismo en los portadores del mismo y que van a ser sometidos a tratamientos odontológicos de carácter invasivo. Dada la resistencia de SAMR a Penicilina, Ampicilina, Ampicilina sulbactam y Oxacilina el tratamiento de elección son glucopéptidos. Sin embargo, la aparición de cepas de SAMR con sensibilidad intermedia a glucopéptidos hace hincapié en la necesidad de formular nuevas opciones terapéuticas que pueden incluir la vancomicina en combinación con otro antibiótico (2). La vancomicina tiene un gran efecto bactericida pero su uso para la comunidad extrahospitalaria está restringido, además que puede causar efectos colaterales y estimular resistencia. SAMR es una bacteria que se presentan en el ámbito de la comunidad extrahospitalaria y para poder establecer cambios en los protocolos odontológicos sobre el uso o no de determinado antibiótico es necesario verificar la presencia de SAMR y conocer su perfil de resistencia antibiótica (1). Actualmente existe en el mercado técnicas de detección de estos SAMR las cuales deben tener una alta sensibilidad y especificidad y ser de detección rápida (3). Los procedimientos moleculares que permiten detectar la presencia del gen *mecA* son considerados métodos gold standard frente a la identificación de los SAMR. En la actualidad se





emplean diferentes metodologías moleculares para este fin, sin embargo, muchas de ellas son de elevado costo y muy laboriosas, por lo que no son de utilidad diagnóstica para la clínica (4, 5, 6). Este estudio pretende determinar la frecuencia de aislamientos SAMR en pacientes que acuden a consulta odontológica y establecer el perfil de resistencia antimicrobiana en las cepas aisladas, con el fin de proponer medidas de control y prevención más eficaces en el momento de consulta y realización de procesos odontológicos.

2. MARCO TEÓRICO

El género *Staphylococcus* se compone de 35 especies y 17 subespecies, entre ellas cabe destacar por su importancia como agentes etiológicos de infecciones en humanos, los siguientes: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleferi*, *S. warneri*, y *S. saprophyticus*. *Staphylococcus aureus* es la especie más patógena y virulenta para el hombre. *Staphylococcus aureus* pertenece al género *Staphylococcus* de la familia *Micrococcaceae*, son cocos Gram positivos de 0,5 a 1µm de diámetro, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos, no forman esporas y generalmente no están capsulados (7).

S. aureus fue el primer microorganismo en poner de manifiesto la resistencia a los antimicrobianos y ser capaz de desarrollar múltiples mecanismos, intrínsecos o adquiridos, que le han ido confiriendo resistencia a la mayoría de los antimicrobianos adecuados para el tratamiento de la infección estafilocócica (7, 8).

En los primeros años de la década de 1940 se introduce de forma terapéutica la penicilina en el tratamiento de las infecciones





estafilocócicas. Poco tiempo después, se empiezan a describir aislamientos de *S. aureus* con resistencia a penicilina debido a la producción de betalactamasas. Durante la década de los años 1950, a medida que se iban adquiriendo resistencias a los antibióticos conocidos, se fueron introduciendo en la práctica clínica nuevos antibióticos. Así, en 1957, muchas cepas de SA presentaban resistencia múltiple a penicilina, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol y eritromicina (7). Estos aislamientos de SAMR presentan resistencia intrínseca a todos los β -lactámicos, incluidas las cefalosporinas y carbapenemes (9-11).

A finales de los años 80 se encuentran cepas de SA que combinan la resistencia a meticilina con la resistencia a otros grupos de antibióticos incluyendo cloranfenicol, tetraciclina, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas. Se han descrito diferentes tipos de mecanismos de resistencia de SA a los β -lactámicos, muchas veces relacionados entre ellos como son la resistencia mediada por β -lactamasas, fenómeno de tolerancia, bombas de flujo y resistencia a la meticilina (12, 13).

SA es un microorganismo que causa un gran espectro de infecciones que van desde sencillas infecciones piógenas en piel hasta bacteriemia complicadas, siendo estas últimas las que requieren tratamiento antibiótico y donde se presentan los mayores casos de refractariedad. Se considera que dentro del rango de infecciones que causan hay una elevada mortalidad en neumonía, síndrome de shock tóxico endocarditis y Endocarditis infecciosa (E.I). (7, 14, 15).





La E.I es un proceso fisiopatológico que incluye un grupo de infecciones cuya característica común es la invasión microbiana del endocardio valvular o mural debido a la colonización que realizan microorganismos circulantes que quedan atrapados en un agregado fibrinoplaquetar que se forma sobre una lesión endotelial (16). Cada una de estas infecciones tiene un carácter polimórfico dado que varía en sus aspectos epidemiológicos microbiológicos, clínicos, y terapéuticos debido principalmente a la etiología microbiana que la origina y a las características propias del huésped como es la naturaleza de la valvulopatía subyacente que favorece el proceso (17).

Tradicionalmente la E.I de origen odontogénico se ha relacionado con *S. viridans* como agente causal pero las últimas investigaciones muestran que otros microorganismos como *S. aureus* pueden alcanzar el torrente sanguíneo desde cavidad oral por los mismos procesos odontológicos invasivos. Estudios recientes han colectado estafilococos de las placas bacterianas dentarias tanto supra como subgingivales. La literatura actual muestra que las especies de estafilococos pueden ser colectadas frecuentemente del medio ambiente oral de niños y adultos, tanto en pacientes saludables como en los enfermos. Eso implica que ese sitio debe ser considerado como un medio potencial de propagación para locales distantes cuando otros medios evidentes sean eliminados (7).

SAMR es el agente etiológico principal de bacteriemia y en menor medida de endocarditis. La distinción entre bacteriemia y endocarditis no es fácil en muchas ocasiones, pero es esencial para el manejo de los pacientes. Aunque ambas infecciones son predominantemente nosocomiales, ocasionan una elevada morbimortalidad y tienen limitadas opciones terapéuticas, actualmente es frecuente aislar SAMR en la comunidad,





aspecto que implica mejorar las medidas de prevención en pacientes portadores de consulta externa con antecedentes o factores de riesgo para E.I pues potencialmente pueden llegar a desarrollar la enfermedad si no se toman las medidas de control pertinentes. El principal nicho ecológico de SA y de SAMR en humanos lo constituyen la cavidad oral y las fosas nasales anteriores, las cuales son fuentes potenciales de infección y un factor de riesgo elevado para subsiguientes infecciones invasivas. Se ha registrado que muchas de ellas ocurren en personas que están colonizadas con esta bacteria y ha sido demostrado que SA-SAMR en algunas ocasiones, puede tener una estrategia eficaz para evadir la respuesta inmune del hospedador y de esta forma sobrevivir en los tejidos, eludiendo la acción antibiótica y estableciendo así la infección crónica (19,20, 21).

SAMR, origina enfermedad por invasión directa o mediante la acción de toxinas. La patogenia de las infecciones incluye colonización, invasión epitelial o mucosa, neutralización de las defensas del huésped, destrucción tisular y respuesta inflamatoria local o generalizada. En las intoxicaciones la fase inicial es la colonización por una cepa toxicogénica, seguida por la producción de la toxina, su absorción y la aparición de la enfermedad. Los principales factores de virulencia de este microorganismo se basa en los componentes de su pared bacteriana, en la gran cantidad de enzimas y toxinas que produce y su capacidad, en determinadas circunstancias, de supervivencia intracelular (7, 18-20).

La rápida y precisa detección de SAMR es importante para guiar una apropiada terapia antibiótica y evitar la diseminación de éstas cepas. Errores en la detección de la meticilino resistencia tiene graves consecuencias, un resultado de falsa sensibilidad puede dar lugar a una





falla de tratamiento, y un resultado de falsa resistencia implica un alto costo por tener al paciente aislado y por el uso innecesario de glucopéptidos, con el consecuente riesgo de selección de resistencia a éste antibiótico (7, 18-20). Es necesario el empleo de sistemas para la detección de SAMR que tengan alta sensibilidad, especificidad y eficacia diagnóstica. Un método alternativo, rápido y eficaz, aunque no aplicable en la rutina, es la detección del gen *mecA* por métodos de amplificación mediante PCR (21). Este método tiene la ventaja de no estar sujeto a las condiciones del crecimiento de la cepa, pudiendo aplicarse a gran número de aislados y podría ser aconsejable en casos de duda con valores de CMI cercanas al límite (7, 18-21).

3. PROBLEMA Y JUSTIFICACION

Conocer la resistencia a antibióticos que presentan las bacterias de la cavidad oral, es el primer paso para implementar programas de salud oral que permitan prevenir la aparición de cepas resistentes, controlar portadores sanos y formular tratamientos que eviten futuros riesgos y disminuyan las tasas de morbimortalidad especialmente de la E.I. Dentro de los factores que a nivel oral contribuyen al desarrollo de resistencia en individuos sanos esta principalmente el uso inadecuado de antibióticos en las formulaciones clínicas, el uso no controlado de antibióticos como aditivo dentro de productos alimenticios e industriales y la colonización de bacterias resistentes facilitada por el saneamiento e higiene oral deficiente (22). La diseminación de organismos resistentes en cavidad oral aumenta el número de portadores sanos de estos microorganismos favoreciendo el desarrollo de diferentes patologías odontogénicas algunas de ellas graves como la mediastinitis, abscesos cerebrales, sepsis y E.I (23). El uso de





Amoxicilina y netilmicina como tratamiento de primera elección para las anteriores patologías está siendo reevaluado dado que cada vez aumenta la tasa de resistencia en flora comensal y transitoria de la boca como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Porphyromona gingivalis* entre otros (24). El aumento de portadores y los cambios en el perfil de resistencia de estos microorganismos entre ellos el SAMR pueden convertirse en un problema de salud pública. Poder detectar posibles portadores entre los pacientes que acuden a consulta se convierte en una alternativa más para controlar las tasas de infección por SAMR, y el conocer el perfil de resistencia de los antibióticos permite al odontólogo adoptar una conducta a seguir frente a los diversos tratamientos en cada una de las patologías (25).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué tan frecuente es la presencia de SAMR en un grupo de individuos con riesgo de endocarditis infecciosa que acude a consulta odontológica?

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

4.1.1. Establecer la frecuencia de SAMR en cavidad oral en un grupo de pacientes con riesgo de endocarditis infecciosa que acuden a consulta odontológica.





4.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- 4.2.1. Identificar Bioquímicamente SAMR en muestras de cavidad oral de pacientes con riesgo de endocarditis infecciosa que acuden a consulta odontológica.
- 4.2.2. Estandarizar una PCR múltiple para la detección simultánea de los genes 16S, *S. aureus* y *mecA* en SAMR.
- 4.2.3. Determinar la presencia del gen *mecA* en las cepas de SA aisladas de muestras de cavidad oral de pacientes con riesgo de endocarditis infecciosa que acuden a consulta odontológica.
- 4.2.4. Describir el fenotipo de resistencia presentado por los SAMR aislados en estos pacientes.

5. MATERIALES Y METODOS

- 5.1. **Población estudio:** Se seleccionó un grupo de 52 pacientes que acudieron a los servicios de Cardiología y Estomatología del Hospital Central de la Policía Nacional, entre los meses de abril de 2012 y agosto de 2012 y que cumplieron con los criterios de inclusión.
- 5.2. **Criterios de inclusión:** En el estudio se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años que acudieron a consulta odontológica y que cumplieron con los criterios de alto riesgo de Endocarditis Infecciosa, de acuerdo a la guía establecida por la AHA (26) (prótesis valvular, enfermedades cianóticas congénitas, ventrículo único, transposición de grandes vasos, endocarditis previa y valvulopatías quirúrgicas), así mismo, el paciente debió haber firmado el consentimiento informado, que fue aprobado por el Comité





de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Javeriana y el Comité de Ética del Hospital Central de la Policía Nacional.

- 5.3. Criterios de exclusión:** Se excluyeron del estudio pacientes con dificultad cognitiva, con alergias al algodón de los hisopos utilizados para la toma de la muestra y que no estuvieron de acuerdo con participar en el estudio. (26).
- 5.4. Muestra:** Se le tomo una muestra de mucosa a cada paciente por técnica de barrido con hisopo siguiendo los lineamientos establecidos por el manual de tomas de muestras microbiológicas de la secretaría distrital de salud, y de acuerdo al protocolo institucional establecido en la clínica (27). Dado que este trabajo estuvo enmarcado dentro de un macroproyecto, las muestras se tomaron en colaboración con los residentes de cirugía máxilo facial de la Facultad de Odontología Universidad Javeriana.
- 5.5. Transporte:** Siguiendo las indicaciones establecidas por las normas de bioseguridad y preservación de la secretaría distrital de salud para toma y transporte de muestras, estas se recolectaron en medio de transporte enriquecido para *Staphylococcus/Streptococcus* de cavidad oral (BHI con 30 % de glicerol y suplementado con oxacilina) y tubo adicional de tioglicolato prereducido, para su posterior embalaje y transporte al laboratorio de bacteriología especializada de la Universidad Javeriana en un período de tiempo inferior al límite crítico de 2 horas (28).





5.6. Identificación microbiológica y perfil de resistencia: A partir del medio preenriquecido, las muestras se sembraron en medio SMR (*Staphylococcus* Meticilino resistente) cromoagar y Agar sangre base tripticasa soya del cual se seleccionaron las colonias con las características morfológicas y tintoriales del Género *Staphylococcus*, colonias que posteriormente se identificaron por sistema automatizado MicroScan System de la casa Dade/MicroScan Pos ID PC33 el cual identifica el fenotipo mediante un panel de 32 pozos reactivos de sustratos para reacción bioquímica conformado por CV Cristal violeta – MS Micrococcus screen – NIT Nitritos – NOV Novobiacina – PGR B-d glucuronidasa – IDX Indol fosfatasa – VP Voges proskawer – OPT Optoquina – PHD fosfatasa – BE Bilis esculina – PYR Pirridolina – ARG Arginina – PGT Galactosidasa – URE urea – MAN Manitol – LAC lactosa – TRE Trehalosa – MNS Mannosa – NaCl Cloruro de sodio – SOR Sorbitol – ARA Arabinosa – RBS Ribosa – INU Inulina – RAF Raffinosa – BAC Bacitracina – PRV Piruvato, 6 pozos internos de control y un set de pozos de antibiótico con Aug Amoxicilina / clavulónico 4/2 ug – AM ampicilina 8 ug – A/S ampicilina sulbactan 16/8ug – CfxS Cefoxitin 4 ug – Cax Ceftriaxone 32 ug – Cp Ciprofloxacina 2 ug – Cd Clindamicina 4 ug– Dap Daptomicina 4 ug– E Eritromicina 4 ug – Gm gentamicina 8 ug – GmS gentamicina synercid 500 ug – Icd Clindamicina inducible 4/0.5 ug – Lvx Levofloxacin 4 ug – Lzd Linezolid 4 ug – Mxf Moxifloxacina 4 ug – Fd Nitrofurantoina 64 ug – Ox Oxacilina 2 ug – P Penicilina 8ug – Rif Rifampicina 2 ug – StS Estreptomina synercid 1000ug – Syn Synercid 2 ug – Te Tetraciclina 8 ug – T/S trimetropin sulfa 2/38 µg - Va Vancomicina 16 ug. Se realizaron pruebas confirmatorias manuales con cefoxitin en medio Mueller-Hinton agarizado con 4 %





NaCl y sensidisco de 6 $\mu\text{g/mL}$ incubándose a 35°C por 24 h, a las colonias SAMR (29).

5.7. Extracción de ADN: Se utilizaron dos métodos para la extracción de ADN, el método modificado de "boiling" o de Holmes y Quigley (30) y el método de comercial QIAamp® (31).

5.7.1. Método de "boiling": Las muestras se sembraron en medio BHI, se transfirieron las colonias frescas de 24-48 horas a un tubo eppendorf con 50 μL de agua destilada se mezclaron por vórtex durante 3 segundos y se incubaron a 95°C durante 10 minutos. (30).

5.7.2. Método comercial: La extracción de ADN se realizó según protocolo del kit comercial QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen). Las colonias frescas de 24-48 horas fueron centrifugadas a 7500 rpm durante 5 minutos, a continuación fueron resuspendidas en 180 μL de solución buffer (20 mg/mL de lisozima o 200 $\mu\text{g/mL}$ lisostafin; 20 mM Tris HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA, 1,2% Triton) y se incubaron durante 30 minutos a 37 °C. Posteriormente se añadieron 20 μL de proteinasa K y 200 μL de Buffer AL, se mezclaron por vórtex y se incubaron a 56 °C por 30 minutos, después durante 15 minutos a 95 °C y se mezclaron en vórtex por 15 segundos. Se centrifugaron los tubos de microcentrífugas de 1,5 mL para retirar las gotas del interior de la tapa (31).

Se añadieron 200 μL de Buffer AL a cada una de las muestras, se mezclaron por vórtex durante 15 segundos, se incubaron a





70 °C por 10 minutos y se centrifugaron. Se añadieron 200 µL de etanol (96-100%) a cada muestra, y se mezclaron en vórtex durante 15 segundos. Después de mezclar, se centrifugaron brevemente los tubos de microcentrifugas de 1,5 mL para eliminar residuos en el interior de la tapa (31). Se agregó a cada una de las mezclas anteriores (incluyendo el precipitado) a la columna QIAamp Mini sin mojar las paredes del tubo, se centrifugaron a 8000 rpm durante 1 minuto. Se colocaron a la columna QIAamp Mini en un tubo limpio de 2 mL, y se descartaron los tubos que contenían el filtrado (31). Se abrió con cuidado cada columna QIAamp Mini y se añadieron a cada tubo 500 µL de buffer AW1 sin mojar el borde; se centrifugaron a 8000 rpm por 1 minuto. Se colocó cada columna QIAamp Mini en un tubo limpio de 2 mL y se descartaron los tubos que contenían el filtrado. Se añadieron 500 µL de Buffer AW2 a cada tubo sin mojar el borde y se centrifugaron a 14.000 rpm durante 3 minutos (31). Finalmente, se colocaron las columnas QIAamp Mini en un tubo limpio de 1.5 mL y se descartaron los tubos con el filtrado. Se añadieron 200 µL de Buffer AE, se incubaron a temperatura ambiente durante 1 minuto, y luego se centrifugaron a 8000 rpm por 1 minuto. Se repitió el último paso y se llevaron a almacenar a -80 °C (31).

5.8. Estandarización de la técnica de amplificación del ADN por PCR:

Se siguió el protocolo propuesto por Martineau F *et al.*, (32) en el 2000 con modificaciones. Utilizando el ADN extraído de las cepas de SA se realizaron pruebas de optimización del sistema PCR multiplex





(32). Los protocolos de trabajo ensayados y las condiciones de trabajo se detallan en el anexo 1.

Tabla 1. Proporción de los componentes para PCR

Componentes	Volumen/muestra
Buffer	4 μ L
MgCl ₂	2 μ L
Primer Foward	0.5 μ L
Primer Reverse	0.5 μ L
dNTPs	0.25 μ L
Taq Polimerasa	0.2 μ L
Agua destilada	11.55
ADN	1 μ L
Volumen final	20 μ L

5.9. PCR para genes *mecA*, 16S y SA: Para realizar ésta técnica se utilizaron tres iniciadores, uno que es complementario del gen *mecA*, otro que es complementarios de una secuencia universal de DNA ribosomal (16S) y el de *Staphylococcus aureus* (Tabla 2). Como control positivo se empleó una cepa de SA resistente a meticilina ATCC 43300 y como control negativo una muestra que contiene la





mezcla maestra sin ADN (32). Las características de los iniciadores se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Secuencias de los iniciadores que amplifican los genes *mecA*, 16S y *S. aureus*

Gen a amplificar	Nombre del iniciador	SECUENCIA 5´ a 3´	Tamaño Amplificado
16S	Sentido	GGA GGA AGG TGG GGA TGA CG	241 pb
	Antisentido	ATG GTG TGA CGG GCG GTG TG	
<i>mecA</i>	Sentido	AAC AGG TGA ATT ATT AGC ACT TGT AAG	174 pb
	Antisentido	ATT GCT GTT AAT ATT TTT TGA GTT GAA	
<i>S. aureus</i>	Sentido	AAT CTT TGT CGG TAC ACG ATA TTC TTC ACG	108 pb
	Antisentido	CGT AAT GAG ATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA	

5.9.1. Amplificación del DNA

La reacción de amplificación del DNA se llevó a cabo con un equipo termociclador y con la enzima Taq DNA polimerasa recombinante (TucanTaq). En cada reacción bajo las siguientes





concentraciones: tampón de PCR 0,5 x, $MgCl_2$ a 2 mM, dNTPs a 200 μM y los iniciadores del gen *mecA* 0,5 μM , los iniciadores de SA a 0,5 μM y los iniciadores de rDNA 16S a una concentración de 0,25 μM . A la mezcla se le adicionaron 0,45 unidades de TaqDNA polimerasa y 1 μL del ADN molde y agua destilada hasta completar un volumen final de 20 μL (32).

Las condiciones para la amplificación fueron: 3 min a 96°C y luego 30 ciclos de 1 segundo a 95°C para la etapa de desnaturalización, 30 segundos a 55°C para la etapa de hibridación-extensión y posterior enfriamiento y conservación a 8°C hasta su uso (32).

5.9.2. Detección e Interpretación de los resultados

Los fragmentos de DNA amplificados se separaron mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2% en TBE 1x (0,9 M Tris, 0,9 M ácido bórico y 0,5 M EDTA pH 8,0) a 75-80 voltios durante 60 minutos. El gel se cargó con 7 μL de producto amplificado y 3 μL del marcador de peso molecular de 100 kb. La visualización de los amplificados se realizó sobre un transiluminador de luz ultravioleta (254 nm). Las cepas que tenían el gen *mecA*, en el producto de PCR se observaron mediante una banda de 174 pb (32).

5.10. Conservación de las cepas: Todas las cepas incluyendo los SAMR fueron conservadas y almacenada mediante dos métodos de conservación para estudios posteriores. Los métodos de conservación fueron en solución salina al 0,85% y en glicerol al 20%.





5.10.1. Conservación en solución salina: Se aisló cada cepa en medio enriquecido BHI, se preparó un inoculo bacteriano a partir de las colonias frescas de 24-48 horas con una turbidez similar al patrón 0,5 de la escala de McFarland, aproximadamente 10^8 UFC/mL. Se conservaron a temperatura ambiente.

5.10.2. Conservación en glicerol al 30%: Las cepas resistentes a amoxicilina se conservaron por el método de crioconservación a -80°C , en caldo BHI con 30 % de glicerol y suplementado con oxacilina.

5.11. Análisis de resultados: Los datos se tabularon en tabla Excel y siendo un estudio observacional descriptivo se sacaron los respectivos porcentajes para las variables de cada uno de los objetivos planteados.

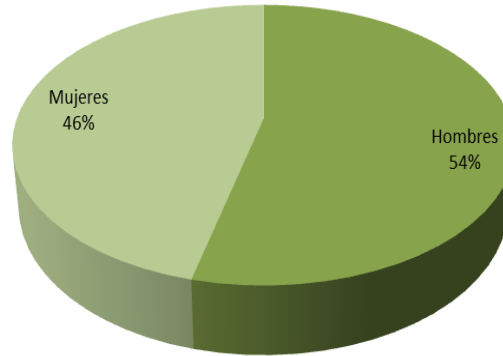
6. RESULTADOS

6.1. Características de la población de estudio

6.1.1. La población incluida en el estudio se caracterizó porque tenía una edad media de 59,4 años, ambos con rangos que iban entre 18 y 65 años, con un 54% (28), de varones y 46% (24) mujeres (Figura 1). De este grupo de pacientes el 61,5% (32) presentaban prótesis valvulares cardiacas, un 38,5% (20) refirieron valvulopatías posquirúrgicas, el 9,6% (5) reportaron historia previa de Endocarditis Infecciosa y el 3,8% (2) mencionaron



como antecedentes enfermedades congénitas con cianosis (Tabla 3).



**Figura 1. Características de la población de estudio –
Distribución por sexo**

Tabla 3. Distribución de factores de riesgo en los pacientes

Factor de riesgo	N° de pacientes	% de pacientes
Prótesis valvulares cardiacas	32	61,5%
Valvulopatías posquirúrgicas	20	38.5%
Historia previa de Endocarditis Infecciosa	5	9,6%
Enfermedades congénitas con cianosis	2	3,8%

De los tratamientos odontológicos previamente realizados un 65.4% (34 pacientes) se les realizó una técnica de anestesia



local, un 86,5% (45) se les ha realizado profilaxis dentales, el 11,5% (6) refieren tener tratamientos de conducto radicular, 1.9% (1) indica habersele realizado cirugía periodontal, al 19,2% (10) se les realizó técnica de anestesia intraligamentaria, 1,9 % (1) indica que se le colocó dique de goma como parte del procedimiento dental y el 61,1 % (33) refieren haber presentado como mínimo una exodoncia a través de su vida (Tabla 4).

Tabla 4. Tratamientos odontológicos previamente realizados en los pacientes

Tratamiento	N° de pacientes	% de pacientes
Anestesia local	34 pacientes	65.4%
Profilaxis dentales	45	86,5%
Tratamientos de conducto radicular	6	11,5%
Cirugía periodontal	1	1.9%
Anestesia intraligamentaria	10	19,2%
Colocación de goma como parte del procedimiento dental	1	1,9 %

Con respecto a la profilaxis antibiótica el 96,2% (50) de los pacientes refieren que recibieron terapia antibiótica con amoxicilina, mientras que el 17,3% (9) refieren haber tomado





clindamicina y 1,9 pacientes (1) indican que nunca recibió profilaxis antibiótica (Tabla 5).

Tabla 5. Profilaxis antibióticas previamente realizadas en los pacientes

Profilaxis	N° de pacientes	% de paciente
Amoxicilina	50	96,2%
Clindamicina	9	17,3%
Nunca recibió profilaxis antibiótica	1	1,9%

6.2. Identificación fenotípica y prevalencia de *S. aureus*

6.2.1. Para cumplir con el objetivo general del estudio se identificaron los SAMR por métodos semiautomatizado MicroScan Panel 33 y Panel 34 de los cuales 23 casos eran presuntivos para *Staphylococcus* requiriendo pruebas confirmatorias para SAMR (Figura 2).



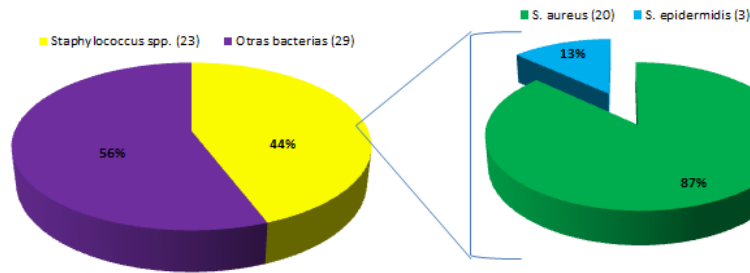


Figura 2. Porcentaje de pacientes con sospecha de Staphylococcus

Figura 3. Porcentaje de pacientes con Staphylococcus aureus en la población de estudio

6.3. Identificación y prevalencia de SAMR

6.3.1. Siendo el primer objetivo específico la identificación de *S. aureus* y específicamente SAMR se analizaron las bioquímicas del panel 33 encontrándose que de los 23 casos 3 correspondieron a *S. epidermidis* (13%), y 20 correspondieron a *S. aureus* (87%) los cuales fueron analizados para SAMR (Figura 3).

6.3.2. Para complementar el primer objetivo específico se analizó el perfil de resistencia de los 20 casos de *S. aureus* y de ellos se encontró que 12 (60%) eran fenotipo BLAC y 8 cepas (40%) correspondían al fenotipo SAMR. Los SAMR fueron confirmados por prueba manual cefoxitin 6 µg (Figura 4, Tablas 5, 6 y 7).

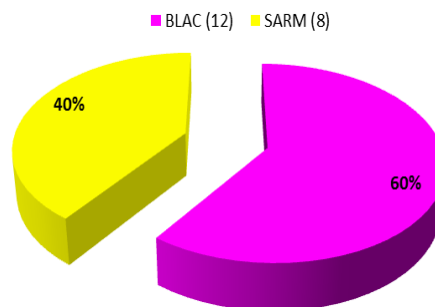


Figura 4. Porcentaje de SAMR aisladas de la población de estudio



Tabla 6. Perfil de resistencias de las cepas de *S. aureus* fenotipo BLAC

Antibiótico ($\mu\text{g/mL}$)	Cepas fenotipo BLAC											
	Cepa 80	Cepa 81	Cepa 82	Cepa 83	Cepa 84	Cepa 85	Cepa 86	Cepa 87	Cepa 88	Cepa 89	Cepa 90	Cepa 91
AMOX/CLAV (Aug)	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2	S \leq 4/2
AMP/SULBA (A/S)	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4	S \leq 8/4
AMPICILINA (Am)	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8
CEFTRIAXONA (Cax)	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8	S \leq 8
CIPROFLOXACINA (Cp)	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1
CLINDAMICINA (Cd)	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1
DAPTOMICINA (Dap)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5
ERITROMICINA (E)	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0
GENTAMICINA (Gm)	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0	S \leq 4,0
LEVOFLOXACINA (Lvx)	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0
LINEZOLID (Lzd)	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0
MOXIFLOXACINA (Mxf)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5
OXACILINA (Ox) CONFIRMADO POR CFOX	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25	S \leq 0,25
PENICILINA (P)	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8	R $>$ 8
RIFAMPICINA (Rif)	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1
SCRENING CFOX (CfxS)	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4	N \leq 4
SYNERCID (Syn)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5
TETRACICLINA (Te)	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4
TRIMETRO/SULFA (T/S)	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5
VANCOMICINA (Va)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S = 1	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S = 1	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5





Tabla 7. Perfil de resistencias de las cepas de SAMR

Antibiótico ($\mu\text{g/mL}$)	Cepas SAMR							
	Cepa 92	Cepa 93	Cepa 94	Cepa 95	Cepa 96	Cepa 97	Cepa 98	Cepa 99
AMOX/CLAV (Aug)	R >4/2	R >4/2	R >4/2	R >4/2	R >4/2	R >4/2	R >4/2	R >4/2
AMP/SULBA (A/S)	R >16/8	R >16/8	R >16/8	R >16/8	R >16/8	R >16/8	R >16/8	R >16/8
AMPICILINA (Am)	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8
CEFTRIAXONA (Cax)	R >32	R >32	R >32	R >32	R >32	R >32	R >32	R >32
CIPROFLOXACINA (Cp)	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1
CLINDAMICINA (Cd)	R >4	R >4	R 4	R >4	R >4	R >4	R >4	R 4
DAPTOMICINA (Dap)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5
ERITROMICINA (E)	R >4	R >4	R >4	R >4	R >4	R >4	R >4	R >4
GENTAMICINA (Gm)	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8
LEVOFLOXACINA (Lvx)	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4
LINEZOLID (Lzd)	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0	S \leq 1,0
MOXIFLOXACINA (Mxf)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5
OXACILINA (Ox) CONFIRMADO POR CFOX	R >2	R >2	R >2	R >2	R >2	R >2	R >2	R >2
PENICILINA (P)	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8	R >8
RIFAMPICINA (Rif)	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1	S \leq 1
SCREENING CFOX (CfxS)	P >4	P >4	P >4	P >4	P >4	P >4	P >4	P >4
SYNERCID (Syn)	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5	S \leq 0,5
TETRACICLINA (Te)	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4	S \leq 4
TRIMETRO/SULFA (T/S)	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5	S \leq 0,5/9,5





VANCOMICINA (Va)	S<=0,5	S = 1	S<=0,5	S<=0,5	S = 1	S<=0,5	S = 1	S<=0,5
-------------------------	--------	-------	--------	--------	-------	--------	-------	--------

Tabla 8. Perfil de resistencias de las cepas de *S. epidermidis*

Antibiótico ($\mu\text{g/mL}$)	Cepas <i>S. epidermidis</i>		
	100	101	102
AMOX/CLAV (Aug)	s <=4/2	s <=4/2	s <=4/2
AMP/SULBA (A/S)	S <=8/4	S <=8/4	S <=8/4
AMPICILINA (Am)	R >8	R >8	R >8
CEFTRIXONA (Cax)	S <=8	S <=8	S <=8
CIPROFLOXACINA (Cp)	S <=1	S <=1	S <=1
CLINDAMICINA (Cd)	S <=1	S <=1	S <=1
DAPTOMICINA (Dap)	S <=0,5	S <=0,5	S <=0,5
ERITROMICINA (E)	S <=1.0	S <=1.0	S <=1.0
GENTAMICINA (Gm)	S <=4,0	S <=4,0	S <=4,0
LEVOFLOXACINA (Lvx)	S <=1.0	S <=1.0	S <=1.0
LINEZOLID (Lzd)	S <=1,0	S <=1,0	S <=1,0
MOXIFLOXACINA (Mxf)	S <=0,5	S <=0,5	S <=0,5
OXACILINA (Ox) CONFIRMADO POR CFOX	S <=0,25	S <=0,25	S <=0,25
PENICILINA (P)	R>8	R>8	R>8
RIFAMPICINA (Rif)	S <=1	S <=1	S <=1
SCREENING CFOX (CfxS)	N<=4	N<=4	N<=4
SYNERCID (Syn)	S <=0,5	S <=0,5	S <=0,5
TETRACICLINA (Te)	S <=4	S <=4	S <=4
TRIMETRO/SULFA (T/S)	S <=0,5/9.5	S <=0,5/9.5	S <=0,5/9.5
VANCOMICINA (Va)	S<=0,5	S<=0,5	S<=0,5





6.4. Estandarización de PCR

Para cumplir con el segundo objetivo se emplearon como cepas control: *S. aureus* ATCC 25923 (meticilino sensible) y *S. aureus* ATCC 43300 (meticilino resistente), las características fenotípicas y genotípicas de estas cepas se describen en la tabla 9. Utilizando como referencia los protocolos de Martineau *et al.*, (32).

Se estandarizó una PCR múltiple para detectar los genes en una sola reacción. Para la estandarización se utilizó ADN de *S. aureus*, se probaron diferentes concentraciones de Buffer, Primer, MgCl₂, dNTPs y Taq Polimerasa quedando como óptimas aquellas que se detallan en materiales y métodos. Los productos de amplificación producidos por la PCR multiplex corresponden a los esperados, la amplificación de ambos genes empleando la cepa de *S. aureus* ATCC 25923 utilizada como control negativo no generó producto de amplificación (Figura 5).

Tabla 9. Características fenotípicas y genotípicas de las cepas controles*

Cepa	Característica de la cepa	Fenotipo (Oxa)	Genotipo (<i>mecA</i>)
ATCC 25923	MSSA	S	-
ATCC 43300	MRSA	R	+

SAMS: *S. aureus* meticilino sensible, SAMR: *S. aureus* meticilino resistente, S: sensible, R: resistente, Oxa: oxaciclina, (+): positivo, (-): negativo. *Modificado según Carpinelli *et al.*, 2012 (33)





Para determinar la aplicabilidad de la PCR múltiple, se analizaron 20 aislados de *Staphylococcus aureus* obtenidos a partir de muestras clínicas. El gen *mecA* se detectó en 8 (40%) aislados de *S. aureus*. Los resultados moleculares de detección del gen *mecA* tuvieron 100% de concordancia con los métodos fenotípicos de detección (Tabla 10).

Tabla 10. Concordancia entre los métodos fenotípicos y resultados de la PCR**

Especie	Fenotipo Oxa/fox	N° de aislados n (%)	Genotipo <i>mecA</i>
<i>S. aureus</i> BLAC	S	12 (60%)	-
SAMR	R	8 (40%)	+

Oxa: oxaciclina, fox: cefoxitina, S: sensible. R: resistente, (+): positivo, (-): negativo. **Modificado según Carpinelli *et al.*, 2012 (33)

6.5. Verificación del gen *mecA*, 16S y SA en las cepas SAMR

6.5.1. Para cumplir con el tercer objetivo a aquellas cepas SAMR se les extrajo el ADN y realizó PCR multiplex 16S *mecA* para confirmar la presencia del gen de resistencia y los resultados mostraron la presencia del gen en el 100% de las cepas clasificadas como SAMR con el disco de Cefoxitin.



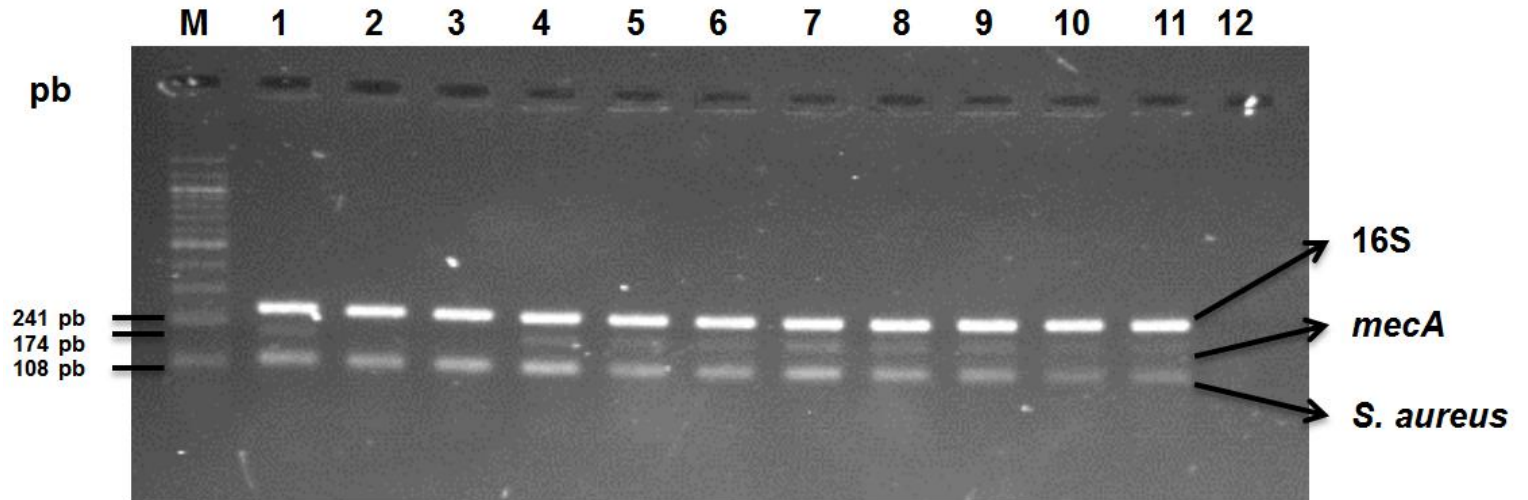


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 2 % de productos amplificados de *S. aureus*

M: Marcador de Peso Molecular; **Carril 1:** Control positivo *S. aureus* ATCC 43300; **Carril 2:** Control negativo *S. aureus* ATCC 25923; **Carril 3:** SASM (100); **Carril 4:** SAMR (92); **Carril 5:** SAMR (93); **Carril 6:** SAMR (94); **Carril 7:** SAMR (95); **Carril 8:** SAMR (96); **Carril 9:** SAMR (97); **10:** SAMR (98); **Carril 11:** SAMR (99); **Carril 12:** Control negativo (Mezcla sin ADN).



6.6. Determinación del fenotipo SAMR prevalente

6.6.1. Para cumplir con el cuarto objetivo específico se analizó individualmente el perfil de *Staphylococcus* en general y posteriormente el de las cepas SAMR.

Tabla 11. % de Sensibilidad y Resistencia de las cepas de *Staphylococcus* aisladas.

Antibiótico	% Resistente	% Sensible
AMOX/CLAV (Aug)	34.8	65.2
AMP/SULBA (A/S)	34.8	65.2
AMPICILINA (Am)	100	0
CEFTRIXONA (Cax)	34.8	65.2
CIPROFLOXACINA (Cp)	0	100
CLINDAMICINA (Cd)	34.8	65.2
DAPTOMICINA (Dap)	0	100
ERITROMICINA (E)	34.8	65.2
GENTAMICINA (Gm)	34.8	65.2
LEVOFLOXACINA (Lvx)	0	100
LINEZOLID (Lzd)	0	100
MOXIFLOXACINA (Mxf)	0	100
OXACILINA (Ox) CONFIRMADO POR CFOX	34.8	65.2
PENICILINA (P)	100	0
RIFAMPICINA (Rif)	0	100
SYNERCID (Syn)	0	100
TETRACICLINA (Te)	0	100
TRIMETRO/SULFA (T/S)	0	100
VANCOMICINA (Va)	0	100





6.6.2. Los resultados que muestran la tabla 11 nos indican que el 65.2% de las cepas SABLAC presentan el mismo perfil de resistencia y que el 34.8% que corresponde a los SAMR presenta el mismo perfil de resistencia.

6.6.3. Las 8 cepas SAMR como era de esperarse por ser meticilino resistentes fueron resistentes a Penicilina, Ampicilina, Ampicilina sulbactam y se observa que están acompañadas de un mismo tipo de resistencia a aminoglucósidos y Macrólidos y Lincosamidas.

7. DISCUSION

Staphylococcus aureus es el principal microorganismo causante de endocarditis infecciosa (34). La endocarditis por SA se ha caracterizado por tener una evolución de mal pronóstico especialmente en pacientes con antecedentes de drogadicción intravenosa y, en menor medida, en aquellos internados con catéteres intravasculares. Una de las complicaciones más devastadoras de la bacteriemia por este microorganismo es la endocarditis infecciosa, que en diferentes estudios oscila entre el 3% y el 25%, con una mortalidad elevada (19% al 65%) (35).

S. aureus, es el responsable de más del 80% de las endocarditis infecciosas debido a las moléculas que presentan en su superficie que provocan la adhesión al endocardio valvular (36, 37). En el caso particular de SA, el fibrinógeno y la fibronectina unidos a proteínas son poderosas adhesinas (FnBPA y FnBPB) implicadas en el proceso de colonización, infección valvular e invasión perivalvular (36, 38, 39). Durante muchos años, la E.I por SA se observó mayoritariamente en la comunidad, sobre todo en pacientes con drogadicción intravenosa; (39) en los últimos años,





debido fundamentalmente al aumento en la indicación de implantación de prótesis valvulares, marcapasos y desfibriladores, a la colocación de catéteres intravasculares y a otros procedimientos invasivos, el porcentaje de bacteriemia por SA tuvo un aumento sustancial en el ámbito hospitalario (40). En la Universidad de Emory en Argentina se observó un 70% de aumento de endocarditis infecciosa nosocomial por *S. aureus* debido a la utilización de dispositivos intravasculares (41). De hecho, en varias regiones del mundo, la E.I a causa de *S. aureus* ha superado a *S. viridans* como primer germen productor de la enfermedad (39). El presente estudio mostró datos que pueden ser considerados de alarma epidemiológica pues el 61.5% de los pacientes tenían prótesis valvular, 38.5% refirieron valvulopatías posquirúrgicas, 9.6% antecedentes de E.I y en un 38% fue aislado un microorganismo perteneciente al género *Staphylococcus*. Datos que sugieren implementar y mejorar las medidas de control en los procesos endodónticos.

La edad media de aparición de la endocarditis infecciosa ha cambiado de 30-40 años, a 47-69 años recientemente. Debido al incremento en el uso de sustancias ilícitas, la tendencia es hacia el aumento en la población más joven. La incidencia actual en este grupo es de 150-200 por 100.000 personas/año. En Colombia no se dispone de estudios epidemiológicos que permitan establecer la prevalencia de esta entidad en las diferentes regiones del país y el estudio realizado mostró que en los 52 pacientes analizados el promedio de edad fue de 59.4 años, muy similar al reportado en la literatura. Otras condiciones asociadas con el aumento en la endocarditis son: mala higiene dental, hemodiálisis, diabetes mellitus, infección por VIH, prótesis valvular, enfermedades cianóticas congénitas, ventrículo único y valvulopatías quirúrgicas (42, 45), aspectos que fueron





detectados en el grupo de pacientes analizados donde adicionalmente a los factores de riesgo ya mencionados se encontró que el 3.8% tenían antecedentes de enfermedades congénitas con cianosis.

El nicho ecológico principal de SA en humanos lo constituyen las fosas nasales anteriores, reconocidas como una fuente potencial de infección y factor de riesgo elevado para subsecuentes infecciones invasivas (15). Se ha reconocido que muchas de las infecciones por SA ocurren en personas que están colonizadas con la bacteria (43, 44), desconociéndose las razones por las que la bacteria coloniza solo del 30% al 40% de los individuos en la población general (43). Estos porcentajes se ven reflejados en el presente estudio donde la técnica de barrido e hisopado se logró identificar el microorganismo en un 38.5%.

Detectar en los *Staphylococcus* patrones de resistencia como SAMR es un paso importante para las medidas de control y prevención que se deben tener con estos pacientes. Adicionalmente se sabe que antibiogramas efectuados por métodos manuales como Kirby Bauer y métodos semiautomatizados como MicroScan están sujetos a resultados falsos positivos ya sea por sobreexpresión de la bacteria y sobrecrecimiento por mal control del inóculo, razón por la cual los métodos moleculares son básicos para validación de resultados con fines epidemiológicos y de prevención en salud. En Colombia los estudios moleculares han estado enfocados hacia infección intrahospitalaria y no hacia la infección adquirida en la comunidad. Es así como el primer estudio publicado de caracterización molecular de SAMR se llevó a cabo entre 1996 y 1998, como parte de una estrategia global de vigilancia de la resistencia, con muestras de hospitales de Bogotá y Manizales. En ese trabajo la tipificación





molecular mostró que todos los aislamientos compartían propiedades idénticas a las de un solo clon, el denominado Clon pediátrico, que había sido descrito en los años 90 en Europa, Nueva York y Sur América. Sin embargo, los aislamientos de Colombia diferían del Clon pediátrico en su amplia resistencia a muchos medicamentos y en que provenían de pacientes de todas las edades (46).

En el año 2005, Cruz y colaboradores (47) evaluaron 200 muestras de SAMR recolectadas entre 2001 y 2003, provenientes en su mayoría de hospitales de Bogotá y Cali (48% y 45%, respectivamente); estos autores no detectaron el Clon pediátrico, sino solamente el denominado Clon chileno. Este fue el primer reporte de dicho clon en Colombia, lo cual, según los autores, indicaba un cambio en la población genética de SAMR en el país (48). En otras capitales, como Medellín, que tienen hospitales de alta complejidad, solo se conoce un estudio longitudinal, llevado a cabo por Vesga y colaboradores (49) en el Hospital Universitario San Vicente de Paúl (HUSVP), entre los años 1987 y 1993. En ese trabajo se demostró, por métodos fenotípicos, resistencia a la penicilina en el 100% de las cepas de SA analizadas y resistencia a la meticilina en el 10%; de estas últimas, el 60% fueron de SAMR adquirido en la comunidad (49).

Las infecciones causadas por SA han tenido cambios epidemiológicos importantes que se han involucrado en las decisiones sobre las estrategias terapéuticas a seguirse. Anteriormente fueron tratadas con éxito con antibióticos betaláctamicos, pero SA desarrolló resistencia a éstos permitiendo el aislamiento de SAMR, que principalmente fue casi exclusivo de infecciones nosocomiales, pero recientemente ha logrado trasladarse a la comunidad aislándose como SAMR asociado a la comunidad (SAMR-AC)





(50). El Grupo de Microbiología Molecular de la Universidad de Antioquia inició un estudio dirigido a caracterizar clínica, molecular y epidemiológicamente las cepas de SAMR, tanto de origen hospitalario como de la comunidad; hasta la fecha, los resultados sugieren la aparición de cepas de AC- SAMR en el ambiente hospitalario, tal como se ha observado en Bogotá (datos no publicados). Otro estudio hecho recientemente por este grupo, documentó la presencia de SAMR colonizando las manos en población general (51). En la actualidad la SAMR ha aumentado considerablemente en los hospitales de mediana y alta complejidad, y se encuentran porcentajes de resistencia superiores al 40% (52). Igualmente estudios realizados por la Fundación Clínica A. Shao (Colombia) en pacientes hospitalizados con diagnóstico de E.I, pacientes entre 9 meses y 83 años, fue identificado como agente causal más frecuente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus viridans*, predominio de casos en el sexo masculino con relación al femenino y compromisos cardiovasculares de mayor frecuencia es la válvula aortica seguida de la válvula mitral (53).

Existen estudios que han demostrado una baja prevalencia de SAMR en pacientes sometidos a tratamientos odontológicos y que su frecuencia en nariz y/o garganta de pacientes dentales es baja e indica pocas oportunidades de exposición (54). Trabajos realizados a la fecha muestran que *S. aureus* sigue siendo la causa más común de endocarditis en válvula nativa y en dispositivos protésicos. En este sentido, estudios realizados por University College London Hospital, en un análisis retrospectivo reportaron la presencia de SA en 47 pacientes (26%), y de estos, 12 (25.5%) tuvieron alteración en la válvula tricúspide, patología que puede desencadenarse si el paciente tiene como factor de riesgo de E.I la presencia de una prótesis





aórtica o una prótesis valvular como sucede con los pacientes de nuestro estudio en el cual fue detectada la presencia del microorganismo (55). El presente estudio mostró un 15.4% de SAMR, porcentaje inferior a lo reportado en otros trabajos pero muy significativo dado que existen más de 60% de factores de riesgo asociados y coherente con informes internacionales los cuales indican que hay una variación considerable en la prevalencia de SAMR entre países y hospitales, incluso dentro de una misma región (56).

La presencia de SAMR en pacientes con E.I o riesgo de la misma complica la formulación de terapia antibiótica preventiva dado que los SAMR pueden presentar resistencia acompañada de otros antibióticos como Eritromicina y Clindamicina que son de uso odontológico, y usar Vancomicina se constituye en un riesgo dado que este año en Marzo del 2013 salió el primer informe de *Staphylococcus* resistente a Vancomicina y con el fin de evitar que se empiece a generar microorganismos VISA (Vancomicina intermedio) el uso del antibiótico se está restringido para infecciones adquiridas en la comunidad. Sin embargo, en Colombia, el uso de antibióticos no está regulado, es indiscriminado y muchas veces inadecuado, por lo que las condiciones son ideales para el desarrollo de la resistencia; por ello, la situación en este país es preocupante. La prevalencia de SAMR asociada al ambiente hospitalario es alta y aumenta cada vez en la comunidad, es poco lo que se sabe sobre su epidemiología y aún menos sobre el comportamiento en la comunidad (46, 47, 49). Lo anterior pone de presente la necesidad de trabajar localmente en este campo para poder conocer la magnitud real de la prevalencia de SAMR y la dinámica de su transmisión. Una mayor comprensión de la epidemiología molecular de SA posibilitará el establecimiento de medidas eficientes en el





manejo racional de las infecciones que produce, lo cual mejorara las condiciones de salud de la población (48).

De manera adicional en el 15.4% de cepas que fueron SAMR se analizó el perfil antimicrobiano de las cepas encontrándose que el 100% de ellas presentó un perfil idéntico para resistencia antibiótica lo cual sugiere que en estos pacientes está circulando solo un tipo de Clon más llama la atención y es preocupante la resistencia observada con Eritromicina y Clindamicina dado que estos antibióticos son empleados como segunda opción en algunos protocolos odontológicos lo cual hace necesario dar a conocer esta información porque se deben replantear los tratamientos preventivos.

En este estudio se analizaron un total de 52 cepas aisladas de pacientes que acudieron a los servicios de Cardiología y Estomatología del Hospital Central de la Policía Nacional, entre los meses de abril de 2012 y agosto de 2012 y que cumplieron con los criterios de inclusión. De éstas, 23 (44%) correspondían a *Staphylococcus* spp. y 29 (56%) de otras bacterias; la presencia de SAMR (15.4%) fue confirmada por métodos bioquímicos, perfil de antibióticos, pruebas manuales y moleculares. La confirmación de la resistencia a meticilina se realizó en todas las cepas una vez que éstas estuvieron identificadas bioquímicamente y se conocía su sensibilidad antibiótica a través de discos de Cefoxitin 30ug. Posteriormente, la técnica utilizada para confirmar la presencia del gen *mecA* fue la técnica de PCR.

Las cepas que tienen el gen *mecA*, en el producto de PCR se observaron con una banda de 174 pb (Figura 5). Los controles internos de amplificación se visualizaron como una banda de 241 pb que corresponde a 16S y una banda de 108 pb que corresponde a *S. aureus*, estas bandas debieron





estar presente en todas las reacciones para que la técnica se pudiera validar. Debido al gran aumento que se ha producido en los últimos años en la resistencia a los antibióticos utilizados con mayor frecuencia en los tratamientos de las infecciones estafilocócicas se requiere una detección precoz y eficaz de los mecanismos implicados, para así poder orientar e incluso modificar las estrategias terapéuticas (57).

Con este trabajo se logró estandarizar de forma eficiente un sistema de PCR múltiple para la detección simultánea de los genes 16S, *S. aureus* y *mecA*, disminuyendo de esta manera el costo y tiempo comparado con la confirmación manual, pues la prueba molecular da los datos el mismo día, y se estandarizó tanto a partir de ADN como de cultivos directos. Varios autores han desarrollado técnicas de PCR para la detección de estos genes que utilizan ensayos en forma separada o PCR multiplex con métodos comerciales de extracción, o técnicas de PCR en tiempo real, con lo que aumentan los costos y la complejidad de la técnica dificultando su aplicación en diversos laboratorios de nuestro país (58-60).

Los métodos de extracción de ADN utilizados son sumamente sencillos y prácticos, no requieren la utilización de reactivos costosos ni tóxicos y pueden ser realizadas en un tiempo relativamente corto. Se han reportado diferentes métodos de extracción que requieren la utilización de enzimas líticas como lisostafina y solventes orgánicos como fenol-cloroformo (61,62). Esta investigación es similar a la de Perez-Roth y *et al.*, (63) que reportó un método aún más práctico realizado a partir tan solo de una colonia, no encontrando diferencias con los otros métodos descritos (63).

Mc CLure *et al.*, (64) en el 2006, desarrollaron una técnica de PCR multiplex





para la detección simultánea de los genes *mecA* y *pvl*, este grupo de investigadores utilizaron como control interno la amplificación de una región del gen 16S rRNA. Otros autores han utilizado otras secuencias blanco específicas para la identificación de *S. aureus* como los genes *nuc* y *femB* (63,67, 66).

Dado que uno de los problemas epidemiológicos es la incongruencia entre datos fenotípicos y moleculares, se realizó un análisis de concordancia entre los resultados obtenidos por Cefoxitin confirmatorio y molecular *mecA* encontrándose un 100% de concordancia entre las dos técnicas. Estos difieren de algunos reportados por grupos de investigación de Dinamarca y del Reino Unido que reportaron en el 2011, nuevos homólogos del gen *mecA*, que presentan diferencias en la secuencia de ADN y que no son detectables por métodos moleculares descritos con anterioridad (67, 68). Por este motivo sería importante analizar la presencia y secuencia de un homólogo del gen *mecA* en aquellos casos en que no se observe concordancia, o buscar otros mecanismos de resistencia como la hiperproducción de betalactamasa (68, 69, 70).

La eliminación de SAMR en los portadores, como medida de control, podría disminuir la tasa de infecciones por éste. Una forma de eliminación sería por medio de la aplicación local de antibióticos. Dentro de las alternativas que no involucren vancomicina para evitar la generación de VISA está la mupirocina, antibiótico que inhibe la síntesis proteica, se aplica por vía intranasal para la eliminación nasal SA (71). Doebbeling *et al.*, refieren que la aplicación de mupirocina dos veces al día por cinco días consecutivos en trabajadores de la salud eliminó la portación en el 91% de los portadores nasales permanentes y, al cabo de cuatro semanas, el 87% de éstos





permanecía libre de SA (72). Se realizó seguimiento a un subgrupo y a los seis y 12 meses de la aplicación de la mupirocina la tasa de portación fue de 48% y 53%, respectivamente. En el mismo estudio, no se encontró resistencia a la mupirocina, aunque la literatura ha reportado resistencia (73). Consideramos que esta propuesta es viable si se ajusta y discute en las clínicas de odontología de la facultad.

Finalmente, podemos establecer que SAMR sigue siendo un riesgo para el desarrollo de infecciones como la E.I y sería necesario cambiar la terapia antibiótica betalactámica ya que este tipo de antibióticos son utilizados rutinariamente y no servirían para manejar este tipo de infección.

8. CONCLUSIONES

La frecuencia de aparición de cepas de SAMR en pacientes odontológicos con alto riesgo para E.I se sitúa dentro de los niveles de emergencia declarados para estas cepas, lo cual nos alerta que hay que seguir una vigilancia estricta a este patógeno. Todas las cepas SAMR resultaron resistentes a betalactámicos, Clindamicina, y Eritromicina.

El porcentaje de SAMR aislado es clínicamente significativo e infiere crear alternativas para controlar las tasas de portadores y conocer la resistencia de los antibióticos permite reevaluar los protocolos terapéuticos de prevención para E.I.

La técnica de PCR multiplex descrita en este trabajo es una herramienta útil en la confirmación de aislados de SAMR. Representa una herramienta útil para ayudar en la identificación temprana de cepas de SAMR, en donde la





identificación rápida y precisa es un paso importante para controlar la diseminación; además es una técnica relativamente sencilla capaz de detectar varios genes en una sola reacción y puede ser aplicada a cualquier laboratorio de biología molecular.

9. SUGERENCIAS

Es importante realizar más estudios sobre la existencia en cavidad oral de SAMR y su susceptibilidad antibiótica utilizados más frecuentes como medida profiláctica de elección en pacientes con riesgo alto a endocarditis en Colombia, para que de esta manera se identifiquen y se evalúen las mejores estrategias terapéuticas y preventivas para la E.I.

Es necesaria la implementación de métodos alternativos para la identificación de cepas SAMR. De la misma manera, el método optimizado debe permitir una identificación a nivel de género en un tiempo mínimo, factor que se traduce en una mayor eficiencia a la hora de tomar decisiones terapéuticas.

La técnica de PCR optimizada para la detección de SA a partir del ADN extraído debe permitir obtener resultados de una manera ágil y segura, metodología que se podría extender a otro tipo de matrices humanas y géneros bacterianos y así llegar a tener análisis más rápidos y eficientes.





10. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Gudiol F, Aguado J, Pascual A, Pujol M, Almirante B, Miro JM, Cercenado E, Dominguez M, Soriano A, Rodriguez J, Valle J, Palomar M, Tornosm P, Bouza E. Documento de consenso sobre el tratamiento de la bacteriemia y la endocarditis causada por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(2):105–115.
2. Pavie J, Lefort A, Zarrouk V, Chau FO, Garry L, Leclercq R, Fantin B. Efficacies of Quinupristin-Dalfopristin Combined with Vancomycin In Vitro and in Experimental Endocarditis Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Relation to Cross-Resistance to Macrolides, Lincosamides, and Streptogramin B Type Antibiotics. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Sept. 2002;46(9):3061–3064.
3. García S, Alcaraz A, Bennani A. Técnicas para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el laboratorio de microbiología clínica. *Actualidades* 2005.
4. Huygens F, Nimmo G, Schooneveldt J, Munckhof W, Giffard P. Genotyping of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Assaying for the Presence of Variable Elements Associated with *mecA*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3093-107.
5. Trindade P, Mcculloch J, Oliveira G, Mamizuka E. Molecular Techniques for MRSA Typing: Current Issues and Perspectives. *BJID* 2003; 7: 32-3.
6. Shopsin B, Kreiswirth B. Molecular Epidemiology of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7: 323-6.
7. Fosch S, Yones C, Trossero M, Grosso O, Nepote A. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2012;46(1):59-67.
8. Mensa J, Barberán J, Llinares P, Picazo J, Bouza E, Álvarez F, Borges





- M, Serrano R, León C, Guirao X, Arias J, Carreras E, Sanz M, García J. Rev Esp Quimioter. 2008;21(4):234-258.
9. Borraz Ordas C. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de "*Staphylococcus aureus*" aisladas en hospitales españoles. [Tesis Doctoral]. Universidad de Barcelona. Departamento de Patología y Terapéutica Experimental; 2006.
 10. Chu VH, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Pappas PA, Jones P, Stryjewski ME, Et al. The International Collaboration On Endocarditis-Pro prospective Cohort Study Group. Coagulase-negative staphylococcal prosthetic valve endocarditis—a contemporary update based on the International Collaboration on Endocarditis: prospective cohort study. Heart. 2009;95:570–576.
 11. Herigon J, Hersh A, Gerber J, Zaoutis T, Newland J. Antibiotic management of *Staphylococcus aureus* infections in US children's Hospital, 1999-2008. Pediatrics. 2010;125:1294-1300.
 12. Albert Cabrera Marco J. Estafilococo aureus meticillin resistente. Un reto en la terapia antimicrobiana. 2007. Medicina interna, Farmacología, Microbiología y Parasitología.
 13. Canalda C, Pumarola J, Berastegui E. Actualización en endodoncia. Endodoncia 2009;27(3):139-157.
 14. Frank Kristi L, Del Pozo L, Patel R. From Clinical Microbiology to Infection Pathogenesis: How Daring To Be Different Works for *Staphylococcus lugdunensis*. Clinical Microbiology Reviews. Jan. 2008;21(1):111–133.
 15. Camarena JJ, Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control de calidad SEIMC. 2010. [citado 2013 Mayo 06]; Disponible en: <http://www.seimc.org/control/revisiones/bacteriologia/sarm.pdf>.





16. Porth, Carol Mattson. Fisiopatología salud-enfermedad: un enfoque conceptual. Editorial medica panamericana. 7 ed. 2006. Pág: 558-559.
17. Almirante A B, Miró J. Infections associated with prosthetic heart valves, vascular prostheses, and cardiac pacemakers and defibrillators. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2008; 26(10):647-664.
18. Gomes B, Pinheiro E, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C, Souza-Filho F. Microbial Analysis of Canals of Root-filled Teeth with Periapical Lesions Using Polymerase Chain Reaction. *Journal of endodontics*. 2008;34(5):537-540.
19. Fortes C, Espanha C, Bustorff F, Zappa B, Ferreira A, Barbosa R, Gonçalves N, Fowler V, Deshmukh H. First Reported Case of Infective Endocarditis Caused by Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Not Associated With Healthcare Contact in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2008;12(6):541-543.
20. Arce Z, Asalde R. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del centro integral de salud de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo- Chiclayo 2009. *Rev. cuerpo méd. HNAAA* 2012;5(1):33-35
21. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 29:2240-2244.
22. Rodriguez NA, Cisneros CR, Velasco OE, Llamas C JM, Tórres LD, Segura EJ. Antibiotic use by members of the Spanish Endodontic Society. *J Endod*. Sep.2009;35(9):1198-203.
23. Maruyama F, Kobata M, Kurokawa K, Nishida K, Sakurai A, Nakano K, et al. Comparative genomic analyses of *Streptococcus mutans* provide insights into chromosomal shuffling and species-specific content *BMC Genomics*. 2009; 10(358).





- 24.** Klimiene I, Ruzauskas M, Spakauskas V, Matusevicius A, Mockeliūnas R, Pereckiene A, Butrimaite-Ambrozeviciene C, Virgailis M. Antimicrobial resistance patterns to beta-lactams of gram-positive cocci isolated from bovine mastitis in Lithuania. *Pol J Vet Sci.* 2011;14(3):467-72.
- 25.** Morras, E. Profilaxis de la Endocarditis Infecciosa en la Consulta Odontológica. *Normas Actuales de la Asociación Americana del Corazón. Acta odontol. Venez.* 2002;40(3):301-304.
- 26.** Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, Lockhart PB, Baddour LM. Prevention of Infective Endocarditis. Guidelines From the American Heart Association. A Guideline From the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation. Journal of the American Heart Association.* Circulation published online Apr 19, 2007. [citado 2013 Mayo 06]; Disponible en: [www:http//circ.ahajournals.org](http://circ.ahajournals.org).
- 27.** SDS. Toma de muestras dentales en Secretaría Distrital de Salud. *Consenso en toma de muestras microbiológicas.* 2008:49-52.
- 28.** Thomson BR, Miller M. Specimen collection, transport, and processing: Bacteriology. *Manual of clinical microbiology.* 8th ed. 2003.
- 29.** Koneman E, Allen S. *Diagnostico microbiológico texto y atlas color.* 5 ed. Madrid, España: Editorial médica panamericana; 1999. p795-796.
- 30.** Holmes D &, Quigley M. A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Anal. Biochem.* 1981;114:193-197.
- 31.** QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. Second Edition. 2007. [citado 2013 Mayo 06]; Disponible en:





http://dna.uga.edu/docs/QIAamp_DNA_Mini_and_Blood_Mini_Handbook%20%28Qiagen%29.pdf.

- 32.** Martineau F, Picard F, Lansac N, Menard C, Roy P, Ouellette M, Bergeron M. Correlation between the Resistance Genotype Determined by Multiplex PCR Assays and the Antibiotic Susceptibility Patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 2000;44 (2):231–238.
- 33.** Carpinelli A, Guillén F, Fariña N, Basualdo W, Aquino R. PCR múltiple para la detección simultánea de los genes *mecA* y *pvl* en *Staphylococcus* spp. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, Vol. 8(1) Junio 2012: 5-13.
- 34.** Ardanuy C, Cercenado E, Morosi M, Torres C. Detección Fenotípica de Mecanismos de Resistencia en Grampositivos. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Madrid: La Sociedad; [citado 2013 Mayo 06]; 2011. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap39.pdf>
- 35.** Fowler VG Jr, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Abrutyn E, Rubinstein E; ICE Investigators. *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. *JAMA* 2005;293:3012-21.
- 36.** Moreillon P, Que YA. Infective endocarditis. *Lancet* 2004;363:139-49.
- 37.** Que YA, Haefliger JA, Piroth L, Francois P, Widmer E, Entenza JM, et al. Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis. *J Exp Med* 2005;201:1627-35.
- 38.** Petti CA, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis. *Infect Dis Clin North Am* 2002;16:413-35.





39. Fowler VG Jr, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Abrutyn E, Rubinstein E; ICE Investigators. Staphylococcus aureus endocarditis: a consequence of medical progress. JAMA 2005;293:3012-21.
40. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. Clin Infect Dis 1999;29:239-44.
41. Steinberg JP, Clark CC, Hackman BO. Nosocomial and community-acquired Staphylococcus aureus bacteremias from 1980 to 1993: impact of intravascular devices and methicillin resistance. Clin Infect Dis 1996;23:255-9.
42. Montoya E, Amador M. Endocarditis bacteriana. [citado 2013 Mayo 06]; Disponible en: http://www.aibarra.org/Apuntes/criticos/Guias/Infecciosos/Endocarditis_bacteriana.pdf.
43. Jaramillo EL. Resistencia bacteriana a los antibióticos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital de Caldas, 1992-1994. Colombia Médica. 1996;27:69-76.
44. Londoño J, Ortiz G, Gaviria A. Prevalencia de Staphylococcus aureus resistente a metilina en personal de la unidad de terapia intensiva de la Clínica Universitaria Bolivariana, Medellín 2004. Infectio. [citado 2013 Mayo 06]; 2006;10(3):160-6. Disponible en: http://www.revistainfectio.org/site/Portals/0/volumen10_3/PREVALENCIA%20DE%20STAPHYLOCOCCUS%20AUREUS%20RESISTENTE%20A%20METICILINA.pdf
45. Mendoza C, Echegaray J, De Los Ríos J, et al. Staphylococcus aureus metilino resistente (MRSA): colonización y susceptibilidad en pacientes y personal de salud de un hospital de referencia. Diagnóstico. [citado 2013 Mayo 06]; 2001; 40(3):149-56. Disponible en:





<http://www.fihudiagnostico.org.pe/>

46. Gomes A, Sanches I, Aires de Sousa M, Castaneda E, de Lencastre H. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Colombian hospitals: dominance of a single unique multidrug-resistant clone. *Microb Drug Resist* 2001; 7: 23–32.
47. Cruz C, Moreno J, Renzoni A, Hidalgo M, Reyes J, Schrenzel J, et al. Tracking methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Colombian hospitals over 7 years (1996–2003): emergence of a new dominant clone. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 457–462.
48. Jiménez Quiceno Judy Natalia, Correa Ochoa Margarita María. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. *Iatreia* [revista en la Internet]. 2009 Jun [citado 2013 Mayo 06]; 22(2): 147-158. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932009000200006&lng=es.
49. Vesga O, Toro JM. Sepsis por *Staphylococcus aureus*: estudio descriptivo de 61 casos. *Acta Med Colomb* 1994; 19: 116–124.
50. Corne P, Marchandin H, Jonquet O, Campos J. and Bañuls A. Molecular Evidence that Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* Plays a Role in Respiratory Tract Infections of Critically Ill Patients. *Clin Microbiol.* 2005; 43(7): 3491–3493.
51. Jiménez JN, Correa M, Rúa A, Zapata M, Riaño R, Báez P, et al. Detección molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) colonizando manos de individuos de la población general. *Infectio* 2008; 12: 73.
52. Ospina S, comunicación personal, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, 2008.
53. Echeverría R, Rozo J, Jaramillo C, Rodríguez C. Características





epidemiológicas de la endocarditis infecciosa en la Fundación Clínica A. Shaio entre 1994-2001. *Revista Colombiana de Cardiología*. 2002. 10, Pág 59-63

54. Zimmerli M, Widmer A, Dangel M, Filippi A, Reno F, Meyer J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among dental patients: a problem for infection control in dentistry *Clin Oral Invest* 2009; 13:369–373.
55. Wallace M, Walton I, Kharbanda K, Hardy R, Wilson P, Swanton R H. Mortality from infective endocarditis: clinical predictors of outcome. *Heart* 2002; 88: 53- 60.
56. Zetola N, Francis J, Nuermberger E, Bishai W. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 275–186.
57. David M, Daum R. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010;23(3):616-687.
58. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991 Oct; 29(10):2240-44.
59. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Pantón-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 1999 Nov; 29(5):1128-32.
60. Kolman S, Arielly H, Paitan Y. Evaluation of a Single and double-locu real-time PCR assays for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) surveillance. *BMC Res Notes* (revista en Internet) 2010 [citado 2013 Mayo 06]; 3:110. Disponible en:





<http://www.biomedcentral.com/1756-0500/3/110>.

61. DeBuyser ML, Morvan A, Grimont F, EISolh N. Characterization of *Staphylococcus* Species by Ribosomal RNA Gene Restriction Patterns. *J Gen Microbiol* 1989 Apr;135(4):989-99.
62. Oliveira D, DeLancastre H. Multiplex PCR Strategy for Rapid Identification of Structural Types and Variants of the mec Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(7):2155-61.
63. Pérez-Roth E, Claverie-Martín F, Villar J, Méndez-Alvarez S. Multiplex PCR for Simultaneous Identification of *Staphylococcus aureus* and Detection of Methicillin and Mupirocin Resistance. *J Clin Microbiol* 2001 39(11): 4037-41.
64. McClure J, Conly JM, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, et al. Novel multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Panton-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from -resistant staphylococci. *J Clin Microbiol* 2006 Mar;44(3):1141-4.
65. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *J Clin Microbiol* 1992 30:1654-60.
66. Shopsin B, Gomez M, Waddington M, Riehman M, Kreiswirth. Use of coagulase gene (coa) repeat region nucleotide sequences for typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 2000 38:3453-6.
67. Shore AC, Deasy EC, Slickers P, Brennan G, O'Connell B, Monecke S, et al. Detection of Staphylococcal Cassette Chromosome mec Type XI Carrying Highly Divergent mecA, mecI, mecR1, blaZ, and ccr Genes in





- Human Clinical Isolates of Clonal Complex 130 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011 Ago;55(8):3765-73.
- 68.** García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* (revista en Internet) 2011 [citado 2013 Mayo 06]; 11(8):595-603. Disponible en: <http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2811%2970126-8/fulltext>.
- 69.** Kaiser T, Pacheco F, Avelino A, Pereira E, Netto K, Ferreira A. Avaliação de métodos comumente usados em laboratórios para a determinação da suscetibilidade à oxacilina entre amostras de *Staphylococcus* sp, isoladas de um hospital de Vitória, Estado do Espírito Santo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* 2010;43(3):298-303.
- 70.** Batista N, Gutierrez I, Lara M, Laich F, Méndez S. Evaluación del método de difusión en disco de 30µg de cefoxitina en la detección de resistencia a metilina en aislamientos seleccionados de *Staphylococcus aureus*. *Rev Esp Quimioter* 2008;21(4):213-6.
- 71.** Echavarría J, Iglesias D. Estafilococo metilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Med Hered*. 2003;14(4):195-203.
- 72.** Doebbeling BN, Reagan DR, Pfaller MA, et al. Longterm Efficacy of Intranasal Mupirocin Ointment: A Prospective Cohort Study of *Staphylococcus aureus* Carriage. *Arch Intern Med*. 1994;154(13):1505-8.
- 73.** Coates T, Bax R, Coates A. Nasal decolonization of *Staphylococcus aureus* with mupirocin: strengths, weaknesses and future prospects. *J Antimicrob Chemother*. 2009;64(1):9-15.





Anexo 1. PCR multiplex

Las concentraciones de los reactivos utilizados en la PCR multiplex para la detección de los genes *mecA*, 16S y SA se detallan en la siguiente tabla:

Reactivos	Concentración	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
Buffer	0.5 X	2	2	0.2	0.3	5	4	4	4	4			
MgCl₂	2 mM	1.6	0.4	0.4	2	2	2	2	2	2			
Primer Foward	S. aureus (0.5 μM), <i>mecA</i> (0.5 μM) y rDNA 16S (0.25 μM)	0.5	16S	0.2	0.2	0.4	0.75	16S	0.2	0.3	<i>mecA</i>	0.2	0.5
			<i>mecA</i>	0.2							SA	0.2	
			SA	0.2									
Primer Reverse		0.5	16S	0.2	0.2	0.4	0.75	16S	0.2	0.3	<i>mecA</i>	0.2	0.5
			<i>mecA</i>	0.2							SA	0.2	
			SA	0.2									
dNTPs	200 mM	0.2	0.16	0.16	0.16	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25			
Taq Polimerasa	0.45 Unidades	0.09	0.25	0.25	0.25	0.25	0.2	0.2	0.2	0.2			
Agua destilada	-----	14.1 1	15	17.59	15.49	15	12.15	11.95	11.75	11.55			
ADN	-----	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
Volumen final	-----	20	20	20	20	25	20	20	20	20			





ANEXO 2
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE LOS AUTORES
(Licencia de uso)

Bogotá, D.C., Enero 13 de 2014

Señores

Biblioteca Alfonso Borrero Cabal S.J.

Pontificia Universidad Javeriana

Cuidad

Los suscritos:

Vida Diana Smith May, con C.C. No 40993162

En mi (nuestra) calidad de autor (es) exclusivo (s) de la obra titulada:
FRECUENCIA Y PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE
Staphylococcus aureus AISLADAS EN UNA POBLACIÓN CON RIESGO DE
ENDOCARDITIS INFECCIOSA QUE ACUDE A CONSULTA ODONTOLÓGICA
(por favor señale con una “x” las opciones que apliquen)

Tesis doctoral Trabajo de grado Premio o distinción: Si No

Cual: Mención de Honor, presentado y aprobado en el año 2013, por medio del presente escrito autorizo (autorizamos) a la Pontificia Universidad Javeriana para que, en desarrollo de la presente licencia de uso parcial, pueda ejercer sobre mi (nuestra) obra las atribuciones que se indican a continuación, teniendo en cuenta que en cualquier caso, la finalidad perseguida será facilitar, difundir y promover el aprendizaje, la enseñanza y la investigación.





En consecuencia, las atribuciones de usos temporales y parciales que por virtud de la presente licencia se autorizan a la Pontificia Universidad Javeriana, a los usuarios de la Biblioteca Alfonso Borrero Cabal S.J., así como a los usuarios de las redes, bases de datos y demás sitios web con los que la Universidad tenga perfeccionado un convenio, son:

AUTORIZO (AUTORIZAMOS)	SI	NO
1. La conservación de los ejemplares necesarios en la sala de tesis y trabajos de grado de la Biblioteca.	✘	
2. La consulta física (sólo en las instalaciones de la Biblioteca)	✘	
3. La consulta electrónica – on line (a través del catálogo Biblos y el Repositorio Institucional)	✘	
4. La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer	✘	
5. La comunicación pública por cualquier procedimiento o medio físico o electrónico, así como su puesta a disposición en Internet	✘	
6. La inclusión en bases de datos y en sitios web sean éstos onerosos o gratuitos, existiendo con ellos previo convenio perfeccionado con la Pontificia Universidad Javeriana para efectos de satisfacer los fines previstos. En este evento, tales sitios y sus usuarios tendrán las mismas facultades que las aquí concedidas con las mismas limitaciones y condiciones	✘	

De acuerdo con la naturaleza del uso concedido, la presente licencia parcial se otorga a título gratuito por el máximo tiempo legal colombiano, con el propósito de que en dicho lapso mi (nuestra) obra sea explotada en las condiciones aquí estipuladas y para los fines indicados, respetando siempre la titularidad de los derechos patrimoniales y morales correspondientes, de acuerdo con los usos





honrados, de manera proporcional y justificada a la finalidad perseguida, sin ánimo de lucro ni de comercialización.

De manera complementaria, garantizo (garantizamos) en mi (nuestra) calidad de estudiante (s) y por ende autor (es) exclusivo (s), que la Tesis o Trabajo de Grado en cuestión, es producto de mi (nuestra) plena autoría, de mi (nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi (nuestra) creación original particular y, por tanto, soy (somos) el (los) único (s) titular (es) de la misma. Además, aseguro (aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos de la Tesis o Trabajo de Grado es de mí (nuestro) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Pontificia Universidad Javeriana por tales aspectos.

Sin perjuicio de los usos y atribuciones otorgadas en virtud de este documento, continuaré (continuaremos) conservando los correspondientes derechos patrimoniales sin modificación o restricción alguna, puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación de los derechos patrimoniales derivados del régimen del Derecho de Autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el



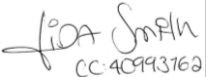


trabajo son propiedad de los autores”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables. En consecuencia, la Pontificia Universidad Javeriana está en la obligación de RESPETARLOS Y HACERLOS RESPETAR, para lo cual tomará las medidas correspondientes para garantizar su observancia.

NOTA: Información Confidencial:

Esta Tesis o Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica, secreta, confidencial y demás similar, o hace parte de una investigación que se adelanta y cuyos resultados finales no se han publicado. Si No

En caso afirmativo expresamente indicaré (indicaremos), en carta adjunta, tal situación con el fin de que se mantenga la restricción de acceso.

NOMBRE COMPLETO	No. del documento de identidad	FIRMA
Vida Diana Smith May	40993162	 CC: 40993162

FACULTAD: Ciencias

PROGRAMA ACADÉMICO: Bacteriología



ANEXO 3

BIBLIOTECA ALFONSO BORRERO CABAL, S.J. DESCRIPCIÓN DE LA TESIS O DEL TRABAJO DE GRADO FORMULARIO

TÍTULO COMPLETO DE LA TESIS DOCTORAL O TRABAJO DE GRADO			
FRECUENCIA Y PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> AISLADAS EN UNA POBLACIÓN CON RIESGO DE ENDOCARDITIS INFECCIOSA QUE ACUDE A CONSULTA ODONTOLÓGICA			
AUTOR O AUTORES			
Vida Diana Smith May			
DIRECTOR (ES) TESIS O DEL TRABAJO DE GRADO			
Hugo Diez Ortega			
FACULTAD			
Ciencias			
PROGRAMA ACADÉMICO			
Tipo de programa (seleccione con "x")			
Pregrado	Especialización	Maestría	Doctorado
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nombre del programa académico			
Bacteriología			
Nombres y apellidos del director del programa académico			
Diana Carolina Patiño Cuervo			
TRABAJO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:			
Bacterióloga			
PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o tener una mención especial):			





Mención de Honor						
CIUDAD						
Bogotá D. C.						
AÑO DE PRESENTACIÓN DE LA TESIS O DEL TRABAJO DE GRADO						
2013						
NÚMERO DE PÁGINAS						
60 páginas						
TIPO DE ILUSTRACIONES (seleccione con “x”)						
Dibujos	Pinturas	Tablas, gráficos y diagramas	Planos	Mapas	Fotografías	Partituras
		✘				
SOFTWARE REQUERIDO O ESPECIALIZADO PARA LA LECTURA DEL DOCUMENTO						
<p>Nota: En caso de que el software (programa especializado requerido) no se encuentre licenciado por la Universidad a través de la Biblioteca (previa consulta al estudiante), el texto de la Tesis o Trabajo de Grado quedará solamente en formato PDF.</p>						
MATERIAL ACOMPAÑANTE						
TIPO	DURACIÓN (minutos)	CANTIDAD	CD	DVD	FORMATO Otro ¿Cuál?	
Vídeo						
Audio						
Multimedia						
Producción						





electrónica					
Otro Cuál?					

DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVE EN ESPAÑOL E INGLÉS Son los términos que definen los temas que identifican el contenido. (En caso de duda para designar estos descriptores, se recomienda consultar con la Sección de Desarrollo de Colecciones de la Biblioteca Alfonso Borrero Cabal S.J en el correo biblioteca@javeriana.edu.co, donde se les orientará).

ESPAÑOL	INGLÉS
Endocarditis infecciosa	Infectious endocarditis
Meticilina	Methicillin
Resistencia bacteriana	Bacterial resistance
Cavidad oral	Oral cavity

--

RESUMEN DEL CONTENIDO EN ESPAÑOL E INGLÉS
(Máximo 250 palabras - 1530 caracteres)

RESUMEN

Introducción: Las bacterias del género *Staphylococcus* y dentro de ellas *Staphylococcus aureus metilino resistente (SAMR)* en pacientes sometidos a tratamientos odontológicos invasivos es un factor de riesgo para el desarrollo de Endocarditis bacteriana (E.I), infección que cursa con alta morbimortalidad, y refractariedad a los antibióticos de elección utilizados en los protocolos odontológicos.

Objetivo: Establecer la frecuencia de SAMR en cavidad oral en un grupo de pacientes con riesgo de endocarditis que acuden a consulta odontológica.

Materiales y Métodos: 52 pacientes mayores de edad que asistieron al servicios de Cardiología y Estomatología del Hospital Central de la Policía Nacional durante el período abril-agosto 2012 y que cumplieron con el criterio de pacientes con alto





riesgo de Endocarditis Infecciosa se les tomó muestra oral por técnica de barrido con hisopo para identificación microbiológica/perfil de resistencia antibiótica por MicroScan y aquellas muestras positivas para SAMR se extrajo ADN a partir de los cultivos para determinar la presencia del gen *mecA* por PCR convencional previa estandarización de las variables técnicas.

Resultados: De los 52 pacientes se identificó *E. faecalis* en 5.77%, *E.coli* en 3,85%, *K. pneumoniae* en 1,92%, *S. viridans* en el 50% y *Staphylococcus* en 38.46% de los cuales 15,38% fue SAMR, y se observó resistencia a Eritromicina 34.78%, Clindamicina 34.78%, Amoxicilina/Clavulánico 34.78%.

Conclusiones: El porcentaje de SAMR aislado es clínicamente significativo e infiere crear alternativas para controlar las tasas de portadores y conocer la resistencia de los antibióticos permite reevaluar los protocolos terapéuticos de prevención para E.I.

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus* is a genus of bacteria and within methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in patients undergoing invasive dental treatment is a risk factor for the development of bacterial endocarditis (IE), an infection that causes high morbidity and mortality, and refractoriness to the antibiotics of choice for use in dental protocols.

Objective: To establish the frequency of MRSA in oral cavity in a group of patients at risk for endocarditis attending dental practice.

Materials and Methods: 52 elderly patients attending the Cardiology services and Stomatology Hospital of Central National Police during the period April to August 2012 and who met the criteria for high risk patients with infective endocarditis were shown took oral sweep by swab technique for microbiological identification/profile MicroScan antibiotic resistance, and those samples positive for MRSA DNA was





extracted from the cultures for the presence of the *mecA* gene by conventional PCR techniques standardization prior variables.

Results: Of the 52 patients identified *E. faecalis* at 5.77%, 3.85% *E. coli*, *K. pneumoniae* 1.92%, *S. viridans* 50% and 38.46% of *Staphylococcus* in which MRSA was 15.38%, and erythromycin resistance was observed at 34.78%, 34.78% Clindamycin, Amoxicillin/Clavulanic 34.78%.

Conclusions: The percentage of MRSA isolated clinically significant and infers create alternatives to control rates and known carriers of antibiotic resistance allows reevaluate therapeutic prevention protocols for IE.

