UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

"CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL BÁSICO PELILEO"

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico

Autor: Apo Analuisa, Kevin Alexander

Tutora: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

Ambato – Ecuador

Julio 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Proyecto de Investigación con el tema: "**CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL BÁSICO PELILEO**" del Sr. Apo Analuisa Kevin Alexander, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato. Considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación por el jurado examinador designado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, julio 2025

LA TUTORA



- -

BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Los criterios emitidos en el Trabajo de Investigación sobre:

"**CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL BÁSICO PELILEO**" como también los contenidos, ideas, objetivos y futura aplicación del trabajo de investigación son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, julio 2025

EL AUTOR



- -

Apo Analuisa, Kevin Alexander

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación. Cedo los derechos en línea patrimonial de mi tesis con fines de difusión pública.

Además apruebo la reproducción de este proyecto de investigación, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, julio 2025

EL AUTOR



Apo Analuisa, Kevin Alexander

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema: "**CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL BÁSICO PELILEO**" de Apo Analuisa Kevin Alexander, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, julio 2025

Para constancia firman:

……...	…….....	……
PRESIDENTE/A	**1er VOCAL**	**2do VOCAL**

DEDICATORIA

A mi familia, por ser mi base y mi mayor motivo. A mi padre Segundo Apo y mi mamá Elvia Analuisa, gracias por todo lo que han hecho por mí, por su apoyo incondicional, por preocuparse siempre y por enseñarme que con esfuerzo y constancia se puede lograr cualquier meta. Siempre tuvieron otros planes de vida para mí, pero no dejaron de acompañarme para que cumpla mis metas.

A mi hermano, que siempre estuvo ahí incluso para escuchar los problemas o novedades que sucedían día a día, gracias por tu compañía.

A mi pareja, con quien he compartido esta etapa de mi vida. Gracias por estar en los momentos buenos y también en los difíciles, por escucharme, motivarme y no dejar que me rinda. Este logro también es suyo, porque lo vivimos juntos, con apoyo mutuo y mucho cariño. Gracias por ser mi compañera en este camino y también ejemplo de persona en la vida, siempre alegre y con ansias de salir adelante.

Finalmente, a mis amigos Alison, Mabel, Pau y Sebitas que hicieron del transcurso de la carrera una experiencia muy especial con sus ocurrencias y amistad sincera.

Apo Kevin

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato, por haber sido la base de mi formación académica y personal a lo largo de esta etapa universitaria. Gracias por abrirme las puertas a un entorno de conocimiento, responsabilidad y compromiso con la ciencia y la salud pública.

A todos los docentes de la carrera de Laboratorio Clínico, por haberme transmitido sus conocimientos con vocación, entrega y exigencia. Cada una de sus enseñanzas ha sido parte esencial de mi formación técnica y humana, y han dejado una huella significativa en mi vida profesional. De igual manera, A la Ing. Diana Gonzales por sus enseñanzas y compromiso que me hicieron llegar a descubrir una nueva afición por el campo de biología molecular y a la licenciada Gabriela Valenzuela por haber sido la primera en creen este proyecto.

Extiendo mi más profundo agradecimiento a mi querida tutora BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine, por su acompañamiento durante este proceso incluso cuando tuvimos el tiempo en contra. Su dedicación, paciencia y compromiso no solo guiaron el desarrollo técnico del estudio, sino que también me motivaron a mejorar en cada etapa de este proyecto a pesar de los problemas que se presentaban.

A la empresa UTALABB, por facilitar sus instalaciones y equipos para la realización de los análisis de este trabajo. Asimismo, al personal técnico y administrativo que labora en la institución, por su colaboración y apoyo durante el desarrollo de los procedimientos, lo cual fue clave para el cumplimiento de los objetivos planteados.

A la Doctora Diana Cárdenas, directora distrital 18D04, por su respaldo institucional y autorización, y a la Dirección del Hospital Básico Pelileo, por facilitar la ejecución de esta investigación en su unidad de salud.

Apo Analuisa, Kevin Alexander

ÍNDICE GENERAL

PORTADA i
APROBACIÓN DEL TUTOR ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN iii
DERECHOS DE AUTOR iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR v
DEDICATORIA vi
AGRADECIMIENTO vii
ÍNDICE GENERAL viii
ÍNDICE DE TABLAS xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS xii
RESUMEN xiv
SUMMARY xv
INTRODUCCIÓN 1
JUSTIFICACIÓN 2
CAPÍTULO I 4
1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS 4
1.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 13
1.2.1 *Staphylococcus aureus* - características microbiológicas……13
1.2.2 Microbiota……..13
1.2.3 Patogenia de *S. auerus*……14
1.2.4 Importancia en la salud pública……..14
1.3 Mecanismos de resistencia de *Staphylococcus aureus* a antibióticos……14
1.3.1 Resistencia mediada por Betalactamasas……15
1.3.2 Síntesis de PBP2A……..15
1.3.3 Resistencia a Glucopéptidos……...16
1.3.4 Resistencia a Macrólidos y lincosamidas……...16
1.4 Métodos para la detección de resistencia a meticilina 17
1.4.1 Métodos fenotípicos……...17
1.4.2 Métodos genotípicos……..18
1.5 OBJETIVOS 19
1.5.1 OBJETIVO GENERAL……19

1.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS……19
1.6 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....20
CAPÍTULO II.....21
2.1 MATERIALES, RECTIVOS Y EQUIPOS.....21
2.1.1 Humanos……21
2.1.2 Institucionales……21
2.1.3 Materiales……...21
2.1.4 Reactivos……....22
2.1.5 Equipos……...22
2.2. MÉTODOS.....22
2.2.1 Nivel o tipo de investigación……..22
2.2.2 Enfoque de la investigación……....22
2.3 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO.....23
2.3.1 Campo y área……..23
2.3.2 Delimitación Temporal……...23
2.3.2 Delimitación Espacial…….....23
2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA 23
2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN 23
2.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN.....24
2.7 MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....24
2.8 PRUEBAS ESTADÍSTICAS 24
2.9 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS 25
2.9.1 Consentimiento Informado……25
2.9.2 Codificación de los pacientes……25
2.9.3 Protocolo de toma de muestra de hisopado nasal……..25
2.9.4 Protocolo de toma de Muestra de hisopado en manos……26
2.9.5. Aislamiento bacteriano……..27
2.9.6 Pruebas Bioquímicas……..29
2.9.7 Determinación de la Susceptibilidad a los antibióticos……..31
2.9.8 Extracción de ADN…….33
2.9.9 Reacción en cadena de la polimerasa…….34

2.9.10 Control de calidad…….37
CAPÍTULO III 40
3.1 ANÁLISIS E INTERPREATCIÓN DE RESULTADOS 40
3.1.1 Análisis Sociodemográficos……...40
3.1.2 Análisis de la encuesta……...42
3.1.3 Análisis microbiológico…….47
3.1.3 Análisis Molecular…….52
3.1.4 Pregunta de investigación……..53
3.1.5 Asociación de factores de riesgo con trabajadores colonizados con SARM …….53
3.2 DISCUSIÓN..... 58
CAPÍTULO IV 63
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 63
4.1 CONCLUSIONES..... 63
4.2 RECOMENDACIONES 63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 65
ANEXOS..... 70
Anexo 1. Fotografías del desarrollo del Proyecto de Investigación 70
Anexo 2. Operacionalización de variables..... 77
Anexo 3. Encuesta para recolección de datos 79
Anexo 4: Consentimiento informado 81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Métodos o dianas para la detección de Staphylococcus spp. resistentes a la meticilina (oxacilina)..... 17
Tabla 2. Preparación de la Master Mix..... 34
Tabla 3. Cebadores empleador en PCR..... 35
Tabla 4. Programa del termociclador..... 35
Tabla 5. Control de calidad Agar Manitol sal..... 38
Tabla 6. Control de calidad de los discos de antibióticos..... 38
Tabla 7. Concentraciones de ADN de las muestras de SARM..... 39
Tabla 8. Controles usados para el estudio molecular..... 39
Tabla 9. Chi-cuadrado de los factores de riesgo con SARM..... 57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Guía pata la toma de muestra de hisopado nasal 26
Gráfico 2. Guía pata la toma de muestra de hisopado de manos 27
Gráfico 3. Guía para el aislamiento de S. aureus 29
Gráfico 4. Guía para pruebas bioquímicas para identificación de S. aureus 30
Gráfico 5. Detección de mecA y sinergismos 32
Gráfico 6. Flujograma para extracción de ADN 34
Gráfico 7. Guía para reacción en cadena de polimerasa (PCR) 35
Gráfico 8. Guía para electroforesis en gel de agarosa 37
Gráfico 9. Caracterización de la población según sexo 40
Gráfico 10. Caracterización de la población por edad 41
Gráfico 11. Pregunta 1 ¿Con qué frecuencia toma antibióticos? 42
Gráfico 12. Pregunta 2 ¿Último tratamiento antibiótico? 42
Gráfico 13. Distribución de la población por cargo 43
Gráfico 14. Población según el área de procedencia hospitalaria 44
Gráfico 15. Pregunta 5 - ¿Hospitalización en los últimos 12 meses? 45
Gráfico 16. Pregunta 6 - Frecuencia de lavado de manos durante la jornada laboral . 45
Gráfico 17. Pregunta 7 - Uso de EPP durante la jornada laboral 46
Gráfico 18. Presencia global de Staphylococcus aureus en la unidad de salud 47
Gráfico 19. Presencia de SARM del total de Staphylococcus aureus aislados 47
Gráfico 20. Perfil de susceptibilidad de los aislamientos de SARM 48
Gráfico 21. Fenotipo de resistencia MLSB en los aislamientos de SARM 49
Gráfico 22. Prueba D positiva - MLSBi 49
Gráfico 23. Frecuencia de SARM según área 50
Gráfico 24. Frecuencia de SARM según cargo 51
Gráfico 25. Presencia del gen mecA en los aislamientos de SARM 52
Gráfico 26. Pregunta 1- Relación de la frecuencia del consumo de antibióticos con SARM 53
Gráfico 27. Pregunta 2 - Relación del último tratamiento antibiótico con SARM 54
Gráfico 28. Pregunta 3- Relación del cargo con SARM 54
Gráfico 29. Pregunta 4 - Relación del área con SARM 55

Gráfico 30. Pregunta 5- Relación de la hospitalización en los últimos 12 meses con SARM 55
Gráfico 31. Pregunta 6- Relación de la frecuencia de lavado de manos con SARM .. 56
Gráfico 32. Pregunta 7- Relación del uso de EPP con SARM 56
Gráfico 33. Recolección de hisopados 70
Gráfico 34. Preparación de agares 70
Gráfico 35. Siembra de muestras en agar manitol 71
Gráfico 36. Aislamiento de S. aureus 71
Gráfico 37. Pruebas bioquímicas - Tinción gram 72
Gráfico 38. Suspensión bacteriana a escala McFarland 0,5 72
Gráfico 39. Antibiograma de cepas SARM 73
Gráfico 40. Extracción de ADN por Shock térmico 73
Gráfico 41. Cuantificación ADN en nanodrop 74
Gráfico 42. Preparación de la Master Mix 74
Gráfico 43. PCR de las cepas SARM aisladas 75
Gráfico 44. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% 75
Gráfico 45. Agarosa con amplicones de 310pb del gen mecA 76

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

"CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL BÁSICO PELILEO"

Autor: Apo Analuisa, Kevin Alexander

Tutora: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

Fecha: Julio 2025

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana representa una amenaza creciente en los entornos hospitalarios, siendo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) uno de los principales agentes implicados en infecciones asociadas a la atención sanitaria. Este estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de SARM en trabajadores del Hospital Básico Pelileo, mediante una caracterización fenotípica y genotípica. Se recolectaron muestras de hisopado nasal y de manos de 70 trabajadores, procesadas por métodos microbiológicos convencionales, prueba de susceptibilidad a cefoxitin y detección molecular del gen *mecA* mediante PCR. Los resultados mostraron una frecuencia de portación de S. aureus del 28,6 %, con un 35 % de cepas clasificadas como SARM. Todas las cepas resistentes a meticilina fueron positivas para el gen *mecA*, mostrando concordancia total entre métodos fenotípico y molecular. El perfil de susceptibilidad evidenció resistencia a betalactámicos y macrólidos, pero buena sensibilidad a linezolid y trimetoprima/sulfametoxazol. Se identificó un aislamiento con resistencia inducible a clindamicina (MLSBi), lo que resalta la importancia de la prueba D. Además, se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la portación de SARM y el antecedente reciente de tratamiento antibiótico, así como con la frecuencia de lavado de manos. Este estudio aporta datos relevantes para la vigilancia epidemiológica local, subraya la necesidad de control de infecciones y propone estrategias preventivas orientadas a reducir la diseminación de cepas multirresistentes dentro del hospital.

PALABRAS CLAVES: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, SARM, GEN *MECA*; PERSONAL DE SALUD, RESISTENCIA ANTIMICROBIANA, HOSPITAL

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

"CHARACTERIZATION OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN WORKERS AT THE PELILEO BASIC HOSPITAL"

Author: Apo Analuisa, Kevin Alexander

Tutor: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

Date: July 2025

SUMMARY

Antimicrobial resistance represents a growing threat in hospital settings, with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) being one of the main agents implicated in healthcare-associated infections. This study aimed to determine the frequency of MRSA in workers at Pelileo Basic Hospital through phenotypic and genotypic profiling. Nasal and hand swab samples were collected from 70 workers and processed using conventional microbiological methods, cefoxitin susceptibility testing, and molecular detection of the *mecA* gene by PCR. The results showed a *S. aureus* carriage frequency of 28.6%, with 35% of strains classified as MRSA. All methicillin-resistant strains were positive for the *mecA* gene, demonstrating complete concordance between phenotypic and molecular methods. The susceptibility profile showed resistance to beta-lactams and macrolides, but good susceptibility to linezolid and trimethoprim/sulfamethoxazole. An isolate with inducible clindamycin resistance (MLSBi) was identified, highlighting the importance of the D test. Furthermore, statistically significant associations were found between MRSA carriage and recent antibiotic treatment, as well as handwashing frequency. This study provides relevant data for local epidemiological surveillance, underscores the need for infection control, and proposes preventive strategies aimed at reducing the spread of multidrug-resistant strains within the hospital.

KEY WORDS: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, MRSA, *MECA* GENE; HEALTH CARE PERSONNEL, ANTIMICROBIAL RESISTANCE, HOSPITAL

INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana representa una amenaza creciente en los entornos hospitalarios, donde *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) figura entre los principales agentes implicados en infecciones asociadas a la atención sanitaria. Este patógeno ha sido clasificado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como "prioritario" para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas debido a su alta prevalencia, capacidad de adaptación genética y resistencia a múltiples clases de antibióticos (1). En la región latinoamericana, este problema no ha sido diferente; en Ecuador, el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) reportó en 2022 una resistencia del 29,23 % en el ámbito ambulatorio y del 37,15 % a nivel hospitalario frente a oxacilina, además de una confirmación del gen *mecA* en 82 % de los aislamientos analizados (2).

Uno de los aspectos más críticos de este fenómeno es la colonización asintomática del personal sanitario, quienes, sin presentar sintomatología, pueden actuar como reservorios y vectores de cepas multirresistentes. Se estima que entre un 20 y 30 % de la población general puede portar *S. aureus* en fosas nasales, mientras que en entornos hospitalarios esta proporción se eleva significativamente (3). A nivel nacional, un estudio realizado en Quito evidenció que el 95 % del personal de salud era portador de *Staphylococcus sp.*, de los cuales el 12,5 % presentaba cepas resistentes a meticilina (SARM)(8). Estas cifras son preocupantes, considerando que la transmisión puede producirse fácilmente por contacto con pacientes, superficies contaminadas o instrumentos médicos, sobre todo si no se cumplen rigurosamente las normas de bioseguridad (4).

Pese a la relevancia del campo de estudio, la literatura nacional sobre caracterización microbiológica y molecular de cepas SARM en trabajadores de salud aún es limitada, especialmente en hospitales de segundo nivel o con cobertura regional. Por ello, el presente estudio se desarrolló en el Hospital Básico Pelileo, con el objetivo de determinar la frecuencia de portación de SARM en el personal sanitario, evaluando los factores de riesgo asociados y caracterizando el perfil de resistencia antimicrobiana, tanto por métodos fenotípicos y moleculares. Los resultados de esta investigación pretenden contribuir con información relevante para fortalecer la vigilancia epidemiológica, optimizar el uso racional de antibióticos y establecer medidas preventivas que reduzcan el riesgo de transmisión de patógenos multirresistentes dentro de la unidad de salud.

JUSTIFICACIÓN

Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM) representa una de las principales amenazas para la salud pública mundial, debido a su capacidad de provocar infecciones graves y su resistencia a múltiples antibióticos. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el SARM es responsable de infecciones severas de piel y tejidos blandos, osteomielitis, neumonías tanto comunitarias como nosocomiales, y endocarditis (1). Estas infecciones tienen una elevada tasa de mortalidad, por lo que presentan un desafío en los tratamientos existentes, siendo así que a este patógeno se le ha incluido en la lista de la OMS como una prioridad elevada para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos (1). En el ámbito hospitalario, la transmisión ocurre principalmente por contacto directo con superficies contaminadas o a través de personal sanitario colonizado, lo que incrementa el riesgo de brotes (2). La prevalencia global de infecciones por SARM ha alcanzado hasta el 35% en 2020, mostrando una tendencia creciente desde 2017 (3).

A nivel regional, América Latina ha reportado cifras preocupantes en cuanto a infecciones por SARM, reflejo de una vigilancia aún limitada y del uso inapropiado de antibióticos. La Organización Panamericana de la Salud (OPS) indica que en Ecuador hasta 2017, el 34,8% de los aislamientos de *S. aureus* presentaban resistencia a meticilina (4). Más recientemente, el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) informó en 2022, la resistencia a oxacilina fue del 29,23% en aislamientos comunitarios y del 37,15% en aislamientos hospitalarios. Además, de los 78 aislamientos recibidos por el CRN-RAM en ese año, 64 fueron positivos para el gen *mecA*, confirmando la presencia de SARM (5).

Además, la colonización asintomática constituye una vía importante para la diseminación del SARM, según la OMS entre el 20% y 30% de las personas sanas son portadoras de *S. aureus* en piel y mucosas, lo que puede facilitar la transmisión sin que existan signos clínicos evidentes (6). En el personal sanitario, la colonización es particularmente relevante por su contacto constante con pacientes vulnerables. Estudios regionales han reportado un 74,6% trabajadores de salud, colonizados con *S. aureus* (7), de los cuales un alto porcentaje corresponde a cepas resistentes. En Ecuador, se ha registrado que el 95 % del personal de salud es portador de *S. aureus*, y el 12,5 % de estos casos corresponde a SARM (8) . Investigaciones adicionales

muestran que entre el 12% y el 31% del personal médico y de enfermería en diversas instituciones hospitalarias presenta portación nasal de esta bacteria resistente (8). Estas cifras evidencian la necesidad urgente de estudios locales que caractericen la presencia y comportamiento de SARM en el entorno hospitalario.

De este modo, en base a la misión y visión de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato encaminada en la formación de profesionales de la salud como un referente investigativo, en base a la línea de investigación de Epidemiología y Salud Pública de la Facultad de Ciencias de la Salud, se propone determinar la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo, con el fin de identificar patrones de resistencia a los antibióticos y caracterizar los genes de resistencia de mayor relevancia enfocados en la comprensión de la situación epidemiológica, con énfasis en la toma de medidas de optimización del uso de antibióticos y precautelar la salud/integridad del personal y pacientes en los servicios de salud.

CAPÍTULO I

1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La resistencia a los antimicrobianos representa una preocupación significativa para la salud pública global, especialmente en entornos hospitalarios donde los microorganismos resistentes pueden provocar infecciones difíciles de tratar y complicar la gestión de los pacientes. En este contexto, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) ha emergido como uno de los patógenos más prevalentes, planteando un desafío para los profesionales de la salud. Se ha documentado la alta prevalencia de *S. aureus* resistente a meticilina, destacando tanto su capacidad de colonización nasal en individuos saludables como su transmisión en ambientes hospitalarios (9). Los trabajadores de la salud, dada su exposición constante a agentes patógenos, presentan un riesgo elevado de colonización por cepas resistentes, lo que puede influir en la dinámica de transmisión dentro de los hospitales.

En este sentido, el estudio de la colonización y la caracterización de cepas resistentes en el personal sanitario se ha convertido en un área de interés fundamental para comprender mejor la circulación de estas cepas.

Por ejemplo Yuting et al., , realizaron el estudio *"Molecular Characterization of Staphylococci Recovered from Hospital Personnel and Frequently Touched Surfaces in Tianjin, China"*, donde caracterizaron molecularmente cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en 1258 trabajadores y superficies del hospital Tianjin Xiqing durante diciembre de 2018, identificando 195 aislamientos de *Staphylococcus*, de los cuales el 2% fueron *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, evidenciando así el papel del personal de salud y de las superficies hospitalarias como reservorios y vías de transmisión del SARM pese a existir un bajo porcentaje de aislamientos obtenidos (10).

Akim Socohou, et al., realizaron el estudio *"Antibiotics Resistance and Biofilm Formation Capacity of Staphylococcus spp. Strains Isolated from Surfaces and Medicotechnical Materials"*, donde analizaron 128 muestras del personal y superficies de alto contacto de cinco departamentos del Hospital de Abomey-Calavi/So-Ava mediante pruebas de difusión en disco y microdilución; como resultado, identificaron que el 87,5 % del 33% de los aislamientos correspondientes a *Staphylococcus aureus,*

presentaban resistencia a cefoxitin, 75% presentó resistencia a eritromicina, 47,5 % resistencia a tetraciclina, 45% a ciprofloxacino, cloranfenicol 15% y vancomicina 25%, lo cual refleja un riesgo significativo de colonización por cepas de SARM en trabajadores de salud y materiales médico-asistenciales, comprometiendo la bioseguridad institucional al presentarse limitadas opciones terapéuticas frente a las cepas aisladas (11).

Saud et al., en su estudio titulado *"Methicillin-Resistant and Biofilm-Producing Staphylococcus aureus in Nasal Carriage among Health Care Workers and Medical Students"*, abordaron la colonización asintomática por *Staphylococcus aureus* resistente a antimicrobianos en personal sanitario y estudiantes de medicina en Katmandú, Nepal, incluyendo a 352 participantes procedentes de diversos hospitales y facultades médicas; las muestras nasales fueron cultivadas en agar sal manitol y evaluadas según pruebas de susceptibilidad utilizando discos de cefoxitin, con lo cual se identificó una tasa de colonización del 65,3% (230 aislamientos) para *S. aureus*, de los cuales el 47,4% (correspondía a cepas resistentes a meticilina, mientras que una proporción considerable presentó resistencia a eritromicina (82,6 %), tetraciclina (17,4%) y amoxicilina (73,4 %). Por otro lado, los resultados sociodemográficos presentaron una correlación positiva entre la profesión de cada participante y la colonización por SARM comprendiendo con mayor frecuencia a enfermeros (30,3%), médicos (5,5%) y estudiantes (48,6%), evidenciando así una circulación relevante de cepas multirresistentes entre portadores nasales en el entorno hospitalario (12).

Giri et al., en su estudiotitulado *"Nasal Carriage of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus among Healthcare Workers in a Tertiary Care Hospital, Kathmandu, Nepal"*, identificaron a la resistencia antimicrobiana como una amenaza global y evaluaron la portación nasal de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en 232 trabajadores sanitarios mediante el cultivo de hisopos nasales y la prueba de susceptibilidad por difusión en disco de Kirby-Bauer modificado, como resultado, se aislaron 34 cepas de *S. aureus* (14,7 %), de las cuales 12 (35,3 %) correspondieron a SARM, lo que representó una tasa general de portación nasal del 5,2 %, además, todos los aislamientos de SARM fueron sensibles a linezolid y tetraciclina. Además, el 33,3% (4/12 aislamientos) presentó mecanismos de resistencia a eritromicina y sensibles a clindamicina con resultado positivo en la prueba

D, clasificando a las cepas SARM con el fenotipo MLSBi a además de presentar el gen *mecA*, resaltando la importancia de implementar medidas de vigilancia en el personal asistencial para reducir el riesgo de transmisión de SARM en el entorno hospitalario (13).

Buenaventura-Alcazaren FA, et al., en el estudio titulado *"Prevalence and molecular characteristics of SARM nasal carriage among hospital care workers in a tertiary hospital in the Philippines"*, investigaron la portación nasal de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en trabajadores de salud, incluyendo 92 individuos pertenecientes a los servicios de pediatría y cirugía. Las muestras fueron inoculadas en un medio cromogénico selectivo para SARM y posteriormente caracterizadas mediante tipificación molecular con el sistema *SCCmec*; como resultado, se identificó una prevalencia de SARM del 13 %, mientras que los estafilococos coagulasa negativos representaron el 66,7 % de los aislamientos, lo que revela una circulación predominante de especies resistentes en el entorno clínico y sugiere la necesidad de vigilancia continua sobre el personal asistencial (14).

Nadine et al., en su investigación titulada "Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* entre los trabajadores de la salud dental en el norte de Alemania (estudio StaphDent)", con el propósito de identificar la presencia de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) entre 1485 profesionales del área odontológica. Para ello, las muestras fueron procesadas mediante técnicas de tipificación molecular y secuenciación genómica completa (WGS), logrando determinar una colonización por cepas sensibles a meticilina (SAMS) en el 22,3 % (108/485), sin aislamientos detectados de SARM. A través del análisis filogenético para evaluar las relaciones entre cepas, se identificó una estrecha relación clonal en 4 de los 10 pares de aislamientos analizados, lo que sugiere su circulación dentro del mismo entorno clínico, favoreciendo una transmisión limitada entre los trabajadores. La ausencia de SARM fue atribuida a la baja prevalencia regional de cepas resistentes, junto con el uso consistente de equipos de protección personal como factor protector para la colonización por SARM (15).

D Pignataro et al., llevaron a cabo un estudio titulado "*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and antimicrobial susceptibility experiences from the University Hospital 'Luigi Vanvitelli' of Naples*", en el cual se analiza el perfil

de susceptibilidad, los fenotipos más prevalentes de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y su epidemiología en una población de 417 pacientes hospitalizados con *S. aureus* entre enero de 2017 y diciembre de 2018. Los aislamientos bacterianos fueron cultivados en agar manitol, y la identificación de SARM se llevó a cabo mediante la técnica de MALDI-TOF. Además, el perfil de susceptibilidad antimicrobiana se determinó utilizando el sistema Phoenix BD. Los resultados indicaron que 140 (33,6%) de los aislamientos fueron positivos para SARM, de los cuales el 43,6% presentaron fenotipos MLSB y resistencia intermedia a vancomicina. Este hallazgo subraya la importancia de la concientización sobre la detección de especies bacterianas con resistencia antimicrobiana y el análisis detallado de su perfil de susceptibilidad, lo cual resulta esencial para la correcta selección de tratamientos antimicrobianos efectivos en el manejo de infecciones por *S. aureus* resistente a meticilina (16).

Deepashree R, et al., en su estudio titulado "*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriage among health care personnel in nonoutbreak settings in tertiary care hospital in Mysore*", realizado en una población de 200 trabajadores del Hospital de Mysore, destacó la importancia del cribado sistemático de todos los trabajadores de la salud para detectar colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). La caracterización se llevó a cabo siguiendo protocolos estándar de cultivo y pruebas moleculares, los datos sobre el porcentaje de casos positivos fueron agrupados y analizados utilizando el software IBM SPSS. Los resultados encontraron que el 25,5% de los trabajadores estaban colonizados por *S. aureus*, de los cuales el 6,5% (13 casos) correspondían a SARM, con una mayor frecuencia en médicos y personal del área de enfermería. Este estudio resalta la persistente colonización por SARM en el personal de salud, a pesar de las políticas de control de infecciones implementadas, lo que refuerza la necesidad de continuar con la vigilancia periódica para prevenir la transmisión dentro del entorno hospitalario (17).

Keneh NK, et al., realizaron una revisión bibliográfica titulada "*Meticilina-Resistente Staphylococcus aureus Transporte entre Madres Recién Nacidas, Trabajadores de la Salud y Muestras Ambientales en Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales: Una Revisión Sistemática*". En este estudio se consideraron 1891 investigaciones observacionales publicadas hasta el 21 de marzo de 2023, de las cuales se

seleccionaron 16 según criterios de inclusión. Los resultados revelaron índices elevados de colonización por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), encontrando una prevalencia del 9,5% en el personal de salud de la región del Pacífico Occidental, así como un 2,1% entre 821 madres. Este hallazgo refleja una elevada tasa de colonización en personal sanitario, madres del área de neonatología, favoreciendo el surgimiento de infecciones, particularmente en unidades de cuidados intensivos neonatales. En consecuencia, el estudio destaca la necesidad de realizar cribados regulares de SARM, con el fin de detectar a los colonizados asintomáticos y prevenir la transmisión cruzada entre pacientes y trabajadores de la salud (18).

Loay W, et al., en su estudio titulado "*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization among healthcare workers in Oman*", investigaron la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en trabajadores de la salud del Hospital Universitario Sultan Qaboos (SQUH) en Omán, dada la alta susceptibilidad de este personal a la adquisición de SARM y su probable transmisión nosocomial. Entre el 2 de octubre de 2018 y el 7 de enero de 2019, analizaron 200 muestras de hisopos nasales de los trabajadores de la salud en el SQUH. La presencia de SARM se caracterizó mediante pruebas de susceptibilidad utilizando el método Kirby-Bauer y pruebas de aglutinación para la detección de PBP2a. Los resultados encontraron 41 aislamientos de *S. aureus*, de los cuales el 36,6% eran resistentes a meticilina (SARM). No se encontró una relación significativa entre los grupos de edad, áreas de trabajo, frecuencia de lavado de manos durante la jornada laboral y un mayor riesgo de colonización. Sin embargo, el estudio resalta la importancia de identificar la prevalencia y los demás factores de riesgo asociados a la colonización por SARM, con el objetivo de reducir las infecciones nosocomiales y mejorar las medidas de control en los hospitales (19).

Kinnevey P, et al., en su estudio titulado "*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus transmission among healthcare workers, patients and the environment in a large acute hospital under non-outbreak conditions investigated using whole-genome sequencing*", analizaron la propagación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) entre trabajadores de la salud, pacientes y el ambiente hospitalario. Para ello, se recolectaron muestras de cada grupo y se analizaron mediante secuenciación genómica completa (WGS) y tipificación de secuencias, permitiendo

así identificar una correlación entre los tipos de cepas presentes. Los resultados revelaron un total de 155 aislamientos de SARM, distribuidos en 41 muestras clínicas, 22 de trabajadores de la salud y 55 de muestras ambientales. En términos generales, los hallazgos confirmaron la circulación de clones similares de SARM en los distintos grupos, lo que sugiere una transmisión activa dentro de la institución hospitalaria. Además, el uso de técnicas moleculares, como la amplificación del gen *mecA*, resultó fundamental para diferenciar con precisión entre *S. aureus* sensible a meticilina y SARM, lo que facilita una mejor gestión de las infecciones nosocomiales y un control más efectivo de la resistencia antimicrobiana (20).

Kim J et al., en su investigación titulada "*Burden of perianal Staphylococcus aureus colonization in nursing home residents increases transmission to healthcare worker gowns and gloves*", analizaron la transmisión de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) desde los trabajadores de salud hacia los residentes de hogares de ancianos a través de sus batas y guantes. En este estudio, se recolectaron muestras de 403 residentes, así como del equipo de protección personal (EPP) de los trabajadores, las cuales fueron analizadas por cultivo y confirmación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), específicamente para la detección del gen *nuc* y *mecA*. Los resultados caracterizaron a 169 participantes colonizados por *S. aureus* resistente a meticilina. Además, se confirmó la presencia de SARM en las batas y guantes de los trabajadores de la salud, lo que sugiere que estos elementos de protección podrían actuar como vías de transmisión hacia los adultos mayores (21).

Abie S. et al., en su estudio titulado *"Methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage among janitors working in hospital and non-hospital areas: a comparative cross-sectional study"*, desarrollaron una investigación transversal comparativa en una población de 436 participantes, distribuidos entre conserjes que laboraban en entornos hospitalarios y aquellos que trabajaban en áreas no hospitalarias. Las muestras nasales recolectadas fueron procesadas mediante técnicas de cultivo, mientras que la susceptibilidad antimicrobiana se evaluó utilizando el método de difusión con discos. Los datos obtenidos fueron organizados y analizados con el software IBM SPSS, permitiendo establecer la prevalencia global de colonización por *S. aureus*, la cual correspondió a 101 casos de los 436 evaluados. De estos, 21 correspondieron a SARM, representando el 4,8% del total, con mayor frecuencia en el

grupo de conserjes hospitalarios. En consecuencia, el entorno hospitalario se asoció con mayor riesgo de colonización por SARM, requiriendo un mayor control de propagación y detección de portadores en los trabajadores de salud hospitalarios (22).

Genc O, et al., en su estudio "*The relationship between hand hygiene practices and nasal Staphylococcus aureus carriage in healthcare workers*" analizaron la relación entre las palmas de los trabajadores de salud como posibles vehículos de transmisión de SARM hacia los pacientes. Para ello, se aplicó un cuestionario acerca de las características sociodemográficas, factores de riesgo ocupacionales y hábitos personales asociados al transporte de *S. aureus*, complementado con la recolección de 269 muestras nasales para análisis mediante cultivo y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por métodos convencionales. Los resultados indicaron una prevalencia del 20,1 % (n=54) para *S. aureus*, del cual se identificó un caso de SARM, correspondiente al 0,37 % de la muestra total. Además, no se encontró relación entre los factores sociodemográficos y de riesgo para la colonización por SARM. Si embargo, es notable la reducción de porcentajes de colonización en los participantes que mantienen un uso adecuado de guantes entre pacientes. Estos hallazgos permitieron asociar una menor frecuencia de transporte con el conocimiento adecuado sobre higiene de manos y la aplicación constante de medidas preventivas (23).

Wolde W, et al., en su estudio titulado *"Nasal Carriage Rate of Staphylococcus aureus, Its Associated Factors, and Antimicrobial Susceptibility Pattern Among Health Care Workers in Public Hospitals, Harar, Eastern Ethiopia"*, evaluaron la relación entre factores conductuales, edad y exposición a unidades clínicas de alta complejidad como posibles condicionantes de colonización nasal por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores de hospitales públicos. Para ello, se recolectaron y analizaron 295 muestras mediante cultivo, pruebas bioquímicas convencionales y ensayo de susceptibilidad por el método de Kirby-Bauer, encontrando una prevalencia de *S. aureus* de 15,6% (46 aislamientos) y 11,2 % (33 cepas) correspondientes a SARM. Además, presentando mecanismos de resistencia a tetraciclina (58,7%) en el 93,3% de los aislamientos de *S. aureus* y 100% de resistencia a penicilina en los 33 aislamientos de SARM. Por otro lado, el estudio demostró una relación no significativa entre la colonización de SARM y los factores de ocupación, género y nivel de educación. Sin embargo, la edad y el departamento de procedencia hospitalaria se

asociaron con la colonización por SARM, así como el uso de antibióticos en los últimos meses y hábitos de lavado de manos, lo que resalta la necesidad de mantener estrategias de vigilancia epidemiológica activa enfocadas en la detección precoz de portadores asintomáticos dentro de entornos hospitalarios (24).

Popovich KJ, et al., realizan un proyecto de investigación titulado "*MRSA Transmission in Intensive Care Units: Genomic Analysis of Patients, Their Environments, and Healthcare Workers*" analizaron la dinámica de transmisión de SARM en unidades de cuidados intensivos, destacando el riesgo de contaminación cruzada asociado tanto a la condición clínica de los pacientes como a la carga microbiana presente en el ambiente y a las intervenciones clínicas frecuentes en este tipo de unidades. Se recolectaron muestras de trabajadores de salud en UCI pertenecientes a cuatro instituciones distintas, aplicándose secuenciación genómica completa (WGS) para caracterizar los aislamientos. A partir de 413 muestras analizadas, 6 de los 66 trabajadores evaluados presentaron colonización por SARM, sin embargo, la similitud genética entre varias cepas permitió establecer una posible transmisión tanto dentro de cada UCI como entre diferentes unidades, lo cual resalta la necesidad de seguir profundizando en la identificación de rutas de diseminación de cepas resistentes en áreas críticas del entorno hospitalario (25).

Sun L, et al., en su estudio "Transmission and microevolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST88 strain among patients, healthcare workers, and household contacts at a trauma and orthopedic ward", identificaron el papel del personal sanitario como posible fuente de introducción de cepas comunitarias de SARM al entorno hospitalario, particularmente en áreas de traumatología y ortopedia. Para ello, se recolectaron 23 muestras procedentes de trabajadores sanitarios, sus contactos domiciliarios y pacientes infectados con SARM, las cuales fueron analizadas mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y tipificación . Los resultados revelaron una estrecha relación genética entre los aislamientos de tres pacientes colonizados y las cepas obtenidas tanto de un médico como de un familiar cercano, observándose sensibilidad a eritromicina, meticilina y clindamicina, además de la detección del gen *mec IV* en todos los aislamientos, lo que confirmó la presencia de la variante comunitaria del patógeno. En este contexto, se resalta la necesidad de establecer

programas de vigilancia dirigida a trabajadores de salud, con el fin de prevenir eventos de transmisión cruzada dentro de las unidades asistenciales de salud (26).

Ayerim G, et al., en su estudio titulada *"Resistencia a la meticilina y producción de biopelícula en aislamientos clínicos de Staphylococcus aureus y Staphylococcus coagulasa negativa en México"*, evaluaron la presencia de resistencia bacteriana y la capacidad de formación de biopelículas en 23 aislamientos clínicos mediante pruebas de susceptibilidad y cuantificación por titulación en microplaca, además de amplificación molecular del gen *mecA* para confirmar la resistencia a meticilina. Los resultados encontraron 9 cepas clasificadas como SARM, de las cuales una no evidenció concordancia entre el fenotipo y la presencia del gen *mecA*, lo cual destaca la relevancia del uso de técnicas moleculares complementarias que garanticen una identificación precisa de cepas resistentes, minimizando así los errores diagnósticos que podrían afectar el manejo terapéutico de las infecciones (27).

Lucía Cabrejos et al., en su estudio titulado *"Frequency of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a tertiary care hospital in Peru"*, evaluaron la frecuencia de colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) de origen comunitario en una población de 120 trabajadores del Hospital Nacional Cayetano Heredia en Lima, mediante el análisis del perfil de susceptibilidad antimicrobiana y la identificación molecular del gen *mecA* en cada cepa aislada, como resultado, *S. aureus* fue identificado en 115 cultivos, de los cuales el 46,1 % presentó resistencia a la meticilina, además, la distribución de los tipos de SCCmec correspondió en su mayoría al tipo I (79,2 %), seguido de los tipos III (1,9 %) y IV (7,5 %), sin detección de los tipos II ni V, lo que confirmó la presencia de SARM comunitario en el personal sanitario, evidenciada por la identificación del SCCmec tipo IV correspondiente a la variante comunitaria de SARM (28).

En Ecuador, Stephany V, et al., en su estudio titulado *"Prevalencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente en el personal de salud de un Hospital de Especialidades en Quito-Ecuador*", aplicaron un enfoque descriptivo y observacional dirigido a determinar la colonización nasal en trabajadores de áreas críticas como Neonatología, Quirófanos y Cuidados Intensivos, mediante el análisis de 191 muestras clínicas cultivadas en agar sangre y agar sal manitol, complementadas con pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Los resultados encontraron una prevalencia de 44 %

de *S. aureus,* de los cuales el 55% correspondieron a SARM. En términos de distribución por grupos, el personal de enfermería presentó la mayor tasa de colonización con un 31%, seguido del 12% en el personal médico clínico, lo que sugiere una exposición significativa en funciones asistenciales directas y destaca la importancia de fortalecer las estrategias institucionales de control de infecciones y vigilancia en trabajadores clínicos expuestos a entornos críticos (8).

1.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.2.1 *Staphylococcus aureus* - características microbiológicas

Staphylococcus aureus es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, reconocido por su alta patogenia y capacidad de adaptación al huésped. Se clasifica como *estafilococo coagulasa positivo* debido a la producción de coagulasa, una enzima que le confiere ventajas en la evasión del sistema inmune al inducir la conversión del fibrinógeno en fibrina, favoreciendo la formación de microabscesos y protegiéndolo de la fagocitosis. Esta bacteria se ha llegado a considerar como parte de la flora normal de la piel y las mucosas, con una prevalencia de portadores nasales asintomáticos del 20-30 % en la población adulta (6). Su capacidad de colonización se debe a la expresión de adhesinas que facilitan la interacción con componentes de la matriz extracelular, como fibronectina, fibrinógeno y colágeno. En condiciones de inmunosupresión o disrupción de barreras epiteliales, *S. aureus* adquiere un fenotipo invasivo, desencadenando infecciones localizadas o patologías sistémicas graves como endocarditis, osteomielitis y sepsis (29)(2).

Desde el punto de vista microbiológico, presentan un diámetro de 0,8 y 1,5 μm, agrupados en racimos irregulares. Su metabolismo es fermentativo, con capacidad para crecer en medios con altas concentraciones de NaCl, lo que permite su aislamiento diferencial en agar manitol salado. En agar sangre, genera hemólisis β mediante la producción de hemolisinas, facilitando la diseminación en el huésped (29)(30).

1.2.2 Microbiota

Staphylococcus aureus es un microorganismo que forma parte de la microbiota normal de la piel, mucosas y tracto respiratorio superior en humanos. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, puede convertirse en un patógeno oportunista, causando infecciones tanto en la comunidad como en entornos hospitalarios. La colonización asintomática por *S. aureus* en trabajadores de la salud y pacientes hospitalizados representa un riesgo

significativo para la transmisión de cepas resistentes como *S. aureus* resistente a meticilina (SARM). Su capacidad para persistir en la microbiota nasal y cutánea facilita su diseminación y la aparición de infecciones nosocomiales (31).

1.2.3 Patogenia de *S. auerus*

La virulencia de *S. aureus* está determinada por factores citotóxicos y moduladores inmunológicos. Entre ellos, destacan la cápsula y la matriz de polisacáridos extracelulares, las cuales forman una barrera protectora que inhibe la fagocitosis y modula la respuesta inmune al impedir la migración y activación de células mononucleares. En cuanto a la pared celular, el peptidoglucano proporciona estabilidad osmótica y tiene actividad inmuno-estimuladora al inducir la producción de pirógenos endógenos y la quimiotaxis de neutrófilos. Los ácidos teicoicos, favorecen la adhesión a superficies epiteliales y regulan la homeostasis iónica de la membrana bacteriana. Por otro lado, la proteína A actúa como un mecanismo de camuflaje al unirse a la región Fc de las inmunoglobulinas IgG, bloqueando la opsonización y reduciendo la eficacia de la fagocitosis (32,33).

1.2.4 Importancia en la salud pública

La OMS resalta el impacto que tienen las infecciones relacionadas con la atención de salud y la resistencia a los antimicrobianos en la vida de las personas. Existe alrededor del 24% de pacientes afectados de septicemia de origen nosocomial y el 52,3% de esos pacientes tratados en una unidad de cuidados intensivo mueren cada año (34). *S. aureus* es una de las principales causas de infecciones nosocomiales debido a su capacidad de desarrollar resistencia a múltiples antibióticos, particularmente a la meticilina, lo que incrementa la morbimortalidad hospitalaria y los costos de atención sanitaria. Su rápida propagación en hospitales y la comunidad ha impulsado la implementación de programas de control de infecciones y vigilancia epidemiológica (35).

1.3 Mecanismos de resistencia de *Staphylococcus aureus* a antibióticos.

Generalidades e historia

La resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos betalactámicos surgió con la aparición de cepas resistentes a la meticilina (SARM) en la década de 1960, lo que dificultó su tratamiento. Su diseminación aumentó en los años 70 y 80 con el uso masivo de cefalosporinas en hospitales, dando lugar al SARM asociado a la atención médica (SARM-HA). En los 90, emergieron variantes comunitarias (SARM-AC) y, a

principios del siglo XXI, cepas vinculadas al ganado (SARM-A). La resistencia a betalactámicos se debe a la presencia del casete cromosómico estafilocócico (SCCmec), que alberga los genes *mecA* o *mecC*, además de determinantes para resistencia a otros antibióticos como aminoglucósidos y macrólidos. La rápida evolución de estos elementos genéticos ha dificultado el control de infecciones por SARM y limitado las opciones terapéuticas (36).

1.3.1 Resistencia mediada por Betalactamasas

Los antibióticos betalactámicos actúan sobre ciertas enzimas (transpeptidasas, transglicosilasas, carboxipeptidasas) implicadas en la síntesis de peptidoglicano, un elemento clave de la pared celular bacteriana. Las proteínas inactivadas por los betalactámicos se denominan PBP (proteínas de unión a la penicilina). La inactivación de PBP específicas provoca la muerte celular bacteriana. En *stafilococcus*, el mecanismo que implica la síntesis de betalactamasas (penicilinasas) es muy común. Estas enzimas incluyendo las llamadas penicilinas sensibles a betalactamasas (penicilinas naturales y aminopenicilinas). Las betalactamasas sintetizadas por *S. aureus* están clasificadas como grupo 2a por Bush y clase A por Ambler. Son sintetizadas por la mayoría de SARM, pero también muy frecuentemente por MSSA (25).

1.3.2 Síntesis de PBP2A

La resistencia de *Staphylococcus aureus* a la meticilina está mediada por la síntesis de la proteína de unión a penicilina 2A (PBP2A), la cual confiere resistencia a los antibióticos betalactámicos al reemplazar la actividad transpeptidasa de las proteínas PBP convencionales. Los genes que codifican PBP2A están localizados en los casetes cromosómicos estafilocócicos (*SCCmec*), que pueden ser adquiridos por transferencia horizontal a través de conjugación o transducción. La resistencia a la meticilina se determina mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI) de oxacilina y cefoxitin, cuyos valores máximos varían según las directrices de EUCAST y CLSI. En general, las cepas que expresan PBP2A son resistentes a todos los betalactámicos terapéuticos, excepto a ceftobiprol y ceftarolina (21)(25).

En *S. aureus* meticilino-sensible (MSSA), la biosíntesis del peptidoglicano depende de varias PBP (PBP1-PBP4), mientras que en cepas resistentes (SARM), PBP2A asume

la actividad transpeptidasa, permitiendo la formación de la pared celular incluso en presencia de betalactámicos (25).

El gen *mecA* determinante de la resistencia a la meticilina en *S. aureus* se encuentra integrado dentro de un elemento genético móvil conocido como **SCCmec** el cual puede insertarse en el cromosoma bacteriano y transferirse entre cepas. Se ha sugerido que este gen podría tener un origen en especies de *Staphylococcus* coagulasa negativa como *S. sciuri* o *S. fleuretti*, especies que suelen encontrarse en animales, y que desde allí habría sido transferido a *S. aureus*. Existen diversos tipos y subtipos de SCCmec, los cuales comparten una estructura general compuesta por varios elementos funcionales. Todos contienen el complejo de genes *mec*, donde se incluye el propio *mecA* y genes reguladores como *mecI* y *mecR*, que controlan su expresión. Además, estos elementos poseen un grupo de genes llamados ccr, que codifican enzimas responsables de insertar o remover el cassette dentro del genoma bacteriano. Otra región relevante es la denominada región J, que puede portar genes de resistencia adicionales, no solo frente a betalactámicos, sino también contra otras familias de antibióticos como macrólidos, lincosamidas o aminoglucósidos, e incluso contra metales pesados. Estas regiones aportan variabilidad y adaptabilidad a las cepas que lo portan, facilitando su persistencia en ambientes hospitalarios.

1.3.3 Resistencia a Glucopéptidos

La resistencia de *Staphylococcus aureus* a los glucopéptidos, como la vancomicina y la teicoplanina, se debe principalmente a la modificación del sitio de unión del antibiótico en la pared celular bacteriana, específicamente en el dipéptido D-Ala-D-Ala. En algunas cepas resistentes, este dipéptido es reemplazado por D-Ala-D-Lac, lo que reduce la afinidad del antibiótico y permite que la bacteria continúe con su crecimiento y multiplicación. La evaluación de la resistencia a los glucopéptidos se realiza mediante pruebas de difusión en agar, utilizando discos impregnados de vancomicina o teicoplanina y pruebas de concentración mínima inhibitoria (21).

1.3.4 Resistencia a Macrólidos y lincosamidas

Existen varios mecanismos de resistencia de *S. aureus* a los antibióticos MLS-B. El mecanismo más común implica la modificación del sitio diana del antibiótico. El gen que codifica la metilasa sintetasa *erm* puede expresarse de manera constitutiva, en cuyo caso las cepas muestran resistencia a todos los MLS-B, o de manera inducible, en cuyo

caso la resistencia se produce solo a los antibióticos que son inductores de la síntesis de metilasa (eritromicina, claritromicina, oleandomicina). La introducción por parte del CLSI de una prueba de resistencia inducible a MLS-B para estafilococos y estreptococos en las pruebas de rutina pretendía impedir el uso de clindamicina en pacientes infectados con bacterias que, aunque muestran sensibilidad a este antibiótico, pueden volverse resistentes a él muy fácilmente durante el tratamiento. La resistencia de Staphylococcus aureus a los antibióticos del grupo macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (MLS-B) puede expresarse a través de diferentes fenotipos: el fenotipo MSB presenta resistencia solo a macrólidos y es mediado por bombas de expulsión activa como *msrA*, mientras que el fenotipo MLSBi corresponde a una resistencia inducible a clindamicina en presencia de eritromicina, causada por genes del grupo *erm*; este patrón requiere confirmación mediante prueba D. Por otro lado, el fenotipo MLSBc es una resistencia constitutiva, donde la bacteria es resistente tanto a eritromicina como a clindamicina desde el inicio (9).

1.4 Métodos para la detección de resistencia a meticilina

1.4.1 Métodos fenotípicos

Difusión en disco de Cefoxitin

Para la detección de SARM, se utiliza la prueba de difusión en disco con cefoxitin, un método fenotípico recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se basa en la medición del halo de inhibición generado por el cefoxitin en un cultivo de *S. aureus* en agar Mueller-Hinton con una suspensión de colonia, equivalente a un estándar de 0.5 McFarland. Un halo de inhibición ≤ 21 mm indica resistencia a meticilina y la probable presencia del gen *mecA* (37).

Tabla 1. *Métodos o dianas para la detección de Staphylococcus spp. resistentes a la meticilina (oxacilina)*

Organismo	**Difusión en disco**		**MIC**		***mecA***	**PBP2a**	**Agar salino de oxacilina**	**Fuente**
	Cefoxitin	**Oxacilina**	**Cefoxitin**	**Oxacilina**				
S. aureus	Sí (16-18h)0	No	Sí (16-20h)	Sí (24h)	Sí	Sí	Sí (24h)	CLSI(38)

1.4.2 Métodos genotípicos

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica molecular utilizada para amplificar regiones específicas del ADN, permitiendo detectar con precisión genes de resistencia como el *mecA* en *Staphylococcus aureus* al emplear cebadores sintéticos que identifican el fragmento de interés y, mediante ciclos repetidos, se generan millones de copias de este, facilitando su análisis en laboratorio (39). El protocolo varía en su tiempo de duración e incluye tres etapas: extracción del ADN, amplificación mediante un termociclador y detección de los productos amplificados mediante electroforesis en gel de agarosa en el método convencional permitiendo la detección de fragmentos de ADN específicos incluso en pequeñas cantidades de ADN (40).

Electroforesis

La electroforesis en gel de agarosa es una técnica comúnmente empleada en biología molecular para la separación de fragmentos de ADN, como los generados por la amplificación mediante PCR. Esta técnica se basa en la aplicación de una corriente eléctrica que impulsa las moléculas a través de una matriz de gel, la cual actúa como un filtro poroso; en este proceso, los fragmentos más pequeños migran con mayor facilidad y velocidad que los de mayor tamaño. La electroforesis permite visualizar los productos amplificados y confirmar su presencia al comparar la posición de la banda con un marcador de peso molecular conocido, lo que facilita la identificación precisa a nivel genético (41).

GeneXpert

Sistema automatizado que amplifica y detecta secuencias del gen *mecA* mediante PCR en tiempo real. Esta técnica combina la extracción, amplificación y detección en un solo cartucho cerrado, reduciendo el riesgo de contaminación. Existen dos cartuchos disponibles: el Xpert MRSA/SA BC, utilizado con hemocultivos crecidos, y el Xpert MRSA/SA SSTI, para infecciones de piel y tejidos blandos. Su alta sensibilidad y especificidad permiten la identificación de SARM en menos de dos horas, siendo una herramienta clave en el diagnóstico rápido y en la prevención de brotes hospitalarios (40).

Filmarray

Plataforma de biología molecular que permite la detección simultánea de múltiples genes de resistencia y virulencia, incluyendo *mecA* y otros determinantes asociados a SARM. Su tecnología de microfluidos y PCR multiplexada facilita el diagnóstico de infecciones bacterianas en tiempo real, mejorando la toma de decisiones clínicas. Primero, se amplifica una región de ADN que contiene el segmento diana, y el producto obtenido se utiliza como molde para una segunda PCR. Esta segunda amplificación ocurre en una matriz con pocillos que contienen los primers específicos para los ensayos. El instrumento, utilizando un fluorocromo, evalúa la curva de fusión del ADN en cada pocillo para determinar la presencia de un producto de PCR (40).

Secuenciación

La secuenciación del genoma completo (WGS, Whole Genome Sequencing) de SARM permite la identificación detallada de genes de resistencia y factores de virulencia. Este método proporciona información sobre la filogenia y evolución de las cepas, permitiendo la vigilancia epidemiológica y el rastreo de brotes nosocomiales. Además, facilita el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y de control basadas en el perfil genético de las bacterias resistentes. La implementación de estos métodos en la práctica clínica permite mejorar la detección de SARM y contribuir a la contención de su propagación en entornos hospitalarios y comunitarios (40).

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo.

1.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar *Staphylococcus aureus* a partir de hisopados nasales y de manos de los trabajadores de la unidad de salud mediante técnicas fenotípicas manuales.
- Identificar la resistencia a meticilina en los aislamientos de *Staphylococcus aureus* mediante pruebas de difusión en disco.
- Detectar la presencia del gen *mecA* en los aislamientos confirmados como SARM mediante PCR convencional

1.6 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo?

CAPÍTULO II

2.1 MATERIALES, RECTIVOS Y EQUIPOS

2.1.1 Humanos

Autor del trabajo de investigación: Apo Analuisa Kevin Alexander

Tutor del trabajo de investigación: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales Evelyn Katherine

Población total: 70 trabajadores del Hospital Básico Pelileo

2.1.2 Institucionales

- Laboratorio de Análisis UTA-LABB.
- Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud de Universidad Técnica de Ambato.

2.1.3 Materiales

- Guantes
- Mascarilla
- Computador
- Hojas de papel bond
- Esferos
- Rotulador
- Hisopos de manera con punta de algodón
- Hisopos estériles
- Alcohol al 70 %
- Asas calibradas
- Portaobjetos
- Cajas mono – Petri de 90x15 cm
- Escala McFarland al 0.5
- Agua oxigenada (H_2O_2)
- Tubos de ensayo
- Tubos tapa celeste con citrato de sodio
- Puntas de 1000 uL
- Puntas de 200 uL

- Puntas de 10 uL
- Tubos de 0.2 uL
- Primers
- Agarosa
- DNA Ladder

2.1.4 Reactivos

- Vial de discos de susceptibilidad antimicrobiana – OXOID
- Kit de reactivos para PCR - Go taq Green Master Mix-Promega
- Agar manitol sal – OXOID

2.1.5 Equipos

- Refrigerador
- Microcentrífuga
- Centrífuga
- Vortex
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Microscopio
- Termociclador Bio-RAD T100
- Cámara de Electroforesis
- Fotodocumentador ChemiDoc Bio-Rad

2.2. MÉTODOS

2.2.1 Nivel o tipo de investigación

Investigación observacional de tipo descriptiva - trasversal

2.2.2 Enfoque de la investigación

Desde el enfoque cualitativo, se aplicaron métodos de laboratorio que permitieron caracterizar microbiológicamente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Este abordaje se reflejó en la identificación fenotípica de las cepas mediante cultivo en agar manitol salado, pruebas bioquímicas (catalasa y coagulasa), tinción de Gram, y posteriormente en el análisis genético por PCR convencional para la detección del gen *mecA*.

Por otro lado, el enfoque cuantitativo permitió medir y analizar la frecuencia de portadores de SARM entre los trabajadores del Hospital Básico Pelileo. Los datos obtenidos fueron organizados, codificados y procesados estadísticamente, lo que posibilitó establecer proporciones, tasas y patrones de distribución de la resistencia antimicrobiana. El análisis se realizó con el uso de herramientas estadísticas como el software IBM SSPS Stadistics que facilitaron la interpretación gráfica y numérica de los datos microbiológicos y moleculares recolectados.

2.3 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

2.3.1 Campo y área

Campo amplio: Salud y Bienestar; Campo específico: Salud; Área: enfermedades infecciosas

2.3.2 Delimitación Temporal

La investigación fue realizada durante el período marzo – julio 2025, período académico de la Universidad Técnica de Ambato.

2.3.2 Delimitación Espacial

El proyecto de investigación estuvo enfocado en trabajadores del Hospital Básico Pelileo.

2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

Dentro del siguiente proyecto de investigación, la población total fueron los 73 trabajadores del Hospital Básico Pelileo, de la cual se escogió una muestra por conveniencia de 70 trabajadores de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión.

2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión de los participantes

- Trabajadores registrados en el Hospital Básico Pelileo.
- Trabajadores que hayan firmado el consentimiento informado previo a la toma de la muestra.
- Trabajadores sin antecedentes de infección activa por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM).

Criterios de exclusión de los participantes

- Trabajadores bajo tratamiento antimicrobiano en los últimos cinco días.
- Trabajadores con antecedentes de enfermedades catastróficas e inmunosupresoras.
- Trabajadores que se encuentren en vacaciones o ausentes al momento del estudio.
- Trabajadores pertenecientes a poblaciones vulnerables.

2.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

La operacionalización de las variables será descrita a detalle en el ***Anexo 2***.

Variable dependiente: Presencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

Variables independientes:

- Susceptibilidad Antimicrobiana
- Gen *mecA*
- Factores de riesgo

2.7 MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se socializó a los trabajadores del Hospital Básico Pelileo el propósito del estudio y los procedimientos a realizar, garantizando el cumplimiento de los principios éticos y el respeto a la confidencialidad de los participantes. La participación fue voluntaria, y cada trabajador firmó un consentimiento informado previamente a la toma de muestra, asegurando la autorización expresa para el uso de la información y de las muestras biológicas recolectadas.

Posteriormente, se procedió con la toma de muestras de hisopado nasal y de manos ***(Gráfico 1),*** siguiendo las normas de bioseguridad y las indicaciones técnicas establecidas. Adicionalmente, se aplicó un formulario estructurado de recolección de datos ***(ver Anexo 3)***, en el cual se registró información general de los participantes. Esta información acompañó a los resultados microbiológicos con fines descriptivos y para su posterior análisis estadístico.

2.8 PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Pregunta de investigación: ¿Cuál es la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo?

Se empleó estadística descriptiva, con la distribución de frecuencias, los datos fueron analizados con el software SPSS IBM Statistics para identificar patrones en las áreas del hospital estudiadas, esta información fue útil para implementar estrategias de control y prevención de infecciones.

2.9 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS

2.9.1 Consentimiento Informado

Se elaboró un documento titulado: "Consentimiento Informado para recolección, uso y almacenamiento de muestras biológicas y datos personales" **(*Anexo 4*)**, con el objetivo de garantizar la confidencialidad de la información de los participantes en este proyecto de investigación. La participación fue completamente voluntaria. Los datos recopilados se trataron de manera confidencial. En caso de que los resultados sean publicados en revistas médicas o presentados en congresos, la identidad de los participantes no será revelada.

2.9.2 Codificación de los pacientes

Fue elaborada una base de datos de los participantes involucrados en el estudio, donde se asignó una codificación alfanumérica para mantener el anonimato de los datos personales. La codificación incluyó las iniciales de los nombres y apellidos del participante y un número correspondiente. Por ejemplo:

- **Ejemplo de codificación:** Primer nombre/Segundo Nombre/Primer Apellido/Segundo Apellido-Orden secuencial.
- **Formato:** KAAA01

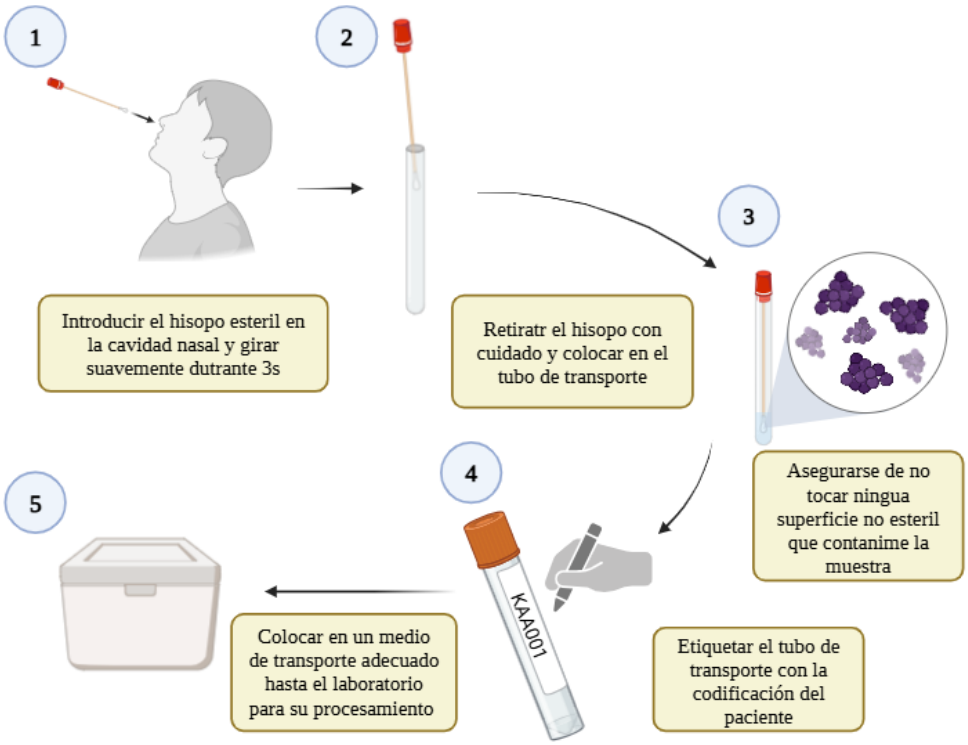
  Nota: Esta codificación se utilizó para etiquetar las muestras recolectadas y para su procesamiento en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular.

2.9.3 Protocolo de toma de muestra de hisopado nasal

1. Realizar un correcto lavado de manos con agua y jabón.
2. Se seleccionará una correcta área con iluminación para realizar el procedimiento.
3. Humedecer el hisopo del medio de transporte con solución salina.
4. Llevar la cabeza del paciente levemente hacia atrás mientras.
5. Introducir el hisopo 1 a 2 cm en la fosa nasal girándolo suavemente para recoger la muestra de secreciones durante 10 – 15 segundos.

6. Retirar el hisopo con cuidado y colocarlo en un tubo de transporte, asegurándose de no tocar superficies no estériles.
7. Cerrar el recipiente con el medio de transporte Stuart.
8. Rotular la parte exterior del envase de recolección con el código del participante.
9. Colocar el tubo de transporte en una bolsa plástica para su transporte al laboratorio.
10. Desechar los materiales utilizados para la recolección y lavarse bien las manos (42).

Gráfico 1. *Guía pata la toma de muestra de hisopado nasal*



Fuente: Corporación Biológica, 2025[41].

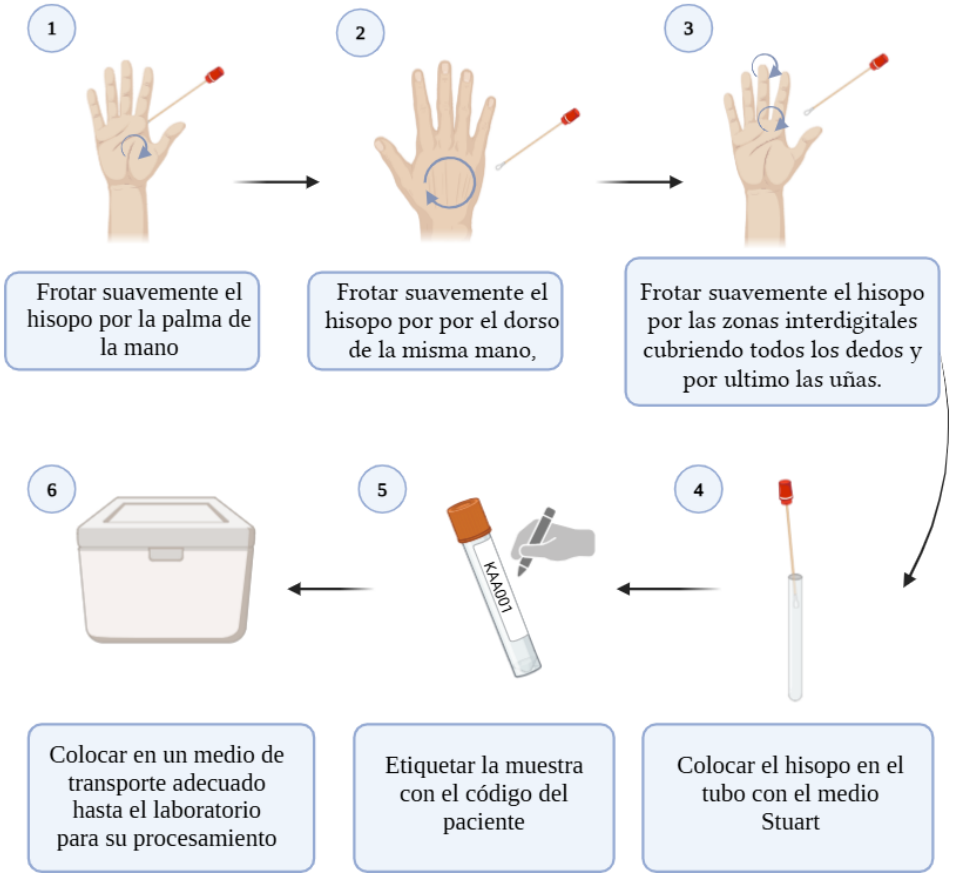
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.4 Protocolo de toma de Muestra de hisopado en manos

El investigador realizó la toma de muestra durante la jornada de trabajo, por lo que a todos los pacientes se les pidió que se retirarán los guantes para llevar a cabo el procedimiento.

1. Lavar las manos y ponerse guantes estériles.
2. Humedecer el hisopo del medio de transporte con solución salina.
3. Frotar suavemente el hisopo por la palma de la mano, luego por el dorso de la misma mano. Seguidamente las zonas interdigitales cubriendo todos los dedos y por ultimo las uñas cubriéndolas todas.
4. Evitar tocar otras superficies con el hisopo.
5. Colocar el hisopo en el tubo con el medio de transporte Stuart.
6. Etiquetar la muestra con el código del paciente y transportarla al laboratorio.
7. Desechar los materiales utilizados para la recolección y lavarse bien las manos (43).

Gráfico 2. *Guía pata la toma de muestra de hisopado de manos*



Fuente: Servicio Andaluz de Salud, 2020 (42).

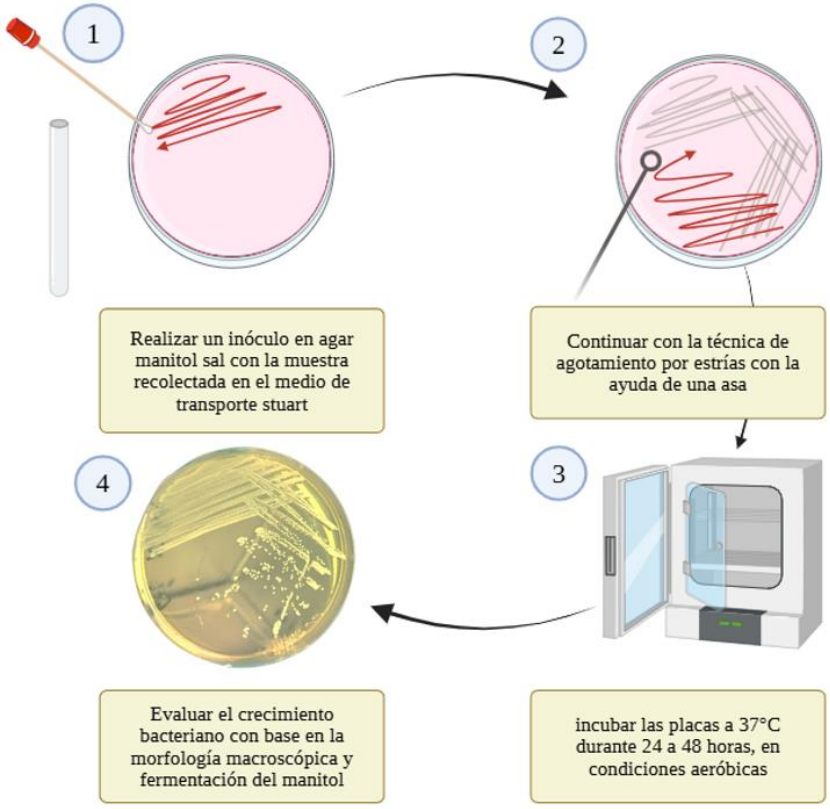
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.5. Aislamiento bacteriano

1. Se procedió a desinfectar la cabina de flujo laminar utilizando papel absorbente humedecido con alcohol al 70%, garantizando condiciones estériles para la siembra de las muestras.

2. Dos días antes de la toma de muestra, los medios de cultivo de agar manitol se prepararon siguiendo las instrucciones del fabricante ***(Gráfico 34).***
3. Se utilizó un matraz para la preparación y se esterilizó por autoclave a 121°C durante 15 minutos.
4. Para evitar que se solidifiquen los medios de cultivo, se mantuvieron a una temperatura entre 50°C y 60°C hasta que se viertan en las cajas Petri estériles.
5. Se utilizó aproximadamente 25 ml de medio de cultivo por caja Petri.
6. Todo el proceso se llevó a cabo en la cabina de flujo laminar para garantizar la esterilidad.
7. El asa microbiológica de platino fue esterilizada por flambeo directo en el mechero.
8. Las muestras recolectadas (hisopado nasal y de manos) fueron inoculadas en agar manitol salado, medio selectivo y diferencial para la detección de *Staphylococcus aureus* ***(Gráfico 35).***
9. La siembra se realizó mediante la técnica de agotamiento por estrías.
10. Entre cada estriado, se esterilizó nuevamente el asa con flambeo para evitar contaminación cruzada.
11. Una vez concluido el procedimiento, se incubaron las placas a 37°C durante 24 a 48 horas, en condiciones aeróbicas.
12. Pasado el tiempo de incubación, se evaluó el crecimiento bacteriano con base en la morfología macroscópica, observando características como tamaño, forma, color y fermentación del manitol (evidenciado por el viraje de color del medio) ***(Gráfico 36)*** (44).

Gráfico 3. *Guía para el aislamiento de S. aureus*



Fuente: Revisa Científica Ocronos, 2024 (43)

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.6 Pruebas Bioquímicas

1. Se desinfectó la cabina de flujo laminar con papel absorbente y alcohol al 70%, y se esterilizaron las asas microbiológicas por flambeo.
2. Las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* fueron seleccionadas del agar manitol salado y sometidas a pruebas bioquímicas específicas.
3. Se aplicaron las pruebas de:

Catalasa:

1. Se añade 0.5 ml de plasma en un tubo y se inocula con una colonia bacteriana fresca a 37°C durante 2-4 horas.
2. La prueba es positiva si se observa formación de coágulo. Si no se observa el coágulo, la prueba es negativa.

Coagulasa:

1. Se toma una colonia fresca de la bacteria y se coloca en un portaobjetos.
2. Se añade una gota de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) al portaobjetos.

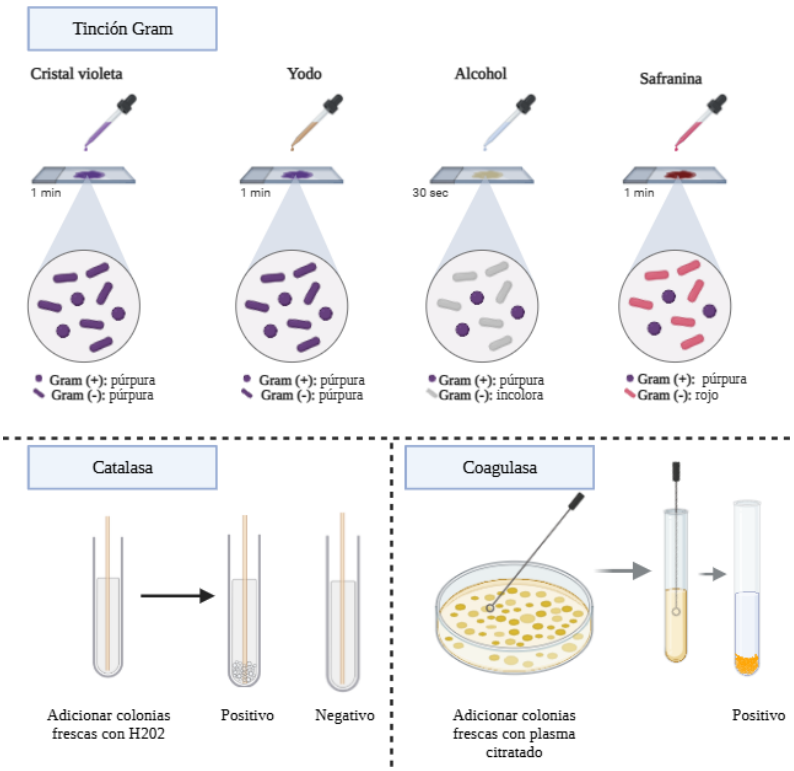
3. Se observa inmediatamente si se producen burbujas. Si se observan burbujas, la prueba es positiva, si no se observan burbujas, la prueba es negativa.

Tinción de Gram:

1. Realizar un extendido de la muestra en un portaobjetos.
2. Fijar el extendido con calor.
3. Aplicar cristal violeta 60s.
4. Lavar el portaobjetos y añadir Lugol 60s
5. Aplicar alcohol/acetona 30s
6. Añadir Safranina 60s
7. Observar las placas en microscopio ***(Gráfico 37).***

Los resultados fueron interpretados según las reacciones esperadas para *Staphylococcus aureus*, confirmando su identidad presuntiva.

Gráfico 4. *Guía para pruebas bioquímicas para identificación de S. aureus*



Fuente: Revisa Científica Ocronos, 2024 (43)

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.7 Determinación de la Susceptibilidad a los antibióticos

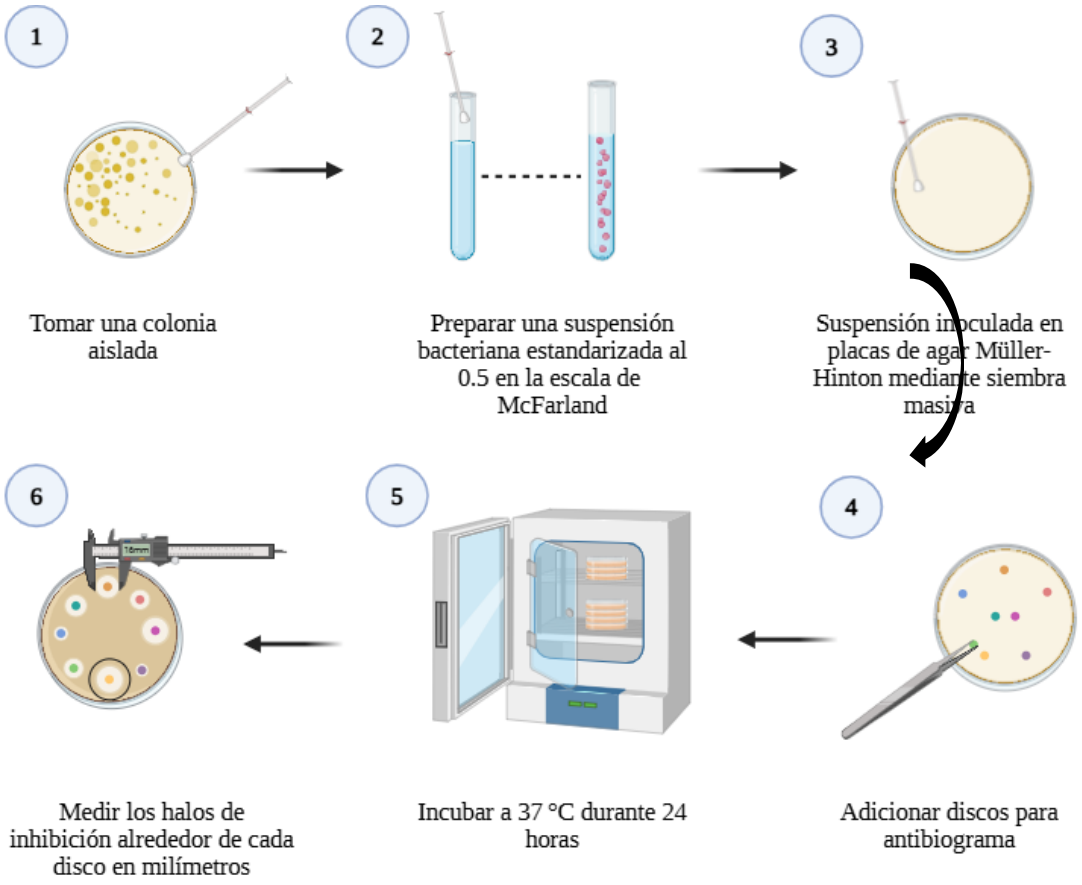
1. Se preparó una suspensión bacteriana estandarizada al 0.5 en la escala de McFarland, utilizando colonias puras de *Staphylococcus aureus* previamente aisladas en agar manitol salado (***Gráfico 38***).
2. La suspensión fue inoculada en placas de agar Müller-Hinton mediante siembra masiva, cubriendo toda la superficie del medio con un hisopo estéril en múltiples direcciones para garantizar una distribución homogénea del inóculo.
3. Se colocó un disco de Cefoxitina (FOX) en el centro de la placa, para la detección fenotípica de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM). Además, se distribuyeron discos de diferentes antibióticos en la periferia de la placa, con sus respectivas codificaciones, de la siguiente manera (***Gráfico 39***):

- Penicilina (P)
- Trimetoprima/Sulfametoxazol (SXT)
- Ciprofloxacina (CIP)
- Eritromicina (ERI) y Clindamicina (CLI) a 1,5 cm de distancia. Estos fueron utilizados para la realización del D-test, con el fin de detectar resistencia inducible a clindamicina en presencia de un macrólido.
- En una segunda placa, se colocaron los discos de:
- Linezolid (LZD)
- Azitromicina (AZM)
- Tetraciclina (TE)
- Gentamicina (CN)
- Ceftarolina (CPT)

4. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Tras el tiempo de incubación, se procedió a la lectura de los halos de inhibición alrededor de cada disco, midiendo sus diámetros en milímetros.
5. Se consideraron cepas resistentes a meticilina (SARM) aquellas que presentaron un halo ≤ 21 mm frente a Cefoxitina (FOX). Por otro lado, un halo ≥ 22 mm fue interpretado como sensible.

6. En cuanto al D-test, se consideró positivo cuando se observó un halo aplanado en forma de "D" alrededor del disco de clindamicina adyacente a eritromicina, indicando resistencia inducida. Un halo circular normal en ambos discos indicó un resultado negativo (45).

Gráfico 5. *Detección de mecA y sinergismos*



Fuente: Salud Uninorte, 2020 (44)

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.8 Extracción de ADN

Dilución TE 40X comercial

Se prepararon 1000 ml de una solución TE 1X a partir de una solución TE 40X comercial. Para ello, se utilizaron 25 ml de la solución TE 40X, que se diluyeron hasta un volumen final de 1000 ml con agua destilada. Este cálculo se basa en la fórmula de dilución:

$$V1 * C1 = V2 * C2$$

$$V1 = \frac{V2 * C2}{C1}$$

$$V1 = \frac{1000\ ml * 1X}{40X}$$

$$V1 = 25\ ml$$

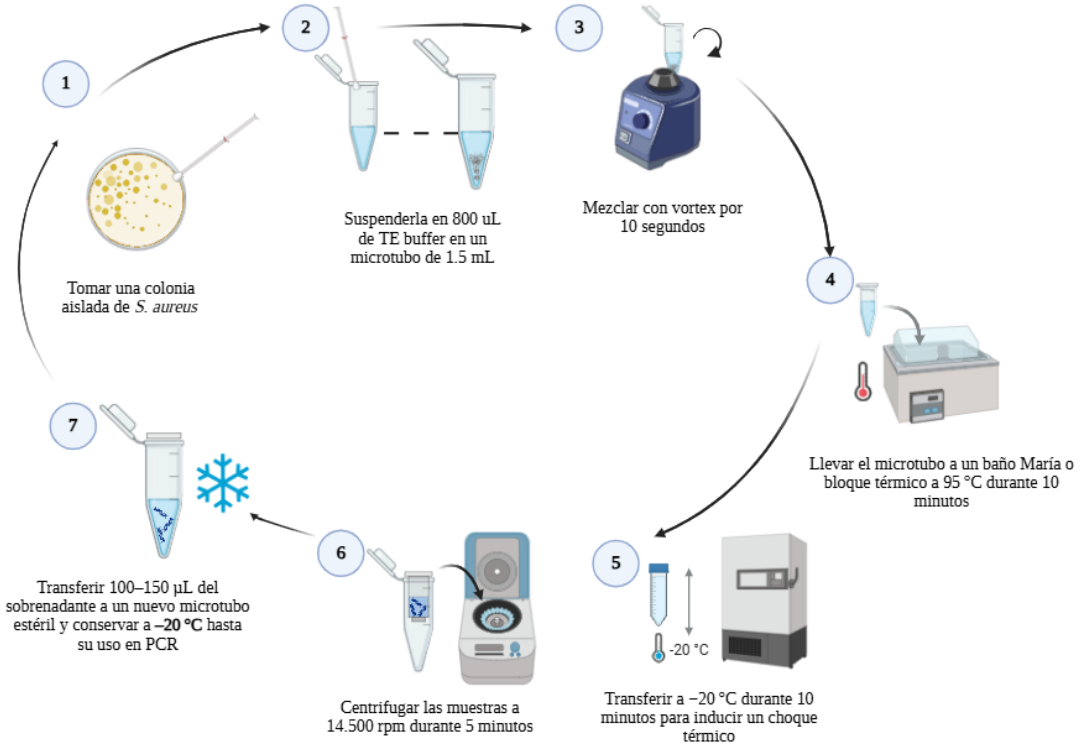
Se tomó 25 ml de TE 40X comercial y se aforó con 975 ml de agua destilada para alcanzar una concentración final de TE 1X.

Fueron dispensados 800 ul de TE 1X en tubos Eppendorf de 1.5 ml para la extracción ADN de las colinas bacterianas.

El ADN genómico de *Staphylococcus aureus* fue extraído empleando el método de ebullición convencional ***(Gráfico 40)***. El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera:

1. Se seleccionaron colonias bacterianas frescas y se suspendieron Buffer TE 1x con volumen final de 800 ul y se mezcló con vortex por 10 segundos
2. La suspensión bacteriana fue colocada a ebullición a 95 °C durante 10 minutos con el fin de lisar las células y liberar el material genético.
3. Inmediatamente, los tubos fueron transferidos a −20 °C durante 10 minutos para inducir un choque térmico y facilitar la precipitación de los residuos celulares.
4. Posteriormente, se centrifugaron las muestras a 14.500 rpm durante 5 minutos.
5. Finalmente, el sobrenadante fue recuperado y conservado como fuente de ADN genómico para su posterior uso para PCR (46).

Gráfico 6. *Flujograma para extracción de ADN*



Fuente: Infectious disease reports, 2021(43)

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.9 Reacción en cadena de la polimerasa

Cálculo de la Master Mix ***(Gráfico 42)***

Tabla 2. *Preparación de la Master Mix*

Reactivos	**Volumen**	**Concentración final**
Agua	9 uL	N.A
GoTaq	12 uL	1X
mecA Forward	1 uL	0.1–1.0µM
mecA Reverse	1 uL	0.1–1.0µM
ADN	2 µL	<250ng
Total	25 uL	

- Consideraciones de los cebadores utilizados para la reacción:

Tabla 3. *Cebadores empleador en PCR*

Nombre del gen	Nombre del cebador	Secuencia	Amplicón (pb)	Referencias
mecA	mecA-F mecA-R	5´- TGGCTATCGTGTCACAATCG-3´ 5´-CTGGAACTTGTTGAGCAGAG-3	310	García A, et ar. 2019 (27)

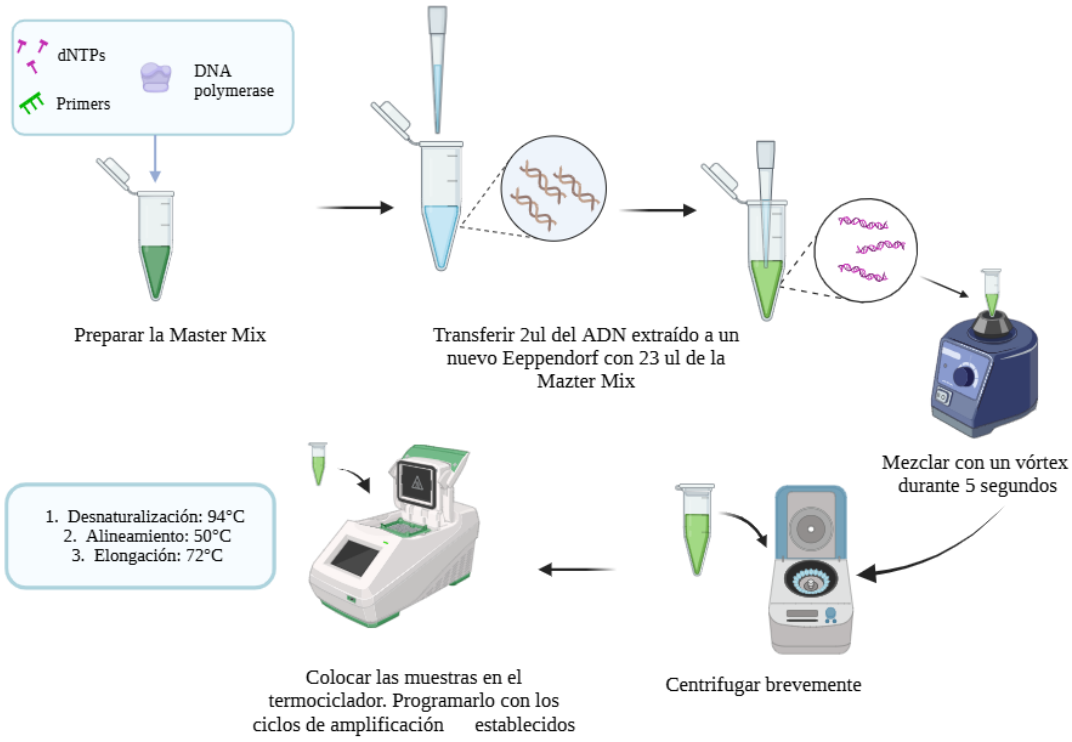
PCR ***(Gráfico 43)***

- El protocolo para la amplificación del gen mecA descrito en el comprendió:

Tabla 4. *Programa del termociclador*

Desnaturalización Inicial	Desnaturalización	Anillamiento	Elongación	Elongación final
94 °C (4 min)	94 °C (30 seg)	50 °C (30 seg)	72 °C (30 seg)	72 °C (2 min)
30 Ciclos				

Gráfico 7. *Guía para reacción en cadena de polimerasa (PCR)*



Elaborador por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Preparación del gel

1. El protocolo para la electroforesis descrito en el ***(Gráfico 8)*** comprendió:
2. Los extremos del molde fueron sellados con topes, y el peine fue colocado para formar los pocillos.
3. Se preparó una solución de agarosa 0,9 gr. en 60ml de solución de trabajo TAE1X aforada en 975 ml de agua destilada.
4. La mezcla fue calentada en microondas hasta lograr una disolución completa de la agarosa, obteniendo una solución clara y homogénea.
5. Una vez alcanzada una temperatura aproximada de 55 °C, la solución fue vertida en el molde con precaución.
6. La solidificación del gel ocurrió a temperatura ambiente.

Preparación de la cámara y carga de muestras

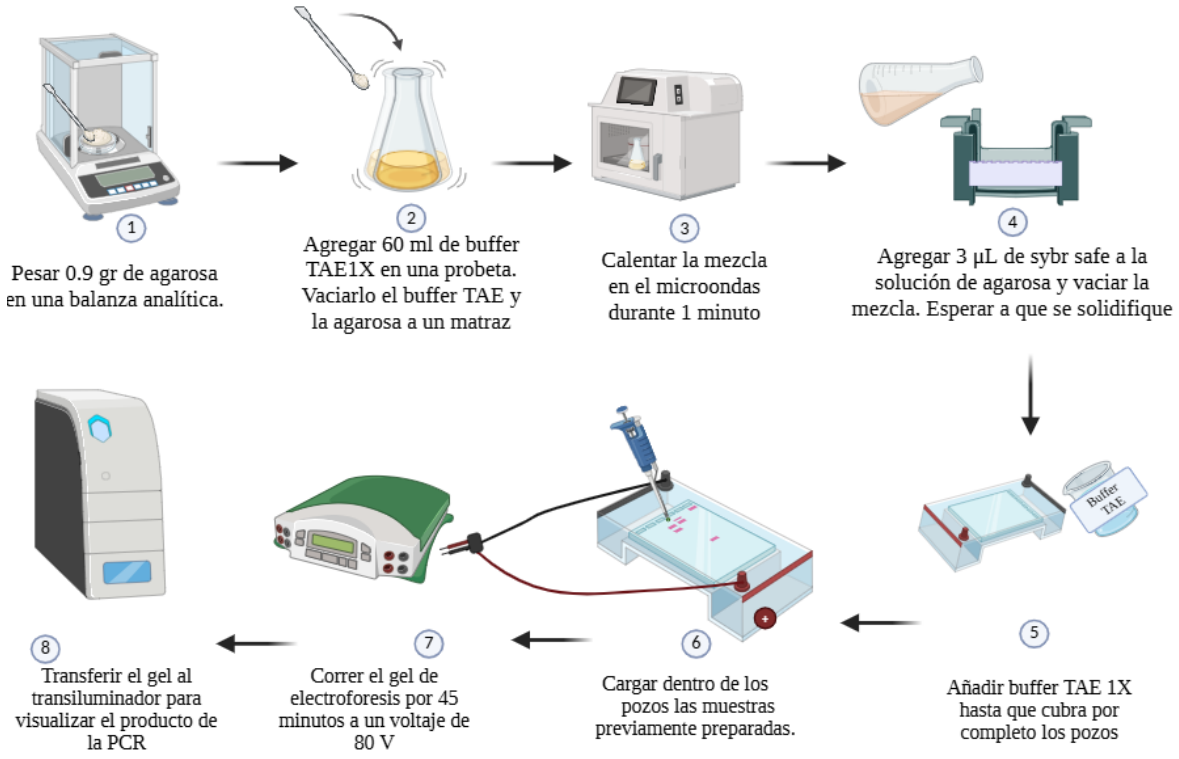
1. Tras la solidificación, los topes y el peine fueron retirados con cuidado para evitar dañar los pocillos.
2. El gel fue transferido a la cámara de electroforesis, orientando los pocillos hacia el electrodo negativo.
3. La cámara fue llenada con 300 ml de tampón de electroforesis hasta cubrir completamente el gel.
4. Las muestras de ADN fueron brevemente centrifugadas para concentrar el contenido en el fondo de los microtubos.
5. Posteriormente, se cargaron aproximadamente 8 µL de cada muestra en los respectivos pocillos utilizando micropipetas con puntas estériles.

Corrida electroforética *(Gráfico 44)*

1. La tapa del equipo fue colocada conectando correctamente los cables al polo correspondiente: negro al negativo y rojo al positivo.
2. La fuente de poder fue ajustada a 80 V para la corrida.
3. Durante la electroforesis se vigiló el avance del colorante marcador, asegurando que permaneciera dentro del gel.
4. Al finalizar el tiempo estimado (45 minutos), el equipo fue apagado, los cables desconectados y el gel retirado con precaución.

5. Finalmente, el gel fue colocado en el fotodocumentador ChemiDoc Bio-Rad, para la visualización de las bandas de ADN ***(Gráfico 45)***.

Gráfico 8. *Guía para electroforesis en gel de agarosa*



Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

2.9.10 Control de calidad

Medios de Cultivo

Para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos, se implementó un sistema de control de calidad que incorporó el uso de cepas de referencia de la ATCC (American Type Culture Collection). Estas cepas permitieron evaluar el rendimiento de los medios de cultivo utilizados en las pruebas.

Tabla 5. *Control de calidad Agar Manitol sal*

Medio de cultivo	Código	Marca	Cepa control	Crecimiento bacteriano
Agar manitol sal	CM0085B	OXOID	*Staphylococcus aureus* ATCC 43300	Crecimiento óptimo
Agar manitol sal	CM0085B	OXOID	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923	Crecimiento óptimo

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Susceptibilidad Antimicrobiana

La efectividad de los discos de antibióticos fue evaluada a partir de su acción sobre una placa de Agar Muller Hinton inoculada con la cepa control *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (Cepa resistente a meticilina) y otra placa inoculada con la cepa control *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Cepa sensible a meticilina).

Tabla 6. *Control de calidad de los discos de antibióticos*

Antibiótico	Marca	Halo de inhibición (mm)	Punto de corte QC (CLSI-M100)	Observaciones
Cefoxitin	OXOID	24	23 – 29	Óptimo
Linezolid	OXOID	28	24-30	Óptimo
Gentamicina	OXOID	22	19-27	Óptimo
Trimetoprima/Sulfametoxazol	OXOID	25	24–32	Óptimo
Ceftarolina	OXOID	34	26–35	Óptimo
Tetraciclina	OXOID	24	24–30	Óptimo
Penicilina	OXOID	32	26-37	Óptimo
Azitromicina	OXOID	25	21–26	Óptimo
Ciprofloxacina	OXOID	25	22–30	Óptimo
Eritromicina	OXOID	30	22–30	Óptimo
Clindamicina	OXOID	28	24–30	Óptimo

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La extracción de ADN genómico de los aislamientos de SARM fue realizada por el shock térmico. Posteriormente, se evaluó la calidad y concentración del material genético utilizando un espectrofotómetro Nanodrop ***(Gráfico 41)***, obteniéndose valores comprendidos entre 115-250 ng/µL. Esta cuantificación permitió confirmar la viabilidad del ADN extraído para su posterior amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Tabla 7*. Concentraciones de ADN de las muestras de SARM*

N°	Muestras	Concentraciones
1	SA06	192 ng/uL
2	SA09	329 ng/uL
3	SA18	168 ng/uL
4	SA31	115 ng/uL
5	SA68	245 ng/uL
6	SA70	150 ng/uL
7	SA71	226 ng/uL

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Para la validación de la amplificación del gen objetivo en *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, se empleó como control positivo la cepa ATCC 43300 de *S. aureus*, previamente caracterizado para el gen *mecA*. Como control negativo, se utilizó el ADN genómico aislado de la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina. Estos controles fueron cargados en los primeros pocillos del gel de electroforesis, ubicados inmediatamente después del marcador de peso molecular.

Tabla 8. *Controles usados para el estudio molecular*

Gen	Control positivo	Control negativo
mecA	ATCC 43300	ATCC 25923

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

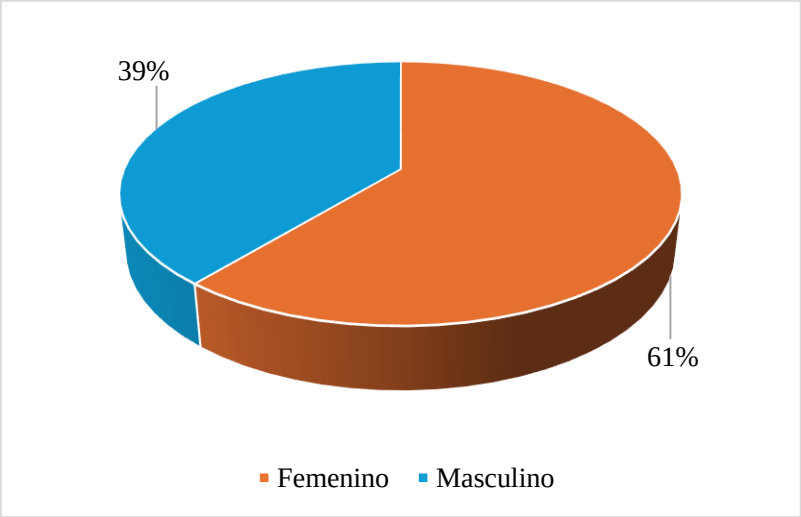
CAPÍTULO III

3.1 ANÁLISIS E INTERPREATCIÓN DE RESULTADOS

Se recolectaron muestras a hisopados nasales y de manos de un total de 70 trabajadores del Hospital Básico Pelileo, las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos UTA-LABB. El aislamiento de *Staphylococcus aureus* se realizó mediante cultivo en agar manitol salado, un medio selectivo y diferencial. Posteriormente, los aislamientos obtenidos fueron analizados a través de pruebas bioquímicas para su confirmación, seguido de la evaluación fenotípica de resistencia mediante la prueba de difusión en disco con cefoxitin y, finalmente, la detección del gen *mecA* por PCR convencional. A continuación, se presentan los resultados obtenidos, estructurados en función de las variables sociodemográficas, áreas hospitalarias, pruebas microbiológicas y perfiles de susceptibilidad antimicrobiana.

3.1.1 Análisis Sociodemográficos

Gráfico 9. *Caracterización de la población según sexo*

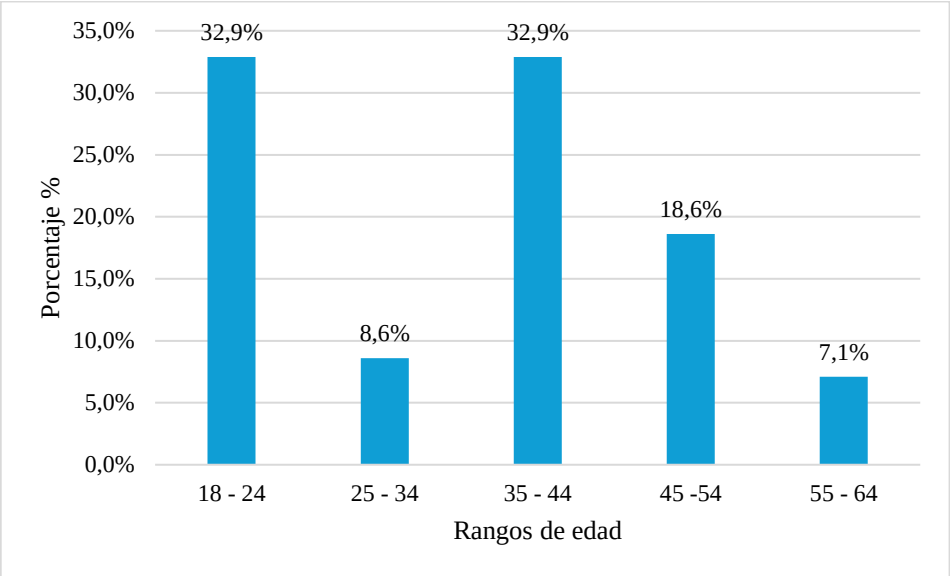


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Se evidenció una mayor proporción de participantes de sexo femenino (61,4%) en comparación con el masculino (38,6%). Esta diferencia se debe a la mayor participación de mujeres en áreas asistenciales del hospital.

Gráfico 10. *Caracterización de la población por edad*



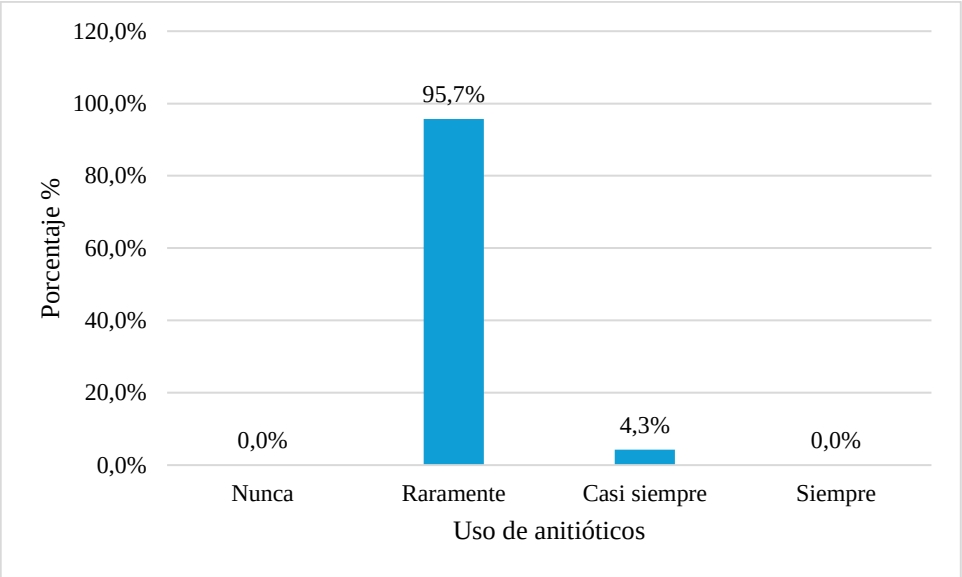
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

En cuanto al rango de edades agrupado en intervalos de 10 años, los grupos de 18–24 años y 35–44 años fueron los más frecuentes, cada uno con un 32,9% del total de participantes. En menor proporción se encuentran los trabajadores de 45–54 años (18,6%), seguidos por los de 25–34 años (8,6%) y finalmente el grupo de 55–64 años (7,1%). Esta distribución muestra que la mayoría del personal se encuentra dentro de etapas de edad laboralmente activas, lo cual es común en instituciones de atención primaria. La inclusión de trabajadores en distintos grupos etarios permitió obtener una muestra diversa, útil para observar la frecuencia de portación en distintos segmentos de edad.

3.1.2 Análisis de la encuesta

Gráfico 11. *Pregunta 1 ¿Con qué frecuencia toma antibióticos?*

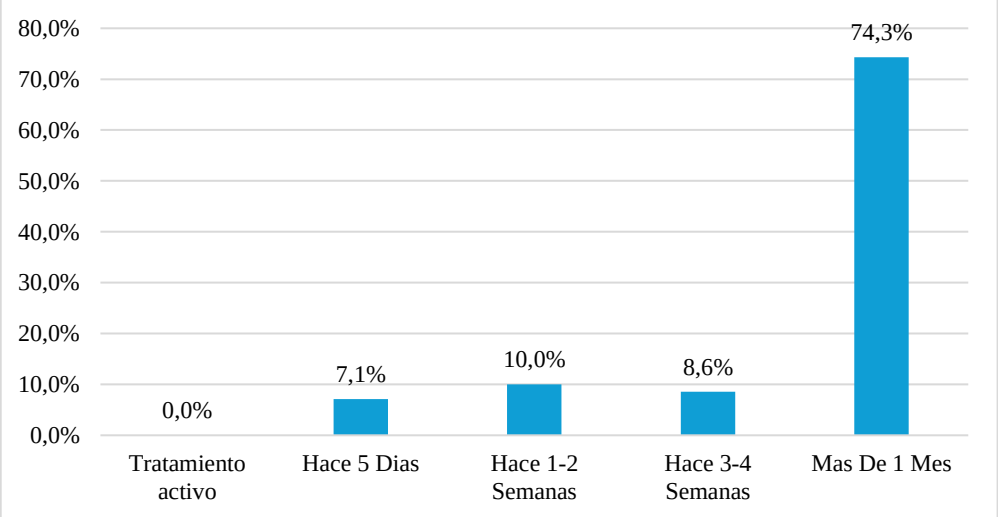


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

De acuerdo con la mayoría de los encuestados, el uso de antibióticos es poco frecuente. Este resultado fue predominante con un 95,7%, mientras que el uso habitual solo representó un 4,3%. Además, es necesario descarta que todos los participantes en algún momento han consumido antibióticos.

Gráfico 12. *Pregunta 2 ¿Último tratamiento antibiótico?*

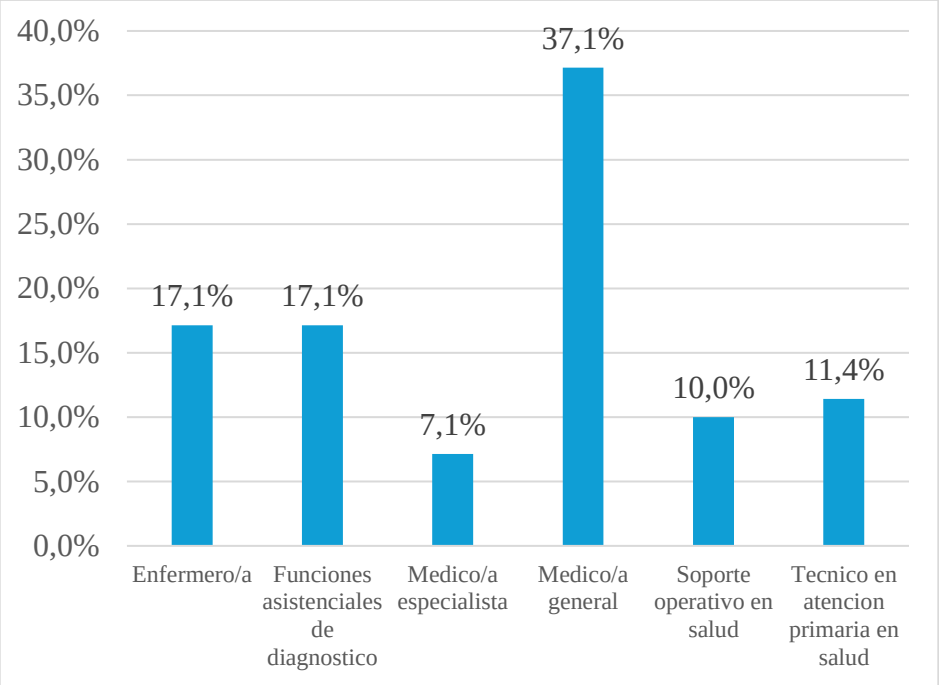


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Del total de participantes, el 74,3% registró no haber recibido tratamiento antibiótico durante más de un mes. En menor proporción, el 10% lo recibió hace 1–2 semanas, seguido por un 8,6% que reportó haberlo terminado entre 3–4 semanas atrás. Solo el 7,1% se mantuvo en tratamiento hace 5 días y ningún participante se encontraba en tratamiento activo al momento de la toma de muestra.

***Gráfico 13**. Distribución de la población por cargo*

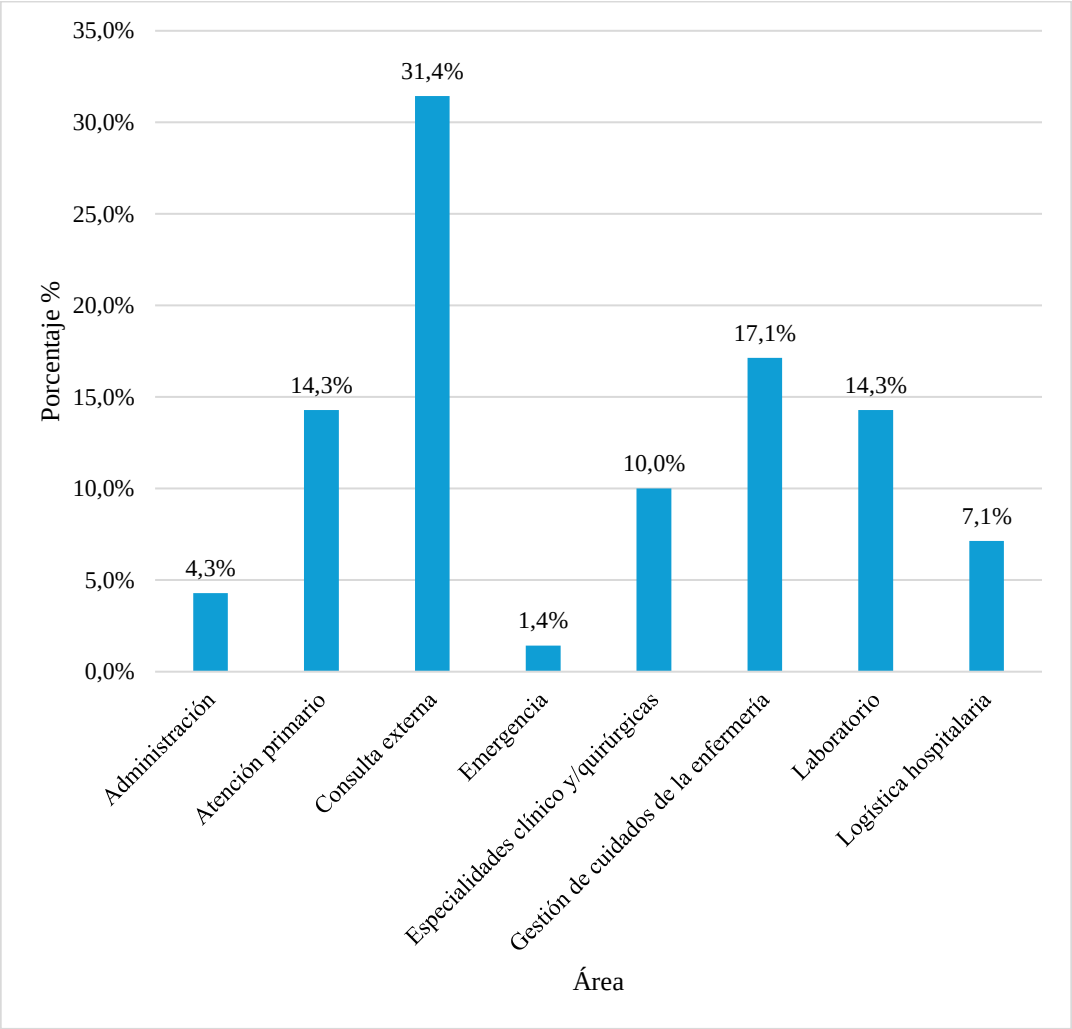


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Entre los participantes evaluados predominó el cargo de médico/a general con el 37,1% del total, seguido por el personal de enfermería y funciones asistenciales de diagnóstico con el 17,1% cada uno. En porcentajes menores se encuentra el personal de técnicos en atención primaria en salud (11,4%), soporte operativo en salud (10%) y médicos(a) especialistas (7,1%). Esta distribución refleja una participación mayoritaria de personal clínico asistencial, cuya actividad implica contacto frecuente con pacientes.

Gráfico 14. *Población según el área de procedencia hospitalaria*

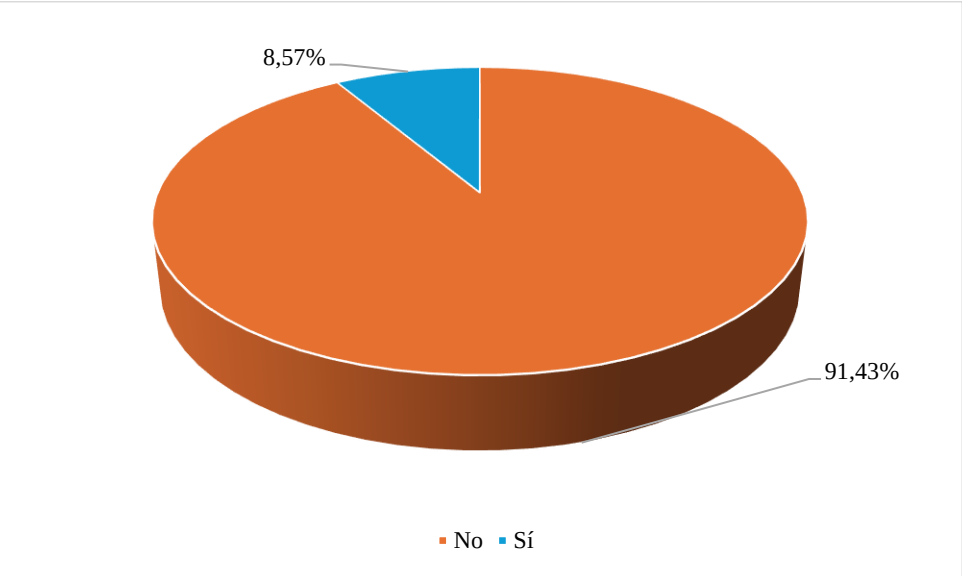


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

La mayor parte de los participantes provinieron del área de consulta externa, representando el 31,4% del total, seguido por gestión de cuidados de enfermería (17,1%), atención primaria y laboratorio clínico, ambos con un 14,3%. En contraste, el área de emergencia registró la menor participación con un 1,4%. Esta distribución refleja la composición operativa del hospital, donde ciertas áreas concentran mayor cantidad de personal. Además, el predominio de trabajadores en unidades de atención primaria puede indicar un flujo continuo de pacientes.

Gráfico 15. *Pregunta 5 - ¿Hospitalización en los últimos 12 meses?*

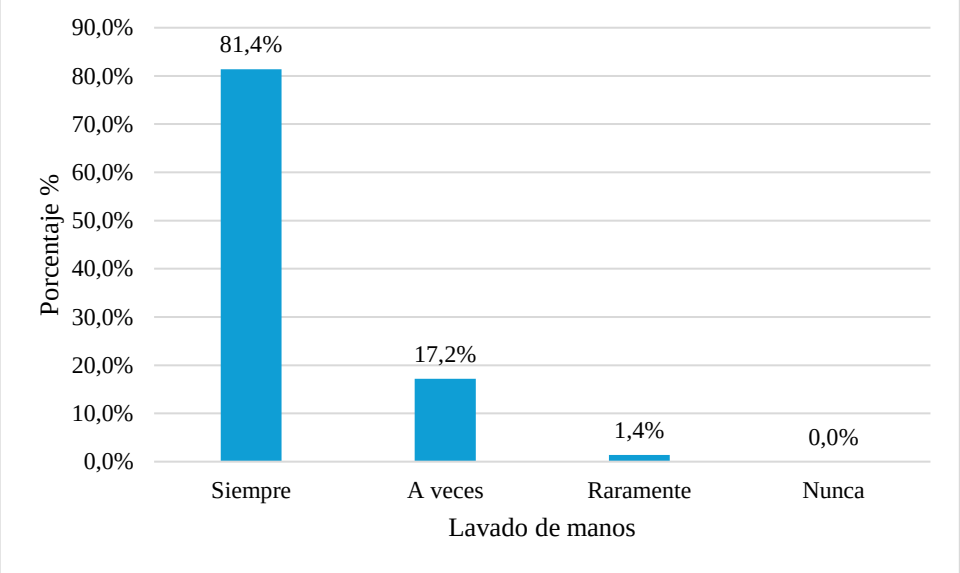


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Solo el 8,6% de los trabajadores indicó haber estado hospitalizado durante el último año. Este bajo porcentaje sugiere una población relativamente sana en el 91,43% del total de participantes evaluados.

Gráfico 16. *Pregunta 6 - Frecuencia de lavado de manos durante la jornada laboral*

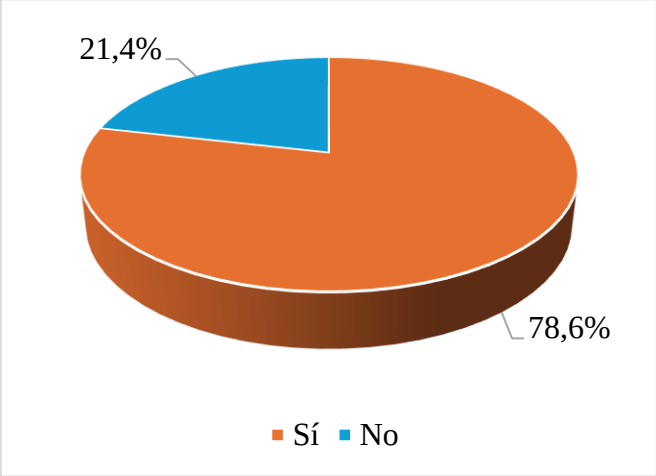


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

El 81,4% de los encuestados afirmó realizar un lavado de manos de manera constante, mientras que el 17,2% lo hace solo a veces y un 1,4% rara vez. Existe una variación entre las prácticas de lavado de manos en los participantes evaluados. Sin embargo, no se registra la presencia de trabajadores que no realicen lavado de manos en algún momento dentro de la jornada laboral.

Gráfico 17. *Pregunta 7 - Uso de EPP durante la jornada laboral*



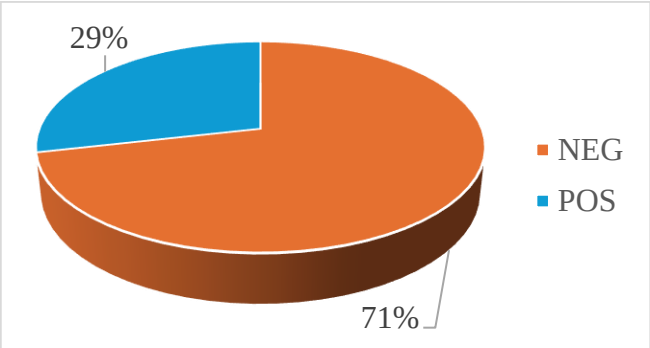
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

La mayoría de los participantes reportó el uso constante de equipos de protección personal (EPP) durante la jornada laboral con un 78,6% del total de encuestados, mientras que el 21,4% no lo utiliza y representa una brecha importante en la bioseguridad institucional.

3.1.3 Análisis microbiológico

Gráfico 18. *Presencia global de Staphylococcus aureus en la unidad de salud*

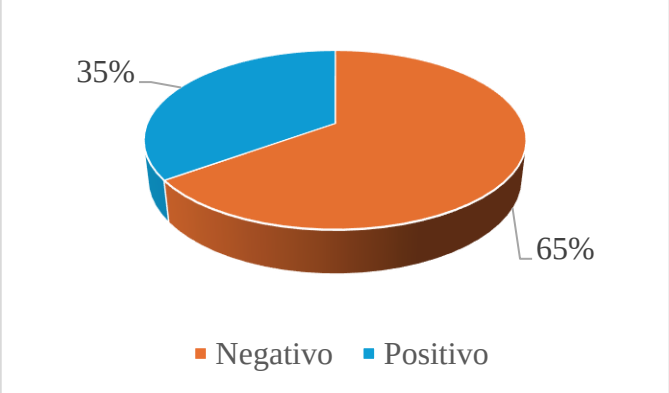


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Del total de 70 muestras procesadas, se logró aislar *Staphylococcus aureus* en 20 casos, lo que representa una prevalencia del 28,6% entre los trabajadores del Hospital Básico Pelileo.

Gráfico 19. *Presencia de SARM del total de Staphylococcus aureus aislados*

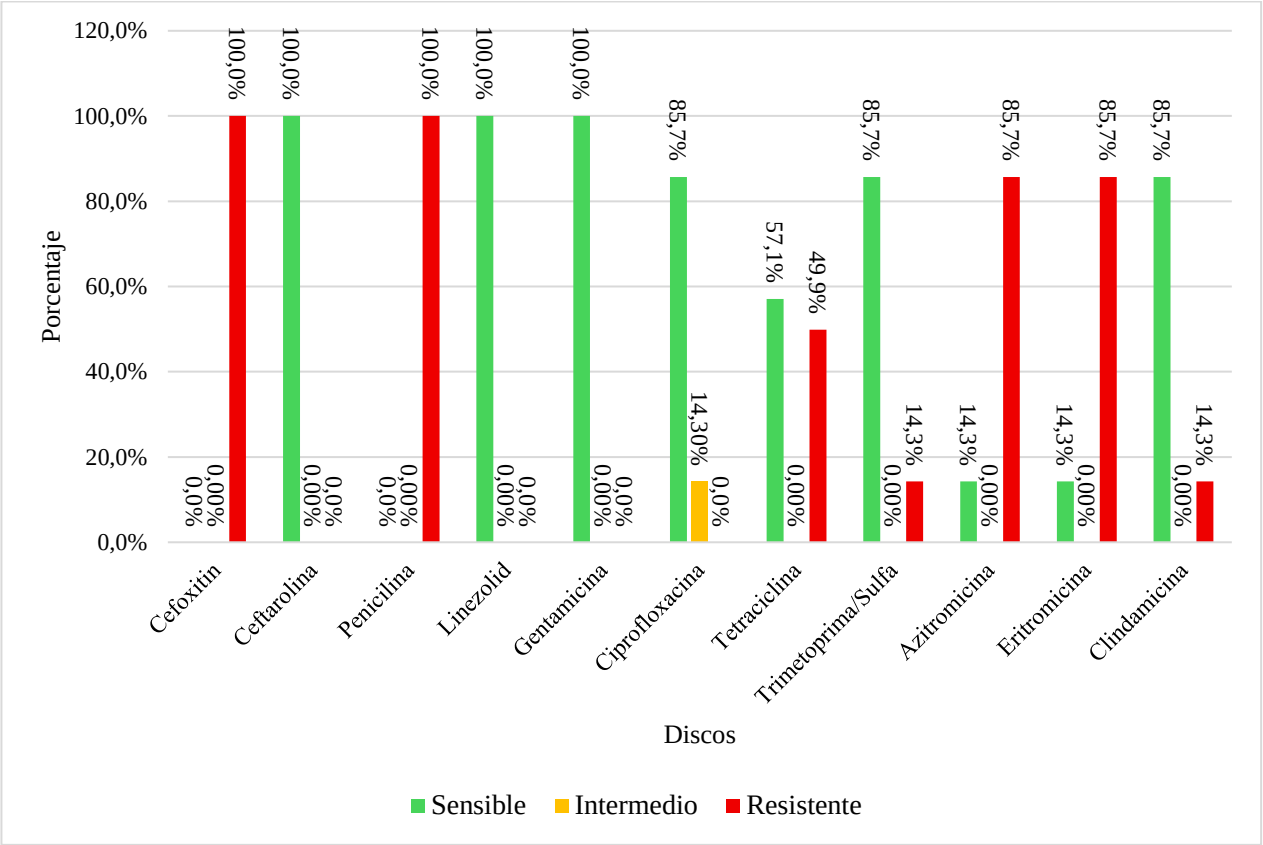


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

De los 20 aislamientos confirmados de *S. aureus*, 7 resultaron resistentes a cefoxitin mediante el método de difusión en disco, representando un 35% del total de cepas aisladas. Este porcentaje refleja una proporción considerable de cepas meticilino resistentes, especialmente considerando que provienen de trabajadores aparentemente sanos y asintomáticos.

Gráfico 20. *Perfil de susceptibilidad de los aislamientos de SARM*



Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

El perfil de susceptibilidad de los aislamientos todos los aislamientos SARM demostró múltiples patrones de resistencia. La totalidad de los aislamientos fue resistente tanto a cefoxitin como a penicilina (100%) evidenciando su resistencia a betalactámicos. Además, todas las cepas mostraron sensibilidad a ceftarolina, linezolid y gentamicina (100%), lo que indica que estos antibióticos podrían ser efectivos en caso de infección clínica.

En cuanto a la ciprofloxacina, el 85,7% de los aislamientos presentaron sensibilidad completa, mientras que el 14,3% presentó una sensibilidad intermedia. Un patrón similar se observó con trimetoprima-sulfametoxazol y clindamicina, ambos con un 85,7% de sensibilidad y 14,3% de resistencia. Sin embargo, la resistencia fue más predominante frente a macrólidos: azitromicina y eritromicina con porcentajes de resistencia de 85,7% en todos los aislamientos.

Respecto a tetraciclina, se observó una división casi equitativa entre los halos de inhibición, con un 57,1% de cepas sensibles y un 42,9% resistentes. La diversidad en los perfiles de resistencia sugiere que las cepas de SARM presentes en esta población podrían tener diferentes orígenes clonales o haber adquirido determinantes genéticos de manera horizontal

Gráfico 21. *Fenotipo de resistencia MLSB en los aislamientos de SARM*

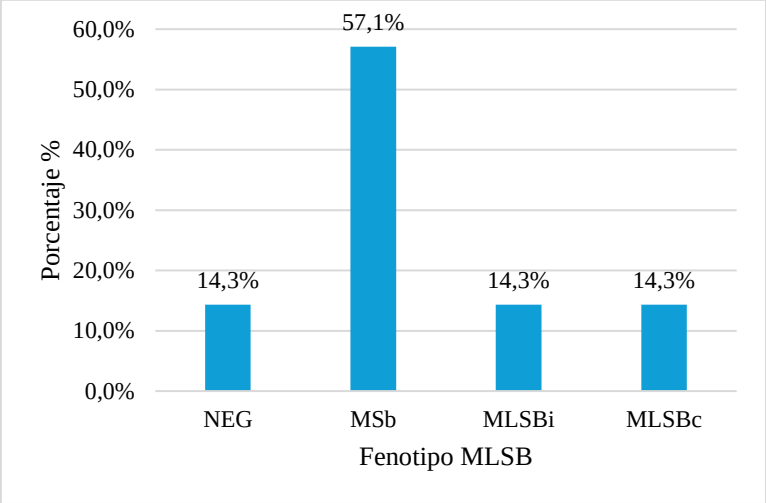


Gráfico 22. *Prueba D positiva - MLSBi*



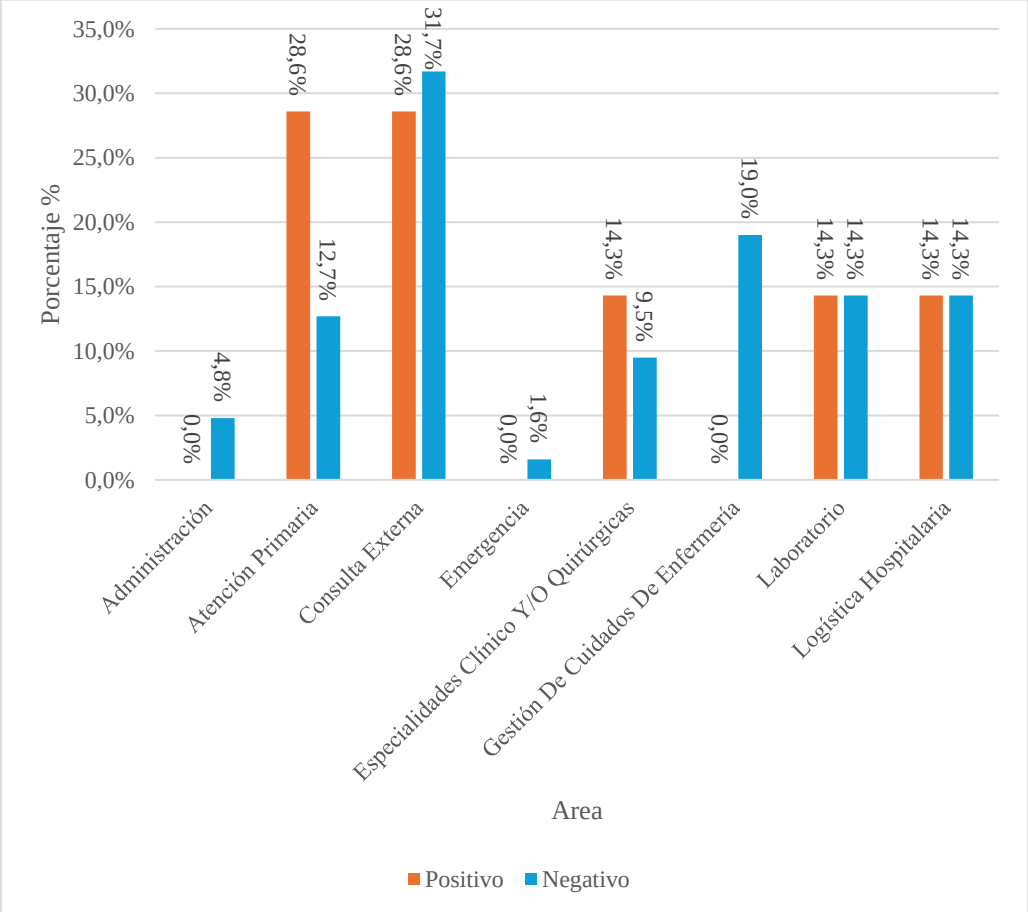
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

De los 7 aislamientos de SARM, el 57,1% (4 cepas) presentó el fenotipo MSb indicador de resistencia a macrólidos (eritromicina) y sensible a clindamicina sin evidencia de resistencia inducible. Por otro lado, el 14,3% (1 cepa) evidenció un fenotipo MLSBi, identificado mediante prueba D-test positiva, lo que indica un mecanismo de resistencia inducible a clindamicina en presencia de eritromicina. Además, una cepa (14,3%) presentó el fenotipo constitutivo (MLSBc), lo cual implica resistencia tanto a eritromicina como a clindamicina.

Finalmente, el 14,3% restante (1 cepa) no mostró resistencia a ninguno de los antibióticos evaluados, evidenciando un perfil de sensibilidad completo.

Gráfico 23. *Frecuencia de SARM según área*

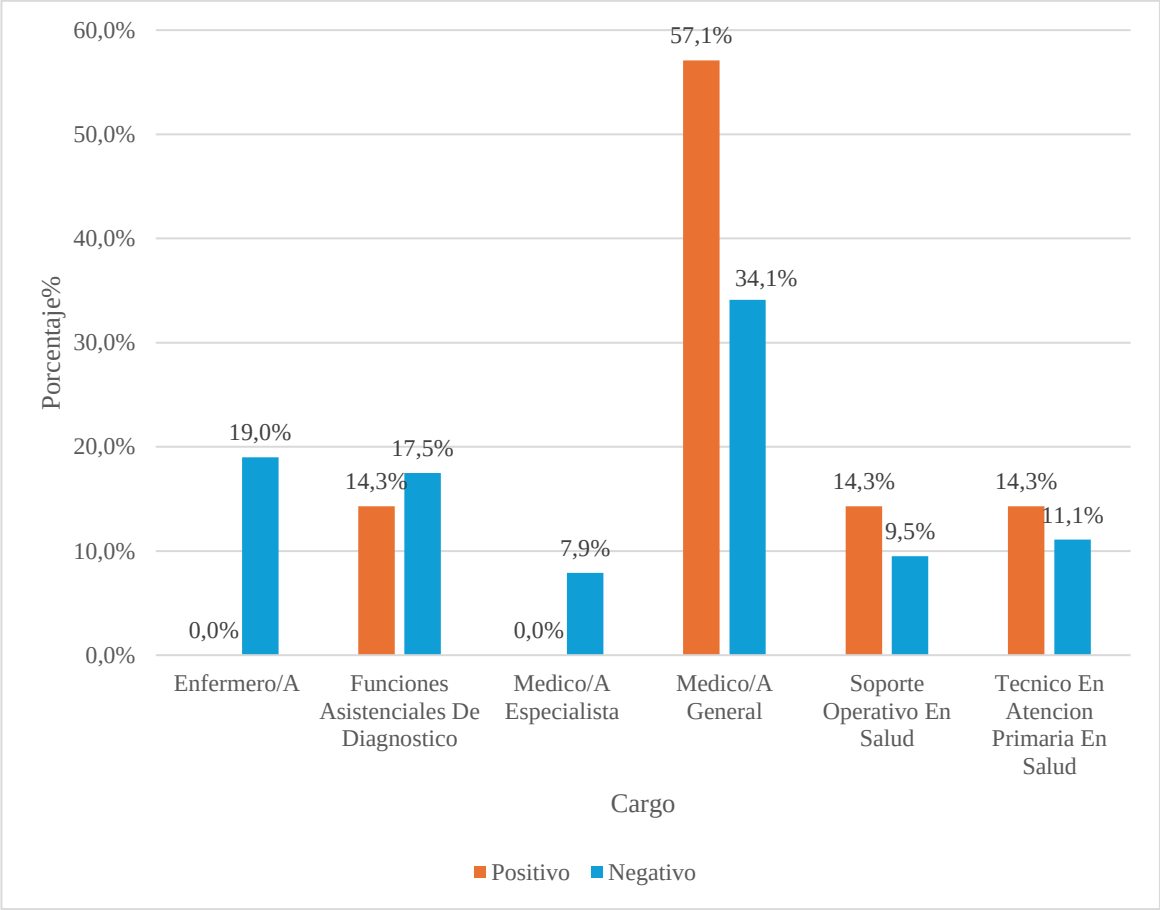


Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Los resultados evidencian que las áreas con mayor frecuencia de colonización de SARM en el personal de salud fueron Atención Primaria y Consulta Externa, con 2 casos cada una, representando el 28,6% respectivamente de los 7 aislamientos positivos para SAMR. Le siguen Especialidades Clínico y/o Quirúrgicas, Laboratorio y Logística Hospitalaria, cada una con 1 caso (14,3%). Por otro lado, no se detectaron cepas resistentes en los trabajadores de Administración, Emergencia ni Gestión de Cuidados de Enfermería.

Gráfico 24. *Frecuencia de SARM según cargo*



Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

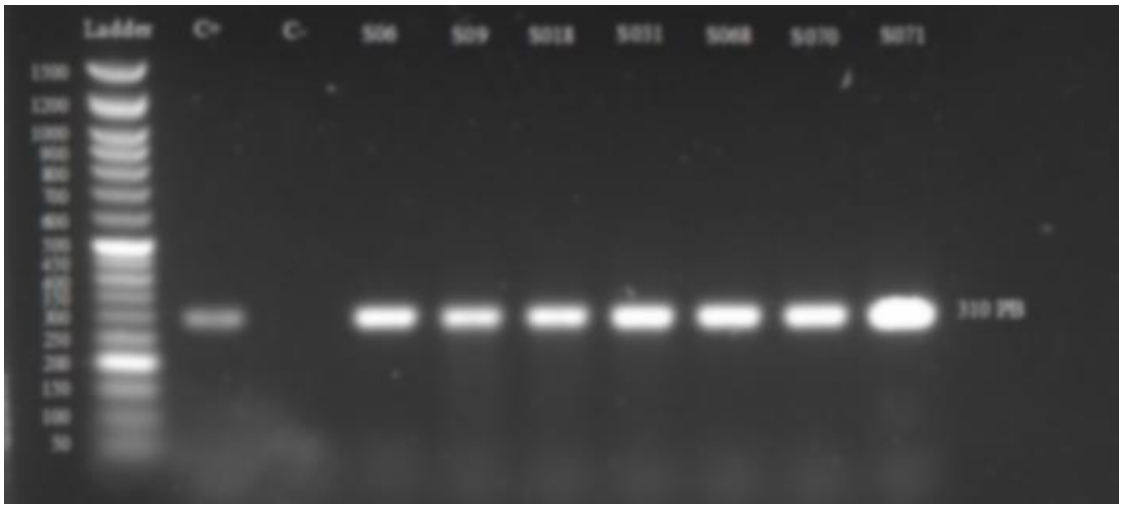
Análisis:

Del total de 7 casos positivos de SARM, la mayor proporción correspondió a médicos generales, con 4 aislamientos (57,1% de los SARM), seguidos por personal de soporte operativo en salud y técnicos en atención primaria, cada uno con 1 caso (14,3%).

Además, se registró 1 caso en funciones asistenciales de diagnóstico (14%). En contraste, enfermeros/as y médicos/as especialistas no presentaron aislamientos SARM (0%) .

3.1.3 Análisis Molecular

Gráfico 25. *Presencia del gen mecA en los aislamientos de SARM*



Nota: Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% con los amplicones de 310 pb del gen *mecA*, Ladder: marcador de talla molecular 100 pb; C+: control positivo ATCC 43300 *S. aureus*; C-: control negativo ATCC 25923 *S. aureus*; S06-S071; ADN de muestras aisladas.

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Las 7 cepas de *Staphylococcus aureus* que mostraron resistencia fenotípica a cefoxitin fueron sometidas a PCR convencional para la detección del gen *mecA*, con el objetivo de confirmar su perfil se resistencia como SARM. Todas las muestras amplificaron el fragmento específico de 310 pares de bases, correspondiente al gen objetivo, lo que representa una concordancia entre el fenotipo resistente y la presencia del determinante genético de resistencia a la meticilina *mecA*.

3.1.4 Pregunta de investigación:

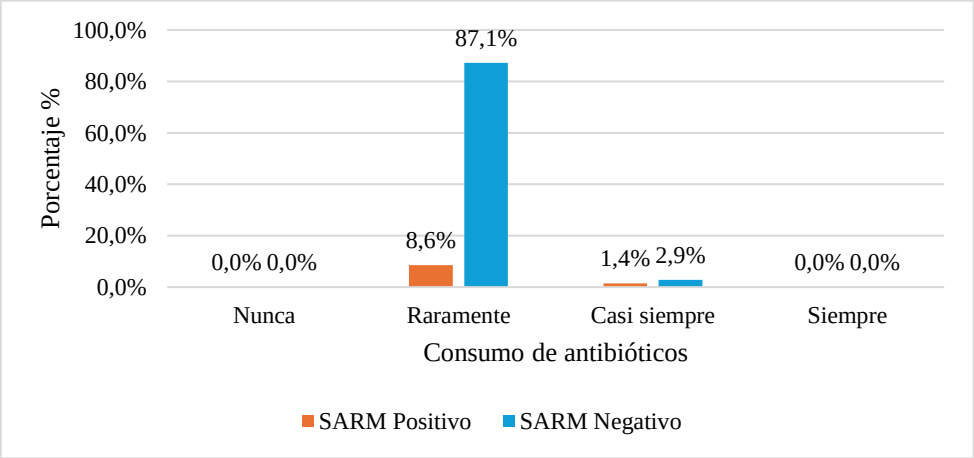
¿Cuál es la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo?

Del total de 70 muestras procesadas, se aisló *Staphylococcus aureus* en 20 casos, lo que representa un porcentaje del 28,6% entre todos los trabajadores del Hospital Básico Pelileo. De los 20 aislamientos confirmados de *S. aureus*, 7 resultaron resistentes a cefoxitin mediante el método de difusión en disco, representando un 35% del total de cepas aisladas.

De manera global, la frecuencia de SARM en los trabajadores del Hospital Básico Pelileo se estableció en 7 cepas correspondientes al 10% del total de trabajadores analizados.

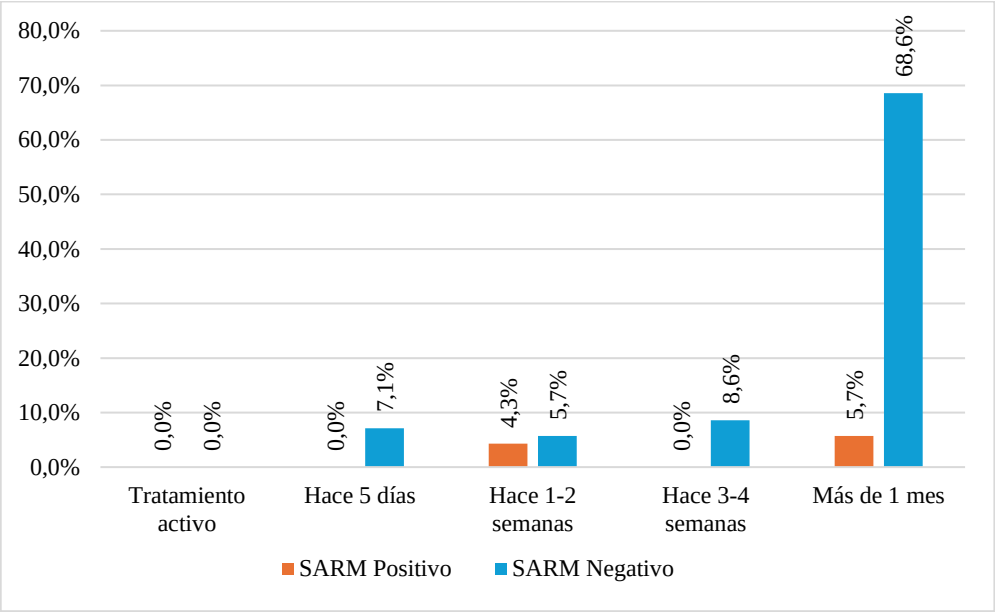
3.1.5 Asociación de factores de riesgo con trabajadores colonizados con SARM

Gráfico 26. *Pregunta 1- Relación de la frecuencia del consumo de antibióticos con SARM*



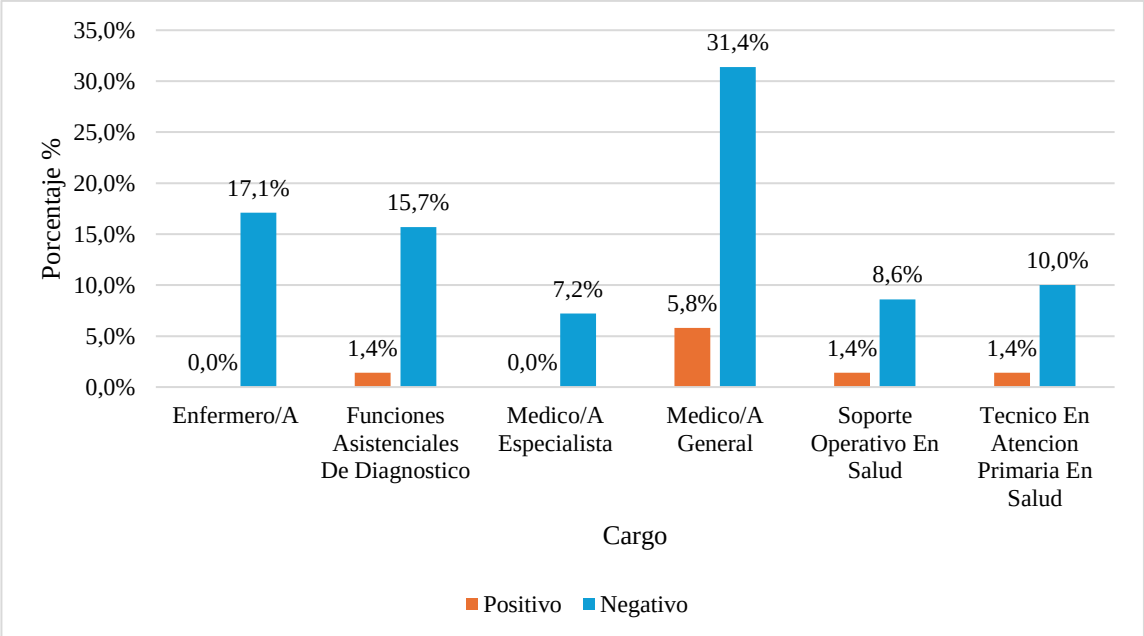
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Gráfico 27. *Pregunta 2 - Relación del último tratamiento antibiótico con SARM*



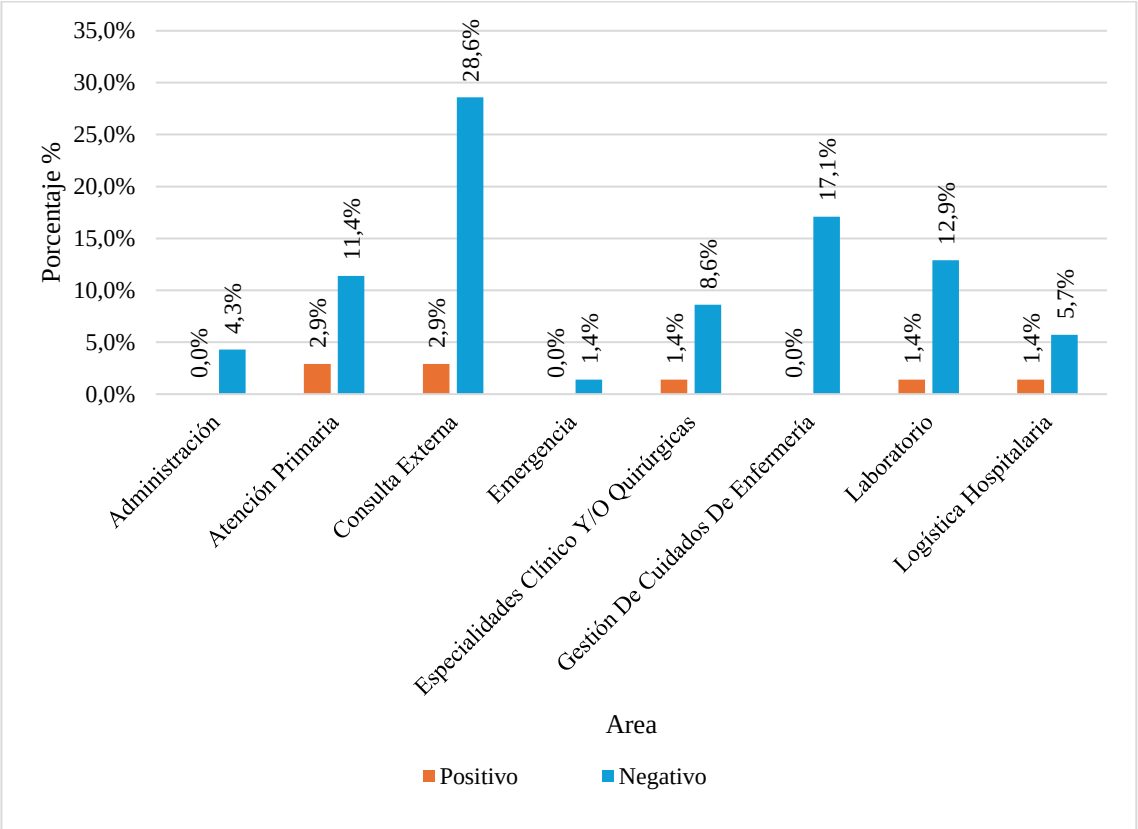
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Gráfico 28. *Pregunta 3- Relación del cargo con SARM*



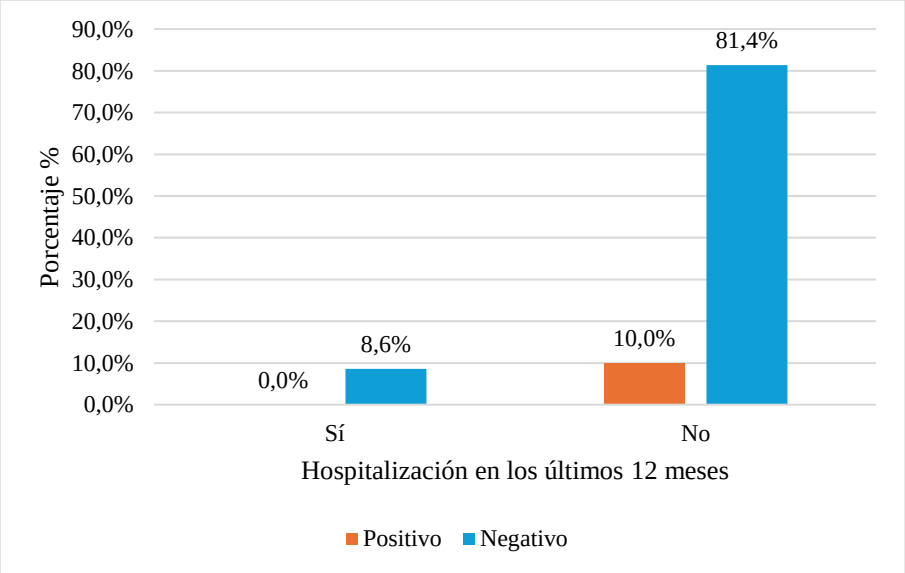
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Gráfico 29. *Pregunta 4 - Relación del área con SARM*



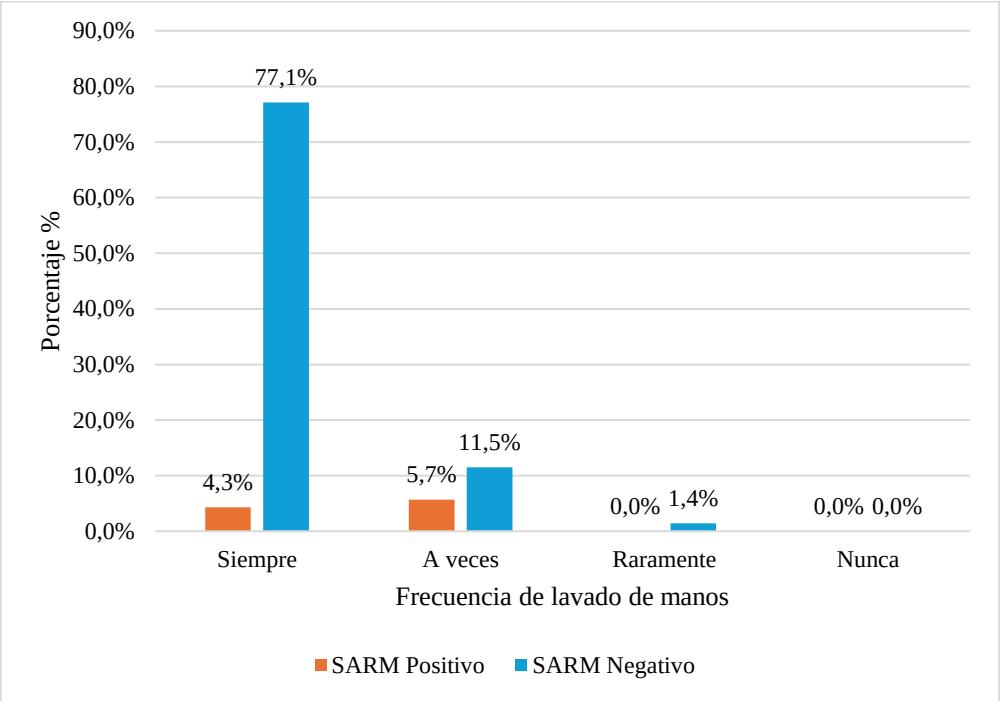
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Gráfico 30. *Pregunta 5- Relación de la hospitalización en los últimos 12 meses con SARM*



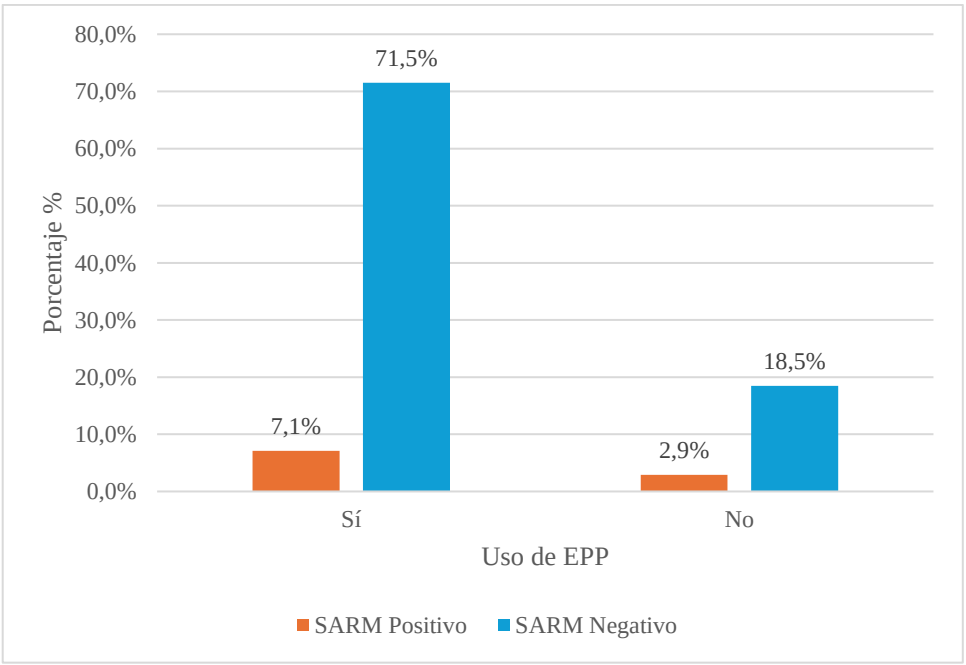
Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Gráfico 31. *Pregunta 6- Relación de la frecuencia de lavado de manos con SARM*



Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Gráfico 32. *Pregunta 7- Relación del uso de EPP con SARM*



Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Tabla 9. *Chi-cuadrado de los factores de riesgo con SARM*

Relación de factores de riesgo con SARM	Chi-cuadrado			
	Valor	Grado de libertad	Nivel de confianza	Significancia (p)
Pregunta 1	1,896	1	95%	0,169
Pregunta 2	9,927	3	95%	0,019
Pregunta 3	2,962	5	95%	0,706
Pregunta 4	3,608	7	95%	0,824
Pregunta 5	0,729	1	95%	0,393
Pregunta 6	8,791	2	95%	0,012
Pregunta 7	0,236	1	95%	0,627

Elaborado por: Kevin Alexander Apo Analuisa

Análisis:

Se realizó una prueba de Chi-cuadrado de Pearson entre la pregunta 2 acerca del tiempo transcurrido del último tratamiento antibiótico y la colonización por SARM, obteniéndose un valor de 9,927 con 3 grados de libertad a un nivel de confianza de 95% y p= 0,019, lo que indica una asociación estadísticamente significativa entre el tiempo transcurrido desde el último tratamiento antibiótico y la colonización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), señalando una relación clara entre mayor tiempo desde el último tratamiento antibiótico y mayor probabilidad de portar cepas resistentes.

La prueba de Chi-cuadrado de Pearson entre la pregunta 6 acerca de la frecuencia de lavado de manos durante la jornada laboral y la colonización por SAMR, presentando un valor de 8,791 con 2 grados de libertad a un nivel de confianza de 95% y p= 0,012, lo cual indica que existe una asociación estadísticamente significativa entre la frecuencia de lavado de manos durante la jornada laboral y la colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). La razón de verosimilitud (6,729; p= 0,035) y la asociación lineal por lineal (5,609; p = 0,018) refuerzan este resultado, señalando una relación clara entre menor frecuencia de lavado de manos y mayor probabilidad de portar cepas resistentes.

3.2 DISCUSIÓN

La resistencia antimicrobiana representa un reto creciente en el entorno hospitalario a nivel global, especialmente cuando involucra a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), patógeno que ha sido clasificado como prioridad alta por la OMS debido a su elevada prevalencia, capacidad de adaptación genética y su implicación directa en infecciones nosocomiales por su resistencia intrínseca a betalactámicos y las limitaciones terapéuticas que imponen (1). En este contexto, la presente investigación realizada durante el periodo marzo - julio 2025 en el Hospital Básico Pelileo, una institución de segundo nivel en Ecuador tuvo como propósito caracterizar la presencia de SARM en el personal hospitalario, considerando tanto factores microbiológicos como variables epidemiológicas asociadas a la colonización en los trabajadores de la salud.

En este estudio se identificó una frecuencia de colonización de *S. aureus* del 28,6 % (20 aislamientos) en trabajadores hospitalarios, y dentro de estos, un 35 % (7/20) correspondió a cepas SARM, representando el 10 % del total de 70 trabajadores muestreados. Este valor es comparable con investigaciones internacionales y locales. Por ejemplo, Giri et al., reportaron un 14,7 % de colonización nasal de *S. aureus* en personal de salud en Nepal, con un 35,3 % de estos siendo SARM (13). Buenaventura-Alcazaren et al., en su estudio efectuado en Filipinas encontraron una prevalencia de SARM del 13 % en áreas críticas de una unidad de salud (14). Sin embargo, otros estudios como el de Córdova et al., efectuado en un hospital de especialidades ubicado en Quito – Ecuador, informaron una cifra de 44 % de *S. aureus* en el personal de salud, de los cuales el 55% correspondieron a SARM (8). También Saud et al., evidenciaron una portación de *S. aureus* del 65,3 % y un 47,4 % de SARM en Katmandú, y Cabrejos et al., en su estudio efectuado en Perú registraron un 46,1 % de cepas SARM entre trabajadores de salud colonizados (12)(28). Las diferencias entre estos estudios pueden explicarse por las condiciones sanitarias, el nivel de vigilancia epidemiológica y la adherencia a protocolos de bioseguridad de cada institución. Por tanto, la presente investigación no solo confirma la circulación de SARM en un entorno hospitalario no documentado previamente, sino también proporciona información clave para orientar decisiones en la unidad de salud, como la implementación de tamizajes periódicos en personal de salud y la optimización de los protocolos de higiene y uso de antimicrobianos.

El análisis del perfil de susceptibilidad de los aislamientos SARM mostró una resistencia absoluta (100 %) a penicilina y cefoxitin, coherente con el mecanismo de resistencia mediado por el gen *mecA*. Este hallazgo coincide con lo reportado por Wolde et al., quienes también observaron resistencia del 100 % a betalactámicos en cepas hospitalarias en Etiopía (24). El disco de cefoxitin continúa siendo un marcador confiable de resistencia acorde las directrices del CLSI, actuando como inductor de *mecA* y sustituto de oxacilina en pruebas de tamizaje (38). Según el informe del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) y el CRN-RAM correspondiente al año 2022, *Staphylococcus aureus* presentó una resistencia a oxacilina del 37,15% a nivel hospitalario y del 29,23% en el ámbito comunitario, valores indicativos de una alta circulación de cepas SARM en el país (4). Sin embargo, según el reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos del Ministerio de Salud Pública (MSP), se observa mayor porcentaje de resistencia para cefoxitin en los aislados hospitalarios con un 33-59%, confirmando la utilidad de cofoxitin para mayor precisión en el tamizaje de SARM frente a la oxacilina (47).

En relación con los fenotipos de resistencia MLS-B, se identificó un caso (14,3 %) con patrón inducible (MLSBi) confimado por la prueba D positiva. El fenotipo identificado es similar al reportado por Giri et al., quienes hallaron un 33,3 % de SARM con resistencia inducible a clindamicina (13). Este mecanismo de resistencia es clínicamente relevante al no evidenciarse en pruebas de susceptibilidad convencionales y activarse durante el tratamiento con clindamicina, generando un riesgo de fracaso terapéutico como lo reportado por el MSP hasta el año 2017, donde se registró un 18% de resistencia a clindamicina a nivel hospitalario. Adicionalmente, se encontró un fenotipo constitutivo (MLSBc: 14,3 %), que expresa resistencia cruzada a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B, así como un perfil MSb (57,1 %) con resistencia a macrólidos por mecanismos de eflujo, pero sensibilidad a clindamicina (48).

En cuanto a los demás antibióticos, se observó una alta resistencia en azitromicina además de eritromicina, con un 85,7 % del total de aislamientos de SARM. Este patrón coincide con Saud et al., quienes reportaron 82,6 % de resistencia a macrólidos en aislamientos de SARM en Nepal, y con Akim Socohou et al., quienes reportaron un 75 % de resistencia a macrólidos en África Occidental (12) (11). Por otro lado, se

observó una buena actividad de gentamicina, trimetoprima/sulfametoxazol y ciprofloxacina (85,7 % de sensibilidad en cada uno), lo que sugiere que podrían considerarse como alternativas terapéuticas, previa confirmación por antibiograma. La diversidad en los perfiles de resistencia sugiere que las cepas de SARM presentes en esta población podrían tener diferentes orígenes clonales o haber adquirido determinantes genéticos de manera horizontal.

Respecto a los antimicrobianos de última línea, linezolid mostró una sensibilidad del 100 % y ceftarolina del 92,3 %. Estos antibióticos, al no depender de la unión a PBP2A, mantienen su efectividad frente a cepas portadoras del gen *mecA*. Estos resultados coinciden con Buenaventura-Alcazaren et al., quienes también informaron sensibilidad total a linezolid en cepas SARM (14). Sin embargo, su uso debe limitarse exclusivamente para casos clínicamente graves, tal como recomiendan las guías de manejo de infecciones por SARM (49).

Todas las cepas caracterizadas como SARM presentaban el gen *mecA* identificado por PCR convencional, lo que demuestra una concordancia entre el fenotipo y el genotipo molecular de resistencia. Por lo tanto, el 10% de la población analizada presentó el gen de interés *mecA* que confiere resistencia a la penicilina al regular la producción de PBP2A con baja afinidad por betalactámicos. Este hallazgo es similar con estudios como los de Kinnevey et al., quienes también emplearon amplificación molecular para tamizar SARM en entornos hospitalarios, y con Cabrejos et al., quienes confirmaron la presencia del gen *mecA* en los todos sus aislamientos identificados fenotípicamente como SARM (20)(28). No obstante, Ayerim et al., en México destacaron la posibilidad de discordancia entre genotipo y fenotipo de cepas sospechosas para SARM al reportar la ausencia del gen *mecA* en uno de sus aislamientos confirmados por antibiograma, sugiriendo la presencia de otros mecanismos de resistencia diferente a la modificación de las PBPs, razón por la cual se recomienda combinar ambos enfoques para mejorar la precisión diagnóstica (27).

En cuanto a la frecuencia de SARM por cargos, los médicos generales concentraron el 57,1 % de los aislamientos, así como el caso reportado en personal de las funciones asistenciales de diagnóstico (14,3%), ocupaciones estratégicas donde el contacto con muestras biológicas y pacientes inmunocomprometidos puede facilitar la diseminación del patógeno. Además, se registró un 28,6% de los aislamientos SARM dividido entre

los cargos de soporte operativo y técnicos en atención primaria, sugiriendo la colonización del patógeno por otros medios comunitarios no provenientes por contacto directo con pacientes. Este patrón se asemeja con lo reportado por Cabrejos et al. en Perú, quienes identificaron una mayor frecuencia de colonización por SARM en personal de enfermería (33,3 %), seguido por médicos (26,7 %) y personal de soporte operativo (13,3 %) (28). De manera similar, Saud et al. en Katmandú reportaron que los enfermeros representaron el 30,3 % de los colonizados y los médicos el 18,2 % (12). Aunque en el presente estudio no se identificaron casos en personal de enfermería, la presencia de SARM en personal clínico subraya la importancia de fortalecer el tamizaje para SARM por su contacto directo con pacientes y el entorno hospitalario.

En cuanto a la distribución de los 7 aislamientos SARM, se destacó una mayor frecuencia de SARM en las áreas de Atención Primaria y Consulta Externa con un 28,6% cada uno, seguido de Especialidades Clínico/Quirúrgicas, Laboratorio y Logística hospitalaria 14,3%, lo cual discrepa con el estudio realizado por Córdova et al., en un hospital de la cuidad de Quito evidenció mayor prevalencia de colonización en el área de Especialidades Clínico/Quirúrgicas divido entre Neonatología, Cuidados Intensivos y Quirófano, con tasas entre 12,5 % y 13 %. Además, en dicho estudio, el 55 % del personal colonizado por *S. aureus* resultó positivo para SARM, proporción superior al 35 % encontrado en este estudio. Dichas diferencias podrían justificarse por factores como diferencias en los flujos de pacientes al ser un hospital de especialidades, la carga asistencial, las políticas institucionales de higiene y el cumplimiento de protocolos de bioseguridad, así como lo expuesto por Kim et al., que demostraron la presencia de SARM en guantes y batas del personal, destacando la importancia de los EPP como barrera y posible vector. Asimismo, Sun et al., evidenciaron al personal sanitario como punto de entrada de cepas comunitarias a hospitales al encontrar similitudes genéticas entre las cepas de pacientes colonizados y el personal médico a cargo (21)(26).

De los factores de riesgos evaluados, dos preguntas de la encuesta mostraron asociación estadísticamente significativa con la colonización por SARM. El primero fue el tiempo transcurrido desde el último tratamiento antibiótico ($p = 0,039$), observándose que el 42,9 % de quienes habían recibido antibióticos hace 1–2 semanas

resultaron colonizados, frente a un 57,1% (4 de los 7 casos) entre quienes no lo habían hecho en más de un mes. Este hallazgo sugiere que el uso reciente de antimicrobianos podría ejercer una presión selectiva que favorece la proliferación de cepas resistentes, incluso en portadores asintomáticos, mientras que la frecuencia de lavado de manos ($p = 0,012$), donde el 71,4 % de los trabajadores colonizados refirió no realizar esta práctica de manera constante, y el 86 % de los no colonizados que reportó una higiene frecuente, sugiere que practicas insuficientes de lavado de manos compromete la integridad de las barreras antimicrobianas, facilitando la adquisición de cepas resistentes como SARM en superficies corporales expuestas, hallazgos similares a los reportados por Popovich et al., quienes demostraron que la adherencia estricta a la higiene de manos disminuye la transmisión en de SARM en UCI (25). Por otro lado, las variables como el área de trabajo, cargo, uso de EPP y hospitalización reciente, no mostraron significancia estadística. Este patrón también fue reportado por Loay et al., y Genc et al., quienes no encontraron asociaciones significativas en estudios similares debido a limitantes como el reducido tamaño poblacional o el bajo número de colonizados obtenidos, así como la homogeneidad de las conductas preventivas entre los trabajadores de salud (19)(23).

En consecuencia, se propone implementar campañas educativas continuas sobre higiene de manos y también el uso adecuado de los antimicrobianos, así como auditorías regulares que refuercen esta práctica en todo el personal de salud. En conjunto, esta investigación proporciona una visión general de la situación local del SARM en personal sanitario, combinando métodos fenotípicos, moleculares y análisis de factores de riesgo. Los hallazgos obtenidos refuerzan la necesidad de mantener una vigilancia activa, optimizar el uso de antibióticos y promover una cultura de bioseguridad basada en evidencia científica. La integración de medidas preventivas, diagnóstico oportuno y educación continua será fundamental para mitigar la propagación de cepas multirresistentes y salvaguardar la salud de pacientes y trabajadores.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

Se caracterizaron fenotípica y genotípicamente 7 cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) aisladas de trabajadores del Hospital Básico Pelileo, equivalente al 10 % del total de trabajadores muestreados, siendo este el primer reporte documentado en dicho hospital sobre la circulación de este patógeno multirresistente en personal de salud.

Se aislaron 20 *Staphylococcus aureus* a partir de muestras de hisopado nasal y de manos del personal de salud del Hospital Básico Pelileo, mediante técnicas microbiológicas convencionales como cultivo en agar manitol salado, pruebas bioquímicas de catalasa y coagulasa, y tinción de Gram, confirmando una portación del 28,6 % entre los participantes.

Se identificó fenotípicamente la resistencia a meticilina en 7 cepas correspondientes al 35 % de los aislamientos de *S. aureus* mediante prueba de susceptibilidad a cefoxitin, mostrando un perfil resistente a betalactámicos, resistencia inducible y constitutiva a clindamicina (MLSBi y MLSBc), así como sensibilidad a antimicrobianos de última línea linezolid y ceftarolina,

Se detectó la presencia del gen *mecA* mediante PCR convencional en todos los aislamientos identificados como SARM, estableciendo concordancia entre el fenotipo y el genotipo molecular de resistencia a la meticilina, destacando la utilidad de este marcador para la confirmación de resistencia a meticilina.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios complementarios a esta investigación que incluyan la secuenciación genotípica completa en los aislamientos SARM, con el fin de establecer patrones genéticos similares entre cepas.
- Se recomienda realizar charlas preventivas dirigidas al personal de unidades de salud sobre las consecuencias del uso indiscriminado de antibióticos y la importancia de evitar la automedicación, con el fin de reducir la presión selectiva que favorece la colonización por cepas multirresistentes como SARM.

- Se recomienda reforzar las políticas institucionales de bioseguridad mediante auditorías regulares sobre el cumplimiento del uso de equipo de protección personal y lavado de manos, integrando estos indicadores dentro de la gestión de calidad hospitalaria.
- Se recomienda fomentar el establecimiento de un protocolo institucional de tamizaje periódico para la detección de portadores asintomáticos de *S. aureus* y SARM entre los trabajadores de salud, como parte de las estrategias preventivas del control de infecciones hospitalarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPS. Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2021 [cited 2025 Apr 9]. Available from: https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms

2. CDC. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Basics | MRSA | CDC [Internet]. 2024 [cited 2025 Apr 9]. Available from: https://www.cdc.gov/mrsa/about/index.html

3. Ajulo S, Awosile B. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS). World Health Organization [Internet]. 2022 [cited 2025 Apr 9];(8.5.2017):2003–5. Available from: doi.org/10.1371/journal.pone.0297921

4. OPS. PAHO/WHO Data - 2. Porcentajes de resistencia de patógenos seleccionados [Internet]. 2025 [cited 2025 Apr 9]. Available from: https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/resistencia-antimicrobiana/567-amr-vig-es.html

5. Campos L, Caicedo L, Ochoa R. Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los antimicrobianos (CRNRAM) Reporte anual de susceptibilidad antibiótica periodo 2022. 2022.

6. EFSA. Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM) | EFSA. 2024.

7. Espinosa C, Romero M, Rincón G, Jácome Bohórquez M, Arámbula AL. Portadores nasales de Staphylococcus aureus en personal que labora en un Hospital de Santander. Revista Salud Uis, ISSN-e 2145-8464, ISSN 0121-0807, Vol 43, Nº 2, 2011, págs 111-117. 2011;43(2):111–7.

8. Córdova SDV, Pierard SMC, Jiménez SOI. Prevalencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente en el personal de salud de un Hospital de Especialidades en Quito-Ecuador. Revista San Gregorio [Internet]. 2021 Mar 30 [cited 2025 Apr 9];0(45). Available from: DOI:10.36097/rsan.v0i45.1515

9. Bonev BB, Brown NM, editors. Bacterial Resistance to Antibiotics – From Molecules to Man. Wiley; 2019.

10. Liu Y, Chen L, Duan Y, Xu Z. Molecular Characterization of Staphylococci Recovered from Hospital Personnel and Frequently Touched Surfaces in Tianjin, China. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2025 Apr 9];2022(1):1061387. Available from: doi.org/10.1155/2022/1061387

11. Socohou A, Sina H, Degbey C, Nanoukon C, Chabi-Sika K, Ahouandjinou H, et al. Antibiotics Resistance and Biofilm Formation Capacity of Staphylococcus spp. Strains Isolated from Surfaces and Medicotechnical Materials. Int J Microbiol [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2025 Apr 9];2020(1):6512106. Available from: doi.org/10.1155/2020/6512106

12. Saud B, Khatri G, Amatya N, Paudel G, Shrestha V. Methicillin-Resistant and Biofilm-Producing Staphylococcus aureus in Nasal Carriage among Health Care Workers and Medical Students. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2025 Apr 9];2023(1):8424486. Available from: doi.org/10.1155/2023/8424486

13. Giri N, Maharjan S, Thapa TB, Pokhrel S, Joshi G, Shrestha O, et al. Nasal Carriage of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus among Healthcare Workers in a Tertiary Care Hospital, Kathmandu, Nepal. Int J Microbiol [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 Apr 9];2021(1):8825746. Available from: doi.org/10.1155/2021/8825746

14. Buenaventura-Alcazaren FA, dela Tonga A, Ong-Lim A, Destura R V. Prevalence and molecular characteristics of MRSA nasal carriage among hospital care workers in a tertiary hospital in the Philippines. Journal of Microbiology, Immunology and Infection [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2025 Apr 9];53(5):739–45. Available from: doi.org/10.1155/2024/5675786

15. Lerche N, Holtfreter S, Walther B, Semmler T, Al'Sholui F, Dancer SJ, et al. Staphylococcus aureus nasal colonization among dental health care workers in Northern Germany (StaphDent study). International Journal of Medical Microbiology [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2025 Apr 9];311(6):151524. Available from: doi.org/10.1016/j.ijmm.2021.151524

16. Pignataro D, Foglia F, Della Rocca MT, Melardo C, Santella B, Folliero V, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and antimicrobial susceptibility experiences from the University Hospital "Luigi Vanvitelli" of Naples. Pathog Glob Health [Internet]. 2020 [cited 2025 Apr 9];114(8):451–6. Available from: doi.org/10.1080/20477724.2020.1827197

17. Deepashree R, Saniya Khanum, Sujatha S, Tejashree A, Nagalambika P, Ramya B. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) carriage among health care personnel in nonoutbreak settings in tertiary care hospital in Mysore. Am J Infect Control [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Apr 9];49(12):1499–502. Available from: DOI: 10.1016/j.ajic.2021.06.013

18. Keneh N, Kenmoe S, Bow A, Akoachere J, Kamga H, Ndip R, et al. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Carriage among Neonate Mothers, Healthcare Workers, and Environmental Samples in Neonatal Intensive Care Units: A Systematic Review. Biomed Res Int [Internet]. 2024 [cited 2025 Apr 9];2024. Available from: doi.org/10.1155/2024/5675786

19. Wahaibi L, Balkhair A, Al-Awaisi H, Mabruk M. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization among healthcare workers in Oman. The Journal of Infection in Developing Countries [Internet]. 2021 Oct 31 [cited 2025 Apr 9];15(10):1426–35. Available from: doi.org/10.3855/jidc.14047

20. Kinnevey P, Kearney A, Shore A, Earls M, Brennan G, Poovelikunnel T, et al. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus transmission among healthcare workers, patients and the environment in a large acute hospital under non-

outbreak conditions investigated using whole-genome sequencing. Journal of Hospital Infection [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Apr 9];118:99–107. Available from: doi.org/10.1016/j.jhin.2021.08.020

21. Kim J, Kristie J, Stucke M, Sorkin D, Zhao L, Lydecker A, et al. Burden of perianal Staphylococcus aureus colonization in nursing home residents increases transmission to healthcare worker gowns and gloves. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2025 Apr 9];41(12):1396–401. Available from: https://doi.org/10.1017/ice.2020.336

22. Abie S, Tiruneh M, Abebe W. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage among janitors working in hospital and non-hospital areas: a comparative cross-sectional study. Ann Clin Microbiol Antimicrob [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2025 Apr 9];19(1):1–8. Available from: doi.org/10.1186/s12941-020-00391-x

23. Genc O, Arikan I. The relationship between hand hygiene practices and nasal Staphylococcus aureus carriage in healthcare workers. Med Lav [Internet]. 2020 Feb 24 [cited 2025 Apr 9];111(1):54–62. Available from: doi.org/10.23749/mdl.v111i1.8918

24. Wolde W, Mitiku H, Sarkar R, Shume T. Nasal Carriage Rate of Staphylococcus aureus, Its Associated Factors, and Antimicrobial Susceptibility Pattern Among Health Care Workers in Public Hospitals, Harar, Eastern Ethiopia. Infect Drug Resist [Internet]. 2023 Jun 2 [cited 2025 Apr 9];16:3477–86. Available from: doi.org/10.2147/IDR.S396570

25. Popovich KJ, Green SJ, Okamoto K, Rhee Y, Hayden MK, Schoeny M, et al. MRSA Transmission in Intensive Care Units: Genomic Analysis of Patients, Their Environments, and Healthcare Workers. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2025 Apr 9];72(11):1879–87. Available from: doi.org/10.1093/cid/ciaa731

26. Sun L, Zhuang H, Di L, Ling X, Yin Y, Wang Z, et al. Transmission and microevolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus ST88 strain among patients, healthcare workers, and household contacts at a trauma and orthopedic ward. Front Public Health [Internet]. 2023 Jan 9 [cited 2025 Apr 9];10:1053785. Available from: doi.org/10.3389/fpubh.2022.1053785

27. García A, Martínez C, Juárez R, Téllez R, Paredes M, del Rocío Herrera M, et al. Resistencia a la meticilina y producción de biopelícula en aislamientos clínicos de Staphylococcus aureus y Staphylococcus coagulasa negativa en México. Biomédica [Internet]. 2019 [cited 2025 Apr 9];39(3):513. Available from: doi: 10.7705/biomedica.4131

28. Cabrejos L, Vives C, Inga J, Astocondor L, Hinostroza N, García C. Frecuencia de Staphylococcus aureus meticilinorresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2025 Apr 9];38(2):313–7. Available from: doi.org/10.17843/rpmesp.2021.382.6867

29. INSST. Staphylococcus aureus - Bacteria - Agentes Biológicos [Internet]. 2021 [cited 2025 Apr 9]. Available from: https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/staphylococcus-aureus

30. Karen C, Jeffery A. Estafilococos | Microbiología médica, 27e | AccessMedicina | McGraw Hill Medical.

31. Taylor A, Unakal C. Staphylococcus aureus Infection. Encyclopedia of Food Safety, Second Edition, Volume 1-4 [Internet]. 2023 Jul 17 [cited 2025 Apr 9];1–4:V2-310-V2-318. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/

32. Bonev B, Brown M. Bacterial resistance to antibiotics - from molecules to man. Bacterial Resistance to Antibiotics: From Molecules to Man [Internet]. 2019 Mar 14 [cited 2025 Apr 9];1–239. Available from: DOI:10.1002/9781119593522

33. Harvey R, Champe P, Fisher B. Microbiología. 2nd ed. Barcelona: Wolters Kluwer Health; 2008. 449 p.

34. OMS. La OMS publica el primer informe mundial sobre prevención y control de infecciones (PCI). 2022.

35. Garza R, Zúñiga O, Perea L. La importancia clínica actual de Staphylococcus aureus en el ambiente intrahospitalario. Educación Química [Internet]. 2013 [cited 2025 Apr 9];24(1):8–13. Available from: doi.org/10.1016/S0187-893X(13)73188-4

36. Pasachova J, Ramirez S, Muñoz L. Staphylococcus aureus. Nova [Internet]. 2019 Nov 15 [cited 2025 Apr 9];17(32):25–38. Available from: doi.org/10.22490/24629448.3631

37. Humphries R, Magnano P, Burnham C, Bard J, Dingle T, Callan K, et al. Evaluation of surrogate tests for the presence of mecA- mediated methicillin resistance in Staphylococcus capitis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus hominis, and Staphylococcus warneri. J Clin Microbiol [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 May 20];59(1). Available from: doi/pdf/10.1128/jcm.02290-20?download=true

38. CLSI. EM100 Connect - CLSI M100 ED35:2025 [Internet]. 2025 [cited 2025 May 20]. Available from: https://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx

39. NIH. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) | NHGRI. 2025.

40. March R. Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2025 Apr 9];35(3):182–8. Available from: DOI: 10.1016/j.eimc.2016.12.005

41. NIH. Electroforesis [Internet]. 2025 [cited 2025 Jun 19]. Available from: https://www.genome.gov/genetics-glossary/Electrophoresis

42. LEAL A, Bocanegra R. Manual de toma de muestras para análisis microbiológico. 2023.

43. AJA. Manual de toma de muestras [Internet]. 2020 [cited 2025 May 20]. Available from: https://www.sspa.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/hrs3/index.php?id=microbiologia_toma_muestras

44. Matta A, Laloma M. Aislamiento de Staphylococcus aureus (s. aureus) en diferentes medios de cultivo - Ocronos - Editorial Científico-Técnica. 2024.

45. Neira S, Cardozo A, Torres F, Cáceres E. Genes de resistencia en bacterianas asociadas a infecciones en una institución prestadora de servicios de salud del departamento de Boyacá. Revista Científica Salud Uninorte [Internet]. 2020 Oct 5 [cited 2025 May 21];36(2):394–411. Available from: doi.org/10.14482/sun.36.2.614.57%20

46. Dayie N, Sekoh D, Kotey, Egyir B, Tetteh-Quarcoo P, Adutwum-Ofosu K, et al. Nasopharyngeal Carriage of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) among Sickle Cell Disease (SCD) Children in the Pneumococcal Conjugate Vaccine Era. Infect Dis Rep [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2025 May 21];13(1):191. Available from: doi.org/10.3390/idr13010022

47. MSP. Instituto nacional de investigación en salud pública reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos. 2018;

48. Ardanuy C, María E, Morosini I, Torres C. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón Coordinadora: María Isabel Morosini. 2007;

49. Liu C, Bayer A, Cosgrove S, Daum R, Fridkin S, Gorwitz R, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infections in Adults and Children. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2011 Feb 1 [cited 2025 Jun 21];52(3):e18–55. Available from: doi.org/10.1093/cid/ciq146

50. Camacho L. Resistencia bacteriana, una crisis actual. Rev Esp Salud Publica. 2023;

51. Díaz I, Miranda S. Recomendaciones para el control de calidad en bacteriología: estudio de susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión por disco. 2015;

52. García J, Santos J, Castro C, Bayoll E, Martín M, Vergara S. Prevalencia y factores asociados a la colonización por Staphylococcus aureus resistente a meticilina en centros de larga estancia en el sur de España. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2011 Jun 1 [cited 2025 Jun 19];29(6):405–10. Available from: doi.org/10.1016/j.eimc.2010.12.010

ANEXOS

Anexo 1. *Fotografías del desarrollo del Proyecto de Investigación*

Gráfico 33. *Recolección de hisopados*

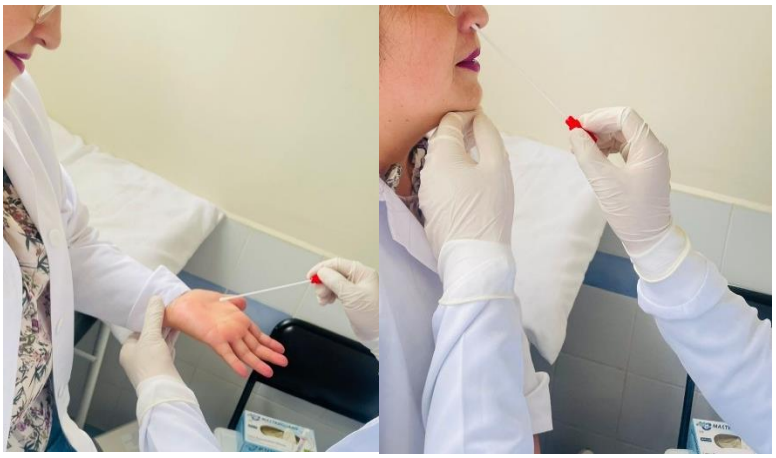


Gráfico 34*. Preparación de agares*



Gráfico 35. *Siembra de muestras en agar manitol*



Gráfico 36. *Aislamiento de S. aureus*

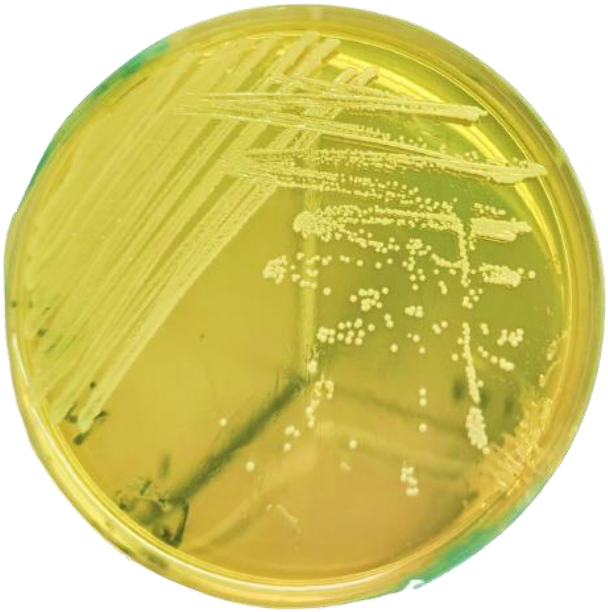


Gráfico 37. *Pruebas bioquímicas - Tinción gram*

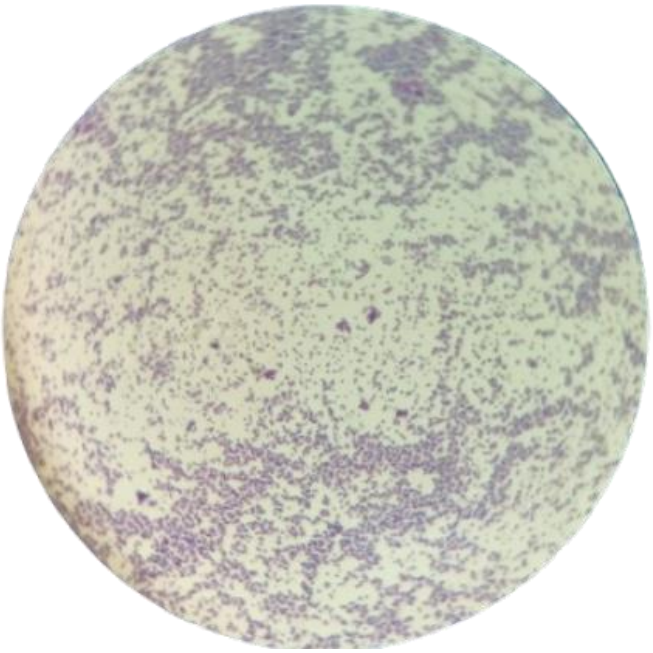


Gráfico 38. *Suspensión bacteriana a escala McFarland 0,5*

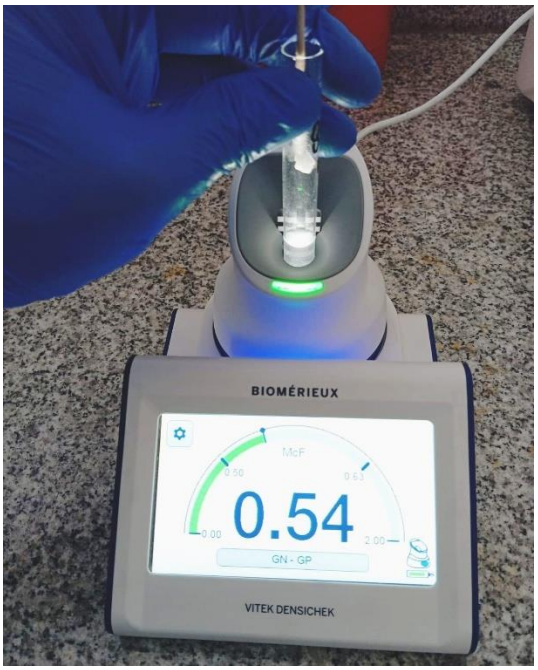


Gráfico 39. *Antibiograma de cepas SARM*



Gráfico 40. *Extracción de ADN por Shock térmico*



Gráfico 41. *Cuantificación ADN en nanodrop*

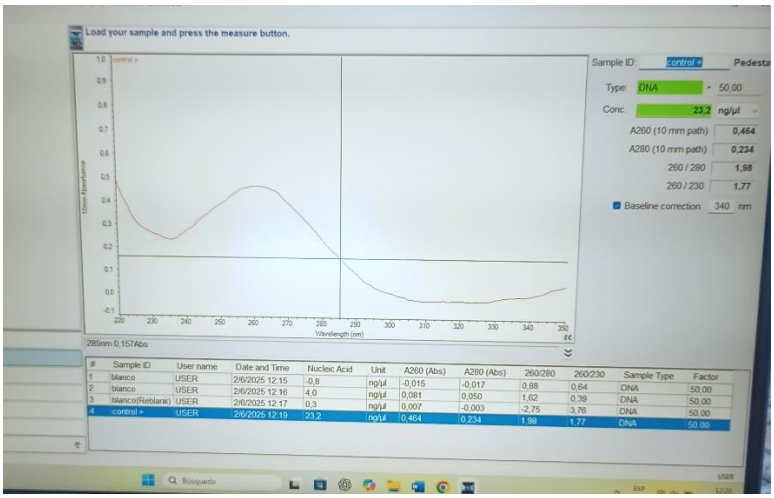


Gráfico 42. *Preparación de la Master Mix*

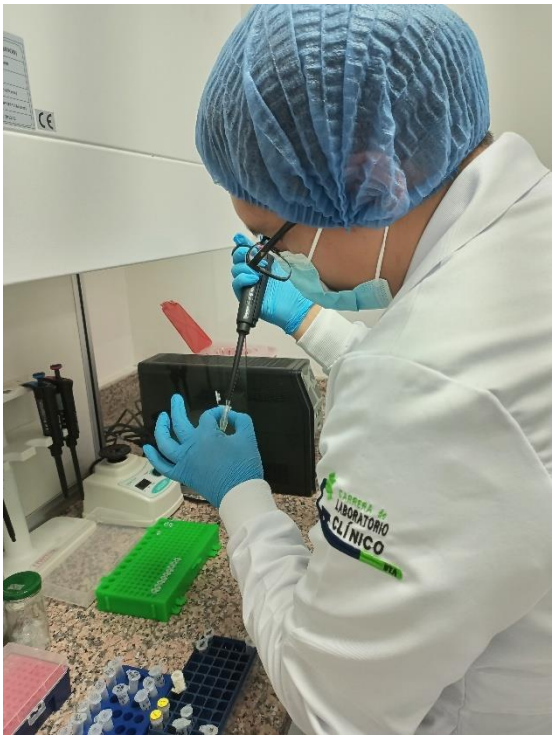


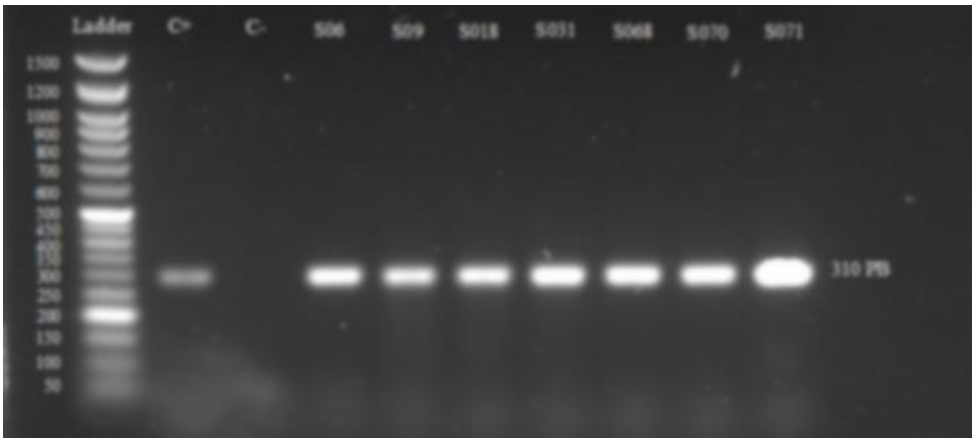
Gráfico 43. *PCR de las cepas SARM aisladas*



Gráfico 44. *Electroforesis en gel de agarosa al 1,5%*



Gráfico 45. *Agarosa con amplicones de 310pb del gen mecA*



Anexo 2. *Operacionalización de variables*

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	ESCALA	INDICADORES	TÉCNICA E INSTRUMENTO
Presencia de cepas *Staphylococcus aureus* (Variable Dependiente)	Detección y aislamiento de la cepa bacteriana S. aureus en un entorno específico, ya sea en muestras clínicas, superficies, o en el cuerpo humano (50).	Identificación de *Staphylococcus aureus* a partir de hisopados nasales y de manos provenientes de trabajadores hospitalarios mediante cultivo microbiológico, usando un medio de cultivo en agar manitol salado diferenciando *Staphylococcus aureus* fermentadores de manitol, de las cepas bacterianas no fermentadoras y pruebas bioquímicas de catalasa y coagulasa y tinción gram.	• **Fermentación en agar Manitol Salado**	Cualitativa - dicotómica	**Positivo:** Cepas con viraje amarillo **Negativo:** Cepas con viraje rojo	• Cultivo en agar sal manitol OXOID • Pruebas bioquímicas
			Pruebas bioquímicas • Catalasa • Coagulasa	Cualitativa - dicotómica	**Catalasa** • **Positivo:** Formación de burbujas • **Negativo:** Ausencia de burbujas **Coagulasa** • **Positivo:** Formación de un coágulo • **Negativo:** Ausencia de coágulo	
Susceptibilidad antimicrobiana (Variable independiente)	Sensibilidad de un microorganismo a la acción de un antibiótico específico (51).	Se medirá a través de la identificación de sensibilidad mediante antibiograma por el método de Kirby Bauer y D test.	**Antibiograma:** • Cefoxitin • Trimetropim/sulbactam • Linezolid, • Gentamicina • Vancomicina • Tretaciclina • Ceftarolina • Penicilina • Ciprofloxacino **D – test:** • Eritromicina • Clindamicina	Cualitativa - politómica	**Antibiograma:** • S: sensible • I: intermedio • R: resistente **D- test:** • Positivo • Negativo	• Pruebas de susceptibilidad por Kirby Bauer • Discos de antibióticos OXOID

Gen *mecA* (Variable independiente)	Secuencias de ADN que codifican proteínas que alteran o inactivan los antibióticos, impidiendo su acción sobre las bacterias (50).	Amplificación del gen mecA por el método de PCR convencional usando primers específicos. Identificación terciaria mediante el método de electroforesis en gel de agarosa para la confirmación de la amplificación del gen mecA. La frecuencia se establecerá a partir del número de casos positivos aislados, categorizados y confirmados con la presencia del gen *mecA* del total de participantes.	**Presencia del gen:** • *mecA*	Cualitativa dicotómica	• Presencia: bandas visibles de 310 pb • Ausencia: ausencia de bandas de 310 pb	• Termociclador Bio-RAD T100 • Fotodocumentador ChemiDoc BioRAD
Factores de riesgo	Condiciones específicas a las que estuvo expuesta la población estudiada y que podrían haber favorecido la colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) (52).	Encuesta de relación de los factores de riesgo: factores ocupacionales, medidas de bioseguridad, prácticas de higiene personal y uso de antibióticos.	**Cuestionario de preguntas sobre factores de riesgo para la colonización de SARM:** • Cargo u ocupación • Área de procedencia hospitalaria • Prácticas de lavado de manos • Uso de EPP • Uso de antibióticos	Cualitativa - politómica	• Selección múltiple	Encuesta

Anexo 3. *Encuesta para recolección de datos*

Encuesta para recolección de datos a trabajadores de la salud del Hospital Básico Pelileo.
Proyecto: "Caracterización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo"

A continuación, se presenta una serie de preguntas que tienen como objetivo conocer el uso de antibióticos, el cargo que desempeña y el área en la que trabaja dentro de la institución de salud, el historial de salud y prácticas de bioseguridad.

Instrucciones: Encierre en un círculo la respuesta que usted considere.

DATOS GENERALES:

Edad:

Género: Masculino __Femenino __

Código del Participante:

1. ¿Con qué frecuencia toma antibióticos?

a. Nunca

b. Raramente

c. Casi siempre

d. Siempre

2. ¿Cuánto tiempo ha pasado desde que terminó su último tratamiento antibiótico?

a. Me encuentro en tratamiento antibiótico activo

b. Hace 5 días

c. Hace 1-2 semanas

d. Hace 3-4 semanas

e. Más de 1 mes

3.¿Cuál es el cargo que desempeña?

a. Médico general

b. Médico especialista (Especifique): _____

c. Enfermero/a (Licenciado/a o auxiliar)

d. Personal de laboratorio clínico

e. Fisioterapeuta

f. Nutricionista

g. Odontólogo/a

h. Personal de seguridad

i. Limpieza

j. Otro (Especifique): _____

4. ¿En qué área labora?

a. Consulta externa

b. Emergencia

c. Quirófano

d. Ginecología

e. Cirugía

f. Unidad de Cuidados Intensivos

g. Pediatría

h. Laboratorio Clínico

i. Odontología

j. Cuidados paliativos

k. Fisioterapia

l. Atención primaria

m. Otro_____

5. ¿Ha sido hospitalizado en los últimos 12 meses?

a. Sí

b. No

6. ¿Con qué frecuencia se lava las manos durante su jornada laboral?

a. Siempre

b. A veces

c. Raramente

d. Nunca

7. ¿Utiliza EPP (equipo de protección personal como guantes y mascarilla) durante su jornada laboral?

a. Si

b. No

¡Gracias por su colaboración!

Anexo 4: *Consentimiento informado*

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA RECOLECCIÓN, USO Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Y DATOS PERSONALES

Sección I: INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE/REPRESENTANTE LEGAL

A) Hoja de información:

Título del estudio: "Caracterización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo"

Investigador principal:

Nombre: Kevin Alexander Apo Analuisa

Dirección: Hualcanga La Dolorosa - Quero

Teléfono del Investigador Principal: 0983573363

Estimado señor (a), le estamos pidiendo que autorice la recolección y uso de muestras de hisopados nasales y de manos durante la realización del estudio **"**Caracterización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores del Hospital Básico Pelileo".

Su participación es completamente voluntaria; puede aceptar participar en el estudio principal y no en esta sección, sin que ello le provoque inconveniente alguno en su atención en salud.

Lea toda la información que se le ofrece en este documento y haga todas las preguntas que necesite al investigador que se lo está explicando, antes de tomar una decisión. También lo alentamos a consultarlo con su familia, amigos y médicos de cabecera.

1) **¿Por qué se realiza este estudio?**

El propósito de esta investigación es analizar la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en trabajadores del Hospital Básico Pelileo. Este análisis es fundamental para fortalecer las medidas preventivas y de control de infecciones hospitalarias y comunitarias.

2) **¿Qué pasará si participo de esta parte del proyecto de investigación, luego de que firme este Consentimiento Informado?:**

Una vez se haya firmado el Consentimiento informado se procederá de la siguiente manera:

2.1. Le sacaremos una muestra de hisopado nasal y de manos en una única toma.

2.2. Se le realizará una encuesta para recabar información de su historial de salud, uso de antibióticos, el cargo y área en la que labora dentro de la institución con el objetivo de caracterizar la distribución de *Staphylococcus aureus* en los trabajadores del Hospital Básico Pelileo.

3) **¿Qué riesgos podría tener si participo?**

Los riesgos asociados con este procedimiento son generalmente mínimos, pudiendo incluir molestias leves durante la recolección de la muestra, como cosquilleos en la garganta o tos.

También hay algún riesgo potencial para su privacidad, a pesar de que se tomarán todas las medidas necesarias para mantener la privacidad de su identidad y la confidencialidad de sus datos personales.

4) **¿Cuánto tiempo me tomará participar en esta parte del estudio? Está previsto que su participación dure (lapso de tiempo).**

Su participación incluirá un único proceso toma de muestra, con una duración estimada del procedimiento de 15 a 20 minutos. Además, está previsto que su participación dure 4 meses durante el ciclo académico.

5) **¿Tendré beneficios por participar?**

Su participación es de gran importancia, ya que podrá conocer si Ud. es portador de un microorganismo que podría afectar su salud y la de sus pacientes, lo que le permitirá tomar medidas de bioseguridad adecuadas.

6) **¿Me darán información sobre los resultados del estudio, luego de su finalización?**

Si, por supuesto, una vez culminado el estudio se le brindará información relevante sobre los hallazgos generales de manera electrónica a su número de contacto.

7) **¿Qué gastos tendré si participo del estudio?**

Ud. no tendrá gasto alguno relacionado a los procedimientos y materiales necesarios para esta investigación. Se cubrirán los gastos médicos siempre y cuando sufra algún daño o lesión relacionada con la investigación. No se cubrirán estudios ni medicamentos que no estén relacionados con el estudio.

8) ¿Qué pasará si sufro algún evento adverso mientras participo en el estudio?

Si durante el transcurso del mismo usted sufre un daño físico, una lesión o una consecuencia en su salud relacionada con los procedimientos del mismo, el investigador Kevin Alexander Apo Analuisa le proveerá toda la asistencia médica inmediata y necesaria para su tratamiento.

Si esto ocurriera, comuníquese de inmediato con el investigador Kevin Alexander Apo Analuisa al número 0983573363 quien le dirá cómo debe proceder. De todas formas, con la firma de este consentimiento informado usted no renuncia a los derechos que posee de acuerdo con el Código Civil y las leyes ecuatorianas en materia de responsabilidad por daños.

9) ¿Puedo dejar de participar en cualquier momento, aún luego de haber aceptado?

Usted es libre de retirar su consentimiento para participar en esta parte de la investigación en cualquier momento sin que esto lo perjudique en su atención médica posterior; simplemente deberá notificar al investigador de su decisión (por escrito) en caso de que exista alguna inconformidad.

Luego de que retire su consentimiento no se podrá obtener datos sobre Ud. y su salud, pero toda la información obtenida con anterioridad sí será utilizada.

10) ¿Puedo retirar mi consentimiento para la utilización de muestras biológicas, aún luego de haber aceptado? (sólo si aplica)

Si Ud. ha dado su autorización para almacenar sus muestras biológicas (hisopado nasal y de manos) para estudios a realizarse en el futuro, puede cambiar de opinión en cualquier momento. Debe notificar al investigador del estudio (en forma oral/por escrito) sobre su decisión.

11) ¿Cómo mantendrán la confidencialidad de mis datos / muestra

Se preservará la confidencialidad de los datos y muestras de los participantes en el estudio planteado, a través de la implementación de medidas como la anonimización

completa de la información identificable, mediante el uso de códigos alfanuméricos, y almacenamiento seguro de los datos con acceso restringido netamente para uso investigativo. En este contexto, se obtiene el consentimiento informado de los participantes, detallando de manera clara las prácticas de confidencialidad establecidas. Asimismo, se limitará el acceso a los datos a miembros autorizados del equipo de investigación y mantendrá un periodo limitado de retención de los mismos con el fin de garantizar el cumplimiento de estándares éticos. Estas medidas aseguran la protección de la privacidad de los participantes durante la fase de investigación y duración del proyecto.

12. ¿Cómo, dónde y por cuánto tiempo se almacenarán mis datos/ muestras? ¿Cómo las destruirán luego de su utilización?

Sus muestras serán procesadas una vez hayan sido recolectadas según el cronograma establecido por el investigador. En cuanto a los datos obtenidos serán almacenados en una base de datos digital (Excel) con la finalidad del análisis de sus resultados y tabulación de la información para el proceso investigativo durante el período de duración del proyecto. Después de este período serán destruidos con los métodos que cumplan con los procedimientos del laboratorio y de la institución. Se le pedirá que indique si desea que las muestras no utilizadas sean destruidas o que se las vuelva anónimas en el caso que no lo sean (o sea, se les retire toda información que pueda relacionarlas con Ud.) para su posterior utilización en otra investigación.

Toda información que se haya obtenido hasta el momento en que retire su consentimiento será usada, pero no se obtendrá ningún otro dato.

13) ¿Puedo ser retirado del estudio aún si yo no quisiera?

El investigador, el comité de ética, que supervisan el estudio pueden decidir retirarlo si consideran que es lo mejor para usted. También pueden decidir retirarlo por las siguientes causas: Si no desea participar en el proyecto de investigación, si no se cumple los criterios establecidos durante la fase de investigación.

14) ¿Me pagarán por participar?

No se le pagará por su participación en este estudio. Sólo se le cubrirán los materiales necesarios para la toma de muestras, en este caso dos hisopos estériles y tubos transportadores.

15) **¿Cómo mantendrán la confidencialidad de mis datos personales? ¿Cómo harán para que mi identidad no sea conocida?**

Los datos que lo identifiquen serán tratados en forma confidencial como lo exige la Ley. Salvo para quienes estén autorizados a acceder a sus datos personales, Ud. no podrá ser identificado y para ello se le asignará un código alfanumérico. En caso de que los resultados de este estudio sean publicados en revistas médicas o presentados en congresos médicos, su identidad no será revelada.

El titular de los datos personales (o sea usted) tiene la facultad de ejercer el derecho de acceso a los mismos en forma gratuita a intervalos no inferiores a seis meses, salvo que se acredite un interés legítimo al efecto conforme lo establecido en la Ley, tiene la atribución de atender las denuncias y reclamos que se interpongan con relación al incumplimiento de las normas sobre protección de datos personales.

16) **¿Quiénes tendrán acceso a mis datos personales?**

Como parte del estudio, el Investigador Principal y todo el equipo de investigación tendrán acceso a los resultados de sus estudios, como parte del análisis del laboratorio.

17) **¿A quiénes puedo contactar si tengo dudas sobre el estudio y mis derechos como participante en un estudio de investigación**?

17.1. **Sobre el estudio: contactar al Investigador Principal:** Kevin Alexander Apo Analuisa en la comunidad de Hualcanga La Dolorosa en el cantón Quero de la ciudad de Ambato o al teléfono celular 0983573363.

17.2. **Sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación:**

El presente trabajo de investigación ha sido evaluado por el CISH-UTA. Si Usted tiene alguna pregunta relacionada con sus derechos como participante en la investigación puede contactarse con el Investigador principal Kevin Alexander Apo Analuisa (kapo1578@uta.edu.ec), o presidente del CISH, Dra. Aida Fabiola Aguilar Salazar (gaguilar0680@uta.edu.ec)

SECCIÓN II: CONSENTIMIENTO INFORMADO

A. DECLARATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo_____como participante del estudio, declaro que ha leído el documento de consentimiento, que he comprendido los riesgos y beneficios de participar, el responsable ha respondido a todas mis preguntas, mediante explicación satisfactoria, conozco que mi participación es voluntaria, por lo que consiento libremente participar en los

procedimientos propuestos en el estudio, sé que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento, sin que esto afecte las atenciones a las que tengo derecho, solamente debo informar al investigador.

Al firmar el documento de consentimiento informado, en calidad

de participante NO renuncio a ninguno de los derechos que por ley me corresponden. Se le entregará una copia de este documento al participante/representante legal, una vez suscrito el mismo por las partes.

UTILICE EL SIGUIENTE CUADRO EN CASO DE PERSONAS LEGALMENTE COMPETENTES PARA FIRMAR ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha Dd/Mm/Aaaa	Nombres completos del sujeto investigado	N de cédula	Firma