



**Prevalencia de infección concomitante
de *S. Aureus* y staphylofagos en
trabajadores de unidades de cuidados
intensivos del distrito de barranquilla.**

**Alberto Mario Acuña Lombana
Leidys Dianis Gutiérrez Salas
Otto Enrique Rinaldy Potes**

Universidad Simón Bolívar
Programa de Medicina
Barranquilla (Atl), Colombia
2019

Prevalencia de infección concomitante de *S. Aureus* y staphylofagos en trabajadores de unidades de cuidados intensivos del distrito de barranquilla.

**Alberto Mario Acuña Lombana
Leidys Dianis Gutiérrez Salas
Otto Enrique Rinaldy Potes**

Informe Final de Ejercicio de Investigación:
Proyecto de Investigación III

Tutor:
DAYAN LOZANO SOLANO MSc. PhD (C).

Universidad Simón Bolívar
Programa de Medicina
Barraquilla (Atl.), Colombia
2019

Resumen

Los bacteriófagos son virus de bacterias que, por su especificidad, son considerados hoy día como alternativas para el control de infecciones bacterianas. De igual forma han sido identificados en varios nichos humanos como en colon y piel, dejando en entredicho su rol como microbiota protectora. Por su parte *Staphylococcus aureus* es uno de los principales patógenos en humanos y animales, comúnmente aislado en unidad de cuidados intensivos (UCI), sin embargo, la tasa de infección versus colonización por *S. aureus* en el personal médico es baja. A pesar de que se ha descrito la presencia de los fagos como parte de la microbiota humana, no se ha esclarecido cuál es su rol como microbiota acompañante. El objetivo del presente trabajo fue determinar la colonización simultánea de *S. aureus* y Stafilofagos en muestras nasales de los trabajadores unidades de cuidados intensivos del distrito de Barranquilla.

Se tomaron un total de 18 muestras nasales de trabajadores de salud en 6 Unidades de cuidados intensivos de 2 Instituciones prestadoras de salud de 4to nivel de atención. De los cuales el 67% (n=12) fueron positivos para *S. aureus* las cuales fueron confirmadas por la identificación del gen NUC que es especie específico. El 17% (n=2) positivos para Stafilofagos. De los aislamientos de *S. aureus* se determinó que el 58% (n=7) son resistentes a Metilicina (SARM) y el 8% (N=1) presenta la toxina PVL.

Palabras clave: *Staphylococcus Aureus*, *UCI*, *bacteriófagos*, *bacterias*, *colonización*, *microbiota*, *infecciones*, *salud*.

Abstract.

Phages are viruses of bacteria that, due to their specificity, are considered as alternatives for the control of bacterial infections. In the same way they have been identified in several human niches as in colon and skin, leaving in between their role as a protective microbiome. On the other hand, *Staphylococcus aureus* is one of the main pathogens in humans and animals, commonly isolated in intensive care unit (ICU), however the rate of infection versus colonization by *S. aureus* in medical personnel is low. Although the presence of phages has been described as part of the human microbiome, its role as an accompanying microbiome has not been clarified. The objective of the present work was to determine the simultaneous colonization of *S. aureus* and *Staphylococcus* in nasal samples of the workers on intensive care units (ICU) of the district of Barranquilla.

A total of 18 nasal samples of health workers were taken in 6 intensive care units from 2 health care institutions of the 4th level of care. Of which 67% (n = 12) were positive for *S. aureus* which were confirmed by the identification of the NUC gene that is specific species. 17% (n = 2) positive for staphylophages. Of the isolates of *S. aureus*, it was determined that 58% (n = 7) are resistant to Methicillin (MRSA) and 8% (N = 1) has the PVL toxin.

Keywords: *Staphylococcus Aureus*, ICU, bacteriophages, bacteria, colonization, microbiome, infections, health

INDICE

Introducción	6
Problema de Investigación	7
Planteamiento del Problema y justificación	7
Objetivos	9
Objetivo General	9
Objetivos específicos	9
Marco Teórico	11
Diseño Metodológico	21
Tipo de Estudio, área y muestreo.....	21
Población y Muestra.....	21
Instrumento de Captura de Datos	22
Toma de muestras	22
Procesamiento de las muestras:	22
Fase de Análisis de Datos.....	28
Resultados y Discusiones	29
Conclusiones y Recomendaciones	36
Conclusiones	36
Recomendaciones	36
Referencias Bibliográficas	37
ANEXOS	40

Introducción

Los bacteriófagos o fagos, son virus que infectan bacterias de manera específica, consisten fundamentalmente de material genético y proteínas. Su genoma puede ser de tipo DNA o RNA de cadena doble o sencilla. Este es protegido por una cápside proteica. La estructura de los fagos es determinada por sus proteínas estructurales que también proveen al fago de: cuello, cola, fibras caudales, laminas basales y/o espículas. La forma en la que se arreglan las proteínas alrededor del material genético del virus define la complejidad estructural y la forma de este, de tal modo que existen fagos icosaédricos, helicoidales o filamentosos. Son la forma de vida más abundante de la tierra, se estima que existe una población de fagos de 10^{32} por ml de agua. Más del 90% de los fagos pertenece al Phylum Caudovirales, en su gran mayoría son fagos líticos (que matan a su huésped) y de tipo ssDNA.

Por su alta especificidad y la producción de enzimas que atacan la pared bacteriana, los fagos y las enzimas derivadas de estos, han sido propuestos como una alternativa viable para el desarrollo de alternativas antimicrobianas. La presencia de Fagos en algunas zonas anatómicas como intestinos y piel, dejan en entredicho su acción como ayudadores del sistema inmunológico contra infecciones bacterianas.

Por otro lado, la baja morbilidad por infecciones nosocomiales en el personal de salud incluso colonizado con bacterias como *S. aureus*, un importante patógeno tanto nosocomial como comunitario que presenta altas tasas de resistencia antimicrobiana, hace pensar en la probabilidad de que los fagos puedan estar actuando como un factor protector en esta población. (1)

Problema de Investigación

Planteamiento del Problema y justificación.

Los bacteriófagos son virus que matan bacterias, descubiertos por Felix D'Herelle en 1917, inicialmente fueron usados ampliamente como antimicrobianos y ofrecen ventajas clínicas, en el sentido que son muy específicos (2). En los últimos años, por medio de estudios de metagenómica se ha comprobado la presencia de estos microorganismos como microbiota acompañante en piel e intestino humano y su posible rol como microbiota protectora se encuentra en investigación. (3)

Estudios recientes han descrito que bacteriófagos de *P. acnes* también se encuentran en la piel y que estos, al infectar selectivamente las cepas, influyen la estructura de la población de *P. acnes* presentes en la piel. Además de esto, *P. acnes*, mediante la producción de ácido propiónico, puede inhibir el crecimiento de cepas de *S. aureus* resistentes a la metilina y puede influir la composición de la comunidad bacteriana en la piel y actuar como barrera protectora frente a estos patógenos (3).

Por otro lado, numerosos estudios han demostrado las altas tasas de colonización de cepas bacterianas patógenas como *S. aureus* en trabajadores de la salud incluyendo cepas resistentes a antibióticos, y que podrían actuar como diseminadores de estas cepas en la comunidad.

S. aureus hace parte de la microbiota tanto de humanos como de animales, también puede causar, un sin número de infecciones, que pueden ir desde simples heridas de piel, hasta neumonías graves al igual que presenta altas tasas de resistencia (2), sin embargo, la incidencia de trabajadores de la salud que presentan infecciones graves a causa de estas cepas es baja, lo que puede indicar la existencia de algún factor que pudiera estar actuando como protector en estos individuos.

Lo cual se justifica en un estudio hecho por la Universidad de Los Andes en Mérida/Venezuela se logró demostrar que el 31,58% del personal en una unidad neonatal de alto riesgo fue portador nasal de SARM y se observó la mayor frecuencia en el personal de enfermería con un 58,33%, seguido de camareras con un 25%. El 7,9% del personal muestreado presentó cepas SARM en manos encontrándose sólo en el personal de enfermería 15% respecto al total de enfermeras estudiadas (4). *S. aureus* hace parte de la microbiota nasal humana, sin embargo, se ha reportado la colonización concomitante de esta bacteria y sus fagos en esta población y los mecanismos protectores que estos puedan tener para evitar el desarrollo de la enfermedad abren el siguiente interrogante:

¿EXISTE COLONIZACIÓN SIMULTÁNEA DE *S. aureus* y BACTERIOFAGOS ESTAFILOLÍTICOS EN TRABAJADORES DE LA SALUD?

Objetivos

Objetivo General

Determinar la presencia simultánea de *S. aureus* y estafilofagos en trabajadores de UCI de las diferentes instituciones prestadoras de salud en la ciudad de barranquilla.

Objetivos específicos

- Determinar la colonización por *S. aureus* en los trabajadores de UCI de las diferentes instituciones de salud de la ciudad de Barranquilla.
- Determinar el perfil de sensibilidad antibiótica y la presencia de la toxina PVL en los aislamientos obtenidos.
- Determinar la presencia simultánea *S. aureus* y Estafilofagos en los trabajadores de UCI de las diferentes instituciones de salud de la ciudad de Barranquilla.

Marco Teórico

Dado que la mira central de este análisis estará puesta en la representación de si existe colonización simultánea de *S. aureus* y bacteriófagos estafilolíticos en trabajadores de la salud, se debe tener en cuenta que los bacteriófagos popularmente conocidos como fagos son entre el total de poblaciones virales, los que infectan y matan bacterias y han demostrado a lo largo de la historia su actividad antibacteriana y el *Staphylococcus aureus*, es una bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella; Este puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, lo que es un problema en los trabajadores de la salud ya que afecta sus vidas y la de los pacientes o diferentes personas que se encuentren en contacto con ellas dentro de sus funciones habituales, aunque con la creencia de que existe un factor protector por medio de los bacteriófagos destruyendo estas bacterias.

Gracias a la colonización de estas bacterias en los trabajadores de salud en buena proporción, con el tiempo, el número de infecciones por *S. aureus* sigue en aumento tanto a nivel de infecciones de la Comunidad como principal agente de las Infecciones Intrahospitalarias, el tratamiento de estas Infecciones se ha vuelto más complejo por el surgimiento de cepas resistentes a antibióticos. Se estima que alrededor del 70% de las Cepas de *S. aureus* que causan infecciones en los hospitales, son resistentes al menos a uno de los antibióticos más comunes o de primera línea. Por todo esto se buscaría determinar sobre esta colonización simultánea de fagos y *S. aureus* para estimular la fagoterapia de manera alternativa a los antibióticos para prevención o tratamiento de las infecciones causadas por la bacteria *Staphylococcus aureus*.

En los EE. UU., los lisados de fagos estafilocócicos (LFE) fueron usados en la preparación de vacunas humanas y veterinarias. Los ensayos clínicos fueron completados en 1959 y los LFE fueron licenciados para su uso en humanos y administrados por vía intranasal, tópica, oral, subcutánea e intravenosa. La eficacia de la terapia con fagos fue demostrada en ensayos clínicos, en los cuales 607

pacientes, que no respondían a tratamientos convencionales, fueron tratados satisfactoriamente con fagos. Además, no se reportaron efectos secundarios. Desafortunadamente, debido a presiones reguladoras, la producción de LFE para la terapia en humanos fue suspendida en los años 90. (6)

Las preparaciones de fagos fueron ampliamente utilizadas en dermatología, estomatología, otorrinolaringología, oftalmología, ginecología, pediatría, cirugía, gastroenterología, urología y neumología.

Los fagos son componentes naturales que están distribuidos ampliamente en la naturaleza. Muchos estudios han demostrado la ausencia de toxicidad de los fagos después de su consumo oral y aplicación en las heridas infestadas. Esto sugiere realizar los estudios disponibles actualmente para la caracterización de los fagos potencialmente terapéuticos.

Existe una clara necesidad de ensayos clínicos bien diseñados que demuestren seguridad y eficacia para su aplicación en humanos. En estos ensayos al no tener comparador, la evidencia científica solo podría ser contra el grupo placebo para resolver el debate sobre la eficacia de esta terapia. Idealmente, estos ensayos deben tener la capacidad de convencer al público en general y alertar a los tomadores de decisiones sobre los beneficios potenciales de la misma.

Phagoburn es un proyecto europeo de investigación y desarrollo (I+D) financiado por la Comisión Europea en el marco del Séptimo Programa Marco de Investigación y Desarrollo. El proyecto fue lanzado el 1 de junio de 2013 y durará 45 meses. Su objetivo es evaluar la terapia con fagos para el tratamiento de quemaduras infectadas con bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Esta evaluación se está llevando a cabo actualmente a través de la implementación de un ensayo clínico fase I-II. Phagoburn recomienda el establecimiento de un estudio de terapia con fagos para el tratamiento de heridas severas por quemaduras infectadas con patógenos nosocomiales importantes (bacterias ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter Baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter*).

El estudio propuesto se basa en el ya realizado ensayo clínico Phagoburn FP7, que se centra en el tratamiento de pacientes con heridas por quemaduras infectadas con *Escherichia coli* y *P. aeruginosa*.

Los ensayos clínicos en humanos no muestran efectos adversos del uso de la terapia con fagos. En la siguiente etapa, la eficacia de esta terapia necesita ser

apoyada por más datos clínicos. Los resultados positivos, como la prevención de la disentería de *Shigella* y el tratamiento de la otitis externa de *Pseudomonas*, deben ser confirmados de forma independiente y hay que incluir otras infecciones humanas en estos ensayos.

La instalación de sistemas de monitoreo en la implementación inicial de la terapia con fagos sería de mucha importancia. Esto permitiría la recopilación de metadatos para los análisis prospectivos y la evaluación de la eficacia de cócteles de fagos continuamente adaptados en el tratamiento de patógenos existentes y emergentes (7)

De acuerdo con informes recientes de la Organización Mundial de la Salud, en EE. UU. mueren anualmente aproximadamente 14000 personas por infecciones resistentes a los medicamentos. Internacionalmente el 60 % de las infecciones reportadas son resistentes a los agentes antimicrobianos. En América Latina, las cepas bacterianas más peligrosas han sido denominadas ESKAPE: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter Baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

A pesar de esta problemática, el número de nuevos antibióticos disponibles en el mercado ha disminuido en la última década. No es un secreto que las grandes compañías farmacéuticas han perdido el interés en la búsqueda de nuevos antibióticos. Se estima que menos de diez compañías en EE. UU. y Europa mantienen programas activos de investigación-desarrollo (I + D) para agentes antimicrobianos. Este hecho está relacionado con que se estima que se ha descubierto la mayoría de los blancos terapéuticos que permiten una toxicidad selectiva de los compuestos y, por otra parte, las nuevas metodologías, como la exploración de los genomas microbianos y los métodos de búsqueda de elevado tamizaje, no han cumplido las expectativas iniciales. En este escenario, también ha influido la existencia de muchos antibióticos genéricos en el mercado, que tienen grados variables de efectividad y que son utilizados como terapia de primera línea por muchas autoridades sanitarias. Además, la duración de un tratamiento con agentes antimicrobianos es limitada, lo cual es menos ventajoso económicamente que la producción de medicamentos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, neurológicas, musculoesqueléticas o el cáncer.

Finalmente, las normas establecidas por las agencias reguladoras también han influido en esta situación, como es el caso de la Administración de Alimentos y Medicamentos en EE. UU. (FDA), que ha insistido en la necesidad de realizar ensayos clínicos con placebo en pacientes con infecciones bacterianas severas, lo cual ha frenado la realización de estudios clínicos fase II y III

La utilización terapéutica de los fagos es promisorio dada las potencialidades que ofrece la terapia combinada de preparaciones de fagos y antibióticos, siendo el momento apropiado para establecer los beneficios de los fagos ante las bacterias en este caso el *S. aureus*.

Por otro lado, la comercialización exitosa de fagos terapéuticos para tratar infecciones bacterianas en humanos comenzó en la década del 40 del siglo pasado en Francia por d'Herelle y en los Estados Unidos por la compañía farmacéutica Eli Lilly. Siguiendo este éxito, varias compañías en los Estados Unidos, Alemania y Francia produjeron grandes cantidades de preparaciones de lisados de fagos.

La terapia con fagos floreció en la antigua Unión Soviética (URSS) donde estos permanecieron como una terapia estándar del sistema de salud; aun cuando el uso de los antibióticos estaba en su esplendor en el oeste. En ese estado, las preparaciones de fagos se usaron en la terapia, profilaxis o el diagnóstico de infecciones bacterianas como disentería, diarreas, fiebre tifoidea, infecciones sépticas-purulentas relacionadas con quemaduras, inflamación de órganos y heridas. A pesar de las propiedades de los fagos líticos, estos no se utilizan comúnmente en la profilaxis o terapia antimicrobiana a nivel internacional y su eficacia es aún objeto de controversia. Muchos factores han contribuido a esta situación; entre ellos: la identificación incorrecta de los agentes etiológicos, pureza insuficiente de las preparaciones de fagos, carencia de conocimientos sobre la heterogeneidad (fagos líticos vs lisogénicos) y su modo de acción, fallo en el establecimiento de evidencias científicas sobre la eficacia clínica del tratamiento con fagos, pobre estabilidad, entre otros. Estos factores, unidos a que los antibióticos de amplio espectro pueden actuar eficientemente en ausencia del diagnóstico confirmado del agente patógeno, condujeron a la disminución del interés en el uso de los fagos terapéuticos.

En este comentario especializado se describen brevemente las principales aplicaciones iniciales de los fagos terapéuticos y se revisa la literatura reciente, enfatizando en la investigación realizada en los países del oeste de Europa y los resultados de los principales ensayos clínicos realizados hasta la fecha.

La eficacia de la terapia combinada de fagos y antibióticos contra infecciones in vivo ha sido documentada por ensayos in vitro. Se ha demostrado que los fagos toman ventaja de la alteración de la pared celular bacteriana —tratada con antibióticos— para incrementar su propia producción y además acelerar la lisis de las células infestadas; permitiendo a los fagos diseminarse más rápidamente. Recientemente, se ha llamado a la comunidad internacional al establecimiento de bancos de fagos para apoyar esta terapia y para la investigación básica. En el Congreso de Microbios o Virus de París en 2010, la Colección Alemana de Microorganismos (DSMZ) anunció su disposición para coleccionar fagos con propósitos terapéuticos. Él intercambio de especies de fagos entre las diferentes instituciones ayudará significativamente, ya que podrán elaborarse cocteles de fagos con un mayor espectro lítico y desacelerarse la búsqueda de nuevos fagos en la naturaleza. (8)

El gen MEC-A es un gen que se encuentra en las células bacterianas y permite que una bacteria sea resistente a los antibióticos como la meticilina, la penicilina y otros antibióticos similares a la penicilina.

El tratamiento exitoso de *S. aureus* resistente a la meticilina comienza con la detección y confirmación de que la cepa en cuestión realmente posee el gen MEC-A, responsable de la resistencia. El uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se usa típicamente para detectar la presencia del gen MEC-A, se pueden usar métodos alternativos, ya que pueden ser tan específicos como la PCR. La PCR de detección enzimática, que marca la PCR con enzimas, detectable por ensayos inmunoabsorbentes, lleva menos tiempo y no requiere la electroforesis en gel, que puede ser costosa, tediosa e impredecible (9).

El genoma de *Staphylococcus aureus* se encuentra constantemente en un estado de flujo, adquiriendo genes que permiten a la bacteria mantener la resistencia frente a la presión de los antibióticos. La adquisición de los genes de un origen desconocido impartida. *aureus* con amplia resistencia a los antibióticos de lactama, con la cepa resultante designada como resistente a la meticilina. *aureus* (MRSA). Evidencias epidemiológicas y genéticas sugieren que el gen que codifica PBP 2a de MRSA podría haberse originado en *Staphylococcus sciuri*, un patógeno animal, donde existe como un gen silencioso de función desconocida.

La adquisición del gen MEC-A no nativo por *S. aureus* ha ocurrido varias veces en los últimos 40 años a partir de una especie desconocida (4,5). La búsqueda de este original se convirtió en un homólogo estructural de MEC-A como un gen nativo en las especies comensales animales *Staphylococcus sciuri* (6-8).

Se han detectado diferentes variantes del homólogo de MEC-A (mecA1 y mecA2) tanto en aislamientos resistentes a meticilina como susceptibles, lo que sugiere que el homólogo del gen MEC-A en *S. sciuri* podría tener funciones distintas y aún desconocidas en este organismo, representando un reservorio natural de gen de resistencia a la meticilina

El gen MEC-A se adquiere y se transmite a través de un elemento genético móvil, que se inserta en el genoma del huésped. La evidencia muestra que existe una conservación de la estructura entre el producto del gen MEC-A y un producto del gen MEC-A homólogo en la bacteria *Staphylococcus sciuri*. Actualmente, no hay una función conocida para el homólogo de MEC-A en *S. sciuri*, pero la evidencia apunta a que estos genes son precursores del gen MEC-A encontrado en *S. aureus* (10).

La leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) es una citotoxina que causa la destrucción de leucocitos y la necrosis tisular. Es producido por menos del 5% de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

La patogenicidad de las infecciones por *Staphylococcus aureus* se relaciona con varios componentes bacterianos de la superficie (por ejemplo, polisacárido capsular y proteína A), incluidas las que reconocen moléculas de matriz adhesiva (por ejemplo, factor de aglomeración y proteína de unión a fibronectina), y con proteínas extracelulares (por ejemplo, coagulasa, hemolisinas), enterotoxinas, síndrome del shock tóxico [TSS], toxinas, exfoliatinas y leucocidina de Pantón - Valentine [PVL]). En general, las funciones precisas de los factores estafilocócicos individuales en las infecciones invasivas son difíciles de evaluar, pero la producción de PVL se ha relacionado de manera preferente con los forúnculos, los abscesos cutáneos y las infecciones necróticas cutáneas graves (11).

La hibridación de ADN de 309 aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* consecutivos con sondas oligonucleotídicas específicas para los genes que codifican la leucocidina de Pantón-Valentine (luk-PV) y la hemolisina y (hlg) reveló que el 99% de las cepas seleccionadas al azar tenían el locus hlg, mientras que solo el 2% albergaba el luk-PV, así como los loci hlg. Solo el 1% de las cepas no poseían ninguno de los dos genes. En un estudio clínico prospectivo de cepas independientes de *S. aureus*, se demostró que 58 aislamientos productores de leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) son responsables de infecciones primarias de la piel, principalmente furúnculos (86%). Los patrones de susceptibilidad a fagos y los perfiles de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) del ADN demostraron ser marcadores epidemiológicos polimórficos de cepas productoras de

PVL. En ocho pacientes con furúnculos recurrentes, las cepas productoras de PVL aisladas de furúnculos o de las narinas anteriores se consideraron idénticas en cada uno en función de los perfiles de sensibilidad de fagos o los patrones de PFGE (12).

La secreción de la leucocidina Pantón-Valentine (Luk-PV) pero no de otra leucocidina (Luk-R) de las cepas de *Staphylococcus aureus* se correlaciona con infecciones piodérmicas graves (dermonecrosis). Se estudiaron los efectos de Luk-PV y Luk-R en cantidades de 0 a 5000 ng sobre la liberación de mediadores inflamatorios de los leucocitos humanos. Luk-PV, pero no Luk-R indujo una liberación pronunciada de la histamina vasodilatadora de granulocitos basófilos humanos (hasta $55\% \pm 7\%$) y de enzimas (β -glucuronidasa, hasta $45\% \pm 10\%$; lisozima, hasta $35\% \pm 7\%$), componentes quimiotácticos leucotrieno B₄ (42 ± 8 ng / 107 células) e interleucina-8 (hasta 33 ± 5 ng / 107 células) y metabolitos de oxígeno de granulocitos neutrófilos humanos. Los resultados indican que los granulocitos tienen un papel central en la dermonecrosis; estos datos in vitro explican el cuadro histológico de las infecciones por Luk-PV, caracterizadas por vasodilatación local, infiltración de granulocitos y un área necrótica central (13).

La PVL actúa en la membrana externa de los leucocitos polimorfonucleares, los monocitos y los macrófagos. Ambas subunidades inducen la apertura de los canales de calcio; en consecuencia, producen la liberación de calcio y de mediadores inflamatorios, lo que deriva en apoptosis y necrosis.

Las infecciones por *S. aureus* positivo para PVL producen infecciones rápidas, graves y sumamente mortales de partes blandas y neumonía necrosante en adolescentes sanos (14).

Las acciones combinadas de muchos factores de virulencia permiten que *Staphylococcus aureus* cause enfermedad. Dependiendo de estos factores y del estado inmunitario del huésped, los estafilococos pueden causar enfermedades que van desde infecciones superficiales de la piel hasta afecciones sistémicas y profundas como osteomielitis, septicemia y neumonía necrotizante. La neumonía necrotizante estafilococo puede afectar a pacientes jóvenes e inmunocompetentes.

Esta enfermedad, caracterizada por leucopenia, hemoptisis y necrosis extensa del tejido pulmonar, es causada por las cepas de *S. aureus* que producen leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) (15).

El bacteriófago se ha convertido en una alternativa atractiva para el tratamiento de *Staphylococcus aureus* resistente a los antibióticos. Para el éxito de la terapia con fagos, el rango del huésped del fago es un criterio importante cuando se considera un fago candidato. La mayoría de las revisiones de los fagos de *S. aureus* (SA) se han centrado en su impacto en la evolución del huésped, especialmente en su contribución a la propagación de los genes de virulencia y los factores de patogénesis. El uso terapéutico potencial de los fagos de SA, especialmente las caracterizaciones detalladas de los mecanismos de reconocimiento del huésped, no se ha revisado ampliamente hasta el momento. (16)

Staphylococcus aureus es un patógeno común y con frecuencia virulento en los seres humanos. Esta bacteria está muy extendida y está presente en la piel y en la nariz de personas sanas. *Staphylococcus aureus* puede causar infecciones con resultados graves que van desde pústulas hasta sepsis y muerte. La introducción de antibióticos llevó a una creencia general de que el problema de las infecciones bacterianas se resolvería. No obstante, los patógenos, incluidos los estafilococos, han desarrollado mecanismos de resistencia a los fármacos. Entre los intentos actuales para abordar este problema, la terapia con fagos ofrece una alternativa prometedora para combatir las infecciones estafilocócicas.

El renovado interés en los fagos como agentes antimicrobianos proviene no solo de la medicina humana sino también de la medicina veterinaria y la industria alimentaria. Los fagos parecen ser una herramienta microbiológica capaz de combatir cepas específicas de bacterias que causan pérdidas en las compañías de alimentos y el control de patógenos de plantas en la agricultura. La otra ventaja de los fagos estafilocócicos es su rango de especificidad. La aplicación de un cóctel de fagos con relativamente pocos fagos puede brindar una muy buena cobertura, en contraste con las bacterias gramnegativas, donde se necesitan muchos más fagos (incluso más de 10). Este reducido número de fagos necesarios para una cobertura efectiva hace que los cócteles de fagos anti-estafilococos sean mucho más atractivos comercialmente (17).

En un estudio el ADN nuc se detectó en los días 0-2 en 22 pacientes (81%) y en los días 6-8 en tres pacientes (todos no sobrevivientes). La carga de ADN del núcleo en los días 1-2 se elevó significativamente en pacientes con sepsis (mediana de 2,69 frente a 1,32 log₁₀ copias / ml; p = 0,014) y en no sobrevivientes (mediana de 2,5 versus 1,0 log₁₀ copias / ml; p = 0,033).

Los pacientes con una alta carga de ADN en el núcleo ($> 3.0 \log_{10}$ copias / mL) en los días 1 a 2 tuvieron niveles de PCR significativamente elevados en todos los puntos de tiempo y una disminución significativa en el recuento de linfocitos en los días 0, 1 a 2, 13 a 15 y 26 a 30.

Nuc actúa como una enzima que cataliza la hidrólisis de ADN y ARN en la posición 5' del enlace fosfodiéster.

Los resultados de dicho estudio indican que una alta carga inicial de ADN de *S. aureus* en la sangre se asocia con sepsis, mortalidad y desregulación inmunitaria persistente en pacientes con bacteriemia por *S. aureus*. Se necesitan más estudios para definir el papel del monitoreo de la carga de ADN bacteriano en el manejo de la bacteriemia por *S. aureus* (18).

A pesar de que los bacteriófagos fueron descritos desde 1896, fue hasta 1917 que d'Herelle les dio nombre y empezó a utilizarla como terapia en enfermedades infecciosas, desde entonces la fagoterapia ha demostrado ser una alternativa viable en el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias resistentes a antibióticos.

En el campo de la biología molecular, los bacteriófagos se han empleado como herramientas para determinar: la naturaleza de los genes, los tipos de mutaciones genéticas, la transferencia de genes entre células mediada por virus, las enzimas de restricción, la descripción del RNAm, el mecanismo de acción de los factores de transcripción, la recombinación sitio específica, la descripción de la DNA-ligasa, la existencia de los fragmentos de Okazaki, el mecanismo de replicación "el círculo rodante", el papel de los cebadores, la antiterminación como mecanismo de regulación transcripcional, la entrega de material genético en forma de vectores y la producción de proteínas recombinantes entre otras. En los últimos años, la resistencia a antibióticos, en la década de los 60's propició, que los investigadores regresaran la vista a la fagoterapia, de manera que se han usado fagos para combatir a bacterias tanto Grampositivas (*Streptococcus pneumoniae* entre otras), como Gramnegativas (*Pseudomonas aeruginosa*, etc.) mostrando eficacia en el tratamiento de varias enfermedades.

Es por esta razón por la que se han desarrollado centros de investigación a nivel mundial al grado que en el este de Europa ya se cuenta con formas farmacéuticas a base de fagos y en Estados Unidos existen dos compañías que ya venden fagos en preparaciones (lisados fágicos con aditivos) que están ya aprobados por la FDA para su comercialización. Las compañías Intralytix y Exponential Biotherapies, venden productos a base de fagos para fagoterapia contra infecciones en humanos y para evitar la contaminación de quesos en la industria alimentaria; sin embargo, ni en Estados Unidos, ni en América Latina, existen formas farmacéuticas sólidas que puedan ser administradas por vía oral, por lo que esta puede ser un área de oportunidad para desarrollar nuevas investigaciones en el área fagoterapéutica. Pero la investigación de la fagoterapia no termina allí, desde hace algunos años, se investiga la posibilidad de usar a las endolisinas causantes de la lisis bacteriana (enzibióticos) no a los fagos completos como una alternativa de tratamiento.

A pesar de que ya haya productos en el mercado, la normatividad no es específica ya que no existe un apartado para los bacteriófagos en México ni en Estados Unidos, sin embargo, las normas para productos biológicos y vacunas virales, en ambos casos, dan las pautas que se deben cumplir para lograr que éstos sean seguros, eficaces, puros y confiables. En el caso de los métodos actuales de cuantificación de bacteriófagos, la única que mide la cantidad de virus infectivos presentes en una muestra es la técnica microbiológica de vaciado en placa. Esto quizá pueda ser un nicho de oportunidad para la investigación científica, puesto que, con el auge en la fagoterapia, resulta imperante tener métodos de cuantificación rápidos y confiables. (19)

Diseño Metodológico

Tipo de Estudio, área y muestreo.

Este es un estudio de tipo descriptivo, transversal. La investigación se realizó en 6, (1 pediátrica y 5 de adultos) Unidades de cuidados intensivos de 2 instituciones prestadoras de salud de cuarto nivel de atención de la ciudad de Barranquilla. Se realizó un muestreo por conveniencia, con las instituciones que dieron autorización para realizar dicha investigación.

Población y Muestra

La muestra estuvo determinada por 18 trabajadores de salud, como se muestra en la tabla 1.

Cargo	Cantidad
Médico	5
Médico Interno	1
Médico Residente	1
Jefe Enfermería	4
Aux. Enfermería	7

Tabla 1.

Criterio de Inclusión

Ser trabajador de salud en la unidad de cuidado intensivo de la institución correspondiente, no tener enfermedades de base que comprometan su estado inmunológico, no estar embarazada, no haber tenido enfermedades infecciosas o cirugías y no haber recibido tratamiento antibiótico, al menos 6 meses previos a la investigación.

Criterio de Exclusión

Ser trabajador de salud en departamento diferente a unidad de cuidados intensivos (UCI), tener enfermedades de base que comprometan estado inmunológico, mujeres embarazadas, Cursar o haber cursado con enfermedades infecciosas o cirugías y no haber recibido tratamiento antibiótico, al menos 6 meses previos a la investigación.

Instrumento de Captura de Datos

Se realizó una encuesta para recolectar datos sociodemográficos, como edad, sexo, entre otros, así como los antecedentes clínicos (ver anexos 1) y su correspondiente consentimiento informado según la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de salud nacional.

Toma de muestras:

Las muestras fueron obtenidas por hisopados nasales en 2 tubos falcon de 15ml conteniendo 1 ml de solución fisiológica y fueron remitidos inmediatamente al laboratorio.

Procesamiento de las muestras:

Se tomaron muestras nasales a través de hisopos en los diferentes trabajadores de las unidades de cuidados intensivos (UCI) de las clínicas Centro y Costa de Barranquilla/Atlántico.

Los hisopados fueron pasados por un proceso de esterilización en la autoclave previo a la toma de muestras y transportados adecuadamente para evitar su contaminación

Se necesitaron tubos falcon de 15ml estériles a los cuales se les agrego 5ml de solución salina para mantener la muestra en óptimas condiciones

Se preparó el agar, caldo y semisólido los cuales son medios requeridos para trabajar con las muestras y observar si se hallan bacterias, en este caso **S. aureus** y fagos.

Después de sacar las muestras del tubo falcon se ponen cada una de estas en el medio Baird Parker haciéndose diluciones seriadas sobre la caja de Petri para crecimiento y aislamiento de **S. aureus** y se colocan en la incubadora por 24 horas hasta observar su resultado

Luego de obtener colonias se toman con la pipeta y se deposita una muestra en tubos eppendorf preservado con medio LB en 500 microlitros de glicerol guardándolo en la incubadora

También se utilizaron tubos falcon a los que se les agrego 1ml de caldo, 1ml de muestra y 10 microlitros de bacteria; estos se colocaron en el shake machine durante 24 horas, luego de esto se observó el resultado de las muestras que dieron positivas y se vuelven a cultivar en agar sangre para enriquecerlo

Las muestras que estaban preservadas en los tubos falcon guardados en la incubadora se colocan al mismo nivel de volumen y se meten a la centrifugadora por 10 minutos luego de esto se depositan a tubos eppendorf y se les agrega agua ultra pura para realizar PCR.

Se realizó la técnica de PCR para obtener copias del ADN de la muestra

Se hizo control positivo y negativo, y para este último se usó salmonella en las muestras para PCR en NUC PVL Y MEC

NUC 267pb		Máster de MCR
94°C x 5min		Máster mix 12.5 ml
94°C x 1min	37 ciclos	Primer F 1ml
55°C x 30 seg	37 ciclos	Primer R 1ml
72°C x 1.5 min	37 ciclos	H2O 11
72°C x 5min		DNA 2ml

MEC (162) Y PVL (433)		Máster de MCR
94°C x 5min		Máster mix 12.5 ml
4°C x 30 seg	30 ciclos	Primer F 1ml
55°C x 3min	30 ciclos	Primer R 1ml
72°C x 1min	30 ciclos	H2O 11
72°C x 5min		DNA 2ml

Extracción de ADN: las muestras se hirvieron a 95°C, de las muestras solo el sobrenadante se pasa a tubo eppendorf, para centrifugar en termociclador.

Se lleva al nanodrop para hacer lectura añadiendo a este 2 microlitro.

Luego se realizó electroforesis al ADN obtenido de las muestras usándose gel de agarosa.

Recuento de bacteriófagos por el método de doble capa agarizada

- 1 realizar diluciones seriadas al décimo de la suspensión de fagos a testear
- 2 incubar 100 µL de cada dilución con 100 µL de un cultivo de la bacteria hospedadora preferentemente en fase exponencial de crecimiento. Hacer la infección en presencia de Cal2 a la concentración adecuada para el fago a testear
- 3 dejar a temperatura ambiente 10-30 min para favorecer la adsorción de los fagos
- 4 agregar 3 ml de top agar precalentado a 50°C incluir calcio en el top agar
- 5 volcar la mezcla en una placa de medio solido
- 6 incubar a 30 o 37°C durante 24 horas hasta visualizar las playas de lisis
- 7 calcular el titulo unidades formadoras de playas por ml en la suspensión original

Spot test para la determinación rápida del título de una suspensión de fagos

- Realizar diluciones seriadas al décimo de la suspensión de fagos a testear
- Mezclar 3ml de top agar conteniendo calcio con 200-500 μ l de un cultivo de la bacteria
- Volcar la mezcla de una placa de medio solido
- Una vez solidificado colocar una gota (5-10 μ l) de cada una de las diluciones
- Elegir la dilución donde puedan observarse playas de lisis aisladas y calcular el título aproximado

Aislamiento y caracterización de fagos

Día 1 enriquecimiento

1. Colocar 1g de muestra en un tubo falcon de 15ml
2. agregar 5ml de buffer fago con calcio 2ml para cubrir la muestra, mezclar bien empleando un agitador vortex y dejar reposar 10 min a temperatura ambiente para permitir la difusión de los fagos al buffer
3. centrifugar los tubos a 3500 rpm durante 5 min
4. tomar 2,5 ml del sobrenadante y filtrarlo empleando una membrana de 0.22 μ m
5. Agregar 2.5 ml de medio y la bacteria + 200 μ l de un cultivo en fase exponencial
6. incubar durante 24 horas a 37°C con agitación

Día 2 aislamiento

7. centrifugar los tubos a 3500 rpm durante 10 min
8. Tomar el sobrenadante filtrarlo y empleando una membrana de 0.22 μ m
9. infectar 500 μ L del cultivo de 16 horas de ***S. aureus*** del sobrenadante filtrado. Incubar 30 min a temperatura ambiente

10. agregar cada mezcla 3ml de top agar, mezclar evitando formar burbujas, verter sobre una placa Petri y dejar solidificar el agar
11. incubar durante 24 horas a 37°C manteniendo las placas de Petri invertidas

Día 3 purificación

12. Inspeccionar las placas para verificar la presencia de playas de lisis
13. Empleando un tip estéril, tomar la playa, suspender en 150 µl de buffer fago, mezclar exhaustivamente con la micropipeta. Incubar 30 min a temperatura ambiente
14. Preparar diluciones seriadas al décimo. Incubar 100 µl de cada dilución con 500 µl de un cultivo con calcio. Incubar 30 min a temperatura ambiente
15. Agregar a la mezcla 3 ml de top agar y verter sobre una placa
16. Incubar durante 24 horas a 37°C

Día 4 mini stock

- 17 determinar el título de la muestra (primera purificación)
- 18 preparaciones de mini stock: para obtener un mini stock de fago a partir de la primera muestra purificación, realizar diluciones seriadas al décimo para obtener una suspensión de fagos conteniendo aproximadamente 5000 UFP/ml
- 19 incubar 100µL de la dilución apropiada, con 500µL de un cultivo de *S. aureus*
- 20 agregar a cada mezcla 3ml de top agar y verter sobre una placa
- 21 incubar durante 24 horas a 37°C con las UFP/ml utilizadas, se espera obtener un numero de playas tal que la lisis del césped bactriano sea casi completa

Día 5 concentración

22 agregar 5ml de buffer fago en cada placa. Dejar 1 h a temperatura ambiente con agitación leve

23 recuperar el buffer

24 centrifugar a 4000 rpm por 15 min, recuperar el sobrenadante y repetir la centrifugación

25 recuperar el sobrenadante y filtrar empleando una membrana de 0.22 μm

26 concentra el fago por ultra centrifugación a 100000 xg durante 1.5 h a 4°C

27 descartar con cuidado el sobrenadante y recuperar el pellet en 500 μL de buffer28

titular una alícuota por "spot test"

Extracción de ADN de bacteriófago

- 1 tomar 400 μ L del stock de fago y agregar 400 μ L de FCI, mezclar con agitación.
- 2 centrifugar a 13000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente
- 3 tomar la fase superior y transferir a un nuevo tubo eppendorf
- 4 repetir los pasos de 1 a 3 2 veces más o hasta que no se observe la interfase, recuperar el sobrenadante en un tubo nuevo y medir el volumen
- 5 agregar 1/10 de volumen de acetato de sodio 3M y luego 2-2.5 volúmenes de etanol, absoluto frío, mezclar invirtiendo el tubo. Puede observarse el ADN precipitando.
- 6 incubar el tubo en hielo 10 min
- 7 centrifugar a 13000 rpm durante 15 min a temperatura ambiente
- 8 descartar con mucho cuidado el sobrenadante, agregar 500 μ L de etanol 70% para lavar el pellet
- 9 centrifugar a 13000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente
- 10 remover el sobrenadante y sacar el precipitado al aire. No dejar que se seque por completo porque resulta muy difícil de suspender

Fase de Análisis de Datos

Los datos fueron tabulados en una matriz de Excel 2016 y el análisis estadístico se realizó utilizando los paquetes estadísticos de Excel para determinar la estadística descriptiva.

Resultados y Discusiones

En cuanto a la caracterización sociodemográfica se encontró que de las 18 muestras tomadas el 72% corresponde a mujeres (n=13) y el 25% restante corresponde a hombres (n=5). Otra importante variable es el tipo de unidad de cuidados intensivos donde el personal de salud labora. En esta investigación se encontró que el 89% (n=16) trabajaban en unidades de cuidados intensivos para adultos y tan solo el 11% (n=2) trabajaban en UCI pediátrica.

En cuanto al cargo que ejerce cada una de estas personas encontramos que 5 son médicos generales, 1 es médico interno, 7 son auxiliares de enfermería, 4 son enfermeras jefe y 1 es médico residente (Tabla 2).

Cargo	
Médico	5
Interno	1
Aux. enfermería	7
Enf. Jefe	4
Residente	1

Tabla 2.

Los médicos generales corresponden al 28%, los médicos residentes corresponden al 6% de la población, los médicos internos corresponden al 5% de la población, las enfermeras jefe corresponden al 22% de la población y los auxiliares de enfermería corresponden al 39% de la población total siendo el personal de auxiliares de enfermería el que predomina con respecto al resto del personal (grafico 1).

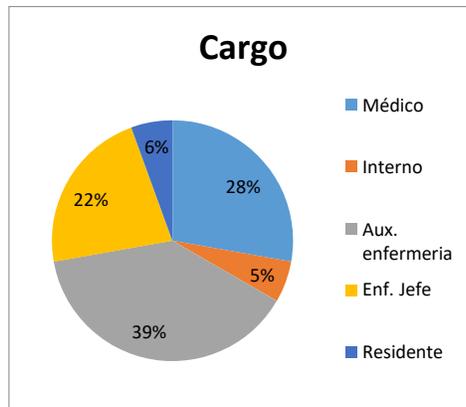


Gráfico 1.

A partir de los hallazgos encontrados podemos establecer que existe colonización nasal de *S. aureus* en 12 trabajadores de la salud correspondiente a 67% contra 6 no colonizados (33%) como se muestra en la tabla 3.

AISLAMIENTO DE S. AUREUS	
POSITIVO	12
NEGATIVO	6

Tabla 3.

Estos 12 trabajadores de la salud corresponden al 67% versus 33% correspondientes a los 6 no colonizados (grafico 2).

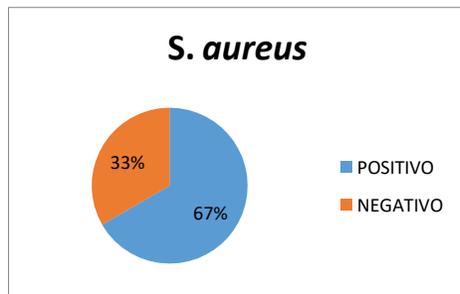


Gráfico 2.

Esto abre una problemática ya que los portadores nasales de *S. aureus* del personal de salud tienen gran relevancia en la transmisión del microorganismo en los hospitales; en muchos casos, se ha determinado que la colonización nasal de trabajadores de la salud y pacientes normalmente precede a la infección intrahospitalaria por esta bacteria.

Al revisar el aislamiento de fagos de *S. aureus* pudimos observar que de los 12 trabajadores de la salud positivos a *S. aureus* en muestras nasales 2 de estos resultaron positivos a la colonización simultánea por fagos estafilolíticos mientras 10 fueron negativos (tabla 3).

AISLAMIENTO DE FAGOS DE *S. AUREUS*

POSITIVO	2
NEGATIVO	10

Tabla 3

Las 2 muestras que resultaron positivas corresponden al 17% mientras que las 10 que resultaron negativas corresponden al 83% (grafico 2).

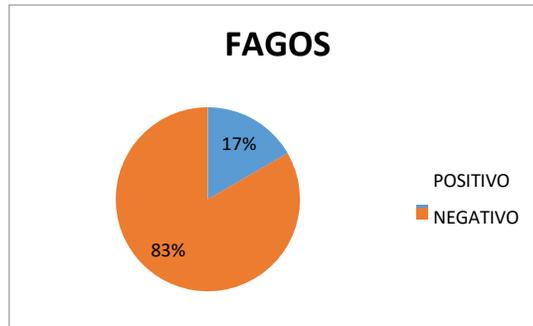


Gráfico 2.

Se hizo una relación entre la colonización de *S. aureus* y el cargo del personal de la salud, la cual demostró una mayor presencia en el personal de médicos (42%), 8% médicos internos y 8% médicos residentes con respecto al equipo de enfermería; donde enf. Jefe fue del 25% y aux. de enfermería fue del 17% (Grafico 3).

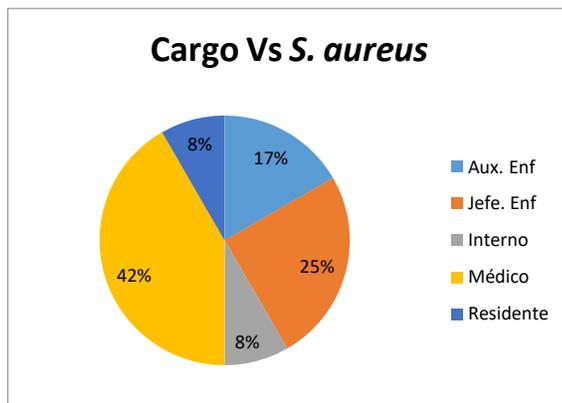


Gráfico 3.

Para todos los aislamientos positivos la presencia del gen MEC es sinónimo de resistencia a metilina por lo cual podemos clasificar como individuos portadores de SARM a 7 de las muestras positivas para este gen (Tabla 4).

MEC	
POSITIVO	7
NEGATIVO	5

Tabla 4

Las 7 muestras que resultaron positivas corresponden al 58% mientras que las 5 que resultaron negativas corresponden al 42% (grafico 3).

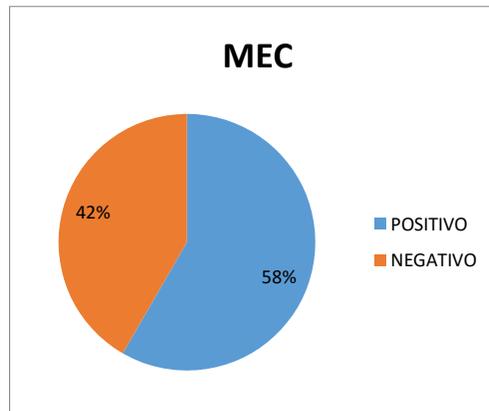


Gráfico 3.

La presencia de la Leucocidina de Panton-Valentine (PVL) está asociada a un incremento en la virulencia de diversas cepas de *S. aureus*. Al revisar el comportamiento de PVL en nuestras muestras observamos que obtuvimos solo 1 resultado positivo versus 11 negativos (tabla 5).

PVL	
POSITIVO	1
NEGATIVO	11

Tabla 5.

Esta muestra positiva para PVL corresponde al 8% contra 92% correspondientes a los 11 negativos para esta toxina citolítica (grafico 4).

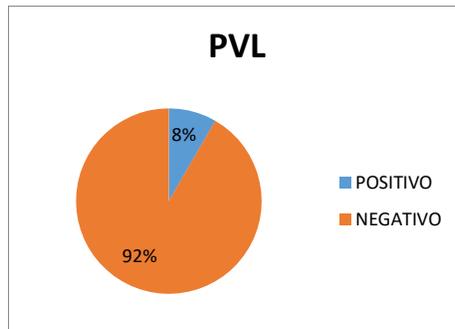


Gráfico 4.

También se observó la presencia de NUC en el 100% de la población positiva para *S. aureus* (n=12). (grafico 5).

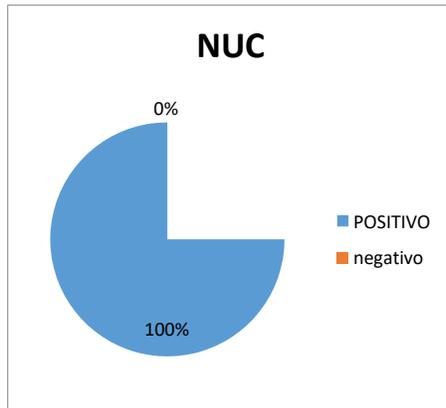


Gráfico 5.

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

En esta investigación se tuvieron en cuenta importantes temáticas dentro del trabajo intrahospitalario relacionados con las infecciones nosocomiales resaltando el papel que juega el personal de la salud en la colonización con *S. aureus* y a su vez con bacteriófagos estafilolíticos demostrando que la mayoría del personal de médicos están colonizados con dicha bacteria, a su vez el personal de enfermería tuvo un importante hallazgo pues se evidenció la presencia de bacteriófagos estafilolíticos en ellos; sabiendo que todos estos profesionales tienen permanentemente contacto con pacientes en estado de gravedad de salud exige a las diferentes instituciones prestadoras de salud a reforzar la prevención de este tipo de infecciones en las diferentes unidades de cuidados intensivos.

Recomendaciones

Las diferentes instituciones de salud deberían realizar protocolos de prevención de infecciones intrahospitalarias, con el fin de prevenir no solo la mortalidad sino el ingreso a la unidad de cuidados intensivos.

Referencias Bibliográficas

1. Segundo A., Nallelyt; Hernández B., Efrén; López V., Oliver; Torres A., Oscar. Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas Bacterianas (Fagoterapia). (2017). Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57916078003.pdf>
2. Re-establishing a place for phage therapy in western medicine, Future Microbiology, Future Medicine. (2017). [online] Futuremedicine.com. Available at: <http://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/fmb.15.28> [Accessed 18 Feb. 2017].
3. Elsevier: Article Locator [Internet]. Sciencedirect.com. 2017 [Accessed 20 February 2017]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939216000047>
4. SABER-ULA, Universidad de Los Andes - Mérida - Venezuela: Detección de portadores de Staphylococcus aureus resistente a meticilina en una unidad de alto riesgo neonatal. [Internet]. Saber.ula.ve. 2017 [cited 19 February 2017]. Available from: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/23877>
5. Frecuencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus resistente a meticilina en personal de salud de hospitales de Nicaragua [Internet]. Iris.paho.org. 2017 [cited 24 May 2017]. Available from: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/9411>
6. Nelson Santiago Vispo. Bacteriophages as natural antibiotics. [internet]. [cited 26 April 2017] Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2017.02.01.1> *Santiago Vispo*
7. Tratamiento de Infecciones de Piel y Tejidos Blandos Causadas por Staphylococcus Aureus mediante el Uso de Bacteriófagos Líticos [Internet]. Repositoriodigital.corfo.cl. 2017 [cited 24 May 2017]. Available from: <http://repositoriodigital.corfo.cl/handle/11373/9763>

8. PIMIENTA RODRIGUEZ, ELSA. Tratamiento con bacteriófagos como una alternativa antimicrobiana potencial. [Internet]. [cited 26 April 2017]. Available from: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/articulos/tratamiento-con-bacteri%C3%B3fagos-como-una-alternativa-antimicrobiana-potencial>

9. Ubukata K, Nonoguchi R, Matsushashi M, Konno M (May 1989). "Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* gene, which encodes a methicillin-resistant *S. aureus*-specific penicillin-binding protein". *Journal of Bacteriology*. 171 (5): 2882–5. doi:10.1128/jb.171.5.2882-2885.1989

10. Fuda C, Suvorov M, Shi Q, Heseck D, Lee M, Mobashery S (July 2007). "Shared functional attributes between the *mecA* gene product of *Staphylococcus sciuri* and penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *Biochemistry*. 46 (27): 8050–7. doi:10.1021/bi7004587

11. Gerard lina, Yves piémont, Florence godail-gamot, Michèle bes, Marie - Odile peter, Valerie gauduchon, François vandenesch Jerome Etienne . OUP Academic. [Online]. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/29/5/1128/337706> [Accessed 21 May 2019].

12. G. Prevost, P. Couppie , P. Prevost , S. Gayet , P. Petiau , B Cribier , H Monteil , Y. Piemont. *Microbiologyresearch.org*. [Online]. Available from: <https://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/0022261-5-42-4-237> [Accessed 21 May 2019].

13. B könig, G prévost, Y. piémon, W könig. OUP Academic. [Online]. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-abstract/171/3/607/821712> [Accessed 21 May 2019].

14. Arzu Karli, Keramettin Yanik, Muhammet S. Paksu,c Gulnar Sensoy,. Alper Aykanat, Nazik Yener, Nursen Beleta y Meltem Ceyhan Sap.org.ar . [Online]. Available from: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2016/v114n2a14.pdf> [Accessed 22 May 2019].

15. Maria Labandeira-Rey, Florence Couzon, Sandrine Boisset, Eric L. Brown, Michele Bes, Yvonne Benito, Elena M. Barbu, Vanessa Vazquez, Magnus Höök, Jerome Etienne, François Vandenesch, M. Gabriela Bowden Science. [Online]. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/315/5815/1130.full> [Accessed 22 May 2019].
16. Aa Haeruman, Azam Yasunori Tanj. SpringerLink. [Online]. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-019-09810-2> [Accessed 22 May 2019].
17. Zuzanna Kaźmierczak, Andrzej Górski, and Krystyna Dąbrowska. PubMed Central (PMC). [Online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4113783/> [Accessed 22 May 2019].
18. Ingrid Ziegler, Sara Cajander, Gunlög Rasmussen, Theresa Ennefors, Paula Mölling & Kristoffer Strålin (2019) High nuc DNA load in whole blood is associated with sepsis, mortality and immune dysregulation in *Staphylococcus aureus* bacteraemia, *Infectious Diseases*, 51:3, 216-226, DOI: 10.1080/23744235.2018.1562205
19. [Internet]. 2017 [cited 24 May 2017]. Available from: <http://www.academia.edu/download/33605446/bacteriofago.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1 – INSTRUMENTO DE CAPTURA DE DATOS

Encuesta socio-epidemiológica Colonización de *S. aureus* y Bacteriófagos Estafilolíticos en el personal médico de Unidades de cuidados intensivos de la ciudad de Barranquilla

Fecha de la toma: _____

1. Datos personales

1. Nombre: _____

2. Edad: _____

3. sexo: F M

4. Profesión: _____

2. Datos laborales

5. Nombre de la institución donde labora: _____

6. Cargo: _____

7. Tipo de unidad de Cuidado intensivo en la que labora

UCI Pediátrica UCI Adultos UCI Neonatal

8. Además de esta labora usted en alguna otra institución?

Si No

8. Duración de la jornada laboral en esta UCI en horas?

1-4 4-6 6-8 8-12 más de 12

3. Antecedentes epidemiológicos

En los últimos 6 meses:

9. Ha presentado algún tipo de infección respiratoria? Si No

10. Ha presentado algún tipo de infección cutánea? Si No

11. Ha recibido algún tipo de tratamiento con antibióticos?

Si No Cuál? _____

12. Ha tenido alguna intervención quirúrgica?

Si No Cuál? _____

13. Algún familiar cercano ha estado hospitalizado Si No

Parentesco: _____ Diagnóstico: _____

En la actualidad:

14. Está tomando algún tipo de antibiótico?

Si No Cuál? _____

15. Acostumbra a auto medicarse algún tipo de antibióticos? Si No

16. Algún familiar cercano está hospitalizado Si No

Parentesco: _____ Diagnóstico: _____

4. Medidas de vigilancia y prevención de infecciones nosocomiales

17. Conoce usted que esta institución posea un comité para la vigilancia y prevención de infecciones nosocomiales?

Si No

18. Conoce usted el programa anual de actividades de vigilancia y prevención para el control de infecciones nosocomiales de esta institución?

Si No

19. Recibe usted capacitación o divulgación continua y apropiada acerca del control de infecciones y nosocomiales de esta institución?

Si No

20. Conoce usted sus funciones en la institución para la que labora para la vigilancia y prevención en el control de infecciones nosocomiales?

Si No

21. Utiliza usted de forma adecuada los elementos de protección personal como tapabocas, guantes, gorros y batas durante su trabajo? Si No

22. Con que frecuencia lava sus manos durante la jornada laboral?

1-2 veces 2-4 veces Cada vez que me las ensucio cada vez que atiendo a un paciente

23. Con que frecuencia cambia sus guantes durante la jornada laboral?

1-2 veces 2-4 veces Cada vez que se ensucian cada vez que atiendo a un paciente

Respeto a la bata

24. Usa bata de tela? Si No

25. Con que frecuencia lava o cambia su bata por semana?

0-1 veces 1-2 veces Cada vez que se ensucian cada vez que atiendo a un paciente

26. Si labora en varias instituciones, ¿utiliza un bata exclusiva para cada institución?

Si No

ANEXO 2 – CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROYECTO: PREVALENCIA DE INFECCION CONCOMITANTE DE S. AUREUS Y STAPHYLOFAGOS EN TRABAJADORES DE UNIDADES DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL DISTRITO DE BARRANQUILLA

REF: TOMA DE MUESTRAS NASALES

Fecha: _____

Yo, _____, identificado con C.C. _____, he leído y comprendido la información relacionada con el estudio y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que se me tomará una muestra de sangre (450 mL) para obtener el suero con fines de investigación. Se me informó y comprendo que hay total ausencia de riesgos mayores asociados al estudio, y cuál será el manejo que se le dará a la muestra. Entiendo que la información obtenida en el estudio puede ser publicada o difundida con fines científicos.

Autorización para almacenamiento y uso de muestras (marque con una X):

___ Deseo que la muestra que se me tomó sea desechada una vez terminado el estudio.

Autorizo conservar de manera anónima la muestra que se me tomó y usarla en posteriores análisis si es necesario, sin necesidad de que se me tome una nueva muestra, en las siguientes circunstancias:

- En investigaciones posteriores relacionadas con Lupus Eritematoso Sistémico, y realizadas en las instituciones participantes de este estudio, siempre y cuando se mantenga mi identidad en anonimato.
SI ___ NO ___
- En investigaciones posteriores relacionadas con Lupus Eritematoso Sistémico, y realizadas en las instituciones participantes de este estudio y otras instituciones mediante acuerdos colaborativos, siempre y cuando se mantenga mi identidad en anonimato.
SI ___ NO ___

Firma del Participante

Para ser diligenciado por el investigador: He explicado al señor(a) _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; explicándole los beneficios de su participación. He contestado sus preguntas e inquietudes y aclarado toda duda existente al respecto. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigaciones con seres humanos y me apego a ella.

Investigador. Nombre

Firma

Cédula