

Universidad Nacional

Facultad Ciencias de la Salud

Escuela de Medicina Veterinaria

Prevalencia y caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en superficies de contacto humano y animal en el Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica, durante los meses de mayo y junio del año 2013

Modalidad: Tesis de Grado

Trabajo Final de Graduación

Autor: Irene Rojas Núñez

Tutor: Dr. Elías Barquero Calvo

Lectores: Dra. Lohendy Muñoz Vargas
Dr. José P. Solano Rodríguez

2014

Carta de Aprobación del Comité Asesor

Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en superficies de contacto humano y animal en el Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica, durante los meses de mayo y junio del año 2013

María A. Corrales A., MSc.

Decana

Fecha:

Laura S. Bouza M., Lic.

Subdirectora

Fecha:

Elías Barquero C., PhD.

Tutor

Fecha:

Dra. Lohendy Muñoz V., MSc.

Lectora

Fecha:

Dr. José P. Solano R., Lic.

Lector

Fecha:

Dedicatoria

Con inmenso agradecimiento y cariño, a todas aquellas personas que de muchas formas colaboraron a lo largo de todo mi proceso de formación en los estudios, la elaboración de este proyecto y en mi crecimiento como persona. Gracias por su paciencia, comprensión, apoyo, motivación, sacrificios y por las palabras de aliento en momentos de dificultad. Esta tesis la dedico a ustedes:

Dios

Papá Alexander

Mamá Patricia

Hermanos: Jorge y Silvia

Amigos cercanos: Priscilla, Alice, Giancarlo

Mi tutor Elías

Mis lectores: Lohendy y José

Armando, Norman, Kimberly , Dylcia , Xindy, Jhonnatan, Yeimy

Resumen

Evidencia reciente demuestra que los centros hospitalarios veterinarios pueden ser fuentes potenciales de infecciones zoonóticas y nosocomiales causadas por el patógeno *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Con el objetivo de analizar la situación del Hospital Veterinario de Especies Menores y Silvestres (HEMS) de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica, se realizó un estudio transversal para establecer la prevalencia y el perfil de resistencia antimicrobiana de *S. aureus* susceptible a meticilina (MSSA) y MRSA.

El aislamiento e identificación inicial de las cepas de MSSA y MRSA se llevó a cabo mediante procedimientos bacteriológicos estándares. La confirmación de las cepas de MRSA se llevó a cabo mediante la detección del gen *mecA* por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. En estas cepas se realizó además, la caracterización molecular del tipo de casete cromosómico estafilocócico (SCCmec).

Respectivamente, *S. aureus* se detectó en el 40.19% (41/102) de las superficies, mientras que los MRSA se detectaron en el 29.41% (30/102). El 53,33% (16/30) de los MRSA aislados se clasificaron como casete tipo I (origen hospitalario), el 33.33% (10/30) como casete tipo IV (origen comunitario) y en 13% (4/30) de las cepas no fue posible identificar el tipo de casete.

En relación con el origen de las muestras (superficie de contacto animal o humano), no se observaron diferencias entre la prevalencia de MSSA o MRSA. Por el contrario, las superficies de contacto mixto (superficie de contacto animal y humano) tuvieron mayor grado de contaminación. Además, se observaron niveles elevados de resistencia a múltiples familias de antibióticos en el 82.92% (34/41) de los *S. aureus* aislados.

Los resultados de este estudio determinan por primera vez: (i) la prevalencia de MSSA y MRSA en un hospital veterinario en Costa Rica, (ii) el perfil de resistencia a los antibióticos y (iii) caracteriza los casetes de SCCmec presentes en las cepas MRSA. Además, para diseñar y ejecutar un programa de control de infecciones, se identificaron las principales superficies de riesgo para su control y desinfección.

Abstract

Recent evidence shows that the veterinary hospitals may be potential sources of zoonotic and nosocomial infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). In order to analyze the situation of the Hospital Veterinario de Especies Menores y Silvestres (HEMS) of the Veterinary Medicine School of the Universidad Nacional de Costa Rica, a cross-sectional study was conducted to determine the prevalence of methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) and MRSA, and the antimicrobial resistance profile of the isolated strains.

Isolation and initial identification of MRSA and MSSA strains were performed by standard bacteriological procedures. MRSA confirmation was carried out by detecting *mecA* gene by PCR. Additionally, the molecular characterization of the staphylococcal chromosomal cassette type (SCCmec) was performed.

Accordingly, *S. aureus* was detected in 40.19% (41/102) of the surfaces and MRSA in 29.41% (30/102). Moreover, 53.33% (16/30) of MRSA isolates were classified as type I cassette (hospital origin), 33.33% (10/30) as type IV cassette (communitarian origin) and in 13% strains (4/30) it was not possible to identify the cassette type.

Regarding the origin of the sample (human or animal contact), no differences in the prevalence of MRSA and MSSA were observed. By contrast, mixed contact surfaces (human and animal contact) had higher degree of contamination. Furthermore, high levels of resistance to multiple antibiotic families were observed in 82.92% (34/41) of *S. aureus* isolates.

These results report for the first time: (i) the prevalence of MSSA and MRSA in a veterinary hospital in Costa Rica, (ii) the profile of antibiotic resistance and (iii) characterizes the SCCmec cassettes present in the MRSA strains. In addition, in order to design and implement an infection control program, we identified the main risk areas to disinfect and control.

Tabla de contenido

Carta de aprobación del comité asesor.....	1
Dedicatoria.....	2
Resumen.....	3
Abstract.....	4
Índice general.....	5
Índice de cuadros.....	8
Índice de figuras.....	9
Abreviaturas.....	10
1 Introducción.....	12
1.1 Antecedentes.....	12
1.2 Justificación.....	16
1.2.1 Importancia.....	17
1.3 Objetivos.....	19
1.3.1 Objetivo general.....	19
1.3.2 Objetivos específicos.....	19
2 Metodología.....	20
2.1 Materiales y métodos.....	20
2.1.1 Identificación de áreas de muestreo.....	20
2.1.2 Muestreo.....	20
2.1.3 Cepas control.....	21
2.1.4 Cultivo.....	21
2.1.5 Aislamiento e identificación de <i>S. aureus</i>	21

2.1.6	Determinación de la susceptibilidad a antibióticos y MRSA.....	22
2.1.7	Confirmación genética de la resistencia a la meticilina.....	22
2.1.7.1	Extracción del ADN.....	23
2.1.7.2	Amplificación del ADN.....	24
2.1.7.3	Detección e interpretación de los resultados.....	24
2.1.8	Tipificación del casete cromosómico estafilocócico que contiene al gen <i>mecA</i> SCCmec).....	25
2.1.9	Desarrollo de un manual de prácticas de higiene para el control y prevención de enfermedades nosocomiales.....	26
3	Resultados.....	27
3.1	Aislamiento de <i>S. aureus</i>	27
3.2	Determinación del perfil de resistencia antimicrobiana.....	28
3.3	Confirmación de <i>S. aureus</i> resistente a meticilina (MRSA).....	34
3.4	Caracterización de tipos de casete SCCmec.....	36
3.5	Dinámica de superficies contaminadas por MSSA y por MRSA.....	38
4	Discusión.....	39
5	Conclusiones.....	45
6	Recomendaciones.....	46
7	Referencias bibliográficas.....	47
Anexo 1.	Localizaciones, superficies y tipo de técnica de muestreo empleado para las muestras colectadas en el HEMS.....	55
Anexo 2.	Mapeo de las superficies muestreadas en el HEMS.....	59
Anexo 3.	Resumen de resultados para las cepas <i>S. aureus</i> aislados del HEMS.....	62
Anexo 4.	Mapeo de los resultados de muestreo por superficie obtenidos en el HEMS.....	65

Anexo 5. Manual de prevención y control de enfermedades
nosocomiales para el HEMS.....71

Índice de cuadros

Cuadro 1. Secuencias de los iniciadores que amplifican para el gen <i>mecA</i>	23
Cuadro 2. Secuencias de los iniciadores que amplifican para el ARN ribosomal 16S.....	23
Cuadro 3. Secuencias de los iniciadores que amplifican para cada uno de los ocho locus que integran el SCCmec y tipo de SCCmec que identifican.....	25
Cuadro 4. Interpretación de bandas obtenidas mediante PCR para la determinación de tipos de SCCmec.....	26

Índice de figuras

Figura 1. Pruebas de tamizaje y confirmación fenotípicas para <i>S. aureus</i>	27
Figura 2. Prevalencia de <i>S. aureus</i> aisladas a partir de 102 muestras colectadas de superficies de contacto humano y animal del HEMS.....	28
Figura 3. Pruebas de tamizaje y confirmación para determinar la presencia de MRSA.....	29
Figura 4. Prevalencia de MRSA aisladas a partir de 102 muestras colectadas de superficies de contacto humano y animal del HEMS.....	30
Figura 5. Prevalencia de MRSA del total de cepas <i>S. aureus</i> en superficies de contacto humano y animal del HEMS.....	31
Figura 6. Prevalencia de <i>S. aureus</i> y MRSA según el tipo de superficie muestreada.....	31
Figura 7. Perfil de resistencia a antibióticos (en porcentaje) de las 41 cepas de <i>S. aureus</i> aisladas de superficies de contacto humano y animal del HEMS.....	32
Figura 8. Perfil comparativo de resistencia a antibióticos (en porcentaje) por familia de antibióticos de las 11 cepas de MSSA y de las 30 cepas de MRSA aisladas de superficies de contacto humano y animal del HEMS.....	33
Figura 9. Detección del gen <i>mecA</i> mediante la técnica PCR.....	34
Figura 10. Detección del gen 16S mediante la técnica PCR.....	35
Figura 11. PCR para la detección del locus D región DCS para la identificación de los casetes I y IV.....	36
Figura. 12. Resistencia antibiótica de las cepas de MRSA aisladas según el tipo de casete.....	37

Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico

AK: amikacina

AMC: amoxicilina con ácido clavulánico

AMP: ampicilina

ATCC: American Type Culture Collection

C: cloranfenicol

CA-MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistentes a Meticilina Adquirida en la Comunidad

CCR: recombinasas de casete cromosómico

Cip: ciprofloxacina

CN: gentamicina

CNH = Control negativo de hisopo

CNTE = Control negativo de toalla electrostática

CPH = Control positivo de hisopo

CPTe = Control positivo de toalla electrostática

CTS = Caldo tripticasa de soya

DA: clindamicina

DC: detección de cefoxitina

DO: doxiciclina

E: eritomicina

ENR: enrofloxacin

HA-MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistentes a Meticilina Adquirida en el Hospital

HEMS = Hospital de Especies Menores y Silvestres

KF: cefalotina

L: linezolid

LF: levofloxacin

MC: minociclina

MO: moxifloxacin

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a metilina

MSSA: *Staphylococcus aureus* susceptible a metilina

NaCl : cloruro de sodio

NI: nitrofurantoína

Ox: oxacilina

PBP: Proteínas de Unión a Penicilinas

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

QP: quinupristina

R: rifampicina

rpm: revoluciones por minuto

SCCmec: Casete Cromosómico Estafilocócico mec

SXT: trimetoprim con sulfametoxazol

T: teicoplanina

TE: tetraciclina

µg: microgramos

µL: microlitros

V: vancomicina

1. Introducción

1.1 Antecedentes

Los estafilococos son bacterias Gram positivas que pertenecen a la familia Micrococcaceae, tienen forma de cocos, miden aproximadamente un μm de diámetro y al microscopio tienden a disponerse en grupos; semejando racimos de uvas. Muchas especies de *Staphylococcus* son comensales de la piel y de las membranas mucosas; sin embargo, algunas pueden actuar como patógenos oportunistas causando infecciones piogénicas, entre estas, *Staphylococcus aureus* (Quinn et al., 1994).

Aproximadamente 25% de las personas portan de forma asintomática *S. aureus*. En condiciones de pérdida de la integridad de la barrera cutánea o de inmunosupresión, *S. aureus* deja de comportarse como un comensal y pasa a ser el agente etiológico más común de las infecciones cutáneas en seres humanos (Zavadinack et al., 2001; Heymann, 2005; Beserra et al., 2012). *S. aureus* es el agente más comúnmente aislado de las infecciones piogénicas de piel y tejidos blandos, además, es el microorganismo más frecuentemente aislado de infecciones como piodermas y abscesos subcutáneos, adquiridas tanto en los hospitales como en la comunidad (Zavadinack et al., 2001; Cohen y Kurzrock, 2004; Forcade et al., 2011). Además es causante de infecciones como furunculosis, abscesos en piel y tejido subcutáneo, impétigo, celulitis, lesiones necróticas de mucosa y piel. Debido a su alta virulencia, esta bacteria puede además, comprometer el organismo y ocasionar infecciones sistémicas como: septicemia, endocarditis, choque tóxico, osteomielitis, mediastinitis, infecciones del tracto urinario y neumonía; independientemente de si la infección fue adquirida en un hospital o en la comunidad (Gerard et al., 1999; Zavadinack et al., 2001).

La frecuencia de las infecciones por estafilococos, no sólo ha aumentado de forma regular en los últimos años, sino que el tratamiento de estas infecciones se ha hecho cada vez más difícil por la aparición de cepas resistentes a varios tipos de fármacos (Lowy, 1998; Cuevas et al., 2004).

En los estafilococos se han descrito muchos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, el primer mecanismo de resistencia descrito en *S. aureus* fue la resistencia

a la penicilina, la cual se debe a la producción de β -lactamasas, que son enzimas que hidrolizan las penicilinas. Con el objetivo de solucionar este problema terapéutico, se desarrollaron penicilinas resistentes a las β -lactamasas, por ejemplo la meticilina. No obstante, ya en 1961 en el Reino Unido, se reportó por primera vez la presencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) (Kuehnert et al., 2005; Yinduo, 2007; Beserra et al., 2012).

Actualmente, se conocen tres mecanismos por los cuales *S. aureus* adquiere resistencia a la meticilina: i) hiperproducción de β -lactamasas, ii) modificación de las proteínas normales ligadoras de penicilina y iii) presencia de una proteína ligadora de penicilina adquirida, PBP2a, la mayoría de los aislamientos clínicos presentan el último mecanismo (Schmitz, 2003; Yinduo, 2007).

Las cepas de *S. aureus* tienen cuatro tipos de PBPs en su membrana citoplasmática, estas participan en la reticulación de los peptidoglicanos de la pared celular de la bacteria, estas PBPs normales tienen una alta afinidad por agentes β -lactámicos. Cuando los agentes β -lactámicos se unen a las PBPs, las PBPs no pueden realizar su función en el ensamblaje de la pared celular y la bacteria muere (Yinduo, 2007).

PBP2a no es parte del set de PBPs normales de *S. aureus*, es una proteína adquirida, única e inducible, que es producida solamente por estafilococos resistentes a meticilina, tiene baja afinidad por antibióticos β -lactámicos, por esta razón es capaz de sustituir las funciones biosintéticas de las PBPs normales en presencia de agentes β -lactámicos y de esta forma previenen la lisis celular (Yinduo, 2007).

Los aislamientos resistentes debido a la presencia de PBP2a, son resistentes a todos los agentes β -lactámicos disponibles, incluyendo penicilinas, cefalosporinas, combinaciones inhibitorias de β -lactamasa, monobactamas y carbapenemos.

La PBP2a está codificado en el gen *mecA*, este gen está ausente en las cepas susceptibles a meticilina, y su origen no ha sido definido aún. La primera secuenciación de *mecA* se hizo en 1987, ahora se sabe que este gen es transportado por un elemento genético móvil, el SCCmec (Schmitz, 2003; Yinduo, 2007). Es importante mencionar que la resistencia a la meticilina, también puede detectarse en dos grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* que no poseen el gen *mecA*; estas son: *S. aureus* con resistencia al límite (BORSA) y de los *S. aureus* con resistencia modificada (MODSA) (Sosa, 2011).

El gen *mecA* es un segmento de ADN de aproximadamente dos Kb que posee dos elementos reguladores (*mecR1* y *mecI*) que controlan la transcripción del gen. El gen *mecA* se encuentra ubicado en el elemento genético móvil denominado casete cromosómico estafilocócico (SCCmec). El SCCmec está compuesto por: gen *mec*, elemento de recombinasas de casete cromosómico, CCR responsable de la movilidad del elemento y por otros elementos genéticos como plásmidos, transposones y secuencias de inserción. Según la presencia o ausencia de estos elementos se han caracterizado los ocho diferentes tipos de casete (I, IA, II, III, IIIA, IIIB, IV, IVA) (Matsubishi et al., 1986; Grundmann, et al., 2006; Jiménez, 2009).

La adquisición de resistencia a meticilina sucede por medio de la transferencia horizontal de genes, de esta manera las bacterias adquieren ADN exógeno, dándose así la inserción de SCCmec en el ADN cromosómico de una cepa sensible a meticilina (Sosa, 2011).

Se han identificado hasta hoy ocho tipos diferentes de SCCmec, donde se han clasificado como cepas MRSA de tipo hospitalario aquellas que presentan los casetes tipo I, IA, II, IIIA, IIIB; y cepas MRSA de tipo adquirido en comunidad cuando presentan los casetes IV y IVA. Es relevante mencionar que el SCCmec, potencialmente y en forma variable, puede transportar genes que proveen resistencia a otros antibióticos como aminoglucósidos, clindamicina, eritromicina, rifampicina, tetraciclina y trimetoprim sulfá (Fowler et al., 2003; Lowy, 2003; Tibavizco et al., 2007).

Hasta hace algunos años, la vancomicina era el único agente antimicrobiano activo contra todos los estafilococos, por lo que la vancomicina ha sido el agente de elección para el tratamiento de infecciones causadas por MRSA; sin embargo, desde 1997 se reportó por primera vez, cepas con susceptibilidad intermedia a la vancomicina y cuatro cepas resistentes a vancomicina en Estados Unidos (Azimian et al., 2012).

Recientemente, se aisló además una cepa de *S. aureus* vancomicina resistente del tracto respiratorio de un paciente hospitalizado en Irán (Yinduo, 2007; Kobayashi et al., 2012). Desde el año 2002 se han reportado ya doce casos de infecciones por *S. aureus* totalmente resistentes a la vancomicina adquiridas a nivel intrahospitalario en los Estados Unidos, lo cual disminuye drásticamente las alternativas terapéuticas (Nodarse, 2002; Kos et al., 2012).

MRSA es actualmente un problema importante en hospitales humanos y veterinarios (O'Mahony et al., 2005; Leonard et al., 2006; Hoet et al., 2011). Los MRSA se asocian con enfermedad alrededor de todo el mundo, siendo importante su asociación con infecciones adquiridas en hospitales y en las comunidades (Kuehnert et al., 2005; Yinduo, 2007). Por ejemplo, se ha descrito que en Estados Unidos de todas las infecciones asociadas a *S. aureus*, las cuales representan el 25.8% de las infecciones, 59.5% son causadas por MRSA (Schmitz, 2003; Yinduo, 2007; Centers for Disease Control and Prevention, 2011). La prevalencia de la condición portadora de MRSA es más alta en ciertos grupos demográficos, como los trabajadores de centros de salud y recientemente el personal veterinario (Heller et al., 2009; Weese, 2010).

Los estafilococos pueden propagarse en el ambiente y sobrevivir por tiempos prolongados sin perder su virulencia, por esta razón, es posible que el ambiente juegue un papel importante en la aparición de brotes. Existe evidencia que sugiere que tres de cada 26 pacientes que adquieren MRSA en unidades de cuidado intensivo, lo hacen desde el reservorio ambiental. La contaminación ambiental por MRSA se establece de forma rápida luego de la hospitalización de un paciente infectado o colonizado, los pacientes y el personal médico son fuentes importantes para la propagación de MRSA, la carga ambiental puede también contribuir significativamente a su propagación (O'Mahony et al., 2005; Cimolai, 2008).

Por su parte, el potencial de los animales como portadores de MRSA ha despertado un gran interés, principalmente, porque las instalaciones de manejo animal pueden contaminarse de manera similar a las de humanos (Cimolai, 2008). En 1972 se reportó el primer aislamiento de MRSA en animales a partir de leche de vacas con mastitis. Ocasionalmente se han reportado casos de infecciones por MRSA en animales domésticos como perros, gatos, ganado, ovejas, pollos, conejos y caballos, pero en los últimos años, el número de casos parece estar incrementando (O'Mahony et al., 2005; Loeffler et al., 2005; Leonard et al., 2006).

Los animales como perros, caballos y otros pueden ser colonizados con MRSA al estar en contacto cercano con humanos portadores de MRSA. Cuando se falla en la detección y tratamiento de mascotas colonizadas se puede observar infección y colonización recurrente en humanos (Van Duijkeren et al., 2004). En el año 2003 en Irlanda, se reportó el caso de un perro con MRSA, siendo sus propietarios la fuente de

infección para el perro, luego del tratamiento con vancomicina para los propietarios, se dio la recolonización de los propietarios desde el perro infectado que no había sido tratado (Leonard et al., 2006).

1.2 Justificación

Los reportes de infecciones por MRSA en animales eran infrecuentes en el pasado, pero con el paso del tiempo han ido en aumento. Se han reportado brotes en animales en hospitales de enseñanza veterinaria, que posiblemente involucran transmisión humano a animal; la mayoría de los casos han sido asociados con procedimientos quirúrgicos e inyecciones (Leonard et al., 2006).

La mayoría de las infecciones por MRSA en mascotas son en piel y en tejidos blandos, las más comunes son infecciones en heridas, infecciones de los sitios de cirugía, otitis e infecciones del tracto urinario (Weese, 2010).

Estudios realizados en Reino Unido, Estados Unidos y Canadá evidencian el potencial de animales domésticos de comportarse como fuente de contaminación y reservorio de MRSA para humanos, y enfatizan en el riesgo zoonótico que esto representa (Seguin et al., 1999; Baptiste et al., 2005; Weese et al., 2006).

Un estudio realizado por Hoet y colaboradores (2011), determinó una prevalencia de MRSA del 12% en superficies del Hospital Veterinario de Enseñanza de la Universidad Estatal de Ohio. En otro estudio, realizado por Anette Loeffler y colaboradores (2005), en un hospital de mascotas del Reino Unido, MRSA se aisló en el 17.9% del personal veterinario, en 9% de los pacientes caninos y en el 10% de las superficies muestreadas. Se han documentado además, varios casos de infección por MRSA en el que los dueños y sus perros están colonizados por cepas genéticamente relacionadas (Loeffler et al., 2005; Weese, 2010).

MRSA está presente en perros y gatos sanos en un porcentaje bajo, según varios estudios con diferentes poblaciones y distintos métodos, la prevalencia reportada para estos animales está en un rango de 0-4%. La colonización por MRSA en las especies canina y felina parece ser transitoria, dado que la mayoría elimina el patógeno de forma natural en unas pocas semanas (Weese, 2010). A pesar de que MRSA no es considerado un organismo

comensal típico de los perros, se ha observado que en los perros hospitalizados la prevalencia es mayor ($\leq 9.6\%$) (Heller et al., 2009).

La colonización de mascotas es preocupante por dos razones, la primera es que pueden representar una fuente para la infección en seres humanos y la segunda, es que las mascotas colonizadas tienen un riesgo mayor de desarrollar infecciones por MRSA (Vengust et al., 2006; Weese, 2010).

Debido a los constantes cambios en la epidemiología y patrones de resistencia de *S. aureus*, su vigilancia es importante (Beserra et al., 2012). El seguimiento permanente del perfil de susceptibilidad de este microorganismo en el ambiente hospitalario es imperativo dado que, es en los hospitales donde se presenta el mayor problema debido al descuido de las técnicas asépticas, también es necesario conocer el perfil de las infecciones comunitarias. Además, el uso indiscriminado de los antibióticos puede modificar el comportamiento de este microorganismo (Zavadinack et al., 2001; Sosa, 2011).

Actualmente, MRSA es la principal causa de infecciones nosocomiales en América Latina, se sabe que para el año 2004 ya existía una prevalencia de MRSA de 12% en Honduras, 20% en Nicaragua, 57% en Colombia, 58% en Costa Rica y 64% en Guatemala (Pan American Health Organization, 2004; Guzmán et al., 2009).

El abordaje de la prevalencia de resistencia a meticilina y sus análogos (oxacilina) es importante, debido a que las infecciones causadas por *S. aureus* son causa de problemas serios de salud, generándose cepas cada vez más virulentas y multirresistentes (Sosa, 2011).

Hasta el momento, no se han realizado estudios para determinar la prevalencia de MRSA en el HEMS de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional u otra clínica veterinaria en el país.

1.2.1 Importancia

Además de que en la actualidad, se presta mucha atención al posible rol del medio ambiente como un potencial reservorio de MRSA, se ha confirmado la presencia de MRSA en varias superficies ambientales en centros de atención médico veterinaria. Asimismo, se ha demostrado la subsecuente infección por MRSA en pacientes por el contacto primario o secundario con el ambiente contaminado con MRSA (Heller et al., 2009).

Ciertas superficies como manijas de puertas, teclados de computadoras, los alrededores de las camas de los pacientes y los estetoscopios son considerados fuentes de infección por MRSA (Oie et al., 2002; Heller et al., 2009).

La investigación de los aspectos epidemiológicos de las enfermedades infecciosas emergentes, pueden proveer información útil sobre las propiedades de los organismos, sobre las poblaciones que afectan y los riesgos que estos padecen (Heller et al., 2009). La transmisión de MRSA entre animales y humanos es de importancia para la salud pública y para la medicina veterinaria. El personal veterinario debe estar informado de la posibilidad de infecciones por MRSA, y de su rol en la transmisión de MRSA hacia los animales. Los procedimientos de control de la infección por MRSA son requeridos para minimizar la transmisión de este organismo (O'Mahony et al., 2005).

Si MRSA es aislado de un animal, es responsabilidad del médico veterinario advertir a los propietarios del posible riesgo de transmisión de animales a humanos, especialmente, en casos en que los propietarios se encuentren bajo alguna condición de inmunosupresión (O'Mahony et al., 2005; Leonard et al., 2006).

Para evitar la transmisión de agentes patógenos resistentes a animales domésticos, y evitar las posibles complicaciones con los tratamientos antibióticos, los profesionales veterinarios deben aplicar medidas efectivas de control de forma consistente (Leonard et al., 2006).

Por los motivos antes expuestos, este trabajo de investigación pretende determinar la prevalencia de MRSA en superficies de contacto humano y animal del HEMS de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, a través de un estudio de tipo transversal, esto con el fin de justificar y desarrollar un manual de prácticas de higiene para el control y prevención de infecciones por MRSA tanto en animales de compañía como en personas.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de MRSA en superficies de contacto humano y animal en el HEMS de la Universidad Nacional de Costa Rica, con el fin de establecer medidas de control y prevención de infecciones nosocomiales por MRSA en el HEMS.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de cepas de *S. aureus* a partir de su aislamiento en las superficies seleccionadas en el HEMS.
- Determinar el perfil de sensibilidad a los antibióticos en las cepas de *S. aureus* aisladas.
- Confirmar la presencia del gen *mecA* en las cepas resistentes a oxacilina.
- Tipificar el casete SCCmec presente en las cepas de MRSA.
- Identificar las áreas del HEMS que representan fuentes de contaminación por MRSA tanto para animales como para personas.
- Elaborar un manual de prácticas de higiene para el control y prevención de infecciones provocadas por MRSA en animales de compañía y personas para el HEMS.

2. Metodología

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Identificación de áreas de muestreo

Se seleccionaron superficies que estuviesen en contacto con múltiples animales y/o personas. Esto se determinó por medio de la observación de las actividades dentro del hospital y se seleccionaron un total de 51 superficies (Anexo 1).

2.1.2 Muestreo

Las superficies se muestrearon en dos ocasiones, con un intervalo de un mes y medio entre cada muestreo. El procedimiento de muestreo se realizó de acuerdo a lo publicado previamente por Hoet y colaboradores (2011). Dependiendo del sitio y del tipo de superficie, se utilizaron hisopos de algodón estériles (superficies pequeñas como encendedores de luces y grifos) o toallas electrostáticas (Swiffer®) (superficies grandes como mesas de examinación, puertas y jaulas de animales). Las áreas y superficies a muestrear, así como el tipo de muestreo (hisopos o toallas electrostáticas), se especifican en el Anexo 1.

Las muestras con hisopos se tomaron humedeciendo previamente el algodón con caldo tripticasa de soya (CTS) y rozando posteriormente la superficie. En el caso de toallas electrostáticas (Swiffer®) se utilizó el lado de la toalla que tiene propiedades electroestáticas para rozar la superficie.

Se incluyó un control negativo (muestra sin pasar por las superficies) y un control positivo (muestra inoculada con una cepa control de *S. aureus*), tanto para los hisopos como para las toallas electroestáticas (Swiffer®). Se aseguró que la caja de toallas electroestáticas (Swiffer®) estuviera perfectamente sellada antes del inicio.

Para asegurar la asepsia del muestreo, el muestreo se realizó en parejas, las cuales tenían gabachas desechables nuevas, guantes de látex y manos previamente lavadas y desinfectadas con alcohol de 70%. La encargada de tomar y manipular las muestras utilizó dos pares de guantes (el segundo par estéril).

El equipo de trabajo de muestreo fue sometido a un hisopado de garganta y fosas nasales, para determinar si eran o no portadores de *S. aureus*, en caso de que alguno fuese portador, debía utilizar cubre bocas durante todo el proceso para evitar la contaminación de las muestras.

2.1.3 Cepas control

Las cepas control que se utilizaron para el aislamiento, la identificación, la determinación de los perfiles de resistencia y la caracterización molecular de los aislamientos fueron las cepas silvestres: ATCC 43300 (*S. aureus* resistente a meticilina) y ATCC 25923 (*S. aureus* sensible a meticilina).

2.1.4 Cultivo

Inmediatamente posterior a la recolección de las muestras, tanto los hisopos como las toallas electrostáticas se incubaron en caldo tripticasa soya (10 mL los hisopos y 60 mL las toallas) con 2.5% de NaCl en atmósfera aerobia a 35°C por 24 horas, según Weese y colaboradores (2004). Pasadas las 24 horas de incubación, se procedió al aislamiento e identificación de colonias compatibles con *S. aureus*.

2.1.5 Aislamiento e identificación de *S. aureus*

Las muestras previamente cultivadas en CTS, se inocularon en agar manitol sal y se incubaron por 24-48 horas a 35°C. Las colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo, se eligieron como sospechosas de *S. aureus*. Tres colonias con reacción típica a *S. aureus* de cada agar manitol sal se seleccionaron para ser rayadas en agar sangre con 5% de sangre de oveja y se incubaron por 24 horas a 35°C para su posterior análisis.

Las colonias se identificaron de acuerdo con las siguientes características: morfología de la colonia (lisas, enteras, consistencia cremosa, tamaño (grandes), pigmentación (amarillentas), patrón de hemólisis (tipo beta), capacidad de fermentación de manitol (positiva), tinción Gram (positiva), reacción a catalasa (positiva), reacción ADNasa

(positiva) y reacción de aglutinación de látex (StaphaurexTM Plus) (positiva), de acuerdo con procedimientos estándar previamente descritos (Quinn et al., 1994; Hoet et al., 2011). Todas las muestras con un perfil compatible con *S. aureus* (según el tamizaje antes descrito) fueron sometidas a una segunda verificación bioquímica mediante el identificador automatizado VITEK Compact 2 (Biomèriux®) utilizando la tarjeta GP.

2.1.6 Determinación de la susceptibilidad a los antibióticos y MRSA

La susceptibilidad antibiótica se determinó mediante el equipo VITEK Compact 2 con la tarjeta AST-P577 que incluyó los siguientes antibióticos: cefoxitina, oxacilina, gentamicina, ciprofloxacina, levofloxacino, moxifloxacino, eritromicina, clindamicina, quinupristina, linezolid, teicoplanina, vancomicina, minociclina, tetraciclina, nitrofurantoína, rifampicina y trimetoprim con sulfametoxazol.

Adicionalmente, se determinó el perfil de susceptibilidad a: amikacina, ampicilina, amoxicilina con ácido clavulánico, cefalotina, cloranfenicol, doxiciclina, enrofloxacina, por el método de difusión en disco Kirby Bauer (Rodríguez et al., 2005).

Las cepas resistentes a oxacilina, fueron cultivadas además en agar manitol sal con oxacilina (2µg/ml) para confirmar su resistencia a este antibiótico. Las bacterias que presentaron resistencia a este medio fueron consideradas como cepas resistentes a meticilina (CLSI, 2009). La resistencia a tres o más antibióticos se definió como resistencia a múltiples drogas (Hoet et al., 2011).

2.1.7 Confirmación genética de la resistencia a la meticilina

La confirmación de la resistencia a meticilina se llevó a cabo en todas cepas de *S. aureus* con perfil de resistencia a la oxacilina, mediante una prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa para la detección del gen *mecA*. Para esto se utilizó el procedimiento previamente descrito por Borraz y colaboradores (2006). La técnica de elección para la detección del gen *mecA* es la amplificación mediante PCR.

Se utilizaron dos iniciadores para la detección del gen *mecA* (*mecA* P4 y *mecA* P7) (Cuadro 1) y otros dos para detectar el gen de ARN ribosomal 16S (27F y NR) como

control interno para corroborar la presencia de ADN bacteriano en la reacción de amplificación (Cuadro 2).

Cuadro 1. Secuencias de los iniciadores que amplifican para el gen *mecA*.

Iniciador	Secuencia	Tamaño amplificado
<i>mecA</i> P4	5'TCC AGA TTA CAA CTT CAC 3'	162 pb
<i>mecA</i> P7	5'CCA CTT CAT ATC TTG TAA 3'	

Cuadro 2. Secuencias de los iniciadores que amplifican para el ARN ribosomal 16S

Iniciador	Secuencia	Tamaño amplificado
27F	5'AGA GTT TGA TCM TGG C TC 3'	1200 pb
NR	5'ACC TTG TTA CGA CTT 3'	

La técnica molecular se compone de tres partes: extracción de ADN, amplificación de ADN e interpretación de los resultados.

2.1.7.1 Extracción del ADN

Para la extracción de ADN se partió de un cultivo fresco (crecimiento de 24 horas en agar sangre) de las cepas aisladas de *S. aureus*. Se utilizó el sistema de extracción DNeasy Blood & Tissue Kit (50) de Qiagen®. Brevemente, las colonias se resuspendieron en cinco mL de agua destilada a una concentración de McFarland 1. Se tomaron 1000 µL de suspensión bacteriana y se depositaron en un vial de 1.5 mL. Todos los viales se centrifugaron a 7500 rpm (revoluciones por minuto) por 10 minutos, seguidamente se extrajo el sobrenadante y se desechó. Al sedimento restante en los viales se le agregó 180 µL de solución de lisis y lisozima a concentración de 50 µg/ml, esta suspensión se incubó por 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, se agregaron 200 µL de la solución de lisis AL y 25 µL de Proteinasa K, esta nueva suspensión se incubó 30 minutos a 56 °C. Una vez incubado, se agregaron 200 µL de etanol al 96 % y se mezcló vigorosamente cada vial.

Finalmente, se realizó la purificación del ADN mediante columnas de purificación siguiendo las indicaciones del fabricante.

2.1.7. 2 Amplificación del ADN

La reacción de amplificación del ADN se llevó a cabo con un equipo termociclador TECHNE TC-512. En cada reacción se utilizaron los siguientes componentes: tampón de PCR DreamTaqPCR MM (Thermo Scientific) a una concentración de 2x (12.5 μ L por cada reacción), agua para PCR (9.5 μ L por cada reacción), iniciadores para los genes *mecA* (*mecA* P4 y *mecA* P7) a una concentración de 0.5 μ M y los iniciadores del control interno de amplificación (27F y NR) a una concentración de 0.5 μ M. Se utilizó un μ L de cada iniciador por muestra y se agregó agua hasta completar un volumen final de 24 μ L por cada reacción. A cada reacción se le agregó un μ L de ADN de cada muestra producto de la extracción.

Las condiciones para la amplificación fueron las siguientes: cinco minutos para la desnaturalización inicial a 94°C, seguido de 30 ciclos de amplificación (30 segundos para desnaturalizar a 94°C, 30 segundos para la hibridación a 56 ° C y 1 minuto y 30 segundos a 72°C para el proceso de extensión), y una última fase de extensión de 10 minutos a 72°C y posterior enfriamiento hasta 12 °C.

2.1.7. 3 Detección e interpretación de los resultados

Los fragmentos de ADN amplificados fueron separados mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1% en un buffer TBE al 0.5x (890 mM Tris, 890 mM Ácido bórico, 20 mM EDTA pH ocho) con GelRed Nucleic Acid Stain 10 000x en agua (Biotium) para su tinción, a 120 voltios durante 50 minutos. El gel se cargó con ocho μ L de producto amplificado con dos μ L solución de montaje: Orange ADN Loading Dye 6x (Thermo Scientific) y con cuatro μ L del marcador de peso molecular, O'Gene RulerDNA Ladder Mix (Thermo Scientific). La visualización de los amplificados se realizó con el equipo de luz ultravioleta: Benchtop 3UVTM TransilluminatorUVP.

Las bandas esperadas para el gen *mecA* son bandas de 162 pares de bases, mientras que las bandas esperadas para ARNribosomal 16S son de 1200 pares de bases.

2.1.8 Tipificación del casete cromosómico estafilocócico que contiene al gen *mecA* (*SCCmec*)

La identificación de los tipos de *SCCmec* se realizó mediante la amplificación individual de los loci más característicos de cada uno de los tipos de *SCCmec* según se describió previamente (Oliveira y Lencastre, 2002; Borraz, 2006). Como control interno de la reacción de amplificación se utilizó el gen *mecA* utilizando la cepa *S. aureus* resistente a meticilina: ATCC BAA-144 (Cuadro 3) (Oliveira y Lencastre, 2002; Borraz, 2006). Como control negativo se utilizó la cepa *S. aureus* sensible a meticilina: ATCC 25923.

Cuadro 3. Secuencias de los iniciadores que amplifican para cada uno de los ocho locus que integran el *SCCmec* y tipo de *SCCmec* que identifican.

Locu s	Iniciador	Secuencia	Tamaño amplificad o	Tipo de <i>SCCmec</i>
A	CIF2 F2	5'TTC GAGA TTG CTG ATG AAG AAGG 3'	495 pb	I
	CIF 2 R2	5'ATT TAC CAC AAG GAC TAC CAGC 3'		
B	KDP F1	5'AAT CAT CTG CCA TTG GTG ATGC 3'	284 pb	II
	KDP R1	5'CGA ATG AAG TGA AAG AAA GTGG 3'		
C	MECI P2	5'ATC AAG ACT TGC ATT CAG GC 3'	209 pb	II, III
	MECI P3	5'GCG GTT TCA ATT CAC TTG TC 3'		
D	DCS F2	5'CAT CCT ATG ATA GCT TGG TC 3'	342 pb	I, II, IV
	DCS R1	5'CTA AAT CAT AGC CAT GAC CG 3'		
E	RIF4 F3	5'GTG ATT GTT CGA GAT ATG TGG 3'	243 pb	III
	RIF4 R9	5'CGC TTT ATC TGT ATC TAT CGC 3'		
F	RIF 5 F10	5'TTC TTA AGT ACA CGC TGA ATC G 3'	414 pb	III
	RIF 5 R13	5'GTC ACA GTA ATT CCA TCA ATG C 3'		
G	IS431 P4	5' CAG GTC TCT TCA GAT CTA CG3'	381 pb	IA
	pUB110 R1	5'GAG CCA TAA ACA CCA ATA GCC 3'		
H	IS431 P4	5'CAG GTC TCT TCA GAT CTA CG 3'	303 pb	IIIA
	pT181 R1	5'GAA GAA TGG GGA AAG CTT CAC 3'		

Tomado de Borraz, 2006.

La técnica estuvo compuesta de tres partes: extracción del ADN, amplificación del ADN e interpretación de los resultados.

Los tres procedimientos fueron ejecutados de la forma descrita anteriormente en el PCR para *mecA*, la única variante fue durante la amplificación, en la cual se utilizaron iniciadores para cada locus A, C, D, G (Cuadro 3) a una concentración de 0.5 μ M. Se utilizó un μ L de cada iniciador por cada muestra, y se agregó agua hasta completar un volumen final de 24 μ L por cada reacción. A cada reacción se agregó un μ L de ADN de cada muestra producto de la extracción. La identificación de los SCCmec según las bandas obtenidas mediante PCR se hizo de acuerdo al Cuadro 4.

Cuadro 4. Interpretación de bandas obtenidas mediante PCR para la determinación de tipos de SCCmec.

Tipo de SCCmec	Banda (pb)	Locus
I	495, 342	A, D
IA	495,342, 381	A, D, G
II	381, 342, 284, 209	G, D, B, C
III	414, 303, 243, 209	F, H, E, C
IIIA	414, 243, 209	F, E, C
IIIB	209	C
IV	342	D
IVA	342, 281	D,G

Tomado de Borraz, 2006.

2.1.9 Desarrollo de un manual de prácticas de higiene para el control y prevención de infecciones nosocomiales

El desarrollo del manual se realizó como una adaptación del Infection Control Manual del Hospital de Enseñanza Veterinaria de la Universidad Estatal de Ohio, el cual se basa en el Model Infection Control Plan for Veterinary Practices (2010) y el Compendium of Veterinary Standard Precaution for Zoonotic Disease Prevention in Veterinary Personnel (2010).

3. Resultados

3.1 Aislamiento de *S. aureus*

Se realizaron dos muestreos de 51 superficies de contacto humano y animal en el HEMS (Anexo 1) con 45 días de diferencia entre sí. Una vez que se cultivaron las muestras y se realizaron los aislamientos de bacterias compatibles con el género *Staphylococcus*, se realizaron las pruebas de tamizaje para determinar la presencia o no de *S. aureus* (Figura 1). Todas las muestras que mostraron un perfil bioquímico compatible con esta especie, fueron confirmadas con otras pruebas mediante el identificador automatizado de bacterias VITEK 2 Compact. Las personas que colaboraron con el muestreo fueron muestreados a nivel de plano nasal y bucal, resultaron negativas a la condición portadora de *S. aureus*.

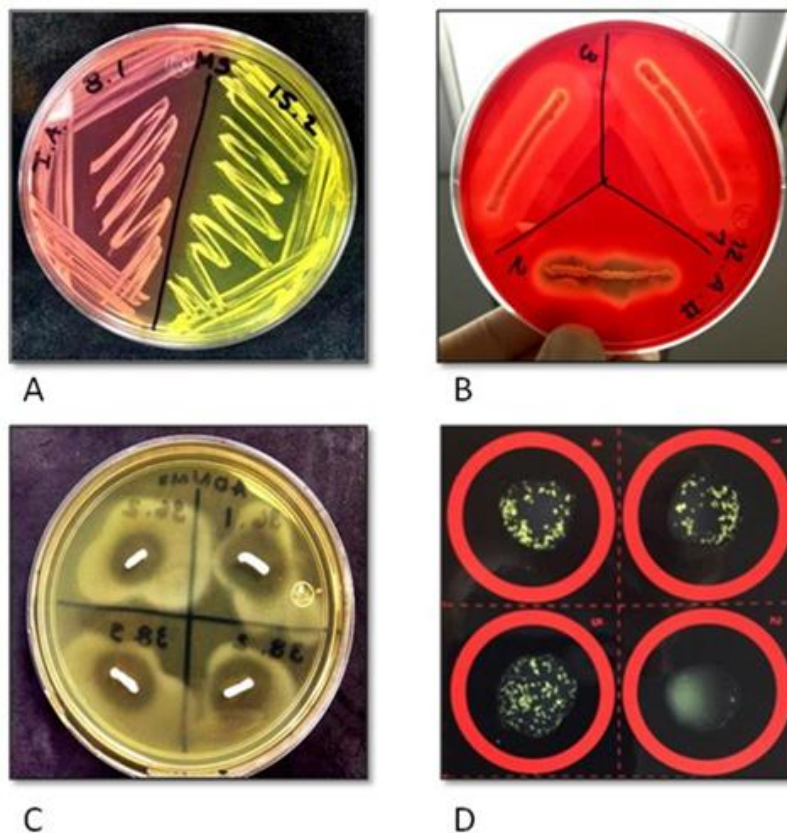


Figura 1. Pruebas de tamizaje y confirmación fenotípicas para *S. aureus*. (A) Fermentación de manitol; medio color amarillo. (B) Doble hemólisis; formación de doble halo de hemólisis alrededor del crecimiento bacteriano. (C) ADNasa; formación de un halo claro alrededor del crecimiento bacteriano. (D) Aglutinación de látex; formación de grumos.

Con base en el número de muestras evaluadas para determinar la presencia de *S. aureus*, se determinó que el 40.19 % (41/102) de las superficies de contacto humano y animal muestreadas fueron positivas por esta bacteria (Figura 2).

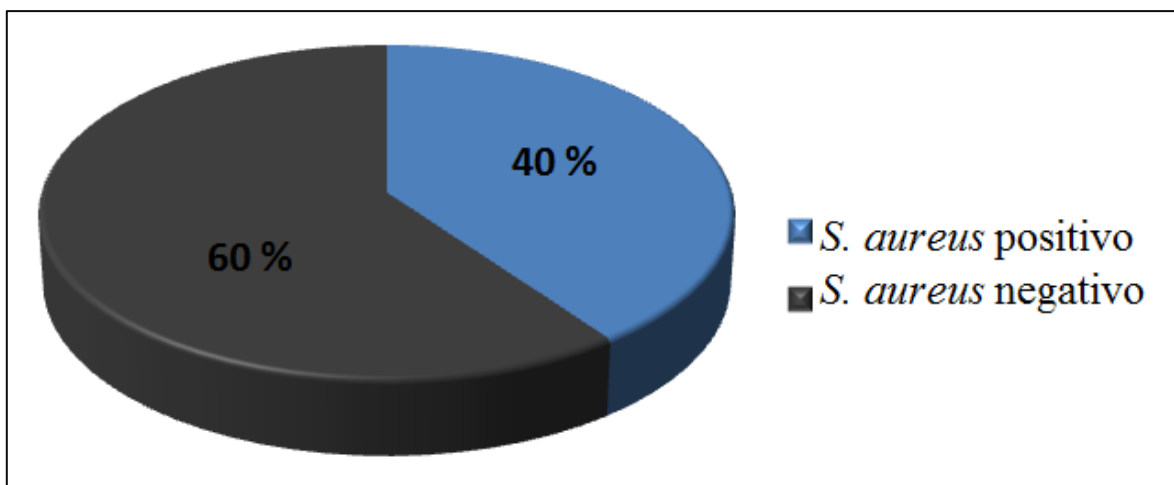


Figura 2. Prevalencia de *S. aureus* a partir de 102 muestras colectadas de superficies de contacto humano y animal del HEMS.

3.2 Determinación del perfil de resistencia antimicrobiana

Con el propósito de evaluar los perfiles de resistencia a los antibióticos más comúnmente utilizados en medicina humana y veterinaria, a todas las cepas aisladas de *S. aureus* se les determinó el perfil de susceptibilidad utilizando los 24 antibióticos más utilizados en el tratamiento de bacterias Gram positivas (Figura 3). De esta manera, se detectó la presencia de cepas multiresistentes en el 82.92% (34/41) de los casos.

Según se observa en la Figura 3, el antibiótico al cual mostraron más resistencia fue la ampicilina con un 92.68% (38/41). Asimismo, se encontró un nivel alto de resistencia (40%-75% de las cepas) a los siguientes antibióticos: amikacina, cefalotina, clindamicina, eritromicina, amoxicilina con ácido clavulánico, ciprofloxacina, gentamicina, enrofloxacina, oxacilina, cefoxitina y tetraciclina. Contrario a esta tendencia, se detectaron bajos niveles de resistencia antimicrobiana a cloranfenicol y trimetropim sulfametoxazol (10% de las cepas), y sensibilidad total a los siguientes antibióticos: moxifloxacino,

doxiciclina, levofloxacino, linezolid, minociclina, nitrofurantoína, quinupristina, rifampicina, teicoplanina y vancomicina.

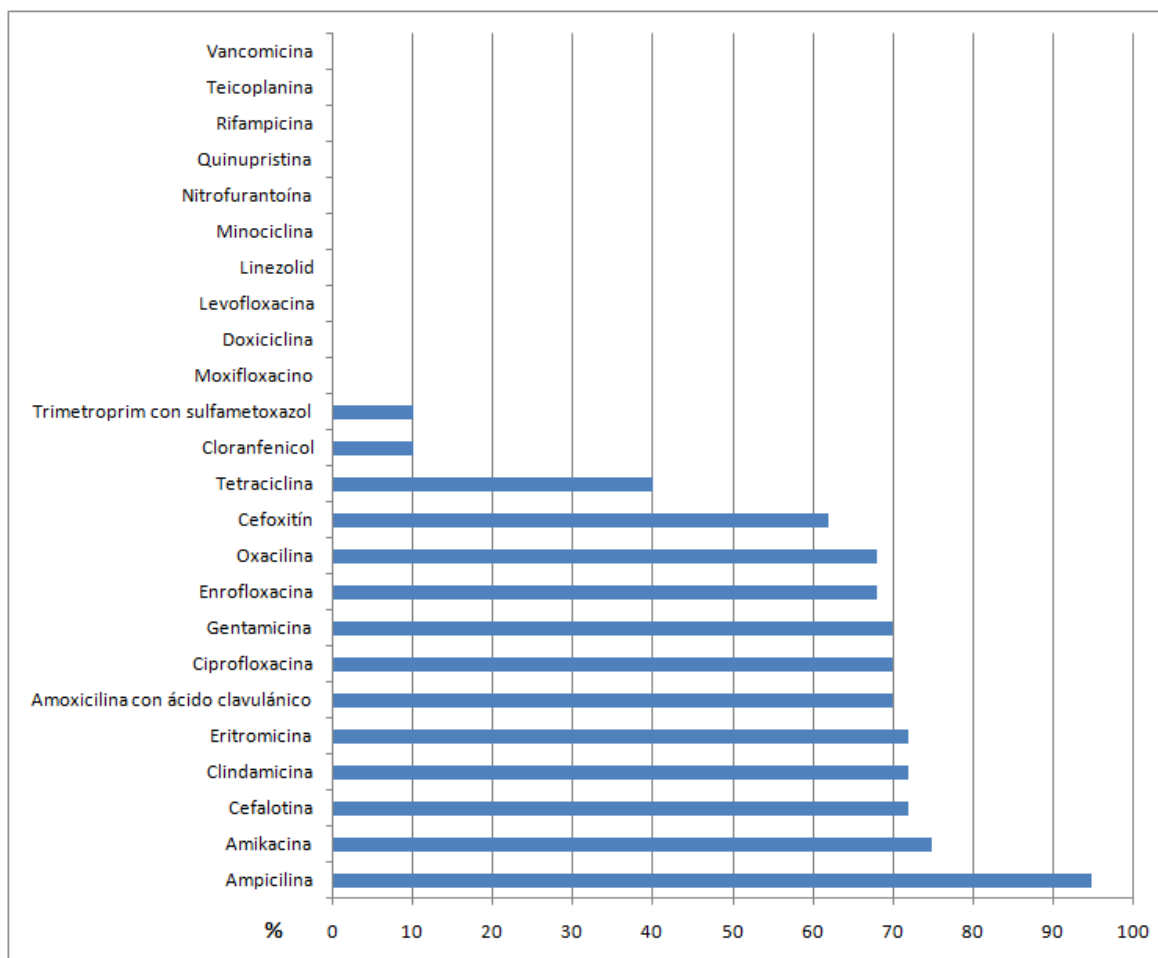


Figura 3. Perfil de resistencia a los antibióticos de las 41 cepas de *S. aureus* aisladas de superficies de contacto humano y animal del HEMS.

Además, el 29.41% (30/102) de las superficies muestreadas evidenciaron presencia de cepas con resistencia a la oxacilina, y por tanto, a meticilina (Figura 4). Esto indica que el 73% (30/41) de los *S. aureus* aislados presentan resistencia a meticilina (Figura 5).

En las muestras colectadas a partir de superficies de contacto humano y animal fue donde la prevalencia de cepas de *S. aureus* resultó ser más alta. Se detectó un 60% (6/10) de MSSA y un 40% (6/10) de MRSA. Las muestras colectadas a partir de superficies sólo

humanas o sólo animales, mostraron prevalencias similares, un 38% (19/50) de MSSA y un 28% (19/50) de MRSA (Figura 6).

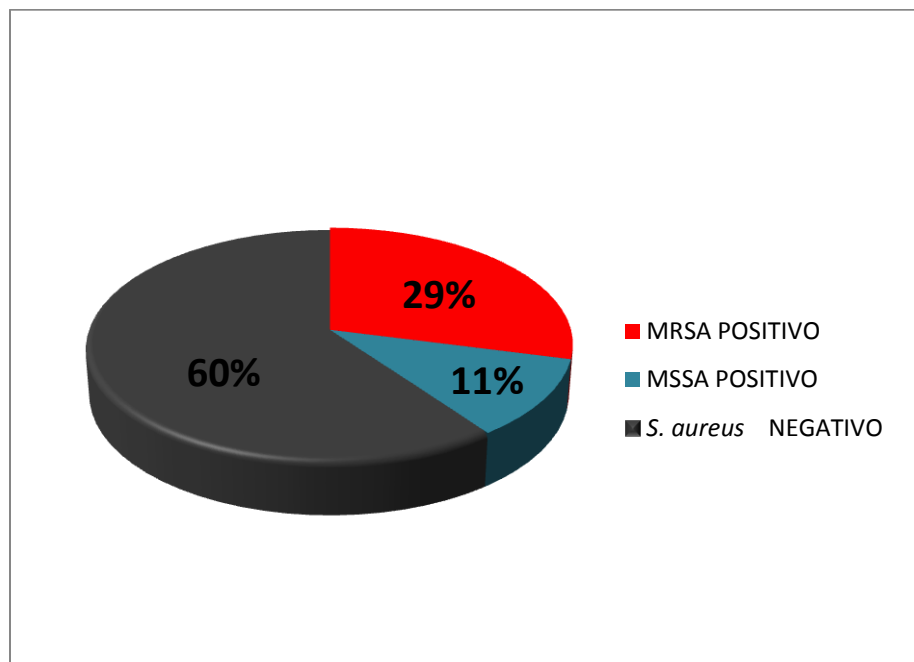


Figura 4. Prevalencia de MRSA y MSSA a partir de las 102 muestras colectadas.

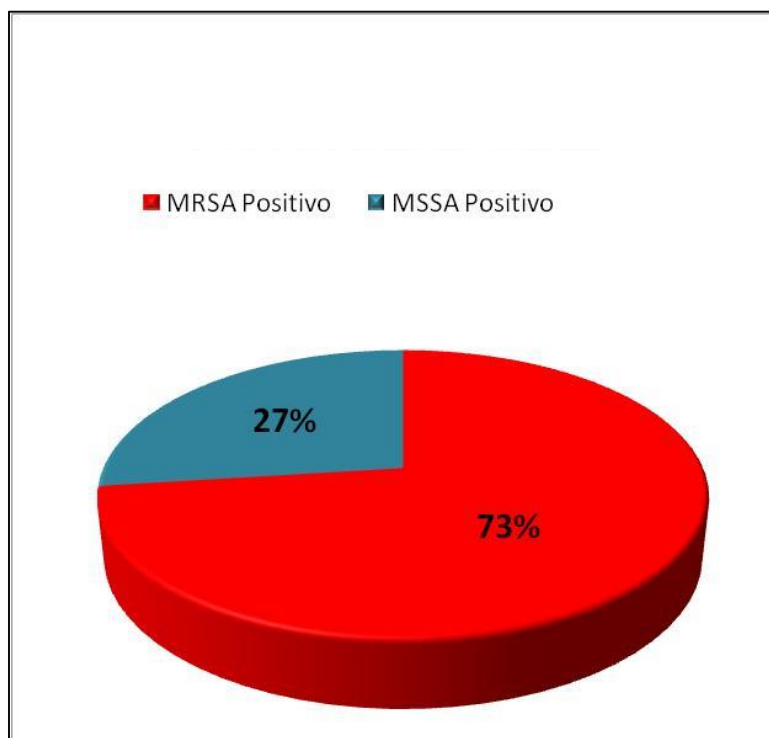


Figura 5. Prevalencia de MRSA a partir del total de cepas *S. aureus* aisladas.

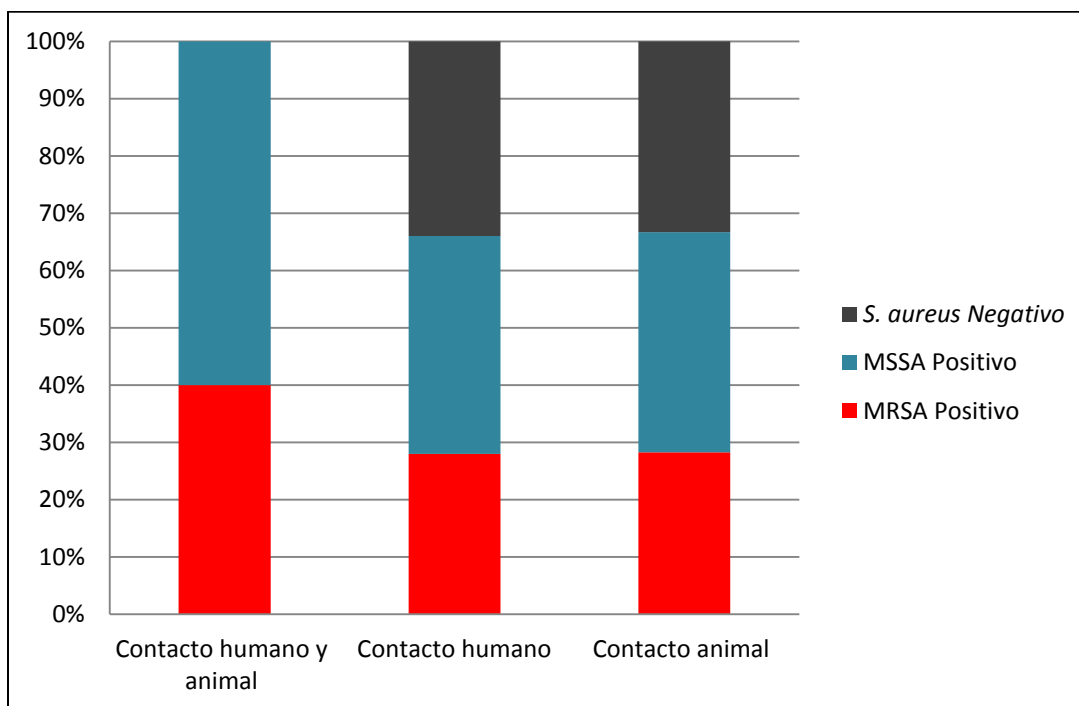


Figura 6. Prevalencia de MSSA y MRSA según el tipo de superficie muestreada.

Las cepas que presentaron resistencia a la oxacilina en la técnica de Kirby Bauer se sometieron a una prueba adicional de crecimiento en agar manitol sal con 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de oxacilina de sodio; todas estas cepas mostraron crecimiento en este medio (Figura 7).

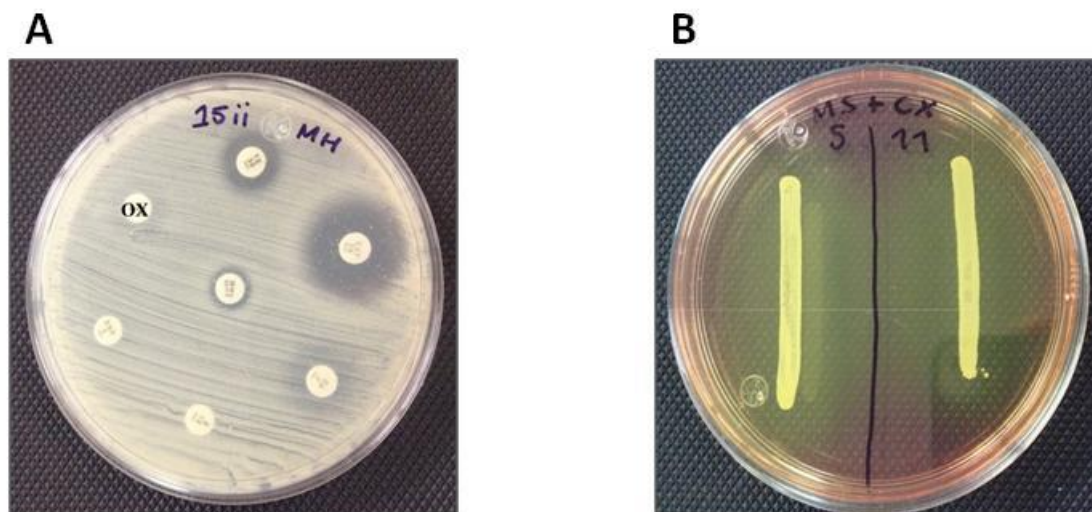


Figura 7. Pruebas de tamizaje y confirmación para determinar la presencia de MRSA. (A) Prueba de sensibilidad a la oxacilina (OX) por la técnica de Kirby Bauer; sensible si forma un halo ≥ 13 mm alrededor del sensidisco de 1 μg oxacilina (OX) (B) Capacidad de crecimiento en manitol sal con 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de oxacilina de sodio; crecimiento en el medio de cultivo.

Con excepción de la familia tetraciclinas, se observaron patrones de resistencia más altos en las cepas de MRSA en comparación con los patrones de resistencia de las cepas de MSSA. Tanto las cepas de MSSA como de MRSA, presentaron una resistencia absoluta a la familia de las penicilinas (100%) (Figura 8). En orden decreciente, en las cepas de MRSA también se observó resistencia a: macrólidos 93.33% (28/30), lincosamidas 90% (27/30), fluoroquinolonas 90% (27/30), cefalosporinas 86.75% (26/30), aminoglucósidos 86.67% (26/30), quinolonas 83.33% (25/30), tetraciclinas 23.33% (7/30), sulfonamidas 13.33% (4/30), anfenicoles 10% (3/30), y 0% de resistencia a las oxazolidinonas, nitrofuranos, streptogaminas y glicopéptidos.

Por el contrario, las cepas MSSA presentaron perfiles de resistencia mucho menores a la mayoría de la familias de antibióticos, excepto a la familia de las tetraciclinas (Figura 8). En orden decreciente se observó resistencia a: penicilinas 100% (11/11), tetraciclinas 81.81% (9/11), macrólidos 27.27% (3/11), cefalosporinas 27.27% (3/11), aminoglucósidos 27.27% (3/11), lincosamidas 27.27% (3/11), quinolonas 27.27% (3/11), fluoroquinolonas

18.18% (2/11), sulfonamidas 9% (1/11), anfenicoles 9% (1/11), y 0% de resistencia para las familias: oxazolidinonas, nitrofuranos, streptogaminas y glicopéptidos.

En la Figura 8 no se incluyó la familia de las penicilinas, debido a que el 100 % de las cepas *S. aureus* aisladas presentaron resistencia a la ampicilina, lo cual confunde el análisis en esta representación gráfica.

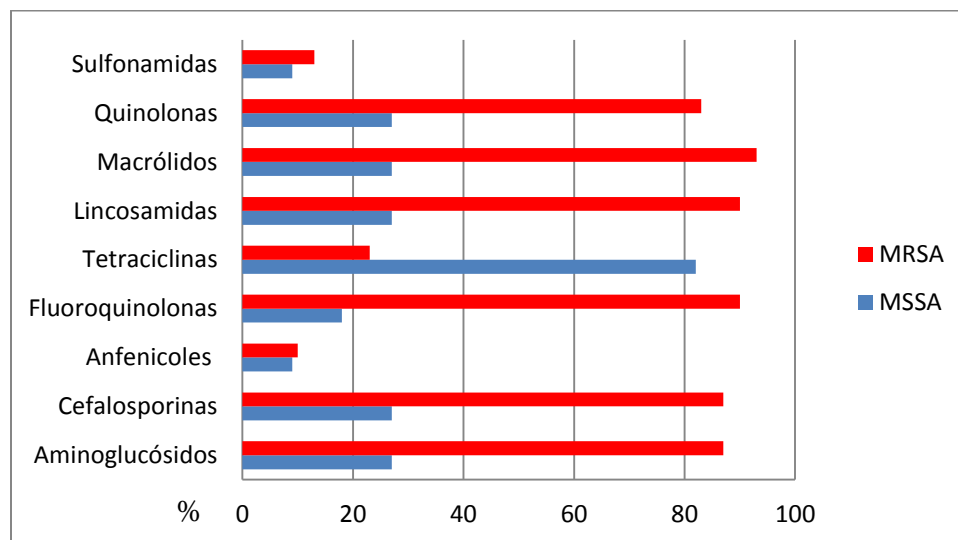


Figura 8. Perfil comparativo de resistencia a los antibióticos por familia en las 11 cepas de MSSA y de las 30 cepas de MRSA aisladas.

3.3 Confirmación de *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA)

Mediante la técnica PCR, se demostró que el 100% (30/30) de las cepas de *S. aureus* con resistencia a meticilina, presentaban el gen *mecA* (Figura 9). Como control interno de laboratorio, para corroborar que el ADN obtenido en las muestras es de origen bacteriano, se realizó la detección del gen 16S (Figura 10).

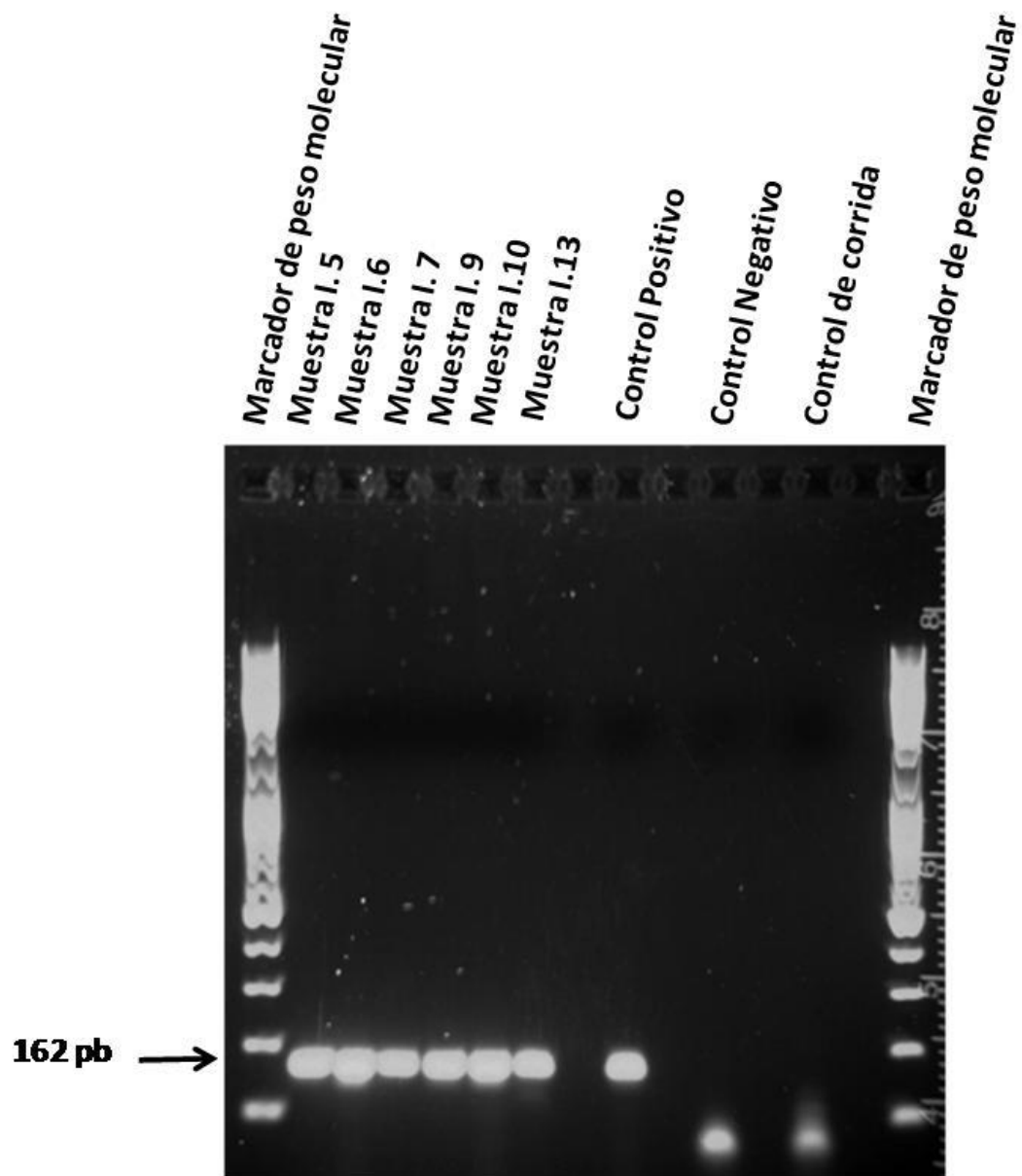


Figura 9. Detección del gen *mecA* mediante la técnica PCR.

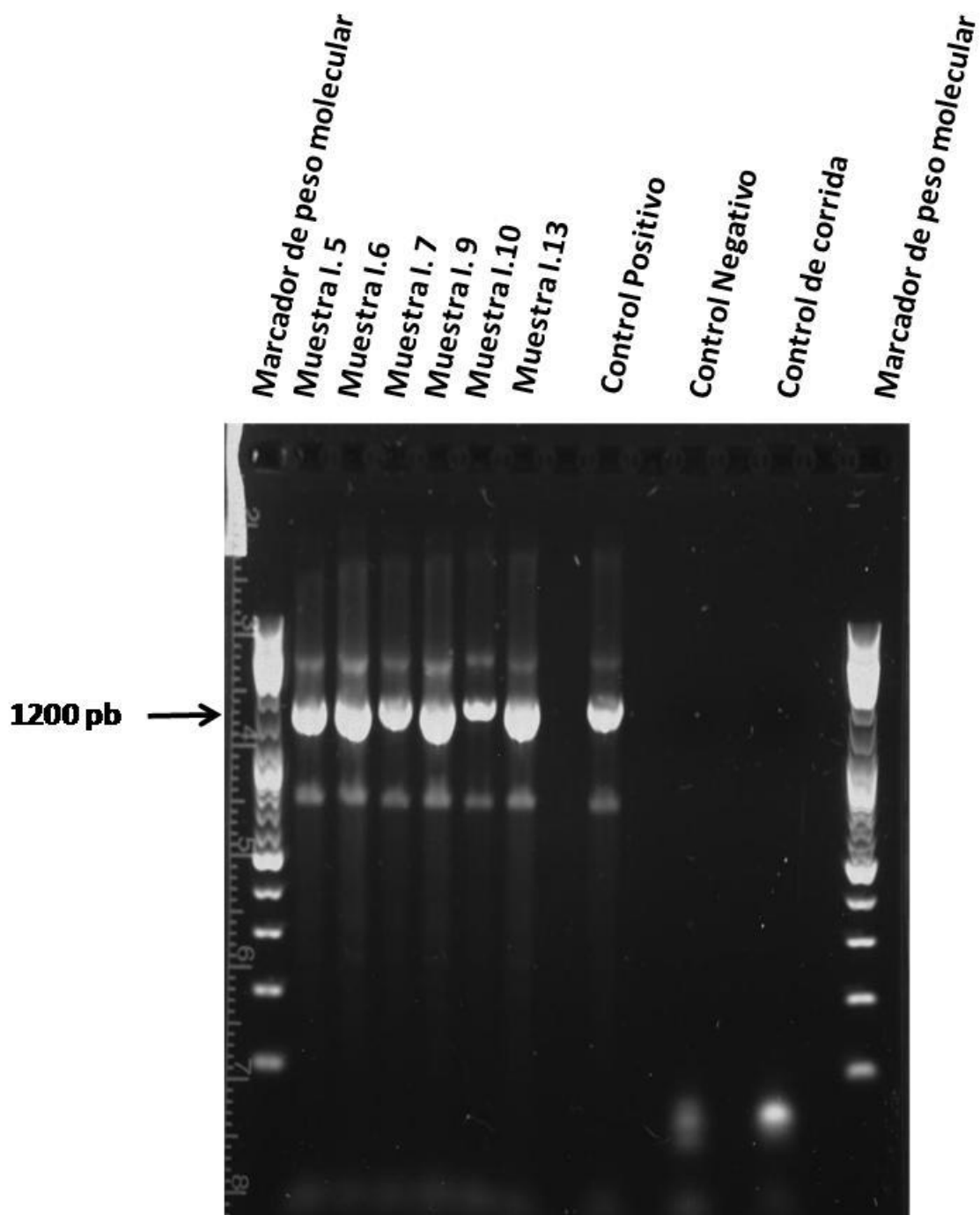


Figura 10. Detección del gen 16S mediante la técnica PCR.

3.4 Caracterización de tipos de casete SCCmec

La caracterización del tipo de casete de cada muestra portadora del gen *mecA* se realizó mediante la técnica PCR, utilizando los distintos iniciadores para los ocho locus descritos por Borraz (2006). Se determinó que el 53.33% (16/30) de las muestras son portadoras del casete tipo I de origen hospitalario y que el 33.33% (10/30) son muestras portadoras del casete tipo IV de origen comunitario (Figura 11). Para 4 de las muestras no fue posible identificar el tipo de casete debido a que el laboratorio no contaba con los controles respectivos para validar los resultados.

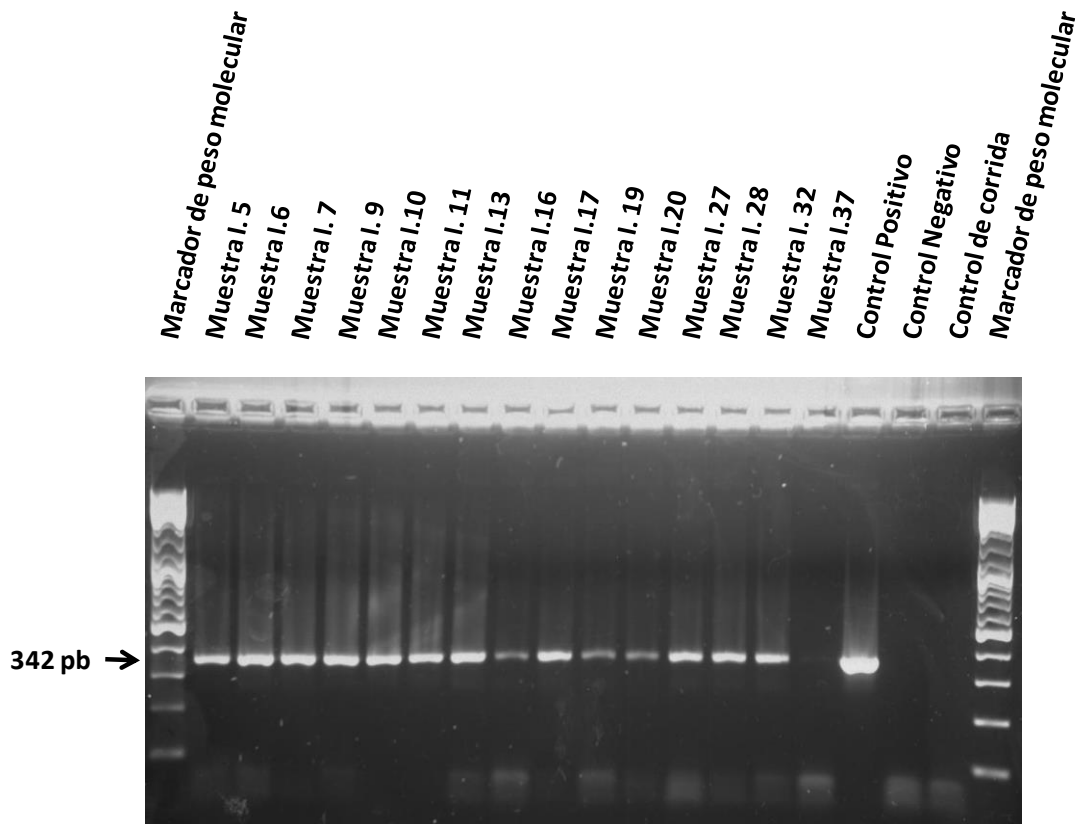


Figura 11. PCR para la detección del locus D región DCS para la identificación de los casetes I y IV.

En relación con los perfiles de resistencia en las cepas de origen hospitalario y las cepas de origen comunitario, no se observó una diferencia marcada en la resistencia de las cepas con casete tipo I (hospitalarias) y las cepas casete tipo IV (comunitarias) (Figura 12).

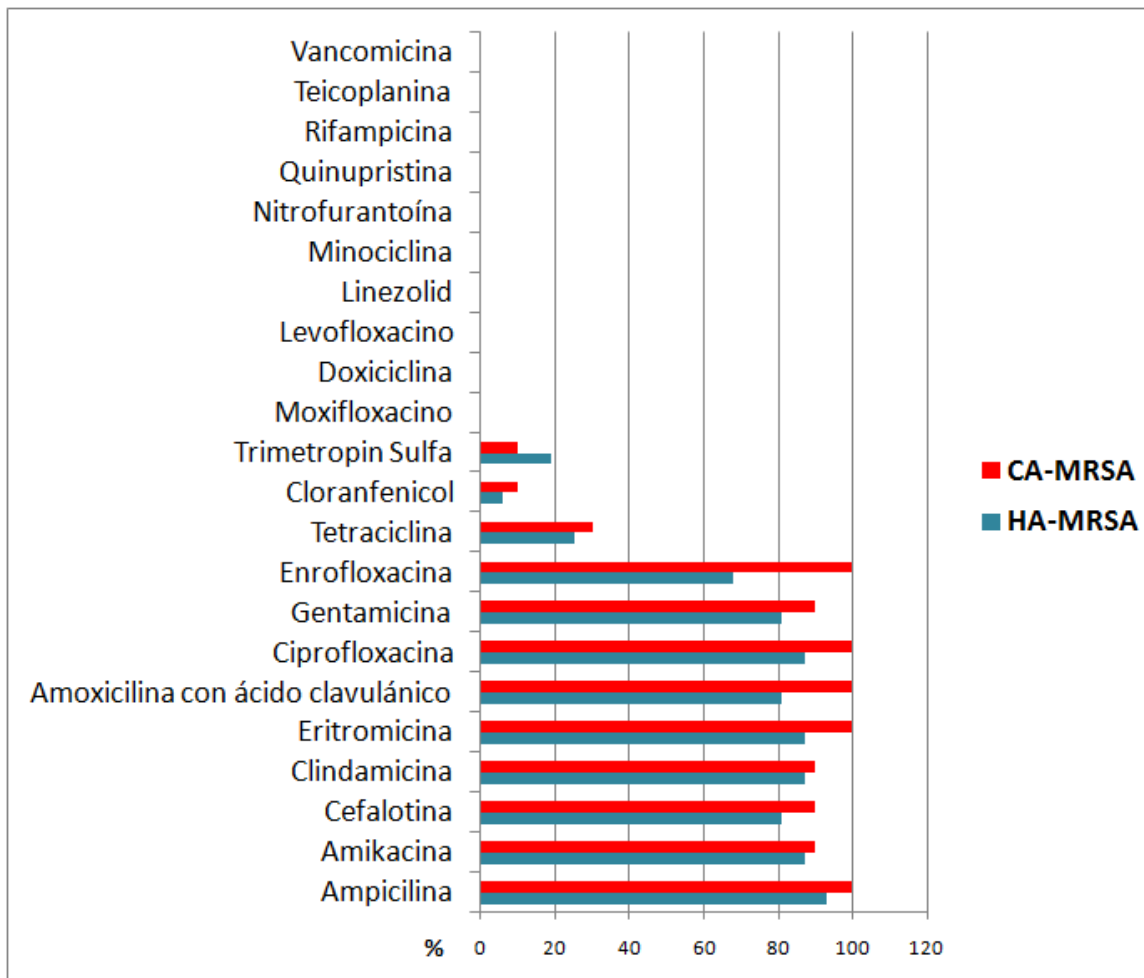


Figura. 12. Resistencia antibiótica de las cepas de MRSA aisladas según el tipo de casete.

3.5 Dinámica de superficies contaminadas por MSSA y MRSA

De acuerdo con la localización de la áreas muestreadas, se observó que las áreas de mayor contaminación (para MSSA y MRSA) fueron las siguientes: consultorio 1, sala internamiento felinos, quirófanos, sala de internamiento A, sala de internamiento B, salas 1 y 2 de ortopedia, sala de radiología, sala de pre quirúrgico. Por otro lado, las áreas de menor contaminación fueron: consultorio 3, pasillo pre quirúrgico, pasillo central, sala de internamiento infecciosos y sala de ultrasonografía. El 60% (6/10) de las puertas muestreadas fueron positivas a MRSA (Ver Anexo 4).

4. Discusión

La detección de microorganismos en superficies ambientales puede utilizarse como indicador de la eficacia de las medidas de control o como índice de la posible presencia de microorganismos patógenos. Asimismo, proporciona información sobre su valor como indicador, sus fuentes y prevalencia, su aplicación y la relevancia de su detección.

La presencia de *S. aureus* a nivel hospitalario ha tomado importancia no solo por la capacidad que tiene de persistir en el ambiente, sino por el riesgo que implica esta bacteria en la aparición de infecciones intrahospitalarias. En contraste con lo reportado por Loeffler y colaboradores (2005), donde se determinó que la prevalencia de *S. aureus* en superficies ambientales veterinarias fue del 10%, en este caso se detectó una prevalencia del 40.19%, lo que evidencia la alta ocurrencia de esta bacteria en las distintas superficies evaluadas.

Por el entorno hospitalario del estudio, además de detectar la presencia de la bacteria, se evaluaron los niveles de resistencia a los antibióticos en todas las cepas aisladas. De esta manera, se detectaron altos niveles de resistencia a múltiples drogas (82.92% de cepas *S. aureus* multiresistentes). Este porcentaje es más elevado que el 67.9% reportado por Loeffler y colaboradores (2005).

En relación con los patrones de resistencia y susceptibilidad de *S. aureus* a: amikacina, cefalotina, clindamicina, eritromicina, amoxicilina con ácido clavulánico, ciprofloxacina, gentamicina, enrofloxacin, oxacilina, cefoxitina, estos son similares a aquellos reportados previamente por varios investigadores (Loeffler et al., 2005; Heller et al., 2009; Faires et al., 2010; Hoet et al., 2011).

Llama la atención la elevada resistencia a la tetraciclina (40%) cuando Hoet y colaboradores (2011) y Loeffler y colaboradores (2005) reportan 0% de resistencia contra este antibiótico. Esto se podría deber al uso extensivo de este antibiótico como promotor de crecimiento en granjas avícolas, porcinas y bovinas, llegando a los animales de forma indirecta a través del alimento concentrado, ya que el uso de tetraciclina en medicina de especies menores es infrecuente (Medina et al., 2008; Gutiérrez et al., 2010).

Por otro lado, los patrones de susceptibilidad a los otros antibióticos evaluados, son similares a los reportados por Hoet y colaboradores (2011), donde se observa una baja la resistencia al cloranfenicol y trimetropim sulfa (10%) y sensibilidad total a: moxifloxacino,

doxiciclina, levofloxacino, linezolid, minociclina, nitrofurantoína, quinupristina, rifampicina, teicoplanina y vancomicina.

Cabe destacar que los antibióticos que mostraron más resistencia son los más comúnmente utilizados en la práctica veterinaria, mientras que los antibióticos con alta susceptibilidad, son antibióticos principalmente de uso en la práctica de medicina humana. La excepción a esta tendencia es la doxiciclina, que es frecuentemente utilizada en la práctica veterinaria para el tratamiento de infecciones cutáneas, afecciones del tracto respiratorio, problemas bucales y enfermedades infecciosas transmitidas por garrapatas, a pesar de su extenso uso en medicina veterinaria presenta una susceptibilidad absoluta en todas las cepas aisladas (Madison et al., 2008; Adams et al., 2011).

Los *Staphylococcus spp.* son naturalmente susceptibles a las tetraciclinas; sin embargo, se ha detectado adquisición de genes que confieren a los *Staphylococcus spp* resistencia esta familia antibiótica. Se ha determinado además, que muchas cepas de *Staphylococcus spp* presentan resistencia a tetraciclina pero a la vez presentan susceptibilidad a doxiciclina, siendo ambos antibióticos miembros de la familia de las tetraciclinas (Clinical Laboratory Standards Institute, 2008; Kadlec et al., 2010; Perreten et al., 2010). En medicina humana la doxiciclina es utilizada en enfermedades del tracto respiratorio, enfermedad de Lyme, infecciones de la piel, infecciones de tracto urinario, como tratamiento contra malaria, etc (Flórez et al., 2005).

De acuerdo con los análisis de resistencia a la oxacilina y los respectivos ensayos confirmatorios, se determinó una elevada prevalencia de MRSA (29.41 %) en las superficies muestreadas. En todas las cepas en las que se evidenció resistencia a la oxacilina, se detectó además la presencia del gen *mecA*, lo cual confirmó el fenotipo resistente. Esto indica que el 73% de los *S. aureus* aislados se clasificaron como MRSA. Estudios anteriores donde detectaron la presencia de MRSA en ambientes veterinarios, demostraron una prevalencia sobre el total de superficies muestreadas muy baja en comparación con la detectada en este estudio; Weese y colaboradores (2004) con 9.6%, Loeffler y colaboradores (2005) con 10%, Heller y colaboradores (2009) con 1.4 % y finalmente Hoet y colaboradores (2011) con una prevalencia de MRSA en superficies del 12.1%.

Si se analizan los niveles generales de resistencia por familia de antibiótico, se puede destacar que la resistencia fue superior en las cepas clasificadas como MRSA que en

las cepas MSSA. Esto coincide con lo reportado previamente por Borraz (2006) y apoya la evidencia que indica que el casete SCCmec presente en los MRSA, codifica además por otros genes de resistencia antibiótica adicionales a *mec*.

Con respecto a la prevalencia de MRSA o MSSA en las superficies de contacto humano o animal, no se observó ninguna diferencia entre ellas. En el caso de las superficies mixtas (humano y animal) se observó un mayor porcentaje de contaminación por ambas cepas MSSA y MRSA. Aunque se observa una tendencia al respecto, esto podría atribuirse al escaso número de muestras de origen humano y animal (n=10). Estos resultados son similares a los obtenidos por Hoet y colaboradores (2011), donde se observó poca diferencia entre la prevalencia de MRSA según el tipo de sitio muestreado; sin embargo, ellos reportaron un 0% de MRSA en superficies de contacto mixto humano y animal.

Aunque la diferenciación de zonas de muestreo se hizo por frecuencia de contacto de humanos y pacientes animales, es difícil asegurar la exclusividad de contacto de uno u otro con las superficies seleccionadas y por tanto la diferenciación con respecto a cepas y prevalencias por superficie es compleja y no necesariamente precisa.

De acuerdo con los casetes identificados en las cepas MRSA, el casete tipo I (se asocia con cepas de origen hospitalario) se detectó en el 53.33 % (16/30) de las muestras y el tipo IV (se asocia con cepas de origen comunitario) en el 33.33% (10/30). En estudios previos realizados en hospitales veterinarios se reportó el casete tipo IV en mayor proporción que el casete tipo II (se asocia con cepas de origen hospitalario) (Loefler et al., 2005; Hoet, 2011). Aunque este último tipo de casete no fue detectado en el presente estudio, los datos coinciden con la tendencia de aislar de forma conjunta cepas de origen comunitario y hospitalario. Esto indica que se están generando cepas con resistencia a meticilina no sólo en los hospitales sino también en la comunidad, y que estas cepas comunitarias pueden eventualmente llegar a ambientes hospitalarios veterinarios (Middleton et al., 2005; Morgan, 2008; Heller et al., 2009; Hoet et al., 2011).

De igual manera al haber una coexistencia estrecha entre cepas CA-MRSA y HA-MRSA dentro del mismo ambiente hospitalario, se hace complejo diferenciar entre estos tipos y su origen, ya que se sabe que *S. aureus* tiene capacidad de transferir genes de forma horizontal, lo cual implica que los actuales marcadores para la determinación de los tipos de casete podrían no ser tan específicos.

De acuerdo a los tipos de casetes y la resistencia a los antibióticos, no se observó una diferencia clara entre las cepas con casete tipo I o casete tipo IV; sin embargo, se ve una leve tendencia a que las cepas adquiridas en la comunidad sean más resistentes. Este resultado contrasta con lo reportado por Rice (2006), donde las cepas adquiridas a nivel hospitalario reflejan mayor resistencia a antibióticos, esta leve diferencia podría obedecer al número reducido de cepas MRSA aisladas de origen comunitario.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede decir que es importante determinar las zonas contaminadas tanto por MSSA como por MRSA, principalmente, por el papel de reservorio ambiental que estos pueden desempeñar. Las áreas de mayor contaminación tanto por MSSA como por MRSA fueron: consultorio 1, sala de internamiento de felinos, quirófanos, sala de internamiento A, sala de internamiento B, salas 1 y 2 de ortopedia, sala de radiología, sala de pre-quirúrgico. Dichas áreas son, a su vez, las áreas de mayor dinámica en el HEMS, frecuentemente utilizadas por estudiantes, internos y residentes (Anexo 4).

Por otro lado, las áreas de menor contaminación fueron: consultorio 3, pasillo pre-quirúrgico, pasillo central, sala de internamiento de infecciosos, sala de ultrasonografía (Anexo 4). Analizando estas áreas, llama la atención el consultorio 3 (reservado únicamente para atender animales de vida silvestre) en el cual, el tránsito humano y animal es muy escaso, la sala de internamiento de pacientes con enfermedades altamente infecciosas (Parvovirus y coronavirus), que es frecuentada únicamente en ocasiones donde exista algún paciente con estos padecimientos (se designa además solamente a una persona para la atención de dichos pacientes) y que, por lo tanto, el tránsito de animales y personas es mínimo.

Las puertas fueron también lugares de alta contaminación, con un 60% (6/10) de las puertas contaminadas por MRSA, lo cual había sido previamente reportado por Oie y colaboradores (2002). Estos resultados apoyan la teoría de que el alto flujo de personas y animales es clave para que la contaminación por *Staphylococcus* aumente. Esta tendencia no se observó en la sala de ultrasonografía, el pasillo pre-quirúrgico y el pasillo central (apagadores de luces), en los cuales también hay un alto tránsito de animales y personas; no obstante, se encontró poca contaminación.

Como se ha reportado en estudios anteriores (Loeffler et al., 2005; Dancer, 2008; Heller et al., 2009; Hoet et al., 2011) no es posible determinar si la fuente primaria de contaminación del ambiente es de origen humano o animal (Dancer, 2008).

Debido a que en este estudio no se muestrearon directamente humanos ni animales, sino áreas de contacto humano y animal, los resultados posiblemente son un reflejo de la interacción entre ambos; sin embargo, al no haberse encontrado una diferencia clara entre la contaminación de zonas de origen animal, humano o mixtas, no se logra concluir sobre si el origen de las mismas está en uno u otro. Estudios previos en ambientes veterinarios, sugieren que las cepas MRSA son de origen humano, y que éstos las transmiten a los animales, sobre todo a los animales de compañía por la estrecha relación que existe entre éstos y sus cuidadores o sus propietarios (Loeffler et al., 2005; Morgan, 2008).

La prevención y el manejo de las infecciones nosocomiales es de vital importancia, el lavado de manos y la limpieza del ambiente han sido asociados con reducción en la incidencia de las infecciones adquiridas en hospitales. En este sentido, debe prestarse mayor atención a los puntos donde se sabe que hay mayor riesgo de contaminación, en el caso del HEMS, las áreas donde se aisló MSSA y MRSA (Heller, 2009; Weese et al., 2010). Se ha concluido en estudios previos que si bien el riesgo de adquirir MRSA de animales a humanos es bajo, no se debe descartar la transmisión de genes de resistencia entre los estafilococos de animales y humanos, como tampoco se debe descuidar el monitoreo de infecciones en animales en terapia o inmunosuprimidos.

Como medida de control, es de gran importancia contar con programas de bioseguridad hospitalaria veterinaria, reforzar el uso responsable de agentes antimicrobianos en la práctica veterinaria y hacer un esfuerzo por erradicar la contaminación por MRSA en animales para evitar que se convierta en un problema endémico en este tipo de población (Middleton et al., 2005; Loeffler et al., 2010). Para evitar la diseminación de las enfermedades nosocomiales, está también la limpieza exhaustiva de las superficies en contacto con los pacientes, sobre todo entre cada paciente, además evitar el contacto innecesario entre pacientes en las salas de espera (Dancer, 2008; Morgan, 2008).

El hecho de que se hayan aislado tanto cepas de MSSA y MRSA en múltiples superficies del HEMS, recalca la necesidad de tomar medidas de control y prevención, no sólo de estos agentes, sino de muchos otros que quedaron fuera de este estudio. Las

medidas de control radican, básicamente, en el seguimiento de protocolos de higiene y en la implementación de un programa de control epidemiológico, esto con el fin de garantizar la efectividad de las medidas adoptadas. Asimismo, se recomienda identificar tanto las áreas problema como los agentes infecciosos que podrían estar presentes en dichas áreas. El presente estudio propone un programa de control y prevención de enfermedades nosocomiales especialmente elaborado y adaptado para las necesidades de ambientes veterinarios (Anexo 5).

5. Conclusiones

- Se demostró una alta prevalencia de cepas *S. aureus* aisladas a partir de las superficies seleccionadas en el HEMS.
- Se determinó que las cepas *S. aureus* aisladas a partir de las superficies seleccionadas en el HEMS, presentan altos niveles de resistencia a múltiples drogas.
- Se confirmó la presencia del gen *mecA* en todas las cepas *S. aureus* aisladas que presentaron resistencia a oxacilina.
- Se demostró una alta prevalencia de cepas MRSA aisladas a partir de las superficies seleccionadas en el HEMS.
- Se determinó, mediante la tipificación de los casetes SCCmec de las cepas MRSA aisladas, que el origen de las cepas MRSA es tanto de origen hospitalario como de origen comunitario, lo cual refleja una problemática importante respecto a la epidemiología de esta bacteria.
- Se identificaron las principales zonas de riesgo de adquisición de MSSA y MRSA en el HEMS, siendo estas las de mayor movimiento y presencia de pacientes y personal del HEMS.
- El aislamiento de cepas MSSA y MRSA en el ambiente del HEMS constituye un riesgo a la salud para personal, clientes y pacientes del HEMS.
- De acuerdo con la literatura consultada la implementación y adaptación a condiciones propias del HEMS de un Manual para el Control y Prevención de Infecciones Nosocomiales es esencial.

6. Recomendaciones

- Concientizar al personal, población estudiantil y clientes del HEMS de los riesgos de salud pública existentes en los ambientes hospitalarios, y de la importancia de las buenas prácticas de higiene de las manos y del ambiente hospitalario.
- Promover las prácticas de limpieza del ambiente hospitalario del HEMS, mediante la aplicación de las medidas sugeridas en el manual de prevención y control de enfermedades nosocomiales propuesto por el presente estudio.
- Hacer muestreos ambientales programados (cada tres meses) de las superficies ambientales del HEMS para identificar fortalezas y puntos débiles de las prácticas de prevención y control de enfermedades nosocomiales.
- Desarrollar un programa de control epidemiológico activo en la Escuela de Medicina Veterinaria de la UNA, basado en la casuística del HEMS. Financiar este tipo de proyectos mediante el establecimiento de un costo agregado al servicio, de manera que se garantice la existencia de un programa de control epidemiológico del HEMS.

7. Referencias Bibliográficas

- Adams, R, Riviere, J, Papich, M. 2011. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 9th. ed. Wiley-Blackwell, USA.
- Azimian, A, Havaei, S, Fazeli, H, Naderi, M, Ghazvini, K, Samiee, S, Soleimani, M & Peerayeh, S. 2012. Genetic Characterization of a Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolate from the Respiratory Tract of a Patient in a University Hospital in Northeastern Iran. J Clin Microbiol. 50: 3581-3585.
- Baptiste, K, Williams, N, Willams, A, Wattret, P, Clegg, S, Dawson, J, Corkill, T, O'Neill & A, Hart. 2005. Methicillin-resistant Staphylococci in Companion Animals. Emerg Infect Dis. 11: 1942-1944.
- Beserra, F, M, Caraciolo, A, Vieira, J, Maciel, M, Aquino & V, Magalhaes. 2012. Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolates obtained from skin and soft tissue infections of outpatients from a university hospital in Recife - PE, Brazil. An Bras Dermatol. 87: 857-861.
- Borraz, C. 2006. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en hospitales españoles. Tesis de Doctorado. Universidad de Barcelona, España.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2011. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/mrsa11.pdf>
- Cimolai, N. 2008. MRSA and the environment: implications for comprehensive control measures. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 27: 481-493.

- Clinical Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard. 8:28. Wayne, PA.
- CLSI . 2009. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals. CLSI document M31A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
- Cohen, P & Kurzrock, R. 2004. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infectious: an emerging clinical problem. J Am Acad Dermatol. 50: 277-280
- Cuevas, O, Cercenado, E, Vindel, A, Guinea, J, Sánchez, M & Bouza, E. 2004. Evolution of the Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: Five Nationwide Prevalence Studies, 1986 to 2002. Antimicrob Agents Ch. 48: 4240-4245
- Dancer, S. 2008. Importance of the environment in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition: the case for hospital cleaning. Lancet Infect Dis. 8: 101-113.
- Forcade, N, Parchman, L, Jorgensen, J, Du, L, Nyren, N & Treviño, L. 2011. Prevalence, severity, and treatment of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) skin and soft tissue infections in 10 medical clinics in Texas: a South Texas Ambulatory Research Network (STARNet) study. Am Board Fam Med. 24: 543-550.
- Faires, M, Traverse, M, Tater, K, Pearl, D & Weese, J. 2010. Methicillin-Resistant and – Susceptible *Staphylococcus aureus* Infections in Dogs. Emerg Infect Dis. 16 (1): 69-75
- Flórez, J, Armijo, J & Mediavilla, A. 2005. Farmacología Humana. 4th ed. Masson, Barcelona, España.

- Fowler, V, Corey, G, Woods, C, Cabell, C, Reller, L. 2003. Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia. Arch Intern Med. 163: 2066-2072.
- Gerard, L, Yves, P, Florence, G, Bes, M, Peter, M, Gauduchon, V, Vandenesch, F & Etienne, J. 1999. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin-Producing *Staphylococcus aureus* in Primary Skin Infections and Pneumonia. Infect Dis Soc Am. 29:1128-1132
- Grundmann, H , Boyce, J & Tiemersma, E. 2006. Emergence and resurgence of meticillin-resistance *Staphylococcus aureus* as a public health threat. Lancet. 368: 874-885.
- Gutiérrez, K, Alfaro, M, Granados, F, Sánchez, J, García, F & Rodríguez, C. 2010. Detección de tetraciclinas en nueve lotes de alimentos para cerdos, tilapias y pollos producidos en Costa Rica: incumplimiento de normativas y disconformidades con el etiquetado oficial de garantía. Agron Costarricense. 34: 145-151
- Guzman, M, Isturiz, R, Alvarez, C, Bavestrello, L, Gotuzzo, E & Labarca, L. 2009. Epidemiology of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. Int J Antimicrob Ag. 34: 304-308.
- Heller, J, Armstrong, S, Girvan, E, Reid, S, Moodley, A & Mellor, D. 2009. Prevalence and distribution of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* within the environment and staff of a university veterinary clinic. J Small Anim Pract. 50: 168-173.
- Heymann, D. 2005. El control de las enfermedades transmisibles, publicación científica y técnica. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS).

- Hoet, A, Johnson, A, Nava-Hoet, R, Bateman, S, Hillier, A, Dyce, J, Gebreyes, W & Wittum, T. 2011. Environmental Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Veterinary Teaching Hospital During a Nonoutbreak Period. *Vector-Borne Zoonot.*11: 609-615.
- Jiménez, J. 2009. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. *IATREIA.* 22: 147-156.
- Kadlec, K, Schwarz, S, Perreten, V, Andersson, U, Finn, M, Greko, C, Moodley, A, Kania, S., Frank, L.A., Bemis, D.A., Franco, A., Iurescia, M., Battisti, A., Duim, B., Wagenaar, J.A., van Duijkeren, E., Weese, J.S., Fitzgerald, J.R., Rossano, A. & Guardabassi, L. 2010. Molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of feline origin from different European countries and North America. *J Antimicrob Chemother.* 65: 1826–1828.
- Kobayashi, S, Musser, J & DeLeoa, F. 2012. Genomic Analysis of the Emergence of Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *mBio* 3(4):e00170-12. doi:10.1128/mBio.00170-12.
- Kos, V, Desjardins, C, Griggs, A, Cerqueira, G, Van Tonder, A, Holden, M, Godfrey, P, Palmer, K, Bodi, K, Mongodin, E, Wortman, J, Feldgarden, M, Lawley, T, Gill, S, Haas, B, Birren, B & Gilmore, M. 2012. Comparative genomics of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and their positions within the clade most commonly associated with methicillin-resistant *S. aureus* hospital-acquired infection in the United States. *mBio* 3(3):e00112-12. doi:10.1128/mBio.00112-12.

- Kuehnert, M, Hill, H, Kupronis, B, Tokars, J, Solomon, S & Jernigan, D. 2005. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Hospitalizations, United States. *Emerg Infect Dis.* 11: 868-872.
- Leonard, F, Abbott, Y, Rossney, A, Quinn, P, O'Mahony, R & Markey, B. 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice. *Vet Rec.* 158: 155-159.
- Loeffler, A, Boag, A, Sung, J, Lindsay, J, Guardabassi, L, Dalsgaard, A, Smith, H, Stevens, K & Lloyd, D. 2005. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *J Antimicrob Chem.* 56: 692-697.
- Loeffler, A & Lloyd, H. 2010. Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community?. *Epidemiol Infect.* 138: 595-605.
- Lowy, F. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 111: 1265-1273.
- Lowy, F. 1998. *Staphylococcus aureus* Infections. *New Engl J Med.* 339: 520-532
- Madison, J, Page, S & Church, D. 2008. *Small Animal Clinical Pharmacology.* 2nd.ed. Saunders, UK.
- Matsubishi, I, Wachi, M, Doi, M, Inoue, M & Ubukata, K. 1986. Molecular cloning of the gene of a penicillin binding protein supposed to cause high resistance to beta-lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 167: 975-980.

- Medina, M, González,D & Ramírez, A. 2008. Detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclina en hueso de cerdo. *Rev Salud Anim.* 30: 110-115.
- Middleton, J, Fales, W, Luby, C, Oaks, L, Sanchez, S, Kinyon, J, Wu, C, Maddox, C, Welsh, R & Hartmann, F. 2005. Surveillance of *Staphylococcus aureus* in Veterinary Teaching Hospitals. *J. Clin. Microbiol.* 43 (6): 2916-2919.
- Morgan, M. 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis?. *J Antimicrob Chem.* 62: 1181-1187.
- Nodarse, R. 2002. Visión actualizada de las infecciones intrahospitalarias. *Rev Cub Med Mil.* 31(3): 201-208.
- Oie, S, Hosokawa, I & Kamiya, A. 2002. Contamination of room door handles by methicilin-sensitive/methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect.* 51: 140-143
- Oliveira, D & Lencastre, H. 2002. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 2155-2161
- O'Mahony, R, Abbott, Y, Leonard, F, Markey, B, Quinn, P, Pollock, P, Fanning, S & Rossney, A. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland. *Vet Microbiol.* 109: 285-296
- Pan American Health Organization. 2004. Annual report of the Monitoring/Surveillance Network for Resistance to Antibiotics. Organización Panamericana de la Salud . OPS/HDM/CD/A/408/6.

Perreten, V, Kadlec, K, Schwarz, S, Grönlund, Andersson, U, Finn, M, Greko, Moodley, A, Kania, S, Frank, L, Bemis, D, Franco, A, Iurescia, M, Battisti, A, Duim, B, Wagenaar, J, van Duijkeren, E, Weese, J, Fitzgerald, J, Rossano, A, & Guardabassi, L, 2010. Clonalspread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 65: 1145–1154

Quinn, P, Carter, M & Markey, B. 1994. *C vet microb.* Wolfe Publishing, España.

Rodríguez, E, Gamboa, M, Hernández, F & García, J. 2005. *Bacteriología general: Principios y prácticas de laboratorio.* Editorial de la Universidad de Costa Rica. Pág. 339-344.

Rice, L. 2006. Antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria. *Am J Infect Control.* 34 (5): S11-S-9.

Schmitz, F. 2003. *MRS Current Perspectives.* Caister Academic Press. 1st.ed. England.

Seguin, J, Walker, R, Caron, J, Kloos, W, George, K, Hollis, R, Jones, R & Pfaller, M. 1999. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: Potential Human-to-Animal Transmission. *J Clin Microbiol.* 37: 1459-1463.

Sosa, L. 2011. Caracterización fenotípica y molecular de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a drogas tomadas de pacientes que acudieron al Hospital Escuela y al Instituto Hondureño de Seguridad Social en un período de octubre del 2010 a enero del 2011. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Honduras.

- Tibavizco, D, Silva, E, Cuervo, S & Cortés, J. 2007. Enfoque terapéutico de la bacteremia por *Staphylococcus aureus*. *Biomédica*. 27: 294-307.
- Van Duijkeren, E, Wolfhagen, M, Box, A, Heck, M, Wannet, W & Fluit, A. 2004. Human-to-Dog Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*. 10: 2235-2237
- Vengust, M, Anderson, M, Rousseau, J & Weese, J. 2006. Methicillin-resistant staphylococcal colonization in clinically normal dogs and horses in the community. *App Microbiol*. 43: 602-606
- Veterinary Infection Control Committee. 2010. Compendium of Veterinary Standard Precautions for Zoonotic Disease Prevention in Veterinary Personnel [en línea]. National Association of State Public Health Veterinarians, Estados Unidos. <http://nasphv.org/documentsCompendia.html> (Consulta: 1 jun. 2012).
- Veterinary Infection Control Committee. 2010. Model Infection Control Plan for Veterinary Practices [en línea]. National Association of State Public Health Veterinarians, Estados Unidos. <http://nasphv.org/documentsCompendia.html> (Consulta: 1 jun. 2012).
- Weese, J. 2010. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in animals. *ILAR Journal*. 51: 233-244
- Weese, J, Caldwell, F, Willey, B, Kreiswirth, B, McGeer, A, Rousseau, J & Low, D. 2006. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. *Vet Microbiol*. 114: 160-164

- Weese, J, DaCosta, T, Button, L, Goth, K, Ethier, M & Boehnke, K. 2004. Isolation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from the Environment in a Veterinary Teaching Hospital. J Vet Intern Med. 18: 468-470.
- Yinduo, J. 2007. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Protocols. 1st.ed. Humana press, Totowa, New Jersey.
- Zavadinack, M, Herreiro, F, Peralta, O, Ito, Y, Ciorlin, E, Saqueti, E, Ansilheiro, I, Gonsalves, L & Dias, V. 2001. *Staphylococcus aureus*: incidência e resistência antimicrobiana em abscessos cutâneos de origem comunitária. Acta Scientiarum. 23: 709-712.

Anexo 1

Localizaciones, superficies y tipo de técnica de muestreo empleado para las muestras colectadas en el HEMS.

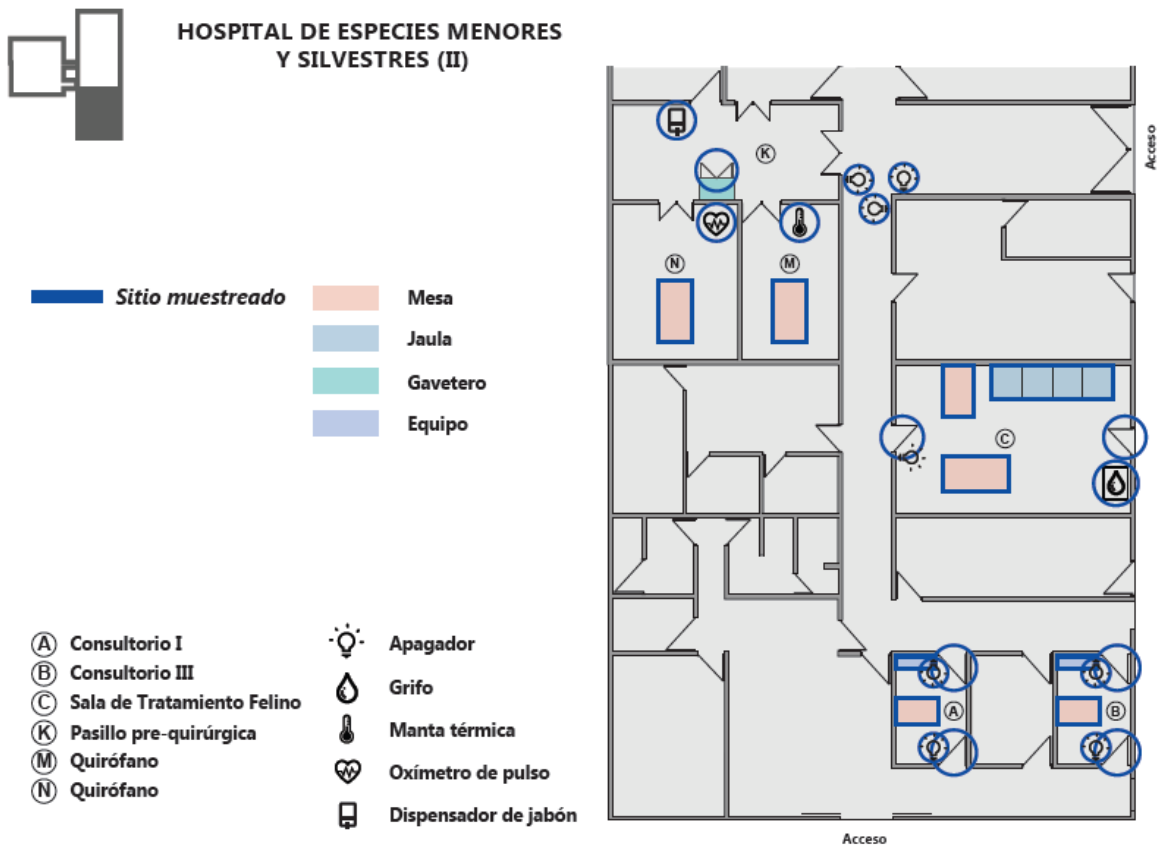
Localización	Superficie	Toalla electrostática	Hisopo	Observaciones
Sala terapia física	Paredes de piscina	X		Muestra compuesta
Sala de Rayos X	Mesa y puertas	X		Muestra compuesta
Sala de Rayos X	Chalecos y casetes	X		Muestra compuesta
Sala preoperatorio	Mesa de examinación	X		
Sala preoperatorio	Gabeteros	X		
Sala preoperatorio	Puertas	X		
Pasillo preoperatorio	Dispensador de jabón		X	
Pasillo preoperatorio	Mueble para equipo: Puertas	X		
Quirófanos	Mesas de cirugía (4)	X		Muestra compuesta
Quirófanos	Manta térmica	X		
Quirófanos	Oxímetro de pulso		X	
Consultorio 1	Mesa, puertas, equipo	X		Muestra compuesta
Consultorio 1	Apagadores		X	
Consultorio 3	Mesa, puertas, equipo	X		Muestra compuesta
Consultorio 3	Apagadores		X	
Sala internamiento felinos	Jaulas intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento felinos	Grifo		X	
Sala internamiento felinos	Puerta	X		
Sala internamiento felinos	Mesas de examinación	X		

Localización	Superficie	Toalla electrostática	Hisopo	Observaciones
Sala internamiento A	Sillas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento A	Puertas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento A	Mesas de examinación	X		Muestra compuesta
Sala internamiento A	Mesa de personal	X		
Sala internamiento A	Mesa de expedientes	X		
Sala internamiento A	Teclado de computadoras		X	
Sala internamiento A	Jaulas pequeñas intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento A	Jaulas grandes intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento A	Teléfono		X	
Sala internamiento A	Apagadores de luces		X	Muestra compuesta
Sala internamiento B	Puerta	X		
Sala internamiento B	Jaulas pequeñas intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento B	Jaulas grandes intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala internamiento B	Mesa de Examinación	X		
Sala internamiento B	Apagadores de luces		X	Muestra compuesta
Sala ortopedia 1	Jaulas intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala ortopedia 1	Puertas	X		Muestra compuesta
Sala ortopedia 2	Jaulas intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala ortopedia 2	Puertas	X		Muestra compuesta
Sala infecciosos	Jaulas intercaladas	X		Muestra compuesta
Sala infecciosos	Puerta	X		
Sala infecciosos	Mesa de Examinación	X		
Sala ultrasonido	Transductores		X	

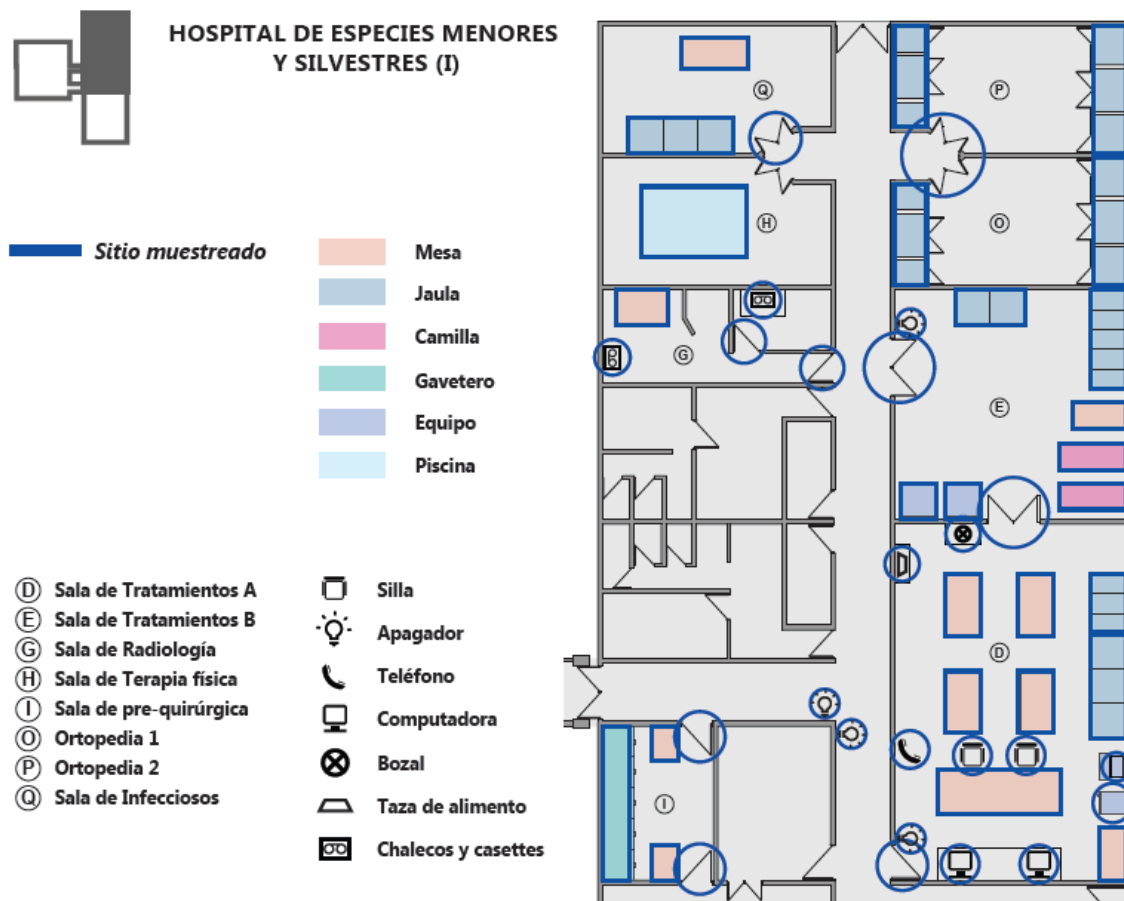
Localización	Superficie	Toalla electrostática	Hisopo	Observaciones
Sala ultrasonido	Mesa metálica	X		
Sala ultrasonido	Puerta	X		
Misceláneos	Camillas	X		Muestra compuesta
Misceláneos	Bozales		X	Muestra compuesta
Misceláneos	Platos animales		X	Muestra compuesta
Misceláneos	Agarradera refrigeradora	X		
Misceláneos	Microondas		X	
Misceláneos	Apagadores de luces pasillos		X	Muestra compuesta
Misceláneos	Lavadora y secadora: controles		X	Muestra compuesta
Control negativo		X		Dos controles negativos por caja utilizada
Control negativo			X	Dos controles negativos por caja utilizada
Control positivo		X		Un control positivo por cada muestreo
Control positivo			X	Un control positivo por cada muestreo

Anexo 2

Mapeo de las superficies muestreadas en el HEMS



Mapeo de las zonas muestreadas en el HEMS, ala norte del hospital.



Mapeo de las zonas muestreadas en el HEMS, ala sur del hospital.



Mapeo de las zonas muestreadas en el HEMS, ala este del hospital.

Anexo 3

Resumen de resultados para las cepas *S. aureus* aislados del HEMS

Resultados de cepas *S. aureus* aisladas según fecha de muestreo, origen de muestra, tipo de muestra, perfil de resistencia antimicrobiana, presencia del gen *mecA* y tipo de casete. *

Muestra	Fecha	Fuente	Superficie de contacto	Fenotipo	<i>mecA</i>	Casete
I.1	Mayo	Consultorio 1: mesa de examinación, puertas	A,H	AMC,AMP,CN,ENR,KF,TE	Ausente	NA
I.5	Mayo	Sala internamiento felinos: jaulas	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	I
I.6	Mayo	Sala internamiento felinos: grifo	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	I
I.7	Mayo	Sala internamiento felinos: puerta	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX,TE	Presente	I
I.10	Mayo	Sala internamiento A: puerta	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	I
I.11	Mayo	Sala internamiento A: Mesas de examinación	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	I
I.13	Mayo	Sala internamiento A: Mesas de expedientes	H	AK,AMP,OX	Presente	I
I.16	Mayo	Sala internamiento A: Jaulas grandes	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	I
I.17	Mayo	Sala internamiento A: Teléfono	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX,TE	Presente	IV
I.19	Mayo	Sala internamiento B: Puerta	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX,TE	Presente	IV
I.20	Mayo	Sala internamiento B: Jaulas pequeñas	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	IV
I.27	Mayo	Sala de radiología: Mesa y puerta	A, H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	IV
I.28	Mayo	Sala de radiología: chalecos y cassettes	A, H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	IV
I.30	Mayo	Sala preoperatorio: mesas de examinación	A	AK,AMP,C,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,STX,TE	Ausente	NA
I.32	Mayo	Sala preoperatorio: Puertas	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	IV

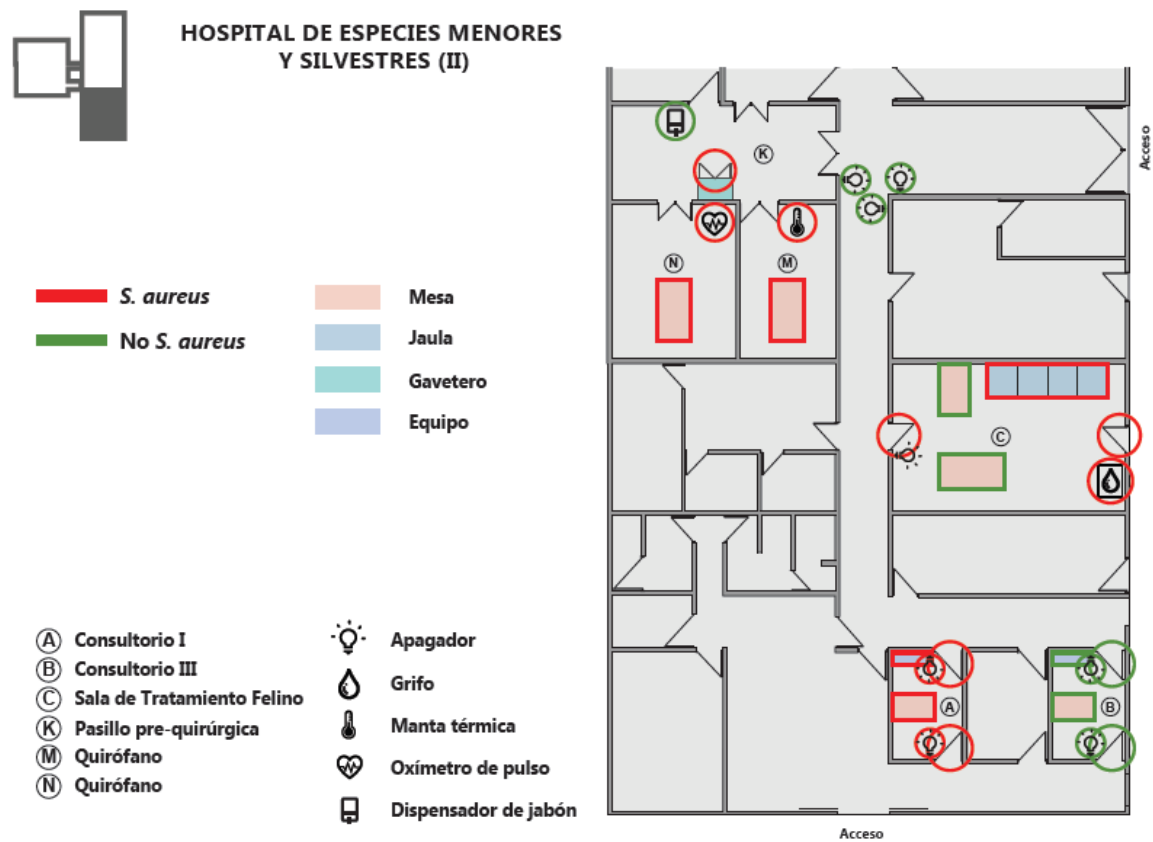
I.35	Mayo	Quirófanos: Mesas de cirugía	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,D O,E,ENR,KF,OX,TE	Presente	I
I.37	Mayo	Quirófanos: oxímetro de pulso	A	AK,AMC,AMP, C,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	NI
I.40	Mayo	Sala de ortopedia 2: jaulas	A	AK,AMC,AMP,C,Cip,CN,DA ,E,ENR,KF,OX,SXT,TE	Presente	IV
I.49	Mayo	Puerta de microondas	H	AMP,TE	Ausente	NA
II.1	Julio	Consultorio 1: mesa, puerta	A,H	AMP,DA, E	Ausente	NA
II.2	Julio	Consultorio: 1 Apagadores	H	AMP,TE	Ausente	NA
II.5	Julio	Sala internamiento felinos: Jaulas	A	AMC, AMP,Cip,DA, E,ENR, KF, LF, OX,R, TE, SXT	Presente	I
II. 6	Julio	Sala internamiento felinos: grifo	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E, ENR,KF,OX	Presente	IV
II.7	Julio	Sala internamiento felinos: puerta	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E, ENR,KF,OX	Presente	I
II.9	Julio	Sala internamiento A: Sillas	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E, KF,OX	Presente	I
II.11	Julio	Sala internamiento A: puerta	H	AMC,AMP,AK, Cip,CN,DA,E,KF, OX, SXT	Presente	I
II.13	Julio	Sala Internamiento A: mesa de expedientes	H	Ox	Presente	I
II.14	Julio	Sala internamiento A: teclados computadoras	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E, ENR,KF,OX	Presente	IV
II.16	Julio	Sala internamiento A: Jaulas grandes	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E, ENR,KF,OX	Presente	I
II.27	Julio	Sala Rayos X: mesa y puerta	H,A	AMP,Cip, DA, E, ENR, OX	Presente	NI
II.29	Julio	Sala de terapia física: paredes piscina	H,A	AMP,AMC,KF,Cip, DA,E,ENR,OX,	Presente	IV
II.30	Julio	Sala preoperatorio: mesas de examinación	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E, ENR,KF,OX	Presente	NI

II.31	Julio	Sala preoperatorio: gabeteros	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	NI
II.34	Julio	Pasillos preoperatorio: puertas de mueble para equipo de cirugía	H	AMC,AMP, TE	Ausente	NA
II.35	Julio	Quirófanos: Mesas de cirugía	A	AMP,TE	Ausente	NA
II.36	Julio	Quirófanos: Manta térmica	A	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX	Presente	I
II.37	Julio	Quirófanos: oxímetro de pulso	A	AMP,TE	Ausente	NA
II.38	Julio	Sala ortopedia 1: Jaulas	A	AK,AMP,C,Cip,CN,DA,E,ENR,KF,OX,STX,TE	Presente	I
II.45	Julio	Camillas	A	AMP,TE	Ausente	NA
II.48	Julio	Puerta de refrigeradora	H	AK,AMC,AMP,Cip,CN,DA,E,ENR,KF	Ausente	NA
II.49	Julio	Puerta de microondas	H	AMP,TE	Ausente	NA

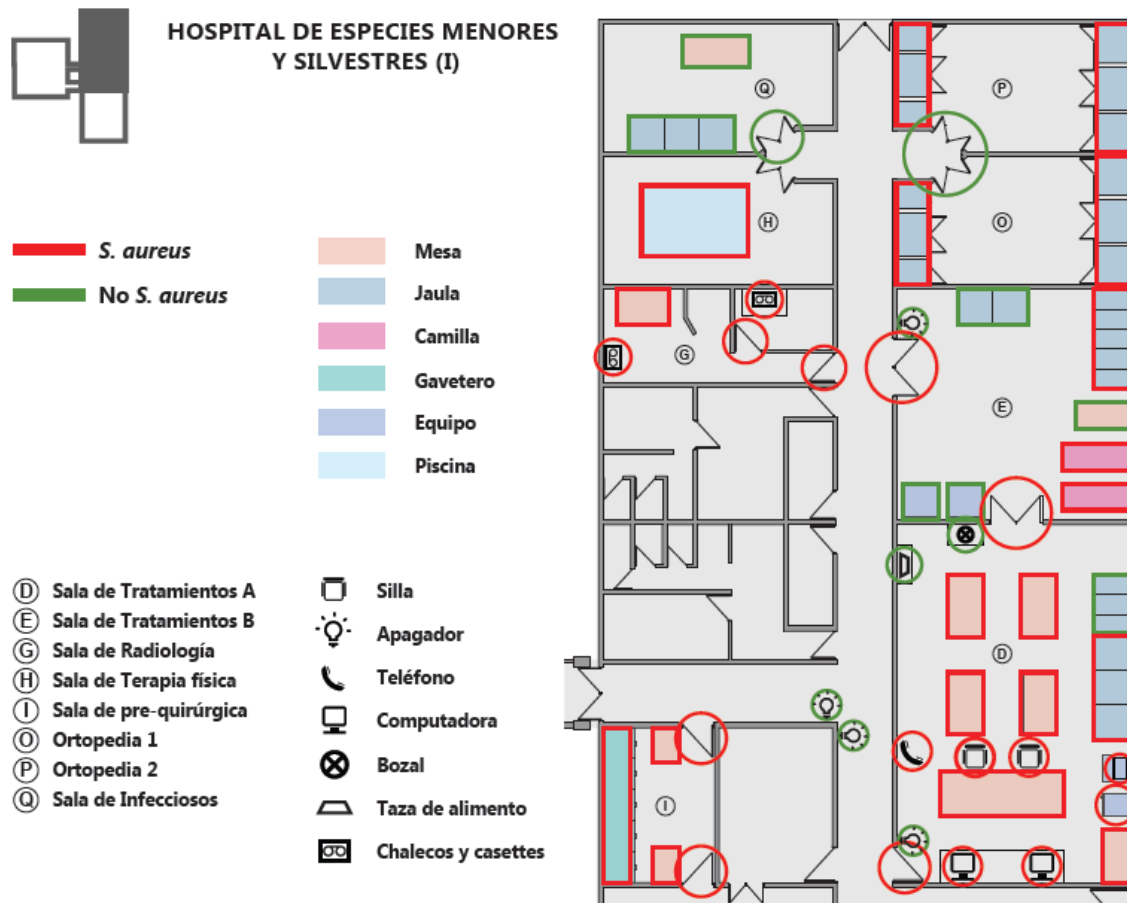
* A= animal, AK= Amikacina, AMC= Amoxicilina con ácido clavulánico, AMP= ampicilina, C= Cloranfenicol, Cip= Ciprofloxacina, CN= Gentamicina, DA= Clindamicina, DO= Doxiciclina, E= Eritromicina, ENR= Enrofloxacina, H= humano, KF= cefoxitina, LF= Levofloxacina, NA= No aplica, NI= No identificado, OX= Oxacilina, SXT= Trimetoprima/Sulfametoxazol, TE= Tetraciclina.

Anexo 4

Mapeo de los resultados de muestreo por superficie obtenidos en el HEMS



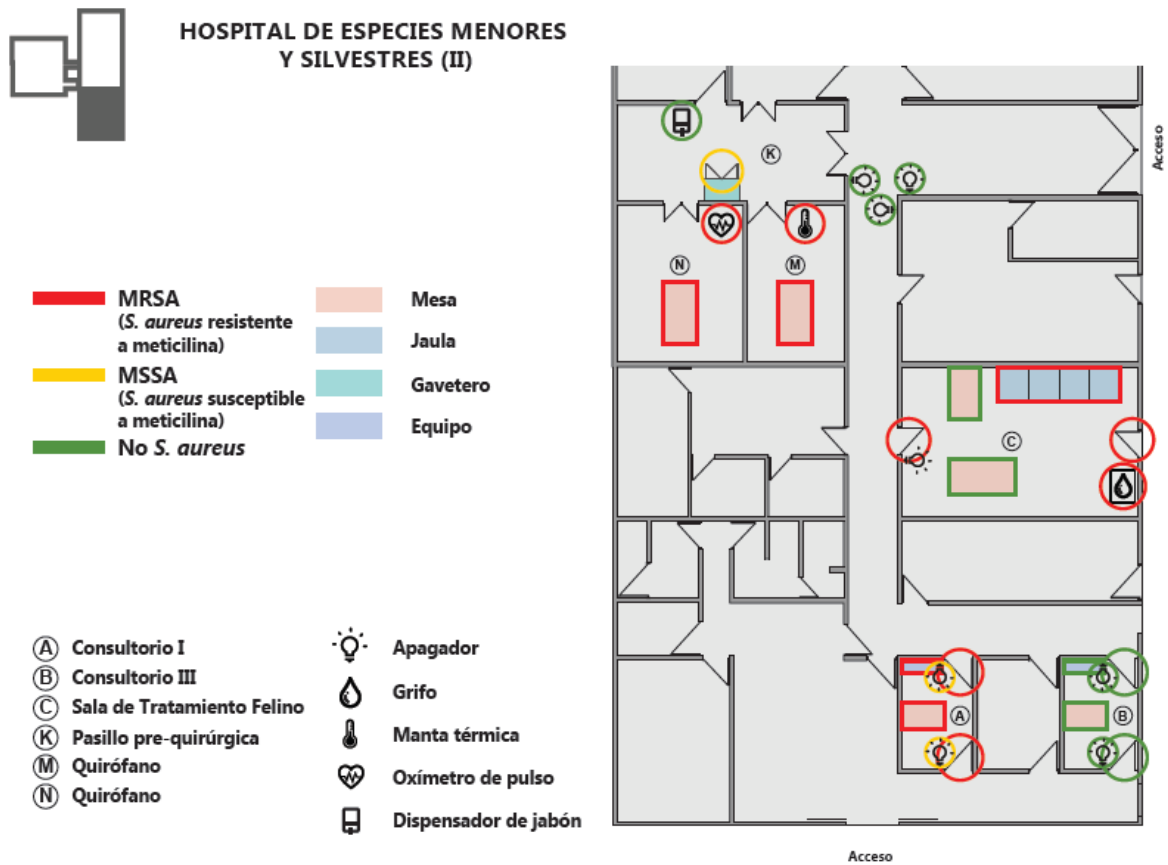
Mapeo de las superficies en las que se aisló *S. aureus* en el HEMS, ala norte del hospital.



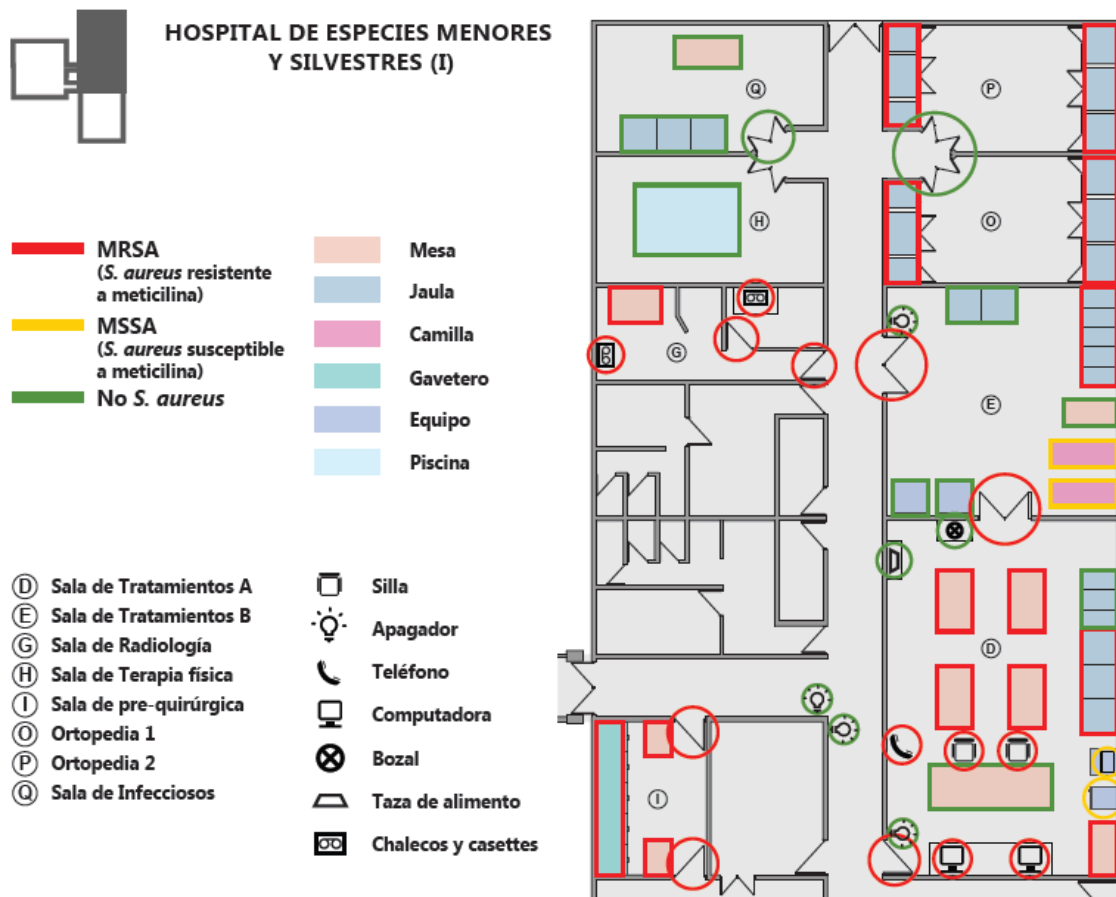
Mapeo de las superficies en las que se aisló *S. aureus* en el HEMS, ala sur del hospital.



Mapeo de las superficies en las que se aisló *S. aureus* en el HEMS, ala este del hospital.



Mapeo de las superficies en las que se aisló MRSA en el HEMS, ala sur del hospital.



Mapeo de las superficies en las que se aisló MRSA en el HEMS, ala nortedel hospital.



Mapeo de las superficies en las que se aisló *S. aureus* en el HEMS, ala este del hospital.

Anexo 5

Manual de prevención y control de enfermedades nosocomiales en el HEMS

Universidad Nacional

Facultad Ciencias de la Salud

Escuela de Medicina Veterinaria

Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Universidad Nacional

Manual para el Control y Prevención de Infecciones Nosocomiales

Elaborado por: Irene Rojas Núñez

Basado en: Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings y The OSU Medical Center Infection Control Manual.

2014

Tabla de contenidos

Tabla de contenidos.....	1
1. Higiene de las manos.....	5
I. Resumen.....	5
II. Lavado de manos.....	5
A. Objetivo.....	5
B. Indicaciones.....	5
C. Producto a usar.....	6
D. Técnica.....	6
III. Desinfección de las manos.....	6
A. Objetivo.....	6
B. Indicaciones.....	6
C. Producto a usar.....	7
D. Técnica.....	7
IV. Restregado de manos.....	7
A. Objetivo.....	7
B. Indicaciones.....	7
C. Producto a usar.....	7
D. Técnica.....	7
V. Uso de los guantes.....	8
A. Objetivo.....	8
B. Indicaciones.....	8
C. Producto a usar.....	8
D. Técnica.....	8
VI. Lavado quirúrgico de manos y brazos.....	8
A. Objetivo.....	8
B. Indicaciones.....	8
C. Producto a usar.....	8
D. Técnica.....	9
VII. Cuidado de las manos.....	9

2. Prácticas estándar para el manejo de enfermedades infecciosas en pequeñas especies.....	10
I. Clasificación de las enfermedades infecciosas.....	10
II. Admisión de pacientes sospechosos de enfermedades de alto riesgo.....	11
A. Sospecha de paciente con enfermedad de alto riesgo previo a su ingreso al hospital.....	11
B. Sospecha de paciente con enfermedad de alto riesgo identificada hasta después de que el paciente es ingresado al hospital.....	11
III. Admisión de pacientes con sospecha de enfermedades infecciosas de riesgo moderado.....	11
IV. Admisión de pacientes con sospecha de enfermedad infecciosa potencialmente zoonótica.....	12
V. Procedimientos de transporte, entrada y salida de la unidad de aislamiento.....	13
A. Identificación.....	13
B. Procedimientos de entrada y salida del personal.....	13
i. Entrada y salida de personal.....	13
ii. Contacto durante el transporte.....	13
C. Transporte del paciente hacia o desde la sala de aislamiento.....	14
i. Paciente que no ha sido ingresado al hospital.....	14
ii. Paciente que ya está internado en un área de no aislamiento....	14
iii. Paciente que está internado en el cuarto de aislamiento.....	14
D. Contaminación de personas en contacto con el paciente sospechoso de padecer una enfermedad de alto riesgo infecciosa.....	14
E. Manejo de la basura y procedimientos de limpieza.....	15
F. Paseo para perros con enfermedades infecciosas.....	15
G. Muestras biológicas para diagnóstico.....	15
H. Manejo de los cadáveres para examinación postmortem.....	15
3. Manejo de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA) en el HEMS.....	16
I. Manejo de pacientes con MRSA.....	16
A. Infección confirmada por MRSA.....	16
B. Sospecha de infección por MRSA.....	16

C.	Colonización por MRSA.....	16
II.	Identificación de MRSA por el Laboratorio de Bacteriología.....	17
III.	Pacientes internados con infección confirmada por MRSA.....	17
A.	Completar un registro del manejo del caso.....	17
B.	Informar a la dirección del hospital.....	17
C.	Pacientes con MRSA que son enviados a casa.....	18
D.	Pacientes con MRSA que son reubicados a la unidad de pacientes infecciosos.....	18
E.	Pacientes que han estado en contacto con el paciente con MRSA.....	18
F.	Personal que ha estado en contacto con el paciente con MRSA.....	18
G.	Comunicación con el propietario.....	18
H.	Comunicación con el veterinario de referencia.....	18
I.	Marcar el expediente médico del paciente.....	18
J.	Visitas futuras del paciente con MRSA al HEMS.....	18
IV.	Pacientes hospitalizados o no hospitalizados con sospecha de infecciones por MRSA.....	19
A.	Manejo y transporte del paciente.....	19
B.	Informar a la dirección del hospital.....	19
C.	Pacientes con MRSA que se despachan de forma inmediata.....	19
D.	Comunicación con el propietario.....	19
E.	Comunicación con el veterinario que refirió el caso.....	19
V.	Pacientes colonizados pero no infectados con MRSA.....	19
A.	Manejo y transporte de pacientes colonizados con MRSA.....	19
B.	Comunicación con el propietario.....	20
C.	Comunicación con el veterinario de referencia.....	20
D.	Etiquetado del expediente del paciente.....	20
E.	Visitas futuras del paciente con MRSA al HEMS.....	20
VI.	Salida de pacientes con MRSA.....	20
VII.	Pacientes nuevos con MRSA.....	21
VIII.	Personal del HEMS con infecciones por MRSA.....	22

Anexo 1. Procedimientos estándar de limpieza.....	23
Anexo 2. Pacientes con MRSA: esquemas de manejo y procedimientos.....	26
Anexo 3. Personas con riesgo especial de adquirir infecciones al trabajar con pacientes en el HEMS.....	30

1. Higiene de las manos

Se ha demostrado que, las buenas prácticas de higiene de las manos juegan un papel importante en la erradicación de brotes, la disminución de la transmisión de microorganismos y la reducción de las tasas de infección.

Las siguientes recomendaciones sobre el aseo de las manos han sido adaptadas y adoptadas de: Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings y de: The OSU Medical Center Infection Control Manual.

I. Resumen

El lavado de manos es una de las medidas más simple, efectivas e importantes para la prevención de la transmisión de microorganismos entre pacientes, personal y visitantes en los centros de salud.

Las técnicas de higiene de las manos incluyen:

1. Lavado de manos.
2. Desinfección de las manos.
3. Secado de manos.
4. Uso de guantes.
5. Lavado quirúrgico.
6. Cuidado de las manos.

II. Lavado de manos

- A. Objetivo: el propósito del lavado de manos es remover de forma mecánica polvo y partículas de la piel, y reducir el número de microorganismos transitorios que han sido adquiridos por contacto reciente con pacientes infectados o colonizados y/o con superficies ambientales contaminadas.
- B. Indicaciones: cuando no exista una emergencia verdadera en el Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (HEMS) los operadores, miembros o no del equipo veterinario, deben lavarse las manos inmediatamente o tan pronto cuando les sea posible cuando:
 1. Las manos estén visiblemente sucias.
 2. Antes y después de tener contacto con un paciente.
 3. Luego del contacto con sangre, fluidos corporales, membranas mucosas y superficies de piel no intactas de los pacientes.

4. Luego del contacto con objetos inanimados y superficies que son propensas a estar contaminadas.
 5. Luego de que se quitan los guantes.
 6. Entre procedimientos o tareas que se realicen en un mismo paciente, con el fin de evitar la contaminación cruzada a distintos sitios corporales del mismo paciente. Se debe trabajar desde las áreas corporales menos contaminadas hacia las más contaminadas en un mismo paciente.
 7. Luego del uso de los sanitarios.
 8. Luego de ejercitar o pasear algún paciente.
- C. Producto: para lavado de manos de rutina usar un jabón suave no antimicrobiano.
- D. Técnica:
1. Humedecer las manos con abundante agua, preferiblemente con agua tibia.
 2. Aplicar el jabón para el lavado de las manos.
 3. Frotar todas las partes de las manos por al menos 10 -15 segundos, prestar atención especial a las áreas bajo las uñas y entre los dedos.
 4. Enjuagar manos con abundante agua.
 5. Secar las manos con toallas de papel o bien con una secadora con aire caliente.
 6. Si los lavamanos no se abren con controles no manuales (cerrado automático, sensor o control con pedal), se debe usar toalla de papel para cerrar la llave del tubo.

III. Desinfección de las manos

- A. Objetivo: el propósito del lavado de manos es remover de forma mecánica polvo y partículas de la piel y reducir significativamente el número de microorganismos transitorios y residentes de las manos. Los organismos residentes son aquellos que están presentes de forma normal en las manos de la mayoría de las personas. Usualmente estos microorganismos tienen baja patogenicidad, pero pueden causar infecciones en pacientes inmunosupresos. Los microorganismos residentes no son fáciles de remover de forma mecánica, pero usualmente los antisépticos para manos que contienen ingredientes antimicrobianos los eliminan o bien los inhiben.
- B. Indicaciones:
1. En situaciones clínicas en las que remover microorganismos de las manos sea particularmente importante.
 2. Antes de realizar procedimientos invasivos, como colocación de catéteres uretrales o punción epidural.
 3. Antes de entrar en contacto con pacientes en condiciones de susceptibilidad como lo son: neonatos, pacientes en cuidados intensivos, pacientes inmunosupresos.

4. Luego de entrar en contacto con pacientes en aislamiento y/o contacto con objetos o superficies que podrían estar contaminados con microorganismos de esos pacientes.

C. Producto a usar: se debe usar jabón antimicrobiano.

D. Técnica del lavado de manos:

1. Humedecer las manos con abundante agua, preferiblemente con agua tibia.
2. Aplicar el jabón con ingredientes antimicrobianos.
3. Frotar todas las partes de las manos por al menos 10 -15 segundos, prestar atención especial a las áreas bajo las uñas y entre los dedos.
4. Enjuagar manos con abundante agua.
5. Secar las manos con toallas de papel o bien con una secadora con aire caliente.
6. Si los lavamanos no se abren con controles no manuales (cerrado automático, sensor o control con pedal), se debe usar toalla de papel para cerrar la llave del tubo.

IV. Restregado de manos

A. Objetivo: el propósito del restregado de manos es inhibir o matar la flora transitoria y residente, para esto se usan agentes que no contengan agua y que sean elaborados a base de alcohol. Esta técnica puede sustituir el lavado de manos a menos que las manos estén visiblemente sucias, en ese caso se debe remover de forma mecánica la suciedad antes de usar un agente especializado para el restregado de manos.

B. Indicaciones:

1. En situaciones clínicas en las que remover microorganismos de las manos sea particularmente importante.
2. Antes de realizar procedimientos invasivos, como colocación de catéteres uretrales o punción epidural.
3. Antes de entrar en contacto con pacientes en condiciones de susceptibilidad como lo son: neonatos, pacientes en cuidados intensivos, pacientes inmunosupresos.
4. Luego de entrar en contacto con pacientes en aislamiento y/o contacto con objetos o superficies que podrían estar contaminados con microorganismos de esos pacientes.

C. Producto: producto a base de alcohol y sin agua.

D. Técnica:

1. Aplicar suficiente producto para cubrir toda la superficie de las manos y dedos.

2. Restregar el producto de forma vigorosa en las manos hasta que este se seque, aproximadamente 30 segundos.

V. Uso de los guantes

- A. Objetivo: los guantes de examinación desechables pueden ser usados como parte de un programa de higiene.
- B. Indicaciones: los guantes deben usarse cuando se estén manipulando materiales potencialmente peligrosos como heces, orina, secreciones corporales, especialmente cuando estos contengan residuos biológicos peligrosos como antibióticos, agentes quimioterapéuticos, o agentes con potencial zoonótico.
- C. Producto: guantes de examinación desechables de tamaño apropiado.
- D. Técnica:
 1. Retirar anillos, relojes y brazaletes.
 2. Lavar, desinfectar y restregar las manos.
 3. Colocar cuidadosamente los guantes en cada mano, sin romperlos.
 4. Realizar la labor.
 5. No tocar objetos inanimados o/y superficies luego de haber estado en contacto con el paciente.
 6. Quitarse los guantes y desecharlos en un basurero para materiales de riesgo biológico.
 7. Desinfectar inmediatamente todos aquellos objetos inanimados o superficies con los que pudo haber estado en contacto usando los guantes contaminados.
 8. Desinfectarse las manos o restregárselas.

VI. Lavado quirúrgico de manos y brazos

- A. Objetivo: remover de forma mecánica suciedad, partículas de piel y microorganismos transitorios, reducir la flora residente a lo largo del procedimiento quirúrgico.
- B. Indicaciones: el lavado quirúrgico debe ser hecho antes de realizar un procedimiento invasivo que involucra sitios estériles del cuerpo como órganos.
- C. Producto: Clorhexidina al 4% o Yodo povidona al 1%.
- D. Técnica:
 1. Quitar anillos, relojes y brazaletes.

2. Lavar manos y brazos hasta el codo.
3. Limpiar las uñas con un cepillo limpiador de uñas.
4. Enjuagar con agua abundante.
5. Aplicar de 3 a 5 ml del agente antimicrobiano.
6. Restregar de forma vigorosa las manos, dedos y antebrazos por al menos 5 minutos. Se puede utilizar un cepillo o esponja.
7. Enjuagar brazos y manos con abundante agua, manteniendo las manos siempre a mayor altura que los codos.
8. Mantener las manos en alto y alejadas del cuerpo, no tocar ninguna superficie ni artículo contaminado, secar las manos con una toalla estéril.

VII. Cuidado de las manos

Cada miembro del personal debe ser responsable por el cuidado de sus propias manos. El lavado frecuente y uso de productos puede causar resequedad e irritación de las manos. Las personas con manos irritadas lavan y desinfectan con menos frecuencia sus manos, debido a la irritación. El personal debe usar lociones hidratantes para evitar el deterioro de sus manos.

2. Prácticas estándar para el manejo de enfermedades infecciosas en pequeñas especies

I. Clasificación de las enfermedades infecciosas

Las enfermedades infecciosas que afectan a las pequeñas especies se han dividido en varias categorías basándose en el criterio del College Infectious Disease Committee (CIDC) de Ohio State University y están listadas en la Tabla 2. Las enfermedades en la categoría de Riesgo alto son enfermedades que se diseminan con facilidad entre pacientes susceptibles y son enfermedades con morbilidad significativa o con riesgo de muerte. Las enfermedades en la categoría de Riesgo moderado son enfermedades contagiosas para pacientes susceptibles, donde bajo condiciones normales de hospital la transmisión es poco común pero posible; algunas de estas enfermedades tienen morbilidad y mortalidad significativa. Las enfermedades zoonóticas pueden ser transmitidas a humanos y por lo tanto se requieren precauciones especiales.

Tabla 2. Clasificación de enfermedades y medidas protectoras requeridas para el personal

Riesgo alto	Riesgo moderado	Potencial zoonótico
Parvovirus canino [*]	Leptospirosis ^{§*}	Rabia [*]
Distemper canino [*]	Peritonitis infecciosa felina [§]	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA)
Traqueobronquitis infecciosa canina ^{§*}	Salmonelosis [*]	Leptospirosis ^{§*}
Calicivirus felino [§]	Campylobacteriosis [*]	Brucelosis Canina ^{¶*}
Rinotraqueitis felina [§]	Otras bacterias con resistencias a múltiples drogas [§]	Esporotrichosis [§]
Panleucopenia felina	Giardiasis [*]	Dermatofitosis [§]
Influenza Canina [*]	Criptosporidiosis [*]	Giardiasis [*]
<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA)	Hepatitis infecciosa canina (CAV-1) [§]	Salmonelosis [*]
Clamidiosis ^{§¶}	Virus de la leucemia felina [§]	Campylobacteriosis [*]
Brucelosis Canina [¶]	Virus de la inmunodeficiencia felina [§]	Toxoplasmosis [§]
		Criptosporidiosis [*]

* Enfermedad de reporte obligatorio según SENASA

§ Uso de guantes y gabacha/uniforme completo

|| Uso de guantes y gabacha/uniforme completo y cobertores de zapatos

¶ Uso de protección a los ojos

♣ Área especial para pacientes con la enfermedad

II. Admisión de pacientes sospechosos de enfermedad de alto riesgo

A. Sospecha de paciente con enfermedad de riesgo alto previo a su ingreso al hospital

Todos los pacientes con sospecha o confirmación de enfermedad infecciosa (Ver Tabla 2) deben permanecer aislados en la sección de pacientes infecciosos. El personal en contacto con estos pacientes debe implementar siempre el uso de uniforme completo, guantes y cobertores de zapatos. Los perros con parvovirus confirmado por pruebas serológicas o con leucopenia deben permanecer en la sección de pacientes infecciosos. Si la prueba serológica es negativa y no hay neutropenia, el paciente debe ser manejado con medidas de protección especial como lo son gabacha y guantes por 24 horas o hasta que la causa de la diarrea no se considere infecciosa.

B. Sospecha de paciente con enfermedad de riesgo alto identificada hasta después de que el paciente es ingresado al hospital

Si un paciente ingresa al hospital antes de que se haya identificado el riesgo de una posible enfermedad infecciosa, se deben identificar todas las áreas posiblemente contaminadas. Se debe también trasladar el paciente a la sala de pacientes infecciosos. El consultorio en que se examinó, el lugar donde el paciente estuvo en espera a ser atendido, y todos aquellos lugares donde se sabe que pudo ocurrir contaminación deben ser desinfectados. Todo el personal que manipule el animal debe usar medidas de protección, si la ropa de alguno de los miembros del personal se contamina con fluidos potencialmente peligrosos debe realizar cambio de ropa, lavado de manos y desinfección de manos. Se debe informar a los propietarios de pacientes, que hayan estado expuestos al paciente infeccioso en la sala de espera, del riesgo y de los síntomas de la enfermedad en cuestión, se debe también revisar el estado de vacunación de los pacientes y actualizarlo, sobre todo si se trata de enfermedades como parvovirus canino, distemper, panleucopenia, traqueobronquitis infecciosa.

III. Admisión de pacientes con sospecha de enfermedades infecciosas de riesgo moderado

A. Los pacientes que ingresen bajo sospecha de enfermedad infecciosa de riesgo moderado deben ser ingresados a la sala de pacientes infecciosos y tratados como tales, esto en caso de que estén hospitalizados pacientes en estado de inmunosupresión que los haga susceptibles a la enfermedad infecciosa en cuestión.

B. Los clientes y personal del hospital que requieran estar en contacto con pacientes con sospecha de enfermedad infecciosa de riesgo moderado deben

usar medidas de protección. Los desechos bioinfecciosos deben ser descartados en un basurero clasificado como de riesgo infeccioso. Todo el personal que entre en contacto con el paciente debe lavarse y desinfectarse las manos luego de remover las medidas de protección (gabacha y guantes) y antes de entrar en contacto con otro paciente. Todo aquel equipo diagnóstico que entre en contacto con el paciente debe ser desinfectado antes de entrar en contacto con otro paciente.

IV. Admisión de pacientes con sospecha de enfermedad infecciosa potencialmente zoonótica

- A. Todos los pacientes con sospecha de padecer una enfermedad con potencial zoonótico se deben admitir en la sección de cuarentena y aislamiento del hospital y deben ser tratados como un paciente con una enfermedad infecciosa de alto riesgo. Esto será necesario en los siguientes casos: si hay pacientes inmunosupresos internados que estén en riesgo de adquirir la enfermedad, si el potencial zoonótico de la enfermedad en cuestión es muy alto, si deben ser tomadas precauciones especiales para evitar la transmisión a humanos.
- B. El personal del hospital y/o los clientes que requieran tener contacto con el paciente sospechoso de padecer una enfermedad zoonótica deben seguir las precauciones especificadas en la sección: Admisión de pacientes sospechosos de enfermedad de alto riesgo
- C. Aquellas personas que hayan entrado en contacto con el paciente sospechoso de padecer enfermedad zoonótica transmisible por fómites sin las medidas de protección adecuadas, no podrán ingresar a áreas de preparación o consumo de alimentos para humanos usando la misma ropa que usó durante la exposición a la enfermedad. La ropa y zapatos potencialmente contaminados deben de cambiarse antes de dejar el edificio, se deben almacenar en una bolsa y se deben someter a lavado en la casa de la persona, la suela y costados de los zapatos deben ser desinfectados.
- D. Admisión de un perro o gato con sospecha de tener una enfermedad de reporte obligatorio.
 Todo aquel animal que se considere que padece de una enfermedad de reporte obligatorio debe ser reportado a las autoridades correspondientes. Aquellos animales con sospecha de padecer rabia deben permanecer aislados y ser señalados con un rótulo de peligro biológico donde se indique que es sospechoso de padecer rabia. Solamente el personal, internos, residentes o estudiantes que hayan sido vacunados contras la rabia con una vigencia de dos años se harán cargo del paciente.

V. Procedimientos de transporte, entrada y salida de la unidad de aislamiento

A. Identificación

Los animales con sospecha o confirmación de las enfermedades enlistadas en la Tabla 2 que estén internados en el HEMS deben estar identificados usando un rótulo de Alerta por peligro biológico, el mismo debe indicar que medidas de protección se deben seguir al manipular al paciente.

B. Procedimientos de entrada y salida del personal

i. Entrada y salida de personal

Todo el material a usar debe ser reunido y preparado antes de la entrada al cuarto de aislamiento. Una vez que el material esté listo, el personal debe colocarse las medidas de protección necesarias antes de entrar al cuarto de aislamiento. Debe existir rotulación a la entrada del cuarto de aislamiento que indique las medidas de protección necesarias para el ingreso. Los dispositivos de seguridad se deben colocar en el siguiente orden: gabacha, mascarilla, protección para los ojos, cobertores de zapatos y guantes. Todos los procedimientos de medicación y diagnóstico deben ser llevados a cabo dentro del cuarto de aislamiento en la medida de lo posible. Al terminar de manipular al paciente, el personal debe limpiar el área exhaustivamente. Todo el material infeccioso debe ser removido del suelo usando un trapeador y jabón detergente, luego debe aplicar un desinfectante apropiado y permitir que este se seque. Todo el material sucio de las jaulas debe ser desechado en un basurero de bolsa roja (riesgo biológico). La remoción de los dispositivos de seguridad se debe hacer en el siguiente orden: gabacha (si es desechable, botar en el basurero de bolsa roja), cobertores de zapatos (si es desechable, botar en el basurero de bolsa roja), guantes (descartar en el basurero de bolsa roja), protección para los ojos (si es desechable, botar en el basurero de bolsa roja), mascarilla (si es desechable, botar en el basurero de bolsa roja). Todo el personal por salir de la sala de aislamiento debe realizar procedimientos de antisepsis para las manos antes de dejar la misma. Si algún artículo de la vestimenta del personal entra en contacto con material contaminado o bien con el paciente, se debe seguir el procedimiento especificado en la sección D siguiente.

ii. Contacto durante el transporte

Todo aquel personal que vaya a entrar en contacto con el paciente durante el transporte y procedimientos diagnósticos debe estar adecuadamente protegido con las medidas de seguridad apropiadas. Luego de haber entrado en contacto con el paciente, el equipo debe ser desinfectado. Todo el equipo de protección utilizado debe ser desechado en sala de aislamiento en el basurero de material de riesgo biológico. Todo el personal que haya estado involucrado en el procedimiento debe realizar desinfección de las manos luego de remover las medidas de seguridad y antes de entrar en contacto con otro paciente. Si algún artículo de la vestimenta del personal entra en contacto con material contaminado o bien con el paciente, se debe seguir el procedimiento especificado en la sección D siguiente.

C. Transporte del paciente hacia o desde la sala de aislamiento

i. Paciente que no ha sido ingresado al hospital

A excepción de los pacientes de menos de 5 kg que pueden ser cargados, todos los pacientes deben ser transportados en una camilla designada para pacientes infecciosos. Se debe cubrir la camilla con material absorbente para evitar el derrame y contaminación con material infeccioso (secreciones de heridas, heces, orina y vómito) durante el transporte. La camilla no debe entrar al cuarto de aislamiento. El paciente se debe alzar de la camilla hacia la jaula en el cuarto de aislamiento. Debe haber un encargado de limpiar el piso de la ruta por la que se transportó el paciente infeccioso. Todas las superficies de la camilla se deben desinfectar cada vez que es usada, incluyendo las ruedas, se debe dejar secar luego de aplicado el desinfectante.

ii. Paciente que ya está internado en un área de no aislamiento

El paciente debe ser transportado inmediatamente de la manera descrita en la sección anterior i.

iii. Paciente que está internado en el cuarto de aislamiento

Cuando el paciente necesite salir del cuarto de aislamiento para procedimientos diagnósticos o para ser descartado o dado de alta, debe ser transportado de la manera descrita en la sección anterior i.

D. Contaminación de personas en contacto con el paciente sospechoso de padecer una enfermedad de alto riesgo infecciosa

Los propietarios de animales con enfermedades altamente infecciosas o zoonóticas deben entrar al hospital únicamente cuando sea necesario y deben usar ropa limpia sin contaminación. Los clientes que estén usando ropa potencialmente contaminada deben lavarse y desinfectarse las manos y el hospital debe proveerlos de medidas de protección adecuadas

(gabacha, guantes, etc), antes de entrar en contacto con el personal del hospital. Si es necesario los clientes deben ser dirigidos directamente a los baños de la recepción para que hagan cambio de ropa e higiene de las manos, el personal de limpieza debe desinfectar el área inmediatamente después. Se debe instruir a los clientes de las políticas de entrada y salida del cuarto de aislamiento en caso de que visitas sean autorizadas.

Cualquier persona (estudiante, clínico, técnico, miembro del personal) que tenga contacto con el paciente sospechoso de padecer una enfermedad potencialmente infecciosa o zoonótica, o bien que durante sus labores usando medidas de protección se contamine, debe ser proveído medidas de seguridad limpias y no contaminadas, o debe cambiar sus ropas. La ropa contaminada debe ser colocada en una bolsa plástica y transportada para ser lavada en la casa de la persona. Luego de colocar la ropa contaminada en la bolsa, la persona debe lavar y desinfectar sus manos antes de tener contacto con pacientes o clientes.

E. Manejo de la basura y procedimientos de limpieza

La basura debe ser colocada en bolsas rojas para materiales de riesgo biológico. Los basureros no deben ser sobrecargados de basura. Una vez que las bolsas tengan carga suficiente se deben cerrar y procesar de manera adecuada. Las bolsas no se deben transportar por el pasillo principal, sino que deben salir por la puerta más cercana posible sin recorrer innecesariamente otras áreas del hospital. Todo el cuarto de aislamiento debe ser aseado y desinfectado cada vez que un paciente deje la sala. Se debe prestar atención especial a la limpieza de paredes y equipo que haya sido contaminado con material infeccioso.

F. Paseo para perros con enfermedades infecciosas

Los pacientes internados en el cuarto de aislamiento no deben hacer paseos en las afueras del hospital, ni dentro del mismo.

G. Muestras biológicas para diagnóstico

Todas aquellas muestras con potencial zoonótico deben ser colocadas en un contenedor plástico o en una bolsa plástica que se pueda sellar y deben estar claramente identificadas como peligro biológico. La parte externa del contenedor de la muestra debe estar libre de cualquier contaminante biológico (sangre, orina, heces, otros). Si los agentes de la muestra poseen potencial para dispersarse en forma de aerosol, se debe notificar al laboratorio para que adopten las medidas de protección adecuadas.

H. Manejos de los cadáveres para examinación postmortem

Todo animal con sospecha de enfermedad zoonótica debe ser debidamente identificado como peligro biológico antes de ser remitido al servicio de necropsia.

3. Manejo de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) en el HEMS

MRSA es una variedad de *S. aureus* que es resistente a meticilina por la presencia del gen *mecA*, por la producción de PBP2a y por la resistencia in vitro a oxacilina. MRSA ha sido una amenaza nosocomial importante en hospitales humanos por varias décadas y recientemente ha emergido como patógeno importante en la comunidad. Recientemente han sido documentadas epidemias en hospitales de enseñanza veterinaria de Norte América, en los cuales, pacientes animales y personal del hospital han sido colonizados y se han visto clínicamente afectados luego de la exposición dentro del hospital. Se considera a MRSA como una amenaza potencial para los pacientes del HEMS y su personal. El propósito de este apartado es facilitar la detección y control de infecciones nosocomiales por MRSA en el HEMS.

La presente guía se enfoca en la detección, control, tratamiento y vigilancia de MRSA en el HEMS con el objetivo de minimizar el riesgo de propagación e infección de pacientes y personal del HEMS.

La atención diligente al potencial de propagación de MRSA es primordial.

- Las personas en riesgo de desarrollar infecciones por MRSA (ver Anexo 3) al ser expuestas a la bacteria, no deben estar involucradas directamente en el manejo y tratamiento de pacientes con MRSA, ni en labores de limpieza y desinfección de las áreas o equipo que hayan estado en contacto con el paciente.
- El personal que estén participando en el cuidado de un paciente sospechoso o con confirmación de tener MRSA, debe minimizar el contacto con otros pacientes que se crea que pueden estar inmunosupresos.
- Una persona de cada equipo de trabajo será asignada para trabajar con pacientes con infecciones por MRSA en el cuarto de aislamiento.

I. Manejo de pacientes con MRSA (ver Anexo 1)

- **Infección confirmada por MRSA:** todo aquel paciente con una infección (invasión microbiana de tejidos normalmente estériles, acompañado de signos de enrojecimiento, inflamación, fiebre, descargas, dolor) de la que MRSA ha sido cultivado.

- **Sospecha de infección por MRSA:** cualquier paciente con una infección (como la descrita anteriormente) que a evaluación citológica de un aspirado del área afectada presente bacterias en forma de coco, y que ha sido tratado con antibióticos por tres o más días sin respuesta aparente a la terapia, y del cual el resultado del cultivo esté pendiente aún. Las infecciones por MRSA deben ser sospechosas en casos de infecciones de sitios de cirugía.
- **Colonización por MRSA:** cualquier paciente del cual MRSA haya sido aislado de un sitio de no infección sino de narinas, orejas, axila, perineo, pero que no presenten infección al momento del muestreo.

El manejo y decisiones relativos al tratamiento de pacientes con MRSA y la prevención de propagación de la infección a otros pacientes estará en manos del personal del HEMS, con estricto apego a las recomendaciones de este manual.

II. Identificación de MRSA por el Laboratorio de Bacteriología

Todos los *S. aureus* aislados serán sometidos a los siguientes procedimientos:

- Prueba de susceptibilidad a oxacilina.
- Si la bacteria muestra resistencia al disco de oxacilina a pesar de mostrar susceptibilidad a otros antibióticos β -lactámicos, se rayará en agar manitol sal con oxacilina. La prueba en agar manitol sal con oxacilina no será necesaria si la resistencia del *S. aureus* es uniforme para todos los antibióticos β -lactámicos utilizados en el antibiograma.
- Idealmente se deberá identificar el gen *mecA* en las cepas aisladas para la confirmación.
- El laboratorio debe notificar inmediatamente al personal del HEMS los hallazgos.

III. Pacientes internados con infección confirmada por MRSA

- a. Completar un registro del manejo del caso
 - i. Luego de la notificación del aislamiento de MRSA, se deben registrar los movimientos del paciente, el personal expuesto, historia de antibióticos administrados, en el expediente impreso del paciente se debe tener el registro del manejo del caso.
- b. Informar a la dirección del hospital
 - i. Una vez que el registro de manejo del caso de MRSA haya sido completado, el clínico a cargo del caso debe informar a la dirección del hospital y este debe reunir al menos a un clínico más que esté a cargo del caso para la discusión del mismo. Este grupo hará una revisión del caso y decidirá:
 - ii. Envío del paciente a casa de forma inmediata.
 - iii. Reubicación del paciente a la unidad de pacientes infecciosos.

- iv. El envío a casa es la opción preferida. Si el paciente necesita permanecer en el hospital, se debe procurar limitar la diseminación de la infección a otros pacientes y personal. Se debe asignar al clínico encargado del caso, al asistente y al estudiante que van a estar a cargo del paciente.

- c. Pacientes con MRSA que son enviados a casa
 - i. El propietario debe ser informado de la presencia de MRSA en su mascota. Hasta el momento de enviar a casa el paciente debe ser manejado como un paciente con enfermedad infecciosa de alto riesgo.
- d. Pacientes con MRSA que son reubicados a la unidad de pacientes infecciosos
 - i. El transporte se debe hacer de acuerdo a lo propuesto anteriormente para el transporte de pacientes con enfermedad infecciosa de alto riesgo.
- e. Pacientes que han estado en contacto con el paciente con MRSA
 - i. Se identificará aquellos pacientes que hayan estado en contacto con el paciente con MRSA o que hayan estado expuestos a cobijas, equipo o materiales contaminados. A estos pacientes se les debe tomar muestra con hisopo de mucosa nasal y mucosa anal para cultivo y antibiograma.
- f. Personal que ha estado en contacto con el paciente con MRSA
 - i. Se debe proveer a aquel personal que vaya a estar en contacto con el paciente con MRSA de la información necesaria para su correcto manejo.
- g. Comunicación con el propietario
 - i. Se debe informar al propietario de los resultados del cultivo y antibiograma y de sus posibles implicaciones para la salud del animal y para la salud de las personas que viven con el animal.
- h. Comunicación con el veterinario de referencia
 - i. Se debe informar al veterinario de referencia del paciente que MRSA ha sido aislado del paciente. Si el animal no fue referido por otro veterinario, el clínico debe solicitar el permiso del propietario para contactar al veterinario que atiende al paciente de forma regular y debe ser informado de la misma manera que los veterinarios que refieren casos.
- i. Marcar el expediente médico del paciente
 - i. El expediente médico de todos los pacientes con MRSA debe ser identificado usando una etiqueta adhesiva, en la primer hoja, diseñada para este propósito y usando una nota electrónica en el expediente electrónico del paciente.
- j. Visitas futuras del paciente con MRSA al HEMS

- i. Las visitas de seguimiento deben ser minimizadas tanto como sea posible sin comprometer el cuidado del paciente. Los procedimientos de estas visitas deben seguir todas las medidas estipuladas en este manual para el manejo de estos pacientes. Solo si el paciente tiene dos cultivos negativos a MRSA de mucosa nasal y mucosa anal, con al menos 3 meses entre cada cultivo entonces el paciente puede ser tratado como un paciente sin MRSA. Se debe actualizar su expediente con su nueva condición.

IV. Pacientes hospitalizados o no hospitalizados con sospecha de infecciones por MRSA

A. Manejo y transporte del paciente

El transporte y cuidado del paciente debe seguir el protocolo de manejo para pacientes con enfermedad infecciosa de alto riesgo hasta que la infección sea confirmada o descartada. Esto incluye ubicar al paciente en la sala de aislamiento.

B. Informar a la dirección del hospital

Una vez que el registro de manejo del caso de MRSA haya sido completado, el clínico a cargo del caso debe informar a la dirección del hospital y este debe reunir al menos a un clínico más que esté a cargo del caso para la discusión del mismo. Este grupo hará una revisión del caso y decidirá:

- i. Envío del paciente a casa de forma inmediata.
- ii. Reubicación del paciente a la unidad de pacientes infecciosos.

El envío a casa es la opción preferida. Si el paciente necesita permanecer en el hospital, se debe procurar limitar la diseminación de la infección a otros pacientes y personal. Se debe asignar al clínico encargado del caso, al asistente y al estudiante que van a estar a cargo del paciente.

C. Pacientes con MRSA que se despachan de forma inmediata

El propietario debe ser informado de la sospecha de la presencia de MRSA en el paciente, hasta el momento en que el paciente salga del hospital debe ser tratado como un animal con enfermedad infecciosa de alto riesgo.

D. Comunicación con el propietario

El clínico encargado del paciente debe informar de forma inmediata al propietario de la sospecha del estado portador de MRSA de su mascota y del resultado del cultivo bacteriano (cuando esté disponible).

E. Comunicación con el veterinario que refirió el caso

Se debe informar al veterinario de referencia del paciente que MRSA ha sido aislado de su paciente. Si el animal no fue referido por otro veterinario, el clínico debe solicitar el permiso del propietario para contactar al veterinario que atiende al paciente de forma regular y debe ser informado de la misma manera que los veterinarios que refieren casos.

V. Pacientes colonizados pero no infectados con MRSA

- A. Manejo y transporte de pacientes colonizados con MRSA
El personal debe usar guantes y gabacha desechable al manejar pacientes colonizados con MRSA. Los pacientes no deben caminar por el hospital, deben ser transportados en camillas específicas para pacientes infecciosos. Los pacientes colonizados no deben tener ningún tipo de contacto con otros pacientes hospitalizados, deben mantener una distancia mínima de 1.5 metros entre ellos. Se debe rotular la jaula en la que el animal va a residir con una señal de peligro infeccioso. No se deben caminar en los mismos espacios que los demás pacientes.
- B. Comunicación con el propietario
Si el propietario no conoce el estado de colonización por MRSA del paciente, debe ser informado con el resultado del cultivo.
- C. Comunicación con el veterinario de referencia
Se debe informar al veterinario de referencia del paciente que MRSA ha sido aislado del paciente. Si el animal no fue referido por otro veterinario, el clínico debe solicitar el permiso del propietario para contactar al veterinario que atiende al paciente de forma regular y debe ser informado de la misma manera que los veterinarios que refieren casos.
- D. Etiquetado del expediente del paciente
Se debe etiquetar el expediente del paciente con una etiqueta adhesiva en la portada del mismo. Si el expediente es digital también se debe etiquetar o señalar.
- E. Visitas futuras del paciente con MRSA al HEMS
Las visitas de seguimiento deben ser minimizadas tanto como sea posible sin comprometer el cuidado del paciente. Los procedimientos de estas visitas deben seguir todas las medidas estipuladas en este manual para el manejo de estos pacientes. Solo si el paciente tiene dos cultivos negativos a MRSA de mucosa nasal y mucosa anal, con al menos 3 meses entre cada cultivo entonces el paciente puede ser tratado como un paciente sin MRSA. Se debe actualizar su expediente con su nueva condición.

VI. Salida de pacientes con MRSA

- Completar el expediente de manejo del caso

- Completar la información sobre el manejo que se le dio, movimientos del paciente, personal expuesto, antibióticos administrados.

VII. Pacientes nuevos con MRSA

- Pacientes nuevos con MRSA diagnosticada o bajo sospecha
Deben ser identificados al ingresar al hospital. Todos los pacientes referidos con infecciones en piel, huesos o sitios de cirugía que no han respondido bien a las terapias antibióticas, son sospechosos de portar MRSA y serán manejados como tales. Los pacientes serán ingresados al hospital solo en casos estrictamente necesarios.

VIII. Personal del HEMS con infecciones por MRSA

Todo aquel personal que tenga una infección activa por MRSA debe limitar su contacto con pacientes y con el resto del personal de la siguiente manera:

- Si el médico humano lo recomienda debe incapacitarse.
- Cuando está trabajando el sitio de infección debe estar cubierto todo el tiempo.
- Se debe minimizar el contacto con pacientes.
- El personal puede requerir que se le reasignen labores y deben reportar su estatus al director del personal.

El personal colonizado pero no infectado con MRSA debe evitar el contacto con pacientes inmunosuprimidos y debe reportar cualquier incumplimiento de las técnicas de esterilidad durante procedimientos invasivos o cirugías

Procedimientos estándar de limpieza

Salas donde hayan animales

Cuando sea posible, algunas salas deben ser evacuadas de pacientes para facilitar la limpieza a fondo y desinfección de la sala. El flujo normal de pacientes debería dejar cada sala vacía, o al menos con pocos pacientes, por lo menos una vez a la semana, en ese momento se puede completar el procedimiento de limpieza y desinfección. Si la sala tiene uno más pacientes que deben permanecer por largos períodos de tiempo hospitalizado (s), se deben reubicar durante el procedimiento de limpieza y desinfección.

General:

1. Al menos dos veces al día (antes de las 8 am y antes del medio día), las manijas de las puertas, los encendedores de luces, mesas de examinación, mesas de personal, sillas, puerta de microondas, puerta de refrigeradora, y toda aquella zona de contacto frecuente deben ser higienizadas con una toalla humedecida con desinfectante y se deben dejar secar al aire libre.
2. De forma continua o al menos de forma mensual, los contenedores de suministros médicos se deben vaciar y desarmar y deben ser limpiados con una solución jabonosa (detergente de platos) y desinfectados y se deben dejar secar al aire libre antes de armarlos nuevamente, de preferencia se deben colocar suministros nuevos.

Limpieza de las salas:

1. Vaciar las jaulas. Esto incluye remover restos de comida y heces.
2. Vaciar los basureros.
3. Limpiar las mesas de examinación, fregaderos y desagües de fregaderos, luego rociarlos con desinfectante y dejar actuar al menos por 10 minutos.
4. Remover todo el equipo y los artículos de los pacientes del piso.
5. Limpieza de las jaulas:
 - a. Enjuagar las jaulas con agua, preferiblemente de caliente. Remover todo el pelo y material orgánico.
 - b. Restregar toda la jaula y su puerta con un cepillo y un agente limpiador. Asegurarse de restregar la parte frontal y trasera de las puertas de las jaulas.

6. Limpieza de piso:
 - a. Restregar los pisos con desinfectante y usar el trapeador solamente para los pisos.
7. Enjuagar todas las superficies de las jaulas y paredes con agua caliente para remover el jabón y los detritos.
8. Remover el agua de las jaulas con escoba de hule, remover también el agua de la sala con la escoba de goma.
9. Desinfectar todas las superficies de las jaulas y paredes de las jaulas con desinfectante (con amonio cuaternario). Rociar las manecillas de las puertas por ambos lados, mesas de examinación y fregaderos con (con amonio cuaternario). Rociar el piso con (con amonio cuaternario) y dejar secar.

a. Equipo médico

1. El equipo médico se debe limpiar de materia orgánica usando una solución detergente (jabón de platos) si es necesario.
2. El equipo se debe limpiar con una toalla impregnada de desinfectante y se debe dejar secar al aire libre antes de ser guardado o usado en otro paciente.
3. De forma continua o al menos de forma mensual , los contenedores de suministros médicos se deben vaciar y desarmar y deben ser limpiados con una solución jabonosa (detergente de platos) y desinfectados y se deben dejar secar al aire libre antes de armarlos nuevamente, de preferencia se deben colocar suministros nuevos.

b. Sala de espera

1. Limpiar de forma diaria el piso y desinfectarlo con una solución de amonio cuaternario.
2. Muebles impermeables deben ser aseados de forma diaria con una toalla humedecida con desinfectante y se deben dejar secar al aire.
3. Todo el personal debe seguir el protocolo de higiene de las manos luego del contacto con pacientes y de usar teléfonos, teclados o cualquier otro equipo difícil de limpiar.
4. Orina y heces deben ser limpiados de forma inmediata de cualquier área y el área debe ser atomizada con desinfectante y debe secarle al aire.

c. Cuartos de examinación, salas de tratamiento y camillas

1. La limpieza y desinfección de estas áreas debe ser llevada a cabo por personal contratado por el hospital.
2. Las perillas de puertas, apagadores de luces, manecillas de los grifos, los expendedores de toallas de papel y las otras

- áreas de contacto frecuente se deben limpiar de forma diaria con una toalla humedecida con desinfectante.
- 3.El piso debe ser trapeado con detergente y luego se debe enjuagar con agua limpia y caliente, luego se debe trapear con el trapeador impregnado con desinfectante, todo esto dos veces al día.
 4. La mesa de examinación debe ser higienizada luego de cada paciente por el personal que esté usando la habitación. Debe ser atomizada con desinfectante y limpiado con toallas de papel. Idealmente se debe rociar nuevamente con desinfectante ligeramente y se debe dejar secar al aire.
 - 5.Si la sala de examinación es utilizada para examinar un animal sospechoso de padecer cualquier enfermedad infecciosa, se debe cerrar y rotular como riesgo infeccioso hasta que realice una limpieza profunda por el personal del hospital. Se debe limpiar el piso, todas las zonas de contacto humano y la mesa de examinación de la forma estipulada en el párrafo anterior.
 6. Las camillas deben ser lavadas de forma diaria con detergente, enjuagadas y rociadas con desinfectante y permitir que se sequen. Luego de ser usadas, se debe remover todo el material orgánico y luego se debe rociar desinfectante y se debe limpiar con toalla de papel. Una capa fina de desinfectante se debe dejar secar al aire en la superficie de la camilla. Si la superficie está aún húmeda y debe ser usada se puede secar con toalla de papel.

d. Sala de aislamiento

1. La limpieza y desinfección de estas áreas debe ser llevada a cabo por personal contratado por el hospital.
2. Las perillas de puertas, apagadores de luces, manecillas de los grifos, los expendedores de toallas de papel y las otras áreas de contacto frecuente se deben limpiar de forma diaria con una toalla humedecida con desinfectante.
3. El piso debe ser trapeado con detergente y luego se debe enjuagar con agua limpia y caliente, luego se debe trapear con el trapeador impregnado con desinfectante, todo esto dos veces al día. El equipo de limpieza utilizado en esta área debe ser SOLAMENTE utilizado en dicha área y deben ser almacenados en la sala de aislamiento, si se desechara algún material se debe desechar en basureros de material bioinfeccioso.
4. La mesa de examinación debe ser higienizada luego de cada paciente por el personal que esté usando la habitación. Debe ser atomizada con desinfectante y limpiado con toallas de

papel. Idealmente se debe rociar nuevamente con desinfectante ligeramente y se debe dejar secar al aire.

5. La limpieza de las jaulas se debe realizar de la forma descrita anteriormente.

e. Uso de las computadoras y su limpieza

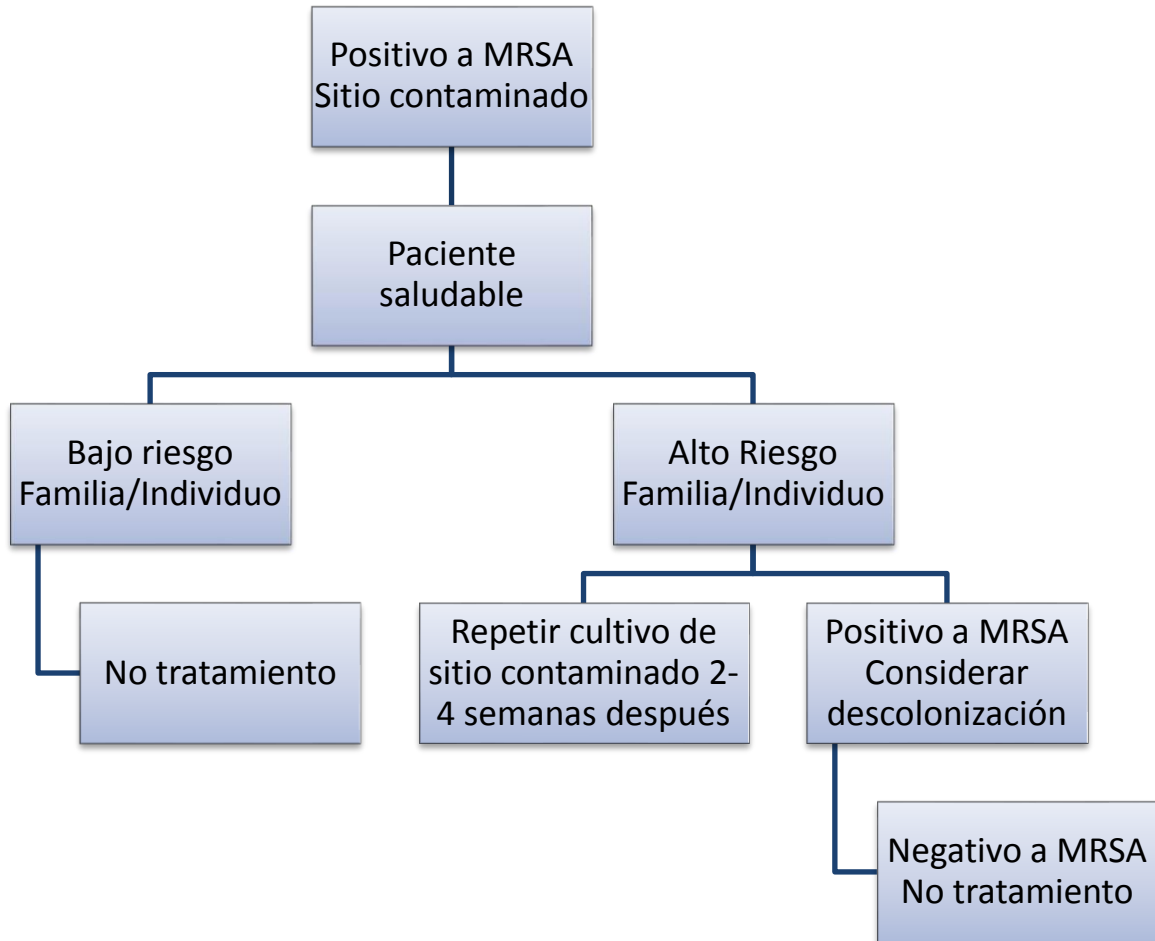
Todo el personal debe lavar y desinfectar sus manos antes y después de hacer uso del teclado y ratón de las computadoras. El personal de limpieza debe realizar el siguiente procedimiento al menos una vez al día.

- a) Remover la suciedad del teclado y ratón con una toalla húmeda.
- b) Limpiar el teclado y ratón con un hisopo con algodón.
- c) Rociar teclado y ratón con desinfectante y permitir que se seque de forma natural.

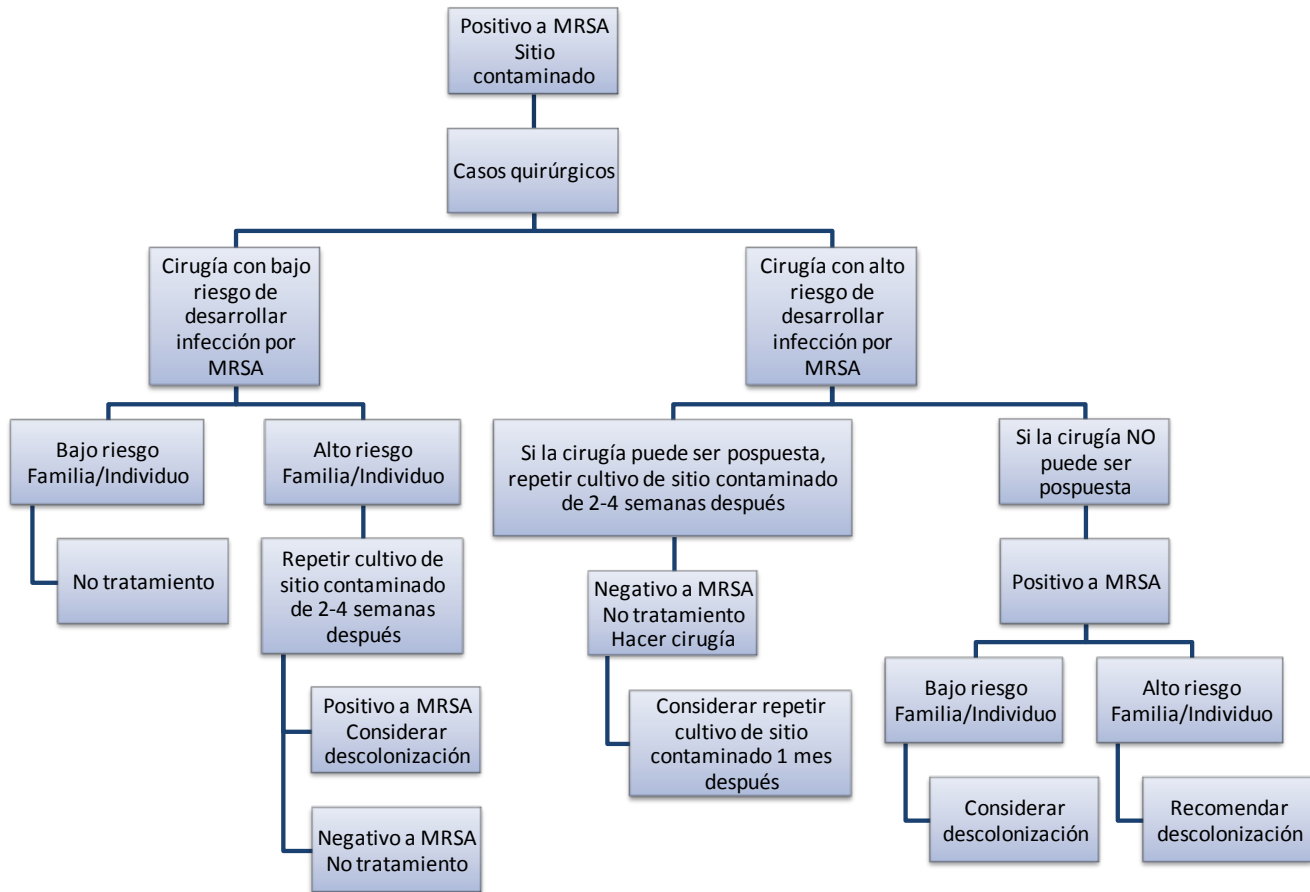
f. Protección personal durante la limpieza

1. Se debe proveer al personal de limpieza con guantes de hule para limpieza, deben ser usados cada vez que se manipulen productos químicos concentrados.
2. Se debe proveer al personal de limpieza con mascarillas para la boca y nariz para su uso cada vez que exista el riesgo de que productos químicos generen aerosoles.
3. El personal de limpieza debe utilizar un uniforme completo durante las labores de limpieza y este uniforme se debe lavar de forma diaria en casa del personal.

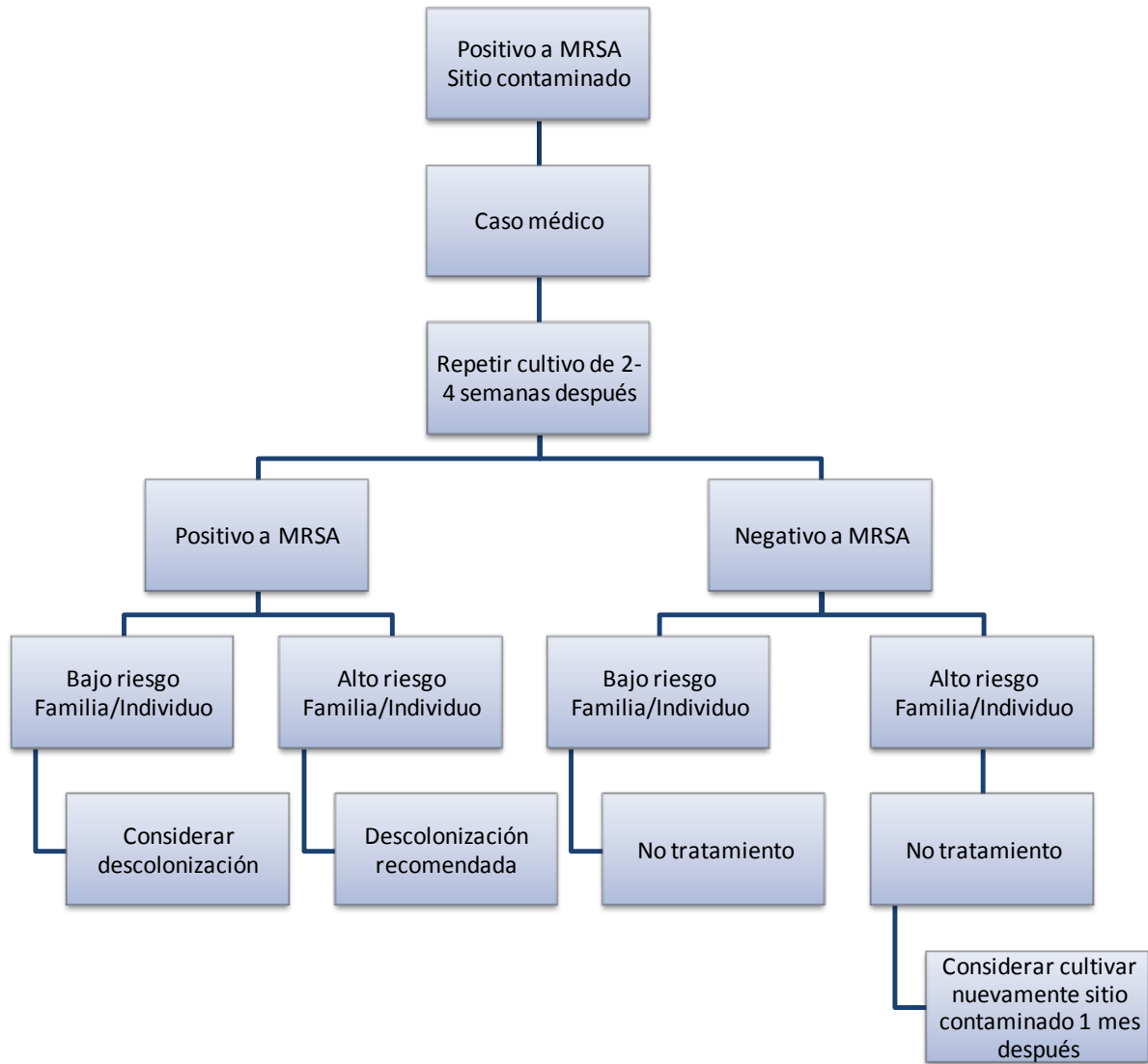
Anexo 2

Pacientes con MRSA: esquemas de manejo y procedimientos

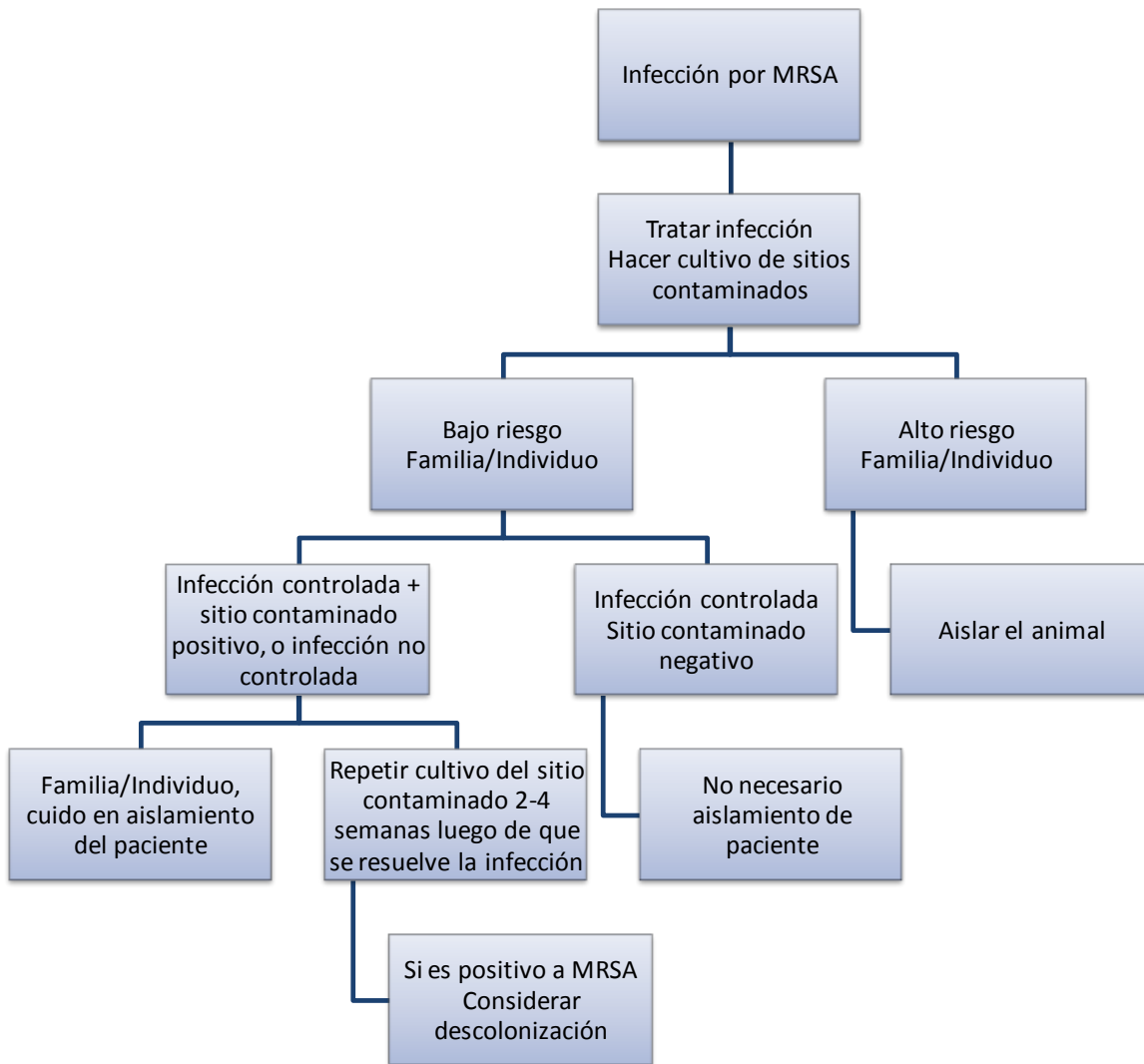
Manejo del paciente portador de MRSA en condición saludable.



Manejo del paciente contaminado por MRSA que necesita de algún procedimiento quirúrgico.



Manejo de paciente contaminado por MRSA con alguna condición patológica.



Manejo del paciente con infección ocasionada por MRSA.

Anexo 3

Personas con riesgo especial de adquirir infecciones al trabajar con pacientes en el HEMS:

- Personas con condiciones como: SIDA, Cáncer, Fallo renal, Diabetes, Lupus y otros desórdenes inmunosupresores.
- Personas recibiendo quimioterapia o drogas inmunosupresoras como corticoesteroides, esteroides, etc.
- Personas recibiendo terapia antibiótica.
- Personas que hayan recibido trasplante de órganos
- Personas que hayan sido sometidas a cirugía o hayan estado hospitalizadas en el transcurso del último año.
- Personas que planeen someterse a cirugía o procedimientos médicos invasivos en el próximo año.
- Mujeres embarazadas o que planeen embarazarse en el transcurso del próximo año.
- Personas que visiten frecuentemente casas de cuidado de niños o ancianos o bien personas hospitalizadas.
- Personas que trabajan en centros de cuidado, centros médicos veterinarios o humanos.
- Personas que están en contacto frecuente con animales de granja o caballos.