

***Staphylococcus aureus* y la detección de portadores entre el personal que labora en la producción de parenterales**

***Staphylococcus aureus*: detection of carriers among the staff working in parenteral production**

MSc. Nancy Burguet Lago,^I Lic. José A. Trimiño Romero^{II}

^I Laboratorios Liorad. La Habana, Cuba.

^{II} Laboratorio de Control Microbiológico. La Habana, Cuba.

RESUMEN

En la producción de medicamentos estériles el personal se considera la principal fuente de contaminación, teniendo en cuenta los microorganismos y las partículas no vivientes que esparcen. El objetivo de nuestro trabajo es la detección de portadores de *Staphylococcus aureus* entre el personal que labora en la producción de parenterales, a quienes se les realizaron exudados nasofaríngeos. Se aislaron 50 cepas, de las cuales 6 fueron identificadas como este microorganismo, lo que representa el 12 %. Se aislaron además otros microorganismos a los que se les considera gérmenes patógenos por alojarse en esa zona. Los resultados obtenidos corroboran que es de suma importancia realizar este tipo de muestreo como parte del monitoreo del personal que labora en las áreas clasificadas de producción de formulaciones inyectables.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, exudados nasofaríngeos, gérmenes patógenos.

ABSTRACTS

Staff is the main cause of contamination in aseptic drug production process, due to microorganism and non viable particles. The goal of this paper is to isolate staphylococcus aureus strain from the staff working in clean rooms.

Nasopharyngeal swabs were performed on this staff. 50 strains were isolated. Six were staphylococcus aureus, (12 %). Other microorganisms were isolated which are considered pathogen germs since they are located in the area. Results express how important personnel monitoring is as parts of the Environmental Monitoring Program in the Pharmaceutical Industry, mainly in aseptic process.

Key words: *Staphylococcus aureus*, nasopharyngeal swabs, pathogen germs.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) viene observándose desde la década de 1960.¹ Aunque en un principio este patógeno estaba relacionado casi exclusivamente con infecciones de origen nosocomial o asociadas a contactos con el sistema sanitario, en los últimos años ha habido un incremento de este tipo de infecciones adquiridas en la comunidad en pacientes sin factores de riesgo conocidos.²⁻⁵

El estado de portador facilita la persistencia de *S. aureus* en el organismo. La localización más frecuente es el vestíbulo nasal, que constituye el reservorio de *S. aureus* en el individuo.^{6,7} Es importante considerar la presencia de estas cepas de origen comunitario, con el fin de elaborar estrategias para su correcto tratamiento.^{8,9} Esta situación se ha informado en varios países, donde las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilina resistente adquiridas en la comunidad (SAMR-C) se presentaron principalmente en jóvenes sin patologías previas.^{10,11}

En Cuba se realizó un estudio descriptivo puntual para la búsqueda de portadores nasales de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM), entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad.¹² Los resultados obtenidos son similares a los descritos en la literatura en estudios realizados en niños y en personas en edades geriátricas.¹³⁻¹⁵

El incremento de los reportes de SARM en la comunidad pone en evidencia cambios en la epidemiología de estas cepas,^{16,17} y ante estos, las instituciones de salud deben perfeccionar la vigilancia y las medidas de control para prevenir las infecciones producidas por cepas de SARM, dentro de las cuales la búsqueda activa y la localización de los portadores nasales contribuyen significativamente a la prevención.¹⁸⁻²⁰

La producción de medicamentos estériles requiere de un alto grado de rigor técnico para prevenir la introducción de contaminantes en los lotes de productos.²¹ Es completamente esencial que el personal que trabaja en áreas clasificadas de producción de medicamentos estériles, el cual se considera la principal fuente de contaminación, no sea portador de agentes patógenos, para evitar así la contaminación cruzada hombre-producto.²²

Es por eso de suma importancia conocer la prevalencia de portadores nasales de *S. aureus* entre el personal que labora en la producción de parenterales y analizar el espectro de sensibilidad de los aislamientos a diferentes antimicrobianos, para confirmar la presencia de SARM mediante técnicas de detección rápida.²³⁻²⁶

El objetivo de este trabajo es la detección de portadores de *Staphylococcus aureus* entre el personal que labora en la producción de parenterales en los laboratorios Liorad.

MÉTODOS

Para la realización del trabajo se tuvo en cuenta a todo el personal que labora en las áreas de producción. El período de estudio abarcó un año y la toma de muestra se realizó con una frecuencia semestral. Se emplearon hisopos estériles, que se frotaron suavemente contra las paredes de las fosas nasales y en ambos lados, y en la parte superior de la faringe.²³

Para el análisis de las muestras tomadas se siguió lo establecido en las regulaciones vigentes. Se sembraron en placas petri que contenían medio Agar Base Sangre, estriando con el asa para obtener colonias aisladas para su identificación. Se observaron las características morfológicas de los distintos aislamientos y a las presuntas colonias de *Staphylococcus* se les realizó una coloración de Gram, buscando sus características tintoriales.²³

Se procedió a la identificación, para lo cual se empleó un *test* de diagnóstico e identificación Liofilchem de *Italia System Stafilocchi*; se resuspendieron las colonias a identificar en 5 mL de solución salina estéril al 0,85 % y de esa suspensión se transfirió 0,2 mL (200 UL) a los pocitos del *test* de identificación, donde se encuentran las pruebas bioquímicas y se procedió a su incubación de 18-24 horas a una temperatura de 35 ± 2 °C.²⁴

Una vez transcurrido el período de incubación se procedió a la lectura por cambios de coloración. Los resultados se dividieron en grupos, según indican el *test* diagnóstico. A las primeras pruebas de respuestas positivas de cada grupo se le dio valor 1; a las segundas valor 2 y a los terceros valores 4, así como valor 0 a las respuestas negativas hasta formar un código numérico, que se introdujo en un programa informático, lo que permitió de modo rápido y efectivo llegar a la identificación hasta especie.²⁴

Para la determinación de la susceptibilidad a antibióticos, a todas las cepas identificadas como *S. aureus* se les determinó la susceptibilidad a diferentes antimicrobianos, mediante el método de difusión en agar. Se utilizaron en la prueba los antibióticos siguientes: penicilina (10 U), tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (4 µg), ciprofloxacina (5 µg), ceftriaxona (30 µg). Como control se utilizó una cepas *S. aureus* de referencia. Se confirmó la presencia de SARM mediante la técnica de aglutinación de látex.^{25,26}

RESULTADOS

Como muestra la figura, los resultado de los exudados nasales tomados al personal que labora en las áreas de producción reflejan que se obtuvieron 50 cepas aisladas,

de las cuales 6 fueron identificadas como *S. aureus* (12 %); 40 respondían a flora normal, es decir, las personas a las que se les realizó la toma de muestra no eran portadoras de gérmenes patógenos, lo que representa el (80 %). Se aislaron además otras cepas de microorganismos, a los que se les considera patógenos por alojarse en la zona nasofaríngea; 2 cepas de *Streptococcus* β hemolítico (4 %), 1 de *Haemophilus influenzae* (2,0 %) y 1 cepa de *Klebsiella pneumoniae* (2,0 %).

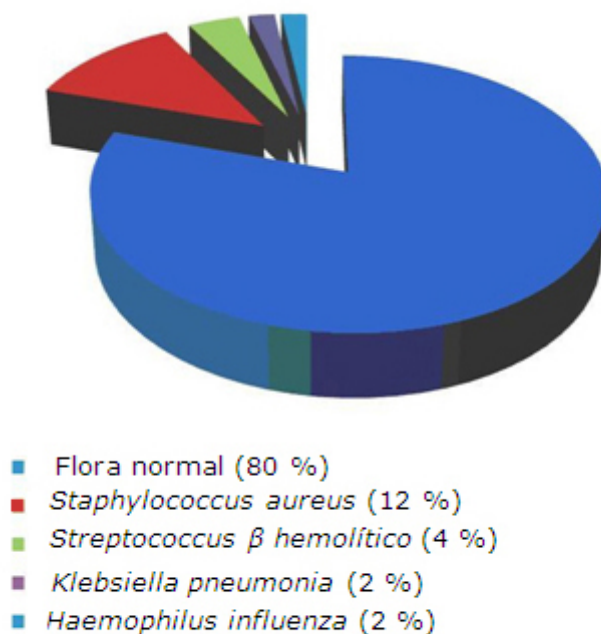


Fig. Resultados de los exudados nasofaríngeos del personal que labora en las áreas de producción.

Los resultados de la determinación del carácter de drogo-sensibilidad o drogo-resistencia (susceptibilidad a antimicrobianos) que poseen los microorganismos aislados evidenciaron que del total de las cepas de *S. aureus* aisladas a partir de exudados nasales obtenidos de personas sanas que laboran en el área de producción, todas y cada una de las cepas aisladas presentaron una resistencia elevada para la penicilina y todas fueron productoras de β -lactamasa; 3 de las cepas, además, mostraron resistencia a la eritromicina y a la tetraciclina y una susceptibilidad intermedia para la ciprofloxacina y la ceftriaxona. Se observó también en este grupo 1 cepa con susceptibilidad intermedia para ceftriaxona, pero no para ciprofloxacina y, aunque en menor proporción, también mostraron resistencias a otros antimicrobianos probados, como a la gentamicina; 1 cepa mostró una tolerancia elevada hasta 4 μ g/mL de oxacilina, y se confirmó mediante la técnica de aglutinación de látex el aislamiento de SARM.

En los casos que resultaron positivos se comunicó por escrito el germen aislado y la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos probados. Se les orientó acudir a su médico de familia para la elección del tratamiento bajo prescripción médica.

DISCUSIÓN

De acuerdo con la información ofrecida por los exudados nasofaríngeos, se determinó que de forma asintomática se presentó un número de personas portadoras de este germen patógeno aislados del exudado nasal. Este resultado coincide con otros autores que reportan que la localización más frecuente es el vestíbulo nasal.^{6, 7}

El mayor porcentaje se corresponde con cepas de *Staphylococcus aureus* y una pequeña proporción de ellos eran resistentes a la meticilina (1,6 %) resultado que se encuentra en el rango inferior de casi todos los estudios revisados.⁸⁻¹⁰ Sin duda, esto se corresponde con la población estudiada, que resultó pequeña en proporción con los grupos de estudios reportados en la literatura que incluyen estudios poblacionales.¹⁻³

Aunque muchos autores sugieren que para identificar SARM es más conveniente detectar directamente el gen determinante que codifica la resistencia a la meticilina (*mecA*) o bien su producto (PBP2a), el procedimiento empleado para el aislamiento e identificación de este microorganismo^{23,24} nos permitió de forma presuntiva plantear que nos encontrábamos frente este tipo de cepa. La susceptibilidad a diferentes antimicrobianos, mediante el método de difusión en agar,²⁵ fue un paso determinante en el diagnóstico de esta cepa. La prueba de aglutinación de látex sobre soporte resultó una técnica sencilla que aportó resultados de fácil interpretación en un tiempo máximo de 20 minutos, con una sensibilidad y una especificidad del 100 %. De manera confirmativa se pudo plantear que nos encontrábamos frente a un aislamiento SARM, por lo que se concluye que la aplicación de esta técnica resultó válida.²⁶

Los elevados valores de resistencias encontradas frente a estos antibióticos coinciden con lo reportado por otros autores para cepas aisladas a partir de exudados obtenidos de personas sanas que se encuentran fuera del personal asociado a contactos con el sistema sanitario, es decir, en personas de las distintas comunidades estudiadas sin factores de riesgo conocidos.^{4,5,11}

El incremento de SARM en la comunidad se ha notificado en diferentes países y áreas geográficas.¹⁶⁻¹⁸ Resulta de interés señalar que en nuestro estudio una posible causa de aparición de este tipo de cepa puede relacionarse con que el portador de esta había recibido antibióticos previamente, lo que coincide con criterios de otros autores que refieren que *S. aureus* es más prevalente entre las personas que han sido tratadas con estos. Independientemente de los resultados obtenidos no se debe dejar de hacer referencia a lo que señalan algunos estudios en cuanto al incremento de esta cepa, que está siendo cada vez más importante en la población sana.^{19,20}

Por otro lado, en este estudio no se obtuvo ninguna cepa de *S. aureus* a partir de los exudados faríngeos. Algunos autores consideran que es necesaria la obtención de más de un tipo de exudado cuando se realizan estudios para la localización de portadores de SARM. En menor cuantía se aislaron otras cepas de microorganismos patógenos, resultado a tener en cuenta también para la incorporación de este personal a las áreas limpias de producción de medicamentos estériles, porque pueden ser fuentes de contaminación a los productos, lo cual pudiera acarrear consecuencias fatales, ya que los medicamentos deben contener únicamente los ingredientes que figuran en su formulación.^{23,26}

Los resultados obtenidos en este trabajo se suman a las evidencias que señalan que las cepas de estafilococos no se pueden ver como un patógeno limitado al ambiente hospitalario;¹²⁻¹⁵ por tanto, es de suma importancia realizar como parte del monitoreo del personal que labora en las áreas clasificadas de producción de medicamentos parenterales exudados nasofaríngeos en busca de portadores de esta cepa.²⁴

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Weber JT. Community-associated methicillin -resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2005;41(4):269-72.
2. Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, et al. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. JAMA. 1998;279(8):593-8.
3. Pate K, Bannerman T, Feldman S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. Lancet. 1995;346(8968):132-5.
4. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. JAMA. 2003;290(22):2976-84.
5. Salmenlinna S, Lyytikäinen O, Vuopio-Varkila J. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Finland. Emerg Infect Dis. 2002;8(6):602-7.
6. Shuhaibar MN, Falkiner FR. The prevalence, antibiotic susceptibility and phage-type of nasal carried *Staphylococcus aureus* in the Dublin community. J Med Sci 1992;161(10):589-92.
7. Zanelli G, Sansoni A, Zanchi A, Cresti S, Pollini S, Rossolini GM. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in the community: A survey from central Italy. Epidemiol Infect. 2002;129(2):417-20.
8. Abudu L, Blair I, Fraise A, Cheng KK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): A community-based prevalence survey. Epidemiol Infect. 2001;126(3):351-6.
9. Otaolea L, Eiros JM, Ortiz de Lejarazu R, Carrero P, Chaves F, Luquero FJ. Estudio epidemiológico de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* en centros de mayores. Rev Esp Quimioterap. 2007;20(3):339-45.
10. Martínez-Aguilar G, Ávalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason EO, Kaplan SL. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. Pediatr Infect Dis. 2004;23(8):701-6.
11. Palombarani S, Gardella N, Tuduri A, Figueroa S, Sly G, Corazza R, et al. Infecciones adquiridas en la comunidad por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital de agudos. Rev Argent Microbiol. 2007;39(3):325-31.

12. Hernández IB, Toraño GT, González M, González I. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina: detección de portadores entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2003 [citado 1ro. de octubre de 2011];55(3):153-61. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602003000300004&lng=es
13. Martínez-Aguilar G, Ávalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason EO, Kaplan SL. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. Pediatr Infect Dis. 2004;23(8):701-6.
14. Palombarani S, Gardella N, Tuduri A, Figueroa S, Sly G, Corazza R, et al. Infecciones adquiridas en la comunidad por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital de agudos. Rev Argent Microbiol. 2007;39(3):325-31.
15. Eveillard M, Ernst C, Cuviller S. Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage at the time of admission in two acute geriatric wards. J Hosp Infect. 2002;50(2):122-6.
16. Fridkin S, Hageman J, Morrison M, Thomson Sanza L, Como-Sabetti K, Jernigan J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. N Engl J Med. 2005;352(7):1436-44.
17. Palavecino E. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Clin Lab Med. 2004;24(2):403-18.
18. Shukla S. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its emerging virulence. Clin Med Res. 2005;3(2):57-60.
19. Tenover F. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: it's not just in communities anymore. Clin Microbiol News. 2006;28(30):33-6.
20. Sopena N, Sabriá M. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Med Clin. 2002;118(8):671-5.
21. Centro para el Control Estatal de la calidad de los medicamentos. Anexo No. 09. Buenas prácticas para la fabricación de ingredientes farmacéuticos activos. Resolución No. 03/06 y Regulación No. 16-2006. Directrices sobre Buenas prácticas de fabricación de productos farmacéuticos. Ámbito regulador. Órgano oficial regulatorio. CECMED [Internet]. 2006 [citado 1ro. de octubre de 2011];6(Supl. Especial):1-16. Disponible en: http://www.cecmec.sld.cu/Docs/Pubs/AmbReg/2006/AmbReg_SENov_06.pdf
22. The United States Pharmacopeia. The National Formulary. USP30-NF25. Rockville: Mack Printing; 2007.
23. Rojas N, Coto O, Pazos V. Manual de Prácticas de Laboratorio de Microbiología Clínica. La Habana: Editorial Pueblo y Educación; 1987.
24. Liofilchem Diagnostici. Integral System Stafilococchi Ref.71718; Code F00713: Sistema colorimétrico per l'identificazione biochimica e l'antibiogramma degli stafilococchi. Roseto DA. Roma: Liofilchem Bacteriology Products; 2004.

25. Bantar C, Fernández CL, Smayevsky J, Bianchini H. Detection of oxacillin resistance by agar diffusion test at two temperatures in "borderline" *Staphylococcus aureus*. En: Programme and abstracts of the 18th International Congress of Chemotherapy, June 27-July 2, 1993. Stockholm, Sweden: APMIS; 1993. p. 88-118.

26. Van-Griethuysen A, Pouw M, Leeuwen N. Rapid slide latex agglutination test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 1999;37(11):2789-92.

Recibido: 14 de abril de 2011.

Aprobado: 20 de septiembre de 2011.

MSc. *Nancy Burguet Lago*. Laboratorios Liorad. Ave 27A entre 264 y 268, San Agustín, Municipio La Lisa, La Habana, Cuba. Correo electrónico: nburguet@liorad.quimefa.cu