



## **ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO**

RELACIÓN ENTRE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y LA FORMACION DE  
BIOFILM EN *Staphylococcus aureus* DE PACIENTES HOSPITALIZADOS,  
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE, 2016 – 2018.

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el grado académico de Maestro en Salud Publica con  
mención en Epidemiología

**Autor:**

Champi Merino, Roky Giovanni

**Asesor:**

Soto Linares, Carlos  
(ORCID: 0000-0002-0391-2537)

**Jurado:**

Mendoza Lupuche, Román  
Díaz Dumont, Jorge Rafael  
Mendoza Murillo, Paul Orestes

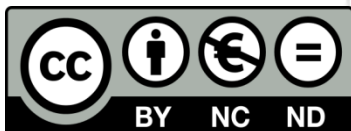
**Lima - Perú**

**2021**



**Referencia:**

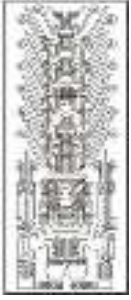
Champi, M. (2021). *Relación entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en Staphylococcus aureus de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5634>



**Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)**

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



**ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO**

**RELACIÓN ENTRE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y LA  
FORMACION DE BIOFILM EN *Staphylococcus aureus* DE PACIENTES  
HOSPITALIZADOS, HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE, 2016 - 2018.**

**Línea de investigación:**

**Salud Pública**

Tesis para optar el grado académico de maestro en Salud Pública con mención en

Epidemiología

**Autor:**

Champi Merino, Roky Giovanni

**Asesor:**

Soto Linares, Carlos

(ORCID:0000-0002-0391-2537)

**Jurado:**

Mendoza Lupuche, Román

Díaz Dumont, Jorge Rafael

Mendoza Murillo, Paul Orestes

**LIMA- PERÚ**

**2021**

### ***Dedicatoria***

A mis Profesores, Doctores de la escuela de PosGrado de la Universidad Nacional Federico Villarreal, quienes fueron fuente de inspiración, Para poder concretar nuestra formación en la investigación y en el campo de la Salud Publica y Epidemiología.

A mi familia, mi esposa Diana por todo, su amor, su paciencia y ser siempre mi gran soporte. A mis hijos Fabio y Gonzalo, que fueron siempre un aliciente cuando los necesite.

Mi madre, con su bendición me inculco seguir siempre adelante y mi padre, el gran ausente que me inspiro y me dio la libertad de lograr mis sueños. Mis hermanos Nilton, Jimmy y Estefany siempre con su aliento generoso.

A mis colegas y compañeros de la Maestría, por sus consejos, apoyo, esfuerzo de grandes y buenos profesionales, así es más fácil soñar y lograr nuestras metas  
A mis amigos, mis colegas, docentes y alumnos, los que hicieron posible que mantuviera la fortaleza.

Gracias señor por darme toda esta riqueza y bendiciones siempre, Amen.

La función de la epidemiología es probar hipótesis. Siempre que haya una hipótesis nueva, sea cual fuere la dimensión del progreso alcanzado, la salud pública se beneficiará de la labor realizada. *Charles du Vé Florey*

## ***Agradecimientos***

*Al Dr. Carlos Soto Linares, asesor de mi tesis, por el apoyo y orientación en el ámbito de la Epidemiología, impulsor para la culminación de esta tesis.*

*Al Dr. Neptali Sarmiento Benvenuto, mi maestro, en el campo de la Epidemiología y la salud pública, por su excelente docencia, apoyo y consejo.*

*A la Lic. María Silva Zelada, mi coordinadora y maestra de tantos y muchos colegas en el campo de la Microbiología Clínica, con ella aprendí algo nuevo cada día, un ejemplo de vida, muchas gracias por todo, su paciencia y por los buenos consejos siempre.*

*Al servicio de Microbiología, a todo el personal que ha colaborado con mis proyectos, y sin cuya participación, dedicación y esfuerzo no hubiera sido posible realizarla. Mis compañeros de trabajo, María, Boris, Johnny, Jannet, Mario, Elizabet, Guillermina, gracias por la paciencia y por qué con buenos compañeros se hace más fácil el camino cada día. A todas aquellas buenas personas que, de diferentes maneras, me han ayudado, apoyado o motivado en la realización de mi proyecto y trabajo de tesis. Todas las bendiciones y muchas gracias.*

***Roky G. Champi Merino***

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice.....	iv
Índice de tablas.....	vi
Índice de figuras.....	vii
Índice de anexos.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
<b>I. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Descripción del problema.....	5
1.3 Formulación del problema.....	7
- Problema General.....	7
- Problemas Específicos.....	7
1.4 Antecedentes.....	9
1.5 Justificación de la investigación.....	17
1.6 Limitaciones de la investigación.....	19
1.7 Objetivos.....	21
- Objetivo general.....	21
- Objetivos específicos.....	21
1.8 Hipótesis.....	22

<b>II. Marco Teórico</b> .....	24
2.1 Marco conceptual.....	24
<b>III. Método</b> .....	33
3.1. Tipo de investigación.....	33
3.2 Población y muestra.....	34
3.3 Operacionalización de variables.....	35
3.4 Instrumentos.....	37
3.5 Procedimientos.....	37
3.6 Análisis de datos.....	39
3.7 Consideraciones éticas.....	40
<b>IV. Resultados</b> .....	41
4.1 Contrastación de Hipótesis.....	41
4.2 Análisis e interpretación.....	51
<b>V. Discusión de resultados</b> .....	60
<b>VI. Conclusiones</b> .....	66
<b>VII. Recomendaciones</b> .....	67
<b>VIII. Referencias</b> .....	68
<b>IX. Anexos</b> .....	78

## ÍNDICE DE TABLAS

		<b>Pág.</b>
Tabla 1	Correlación entre la Resistencia antimicrobiana y la Formación de Biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.....	42
Tabla 2	Relación entre la Resistencia a los antimicrobianos formación de Biofilm en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018.....	43
Tabla 3	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Oxacilina en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018.....	44
Tabla 4	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Quinolonas en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018...	45
Tabla 5	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a los Aminoglicósidos en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados.....	46
Tabla 6	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a tetraciclinas en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018	47
Tabla 7	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Sulfonamidas en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018	48
Tabla 8	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Macrólidos en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018.	49
Tabla 9	Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Lincosamidas en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados, HNHU, 2016-2018..	50
Tabla 10	Patrón de Resistencia Antimicrobiana de <i>S. aureus</i> aislado de pacientes de Hospitalización. HNHU, 2016-2018.....	52
Tabla 11	Distribución de la formación de biofilm en <i>S. aureus</i> aislado de pacientes hospitalizados. HNHU, 2016-2018.....	54
Tabla 12	Distribución según grupos de edad de pacientes hospitalizados con aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> . HNHU, 2016 – 2018.....	57
Tabla 13	Distribución según procedencia de pacientes hospitalizados con aislamiento de <i>S. aureus</i> , HNHU, 2016 – 2018.....	59



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Distribución del Patrón de Resistencia Antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i> aislados en pacientes de servicios de Hospitalización. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.....	53
Figura 2 Formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> aislada de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.....	55
Figura 3 Distribución según el sexo de pacientes hospitalizados con aislamiento de <i>S. aureus</i> . Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.....	56
Figura 4 Distribución según grupos de edad de pacientes hospitalizados con aislamiento de <i>S. aureus</i> . HNHU, 2016 – 2018.....	58
Figura 5 Distribución de pacientes hospitalizados con aislamiento de <i>S. aureus</i> según servicio de procedencia. HNHU, 2016 – 2018.....	59
Figura 6 El ciclo del biofilm. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	84

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A Matriz de consistencia.....	79
Anexo B Método en placa de cultivo de tejido (PCT).....	81
Anexo C Interpretación de formación del Biofilm.....	82
Anexo D Ficha de recolección de datos.....	83
Anexo E Fases de la formación del biofilm.....	84
Anexo F Definición de términos.....	85

## Resumen

El propósito del presente trabajo fue establecer la relación que existe entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018. Se realizó un estudio cuantitativo, observacional, de diseño no experimental, correlacional y de corte transversal. La muestra constituida por 325 aislamientos de *S. aureus* de pacientes hospitalizados, para determinar la resistencia a los antimicrobianos se utilizó el método de disco difusión y para demostrar la capacidad de formación de biofilm el método en Placa de cultivo de tejido (PCT). Se obtuvo datos sobre las características demográficas del registro de cultivos del servicio de microbiología durante el estudio. A partir de 325 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestras de pacientes hospitalizados, se detectó biofilm en 94.8% (308), siendo formadores de biofilm; débil 20%, moderado 43.1% y fuerte 31.7%. La resistencia antimicrobiana presenta mayor resistencia en macrólidos (73.8%), aminoglicósidos (67.1%), lincosamidas (65.2%), y quinolonas (60%), mientras tetraciclinas (4.9%) y sulfonamidas (28.6%) menor resistencia. La relación de variables fue determinada mediante el estadístico Rho de Spearman. Se determinó una correlación baja negativa estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) la formación de biofilm y la resistencia antimicrobiana. Se concluye que la resistencia antimicrobiana se relaciona con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Asimismo, se encontró una correlación baja entre la formación de biofilm y resistencia a las sulfonamidas y lincosamidas.

**Palabras clave:** biofilm, resistencia antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*, hospitalizado.

## Abstract

The purpose of this study was to establish the relationship between antimicrobial resistance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients. Hipólito Unanue National Hospital, 2016 – 2018. A quantitative, observational, non-experimental, correlational and cross-sectional study was carried out. The sample consisted of 325 isolates of *S. aureus* from hospitalized patients, to determine the antimicrobial resistance method disk diffusion and to demonstrate the ability of biofilm formation method on cultivation of tissue plate was used (PCT). Data on the demographic characteristics of the crops of the microbiology service registry was obtained during the study. From 325 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from samples from hospitalized patients, was detected biofilm 94.8% (308), still forming biofilm; weak 20%, moderately strong 31.7% and 43.1%. Antimicrobial resistance introduces higher resistance in macrolides (73.8%), aminoglycosides (67.1%), lincosamides (65.2%), and quinolones (60%), while tetracyclines (4.9%) and sulfonamides (28.6%) least resistance. The relationship of variables was determined by the Playboy Rho statistic. Found a statistically significant negative low correlation ( $p < 0.05$ ) biofilm formation and antimicrobial resistance. It is concluded that antimicrobial resistance is related to the formation of biofilm in *Staphylococcus aureus* of hospitalized patients. A low correlation was also found between biofilm formation and resistance to sulfonamides and lincosamides.

**Keys words:** biofilm, antimicrobial resistance, *Staphylococcus aureus*, hospitalized.

## I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos durante el siglo pasado y en los últimos años sigue siendo, un problema de salud pública en el Perú, sobre todo en los pacientes del ámbito hospitalario. Actualmente, y debido a la presencia de bacterias como *Staphylococcus aureus* con mecanismos de resistencia conocidos y algunos emergentes, se ha elevado la prevalencia de este problema. Sin embargo, algunos aspectos relacionados del agente como su virulencia, en la formación de biofilm son necesarios estudiar a fin de conocer su relación y la transición epidemiológica, los que nos permitirán establecer una base para nuevas investigaciones.

Los pacientes enfermos que se admiten en los servicios de hospitalización se encuentran más vulnerables al seleccionar cepas bacterianas con resistencia a los antimicrobianos, dado que confluyen varios factores que permite una incidencia cada vez mayor como la estancia prolongada, uso de antimicrobianos de amplio espectro, infecciones en diferentes localizaciones entre otros; haciendo un patrón variado para enfocar y por ende una limitada capacidad para el tratamiento.

Las publicaciones que han estudiado la resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* en pacientes hospitalizados y factores relacionados, han encontrado resultados heterogéneos, generando incertidumbre que justifica la realización de nuevos estudios que puedan resolver estas cuestiones. En la actualidad, existe falta de conocimiento en los diversos enfoques y para el manejo de la infección por *S. aureus* formador de biofilm.

En el presente estudio enrolamos prospectivamente durante 3 años, a los pacientes que ingresaron a los servicios de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU) y que presentaron aislamientos de *Staphylococcus aureus*, para evaluar si la resistencia a los antimicrobianos se relaciona con la formación de biofilm. El HNHU es el

hospital de referencia de la zona Lima Este, y recibe pacientes de los distritos más poblados de la ciudad de Lima.

Al identificar el comportamiento frente a los diferentes antimicrobianos se observó la capacidad de formación de biofilm, identificando así diferentes niveles de formación de biofilm como débil, moderado. Posteriormente, realizamos el análisis bivariado de las variables de interés y de otras variables (co-variables) que tenían potencial de afectación de las relaciones entre las variables de interés y los desenlaces para determinar la asociación entre ellas, enfocándonos particularmente en la resistencia a los antimicrobianos. Desarrollamos la investigación según se indica en los Capítulos:

- Capítulo I: Se describe el Planteamiento del Problema, los antecedentes nacionales e internacionales, se formulan el objetivo (general y específico) y la justificación.
- Capítulo II: En el marco teórico se describen las teorías generales y específicas sobre el tema, elaborando la hipótesis del estudio.
- Capítulo III: En la metodología, se describe el tipo y diseño de investigación, precisando la población y la muestra, así como la operacionalización de las variables, las técnicas para el procesamiento, análisis de resultados y las consideraciones éticas.
- Capítulo IV: Los resultados se presentan en tablas y figuras, con la contratación de las Hipótesis y se registra el análisis descriptivo e inferencial de las variables con la interpretación de las tablas.
- Capítulo V: Se discuten nuestros resultados comparándolos con otras investigaciones. Además, formulamos las conclusiones y recomendaciones en base a los objetivos y resultados de nuestro estudio.

### 1.1. Planteamiento del problema

La aparición y propagación de la resistencia a los antimicrobianos continúa incesantemente a nivel mundial, con devastadores resultados a la salud y la economía. La magnitud del problema en la salud humana ha sido caracterizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el “Reporte global sobre la vigilancia de la resistencia antimicrobiana” del 2015. Siendo elevados los porcentajes de resistencia tanto para infecciones nosocomiales como las adquiridas en la comunidad. (Yagui, 2018)

En las instituciones que brindan servicios de salud como los hospitales, los pacientes hospitalizados constituyen una población susceptible a complicaciones intrahospitalarias, que pueden ser de origen infeccioso o no infeccioso. Se han identificado varios factores de riesgo como la estancia prolongada, procedimientos invasivos, medicación antimicrobiana previa, uso de dispositivos biomédicos entre otros, que sumados al estado de la enfermedad de base; podrían incrementar el grado de morbilidad y mortalidad. Siendo *Staphylococcus aureus* el mayor patógeno bacteriano en humanos que causa infecciones en piel y tejidos, neumonía, septicemia e infecciones por dispositivos biomédicos. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* son un problema actual importante que se incrementa en las instituciones de salud como los hospitales, a pesar de los esfuerzos para el control de las infecciones. (Mamani, 2006)

Desde el descubrimiento de los antibióticos como las penicilinas y sus derivados, tetraciclinas, quinolonas entre otros, se establecieron tratamientos adecuados para el control de las infecciones por *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, con el devenir de los años se ha observado el surgimiento y desarrollo de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos por parte de este agente infeccioso, limitando cada vez más el uso de antibióticos. La

capacidad de *Staphylococcus aureus* para desarrollar resistencia a los antimicrobianos se ha demostrado en varios estudios. (Hardy, 2006)

La epidemiología de las infecciones nosocomiales varía de un hospital a otro, y el hecho de identificar *Staphylococcus aureus* en pacientes hospitalizados es un indicador para estimar la calidad de la atención hospitalaria, lo que implica el gran valor del desarrollo de estrategias de trabajo y programas de vigilancia para el control y la prevención, con la finalidad de disminuir su incidencia y mejorar la calidad.

*Staphylococcus aureus* involucrado en infecciones de pacientes hospitalizados ha desarrollado varios mecanismos de resistencia antimicrobiana, como la formación de biofilm, contribuyendo con la gravedad de la infección, por disminución de absorción del antibiótico y por ende la persistencia del patógeno. Presentando un gran potencial de formación de biofilm, al encontrarse en piel y superficies mucosas, siendo introducidas a los tejidos al colocar dispositivos biomédicos. (Pinilla, 2017)

Es importante que se realicen investigaciones sobre *Staphylococcus aureus* por ser un microorganismo patógeno importante que causa frecuentes infecciones hospitalarias, así como la resistencia a los antimicrobianos y los factores de virulencia que presenta, como la formación de biofilm. Por tanto, en el presente trabajo, se estudió la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, y su relación con la formación de biofilm, siendo un precedente para realizar posteriores investigaciones que tengan como finalidad el uso de una terapia antimicrobiana eficaz en infecciones causadas por este agente bacteriano. La investigación del biofilm actualmente se orienta al desarrollo de nuevos esquemas terapéuticos con sustancias que permitan inhibir la virulencia bacteriana. Tales fármacos

“anti patogénicos”, en contraste con los antibacterianos, no eliminan o inhiben a las bacterias, y se asume que no generan cepas resistentes. Conociendo más sobre este factor de virulencia en *S. aureus*, se contribuirá a la búsqueda de nuevas herramientas que servirán para disminuir la morbilidad y mortalidad asociadas. Así la investigación ulterior se dirigirá a buscar la inhibición de los sistemas que rigen la expresión de factores de virulencia, como la terapia anti adhesión, inhibir la formación de biofilm, entre otros.

## 1.2. Descripción del Problema

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* son un problema actual importante que se incrementa en las instituciones de salud como los hospitales, a pesar de los esfuerzos para el control de las infecciones, causando infecciones a la piel y tejidos, neumonía, septicemia e infecciones por dispositivos asociados. (Mamani, 2006)

Son varios motivos los que involucran al personal de salud o los mismos pacientes como reservorios primarios, pero el rol que juegan los mecanismos de patogenicidad y virulencia son inciertos. Los estudios muestran que *Staphylococcus aureus* tiene el potencial para sobrevivir frente a una variedad de antimicrobianos y así mismo presenta resistencia a los agentes utilizados en la terapia, aunque no hay evidencia que exista una relación con sus factores de patogenicidad. (García, 2003)

Existen factores de riesgo relacionados con las infecciones asociadas a la presencia de biofilm, como: el número de días de hospitalización previos a la infección, uso de catéter, servicio hospitalario, tipo de cuidados, manipulaciones, uso exclusivo de nutrición parenteral total, entre otros; además de las condiciones clínicas del paciente. La tasa de infecciones relacionadas a catéter venoso central en las unidades de cuidados intensivos en



EEUU varía entre 1.8 y 5.2 por 1000 días catéter. El tratamiento presenta importantes retos para el futuro como son la aparición de la resistencia a los antimicrobianos y la creación de medidas que permitan una correcta prevención. (Pronovost, 2006), (Ojeda, 2000).

En nuestro medio, se han realizado pocas investigaciones relacionadas a la presencia de biofilm en muestras clínicas, siendo necesario conocer mejor la distribución y la epidemiología en relación a la resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* por ser un agente implicado en infecciones graves de pacientes hospitalizados.

En el Hospital Nacional Hipólito Unanue durante la última década se ha observado una creciente demanda de estudios microbiológicos en pacientes hospitalizados a fin de establecer la presencia de un agente infeccioso, siendo las más frecuentes las procedentes de muestras respiratorias, urinarias, bacteriemias y de los dispositivos intravasculares. En los últimos años, según los reportes del mapa microbiológico de aislamientos intra hospitalarios del Hospital Nacional Hipólito Unanue en aproximadamente el 7.6 % de los cultivos de muestras clínicas de pacientes hospitalizados presentaron por lo menos un aislamiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*. Los costos hospitalarios se elevan por incremento de complicaciones intrahospitalarias infecciosas, siendo su medición un indicador de la calidad de la atención. (Champi, 2014)

### 1.3. Formulación del problema

#### 1.3.1 *Problema General*

- ¿Qué relación existe entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue 2016-2018?

#### 1.3.2. *Problemas Específicos*

- ¿Cuál es el patrón de resistencia a los antimicrobianos en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Cuál es incidencia cepas formadores de biofilm de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Qué relación existe entre la resistencia a oxacilina y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Qué relación existe entre la resistencia a quinolonas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Qué relación existe entre la resistencia a los aminoglicósidos, tetraciclinas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Qué relación existe entre la resistencia a las sulfonamidas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?

- ¿Qué relación existe entre la resistencia a los macrólidos y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Qué relación existe entre la resistencia a las lincosamidas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?
- ¿Qué características demográficas presentan los pacientes con aislamiento de *Staphylococcus aureus*, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018?

#### 1.4. Antecedentes

Las investigaciones con menos de 5 años de antigüedad que estudian la relación de la resistencia antimicrobiana con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes hospitalizados son escasas a nivel nacional como internacional, ya que el estudio sobre la formación de biofilm fueron iniciados a finales de la década de los 80. Además, es conveniente, para comprender el tema y el escenario del mismo, citar estudios anteriores, por lo que se presentarán también investigaciones previas al año 2011. Se describe que la resistencia a los antimicrobianos puede relacionarse con la formación de biofilm en una enfermedad causada por *Staphylococcus aureus*, en particular en pacientes hospitalizados. Sin embargo, los resultados de los estudios sobre la relación de estas variables no han sido uniformes y el conocimiento a nivel nacional sobre este problema es poco conocido.

##### 1.4.1. Antecedentes internacionales

Kwon A et al, en un estudio en Korea evaluaron la frecuencia de aislamientos resistentes a los antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* que producían biofilm. Con 101 aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* realizaron la sensibilidad a los antibióticos y el ensayo de biofilm en placas de cultivo celular. Al analizar la relación entre la resistencia a meticilina y formación de biofilm, encontraron que la tasa de positividad de biofilm fue 37.9% (25/66) para cepas resistentes a meticilina y 14.3% (5/35) para las cepas sensibles a meticilina ( $p < 0.05$ ). El análisis estadístico de la relación entre la resistencia y la formación de biofilm reveló una tasa significativamente mayor de desarrollo de biofilm en cepas con mayor multirresistencia comparado con las cepas de menos multirresistencia. Los resultados sugieren que los aislamientos clínicos multiresistentes de *S. aureus* tienen una mayor probabilidad de desarrollar biofilm en dispositivos médicos. (Kwon et al, 2008)

Costerton et al, en observaciones directas establecieron que las bacterias que causan infecciones crónicas relacionadas con dispositivos biomédicos crecen en una matriz de biofilm. Si el equilibrio entre la colonización y la infección es de una infección manifiesta, los biofilms constituyen un problema en el 65% de las infecciones en países desarrollados. Las estrategias diagnósticas y terapéuticas para erradicar enfermedades bacterianas epidémicas agudas no presentan resultados favorables cuando se aplica a enfermedades con biofilm. Se espera que la ciencia del biofilm descubra nuevos agentes que impidan la formación de biofilm y mantener patógenos potenciales en modo planctónico de crecimiento, y así ser eliminados por antibióticos y factores de defensa del huésped. (Costerton, 2003)

Ruzicka F et al, realizaron un estudio en Praga. El objetivo fue evaluar la capacidad de *Staphylococcus epidermidis* para producir biofilm. A partir de 147 cepas aisladas de hemocultivos de pacientes con bacteriemia y 147 cepas aisladas de la piel, se examinaron para la presencia de *ica* operon y la producción de biofilm por el método en tubo de Christensen (TC) y Agar rojo Congo (ARC). El gen *ica* operon fue encontrado en 92 (62.6%) aislamientos de hemocultivo y en 44 (22.4%) aislamientos de piel. La prueba TC fue positiva en 79 (53.7%) y en 33 (22.4%), el método ARC, en 64 (43.5%) y en 31 (21.1%) aislamientos de hemocultivo y de piel, respectivamente. Encontrando que la detección de *ica* operon y la prueba TC presento mejor correlación con la significancia clínica que el ARC. (Ruzicka, 2004)

Mathur T et al, realizaron un estudio en la India. El objetivo fue evaluar tres métodos de detección de *biofilm* en *Staphylococcus*. Se recolectaron 152 cepas clínicas de *Staphylococcus spp.*, que fueron analizadas mediante el método placa para cultivo de tejido

(PCT), el método del tubo (TM) y el método agar rojo congo (ARC). Los resultados mostraron que 57.8% de aislamientos formaron biofilm en el método PCT; además, clasificaron los aislamientos como fuertes 14.5% y moderados 39.4%, mientras que en 46% detectaron aislamientos débiles o sin biofilm. Aunque el TM correlacionó bien con el método PCT para 11.8% aislamientos productores de biofilm, los débiles formadores de biofilm fueron difíciles de discriminar. ARC no correlacionó bien con los otros dos métodos. Concluyendo que la prueba PCT fue más sensible, preciso y reproducible para la detección de formación de biofilm en *Staphylococcus*. (Mathur, 2006)

Mirani et al, realizó un estudio en Pakistán con 180 cepas de *Staphylococcus aureus*, 35.5% fueron resistentes a meticilina (MRSA) y 64.4% como *S. aureus* meticilina sensible (MSSA) para investigar el efecto de oxacilina en la formación de biofilm y su proceso de dispersión. El 98,3% de cepas portaban el gen *ica A*. El biofilm se evaluó por los métodos en tubo y agar rojo congo, 57% de MRSA produjeron biofilm. La reacción en cadena de polimerasa (PCR) sugiere que los aislamientos biofilm positivo MRSA tienen *SCCmec* tipo IV. Esto demostró la fuerte asociación del *SCCmec* tipo IV *agr* II y formación de biofilm por MRSA. Por el contrario, sólo el 13.7% de los MSSA fueron biofilm positivo y la mayoría portaban *agr* tipo II. La oxacilina regula la expresión de *ica A* e induce la producción de *ica A* dependiente del polisacárido intracelular adhesina (PIA) y formación de biofilm. Siendo confirmado por PCR en tiempo real de MRSA y MSSA. El análisis cuantitativo mostró que MRSA formó biofilm después de 24 horas en concentraciones sub inhibitorias de oxacilina y mayor adherencia al portaobjetos de vidrio después de 48h. El control en ausencia de oxacilina mostró lenta conversión de planctónicas a modo de biofilm. Las cepas productoras de biofilm reducen la densidad óptica después de 48 horas de incubación, probablemente oxacilina pierde su toxicidad o el consumo de las células se readaptan al estado planctónico,

por activación del gen regulador accesorio A (*agrA*) que tiene un rol importante en la dispersión del biofilm. (Mirani, 2013)

De Oliveira et al, en Brasil, en un estudio determinaron el perfil de resistencia a los antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) en bacterias planctónicas y del biofilm. Estudiaron 200 cepas de *Staphylococcus spp*, incluyendo 50 cepas de *S. aureus* y 150 cepas de SCN. La formación de biofilms se investigó en placas de poliestireno. Las cepas formadoras de biofilm se sometieron al método microdilución en caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) para bacterias planctónicas y del biofilm, y la concentración bactericida mínima para las bacterias del biofilm. (MBCB) 49 cepas de *Staphylococcus spp* fueron productoras de biofilm. (14 *S. aureus* y 35 SCN). El MIC de bacterias planctónicas identificó 21.4% de *S. aureus* resistentes a oxacilina y 42.8% resistentes a eritromicina. Ninguno de los aislamientos planctónicos fue resistente a vancomicina o linezolid. Los MIC fueron 2, 4, 8 y hasta más de 16 en bacterias del biofilm que las planctónicas. Esta observación fue más común para vancomicina y eritromicina. La MBCB varió de 8 a > 256 µg/mL para oxacilina, 128 a > 128 µg/mL para vancomicina, 256 a > 256 µg/mL para eritromicina y gentamicina, >64 µg/mL para linezolid y 32/608 a > 32/608 µg/mL para sulfametoxazol/trimetoprima. Se encontró MIC superiores para *S. aureus* y SCN del biofilm en comparación con las células planctónicas. El análisis de MBCM confirmó que altas concentraciones de vancomicina fueron incapaces de eliminar el biofilm de *S. aureus* y especies de SCN. Linezolid fue la droga más eficaz en la inhibición de *Staphylococcus* en el biofilm, en comparación con las células planctónicas. (De Oliveira, 2016)

Mottola et al, en un estudio en Lisboa, Portugal. Para analizar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *S. aureus* productoras de biofilm aisladas de infecciones de pie diabético. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), la concentración inhibitoria mínima del biofilm (MBIC) y la mínima concentración de erradicación de biofilm (MBEC), se identificó por PCR determinantes genéticos de producción de biofilm y resistencia antimicrobiana. Encontrando que concentraciones de antibióticos de 10-1000 veces mayores son necesarias para inhibir el biofilm de *S. aureus* in vitro. Explicando por qué la monoterapia con estos agentes con frecuencia fracasa en erradicar infecciones con biofilm. Los antibióticos capaces de erradicar el biofilm en el 50% de aislamientos fueron ceftarolina y gentamicina. Así los patrones de susceptibilidad antibiótica no pueden aplicarse al biofilm establecido en infecciones. Siendo la selección de la terapia antimicrobiana muy importante en esta patología. (Mottola, 2016)

Ávila et al, en Venezuela realizaron una investigación para determinar la producción de enterotoxinas A, B, C y D y la producción de biofilm en aislamientos de SARM. En 50 cepas aisladas de diferentes tipos de muestras clínicas. Se detectó enterotoxinas por la técnica de aglutinación en fase reversa y la producción de biofilm en: agar rojo congo y el método en microplacas de cultivos celulares. La producción de entero toxina se observó en 18%, siendo la entero toxina D (64%) la más prevalente. Demostrándose asociación significativa entre la producción de enterotoxina y el tipo de muestra. La producción de biofilm en las cepas fue 30% y 98% por los métodos de agar rojo congo y microplacas de poliestireno para cultivos celulares, respectivamente. (Ávila, 2014)

Coraça-Huber D et al, en un estudio realizado en Austria, Compararon el análisis de HTP-MBEC en placas de poliestireno con discos de metal compuesto por titanio y cromo –



cobalto como sustratos para la formación de biopelículas. *Staphylococcus aureus* desarrollo en poliestireno y en los discos metálicos. La sensibilidad a los antibióticos se evaluó recuperando las bacterias después de la exposición a antibióticos y por la medición de la concentración inhibitoria de biofilm (BIC). La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó con las cepas planctónicas. El crecimiento bacteriano fue examinado por microscopía electrónica. La concentración de antibiótico para la inhibición del biofilm (BIC) fue mayor que la CMI para todos los antibióticos. Las imágenes microscópicas mostraron la estructura del biofilm característica. Los modelos permitieron la formación de biofilm y pruebas con varios antibióticos in vitro. Gentamicina y rifampicina son los inhibidores más efectivos de las infecciones relacionadas con el biofilm de *Staphylococcus aureus*. Se recomienda análisis de MBEC-HTP para la prueba rápida de múltiples sustancias y discos metálicos para bajo rendimiento de la prueba de sensibilidad a los antibióticos y para análisis microscópico. Los ensayos in vitro pueden mejorar la comprensión del biofilm y ayudar a desarrollar métodos para eliminarlos de las superficies del implante. Estos modelos pueden utilizarse para estudios futuros de infección articular peri protésica. (Coraça-Huber, 2012)

Ohadian et al, realizaron un estudio en Irán, para determinar la prevalencia de la formación de biofilm entre MRSA y *S. aureus* meticilina-sensible (MSSA) aislado de infecciones de heridas de quemadura y sus patrones de sensibilidad antibiótica. Recolectaron 135 muestras de heridas; *S. aureus* fue identificado por pruebas confirmatorias. Los genes *icaA/D* y *mecA* fueron detectados en los extractos de ADN por reacción en cadena de polimerasa por separado. Para determinar la prevalencia de formación de biofilm, se utilizó agar rojo Congo modificado y el método de micro titulación en placa. La investigación de la resistencia antibiótica se realizó utilizando el método de disco difusión. *S. aureus* se identificó en 48.9% de las muestras, de las cuales el 61.5% fueron confirmados como

MRSA. Entre MRSA y *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA), 97.5% y 60% de aislados produjeron biofilm, respectivamente. La resistencia de SARM a amikacina, ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, mupirocina, rifampicina, tetraciclina, y tobramicina fue 64.1%, 51.3%, 87.2%, 71.8%, 10.3%, 5.1%, 89.7% y 61.5%, respectivamente. Todos los aislamientos de SARM y MSSA fueron sensibles a vancomicina, linezolid, teicoplanina y tigeciclina. Concluyendo que la alta prevalencia de aislamientos de *S. aureus* productores de biofilm, resistente a los medicamentos sugiere que los estudios epidemiológicos sobre las características de las cepas comunes encontradas en los centros de quemados y un patrón de resistencia a los antibióticos serían útiles para las decisiones terapéuticas. (Ohadian, 2014)

#### **1.4.2. Antecedentes nacionales**

Mamani et al, en el 2003 en el Hospital Nacional Hipólito Unanue para determinar la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos, en pacientes hospitalizados y ambulatorios. Realizo un análisis descriptivo, retrospectivo, se estudió la sensibilidad y resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus* provenientes de vías respiratorias. Se empleó el método de Kirby - Bauer, con las recomendaciones del CLSI. A partir de 217 cepas de pacientes hospitalizados la resistencia encontrada a oxacilina fue 32%, a gentamicina 35% y ciprofloxacina 58% y un 100% de sensibilidad a vancomicina. (Mamani, 2003).

Verástegui et al, en el Hospital Cayetano Heredia, realizo un estudio descriptivo tipo serie de casos estudio durante junio 2017- diciembre 2018, para describir el perfil epidemiológico de pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* y los factores clínico-epidemiológicos relacionados como resistencia antimicrobiana e identificar el tratamiento antibiótico instaurado. Se revisaron las fichas de hemocultivo, y recolectaron

los datos clínico-epidemiológicos de las historias clínicas. Se identificaron en 120 casos de bacteriemia por *Staphylococcus aureus* un 47% de MRSA; y un 53% de MSSA. No se hallaron diferencias entre ambos grupos en relación a: comorbilidades, antecedente de cirugía, estancia hospitalaria y antibioticoterapia previa ( $p > 0.05$ ). El principal foco de bacteriemia fue primario. Se evidenció mayor corresponsencia a los diferentes grupos de antibióticos en aislamientos MRSA. La resistencia encontrada en oxacilina fue 47%, gentamicina 43%, ciprofloxacina 38%, clindamicina 50% y sulfametoxazol trimetoprima 8%; no encontrándose resistencia a vancomicina y linezolid. (Verástegui, Balmaceda & Guardia, 2018).

Colchado Rojas en el 2016. Con el objetivo de determinar la frecuencia de *Staphylococcus aureus*, y otras especies resistentes a meticilina y clindamicina inducible, estudiaron aislamientos del laboratorio Referencial de La Libertad, a partir de muestras de pacientes provenientes de tres hospitales de Trujillo. Realizaron el método de difusión con cefoxitin y oxacilina, y D-test según el estándar del CLSI. La resistencia inducible a clindamicina, fue 4.1% en *Staphylococcus* coagulasa negativo y 21.2% en *S. aureus*. La meticilino resistencia fue 57.6% en *S. aureus*, y 40.8% en otras especies de *Staphylococcus*. Se encontró resistencia simultánea en 18.2% de *S. aureus*. (Colchado Rojas, 2016).

## **1.5. Justificación de la investigación**

### **1.5.1. Justificación teórica**

La importancia de la investigación radica en que la resistencia antimicrobiana de una bacteria patógena es un problema que se relaciona al establecimiento y permanencia de la infección, en muchas personas en nuestro medio y en el mundo. El trabajo tiene por objeto establecer la relación que existe entre las dos variables: la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm, en los aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue del distrito de El Agustino.

Algunos estudios han encontrado potenciales relaciones entre la presencia o ausencia de factores de virulencia como el biofilm. Cada estudio se difiere por la resistencia estudiada, el número de cepas estudiadas, el lugar y tiempo, por lo que aún no se tiene un mejor conocimiento respecto al rol que juegan los factores de virulencia individuales en determinar la formación de biofilm. Ante los continuos reportes mundiales y nacionales del aumento de resistencia bacteriana, y el aumento de las infecciones no solo en las unidades de cuidado intensivo sino también en otras áreas hospitalarias se hace indispensable el uso de herramientas que permitan detectar la resistencia antimicrobiana y su relación con la presencia de biofilm a fin de controlar adecuadamente este problema.

En el Perú no existen publicaciones que hayan tratado sobre la relación entre la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y la formación de biofilm en el ámbito hospitalario, por dificultades técnicas para su detección. Por lo que la investigación epidemiológica es importante para identificar los factores relacionados y el control de las infecciones intrahospitalarias, ya que utiliza estudios microbiológicos permitiendo identificar cepas con significativa virulencia y grado de patogenicidad. Es por ello, que la

detección de la resistencia antimicrobiana, a penicilina, oxacilina, quinolonas entre otros antimicrobianos que se han encontrado en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* en nuestro hospital y la formación de biofilm relacionada, permitirán contribuir a sentar las bases para establecer patrones de distribución de fenotipos de resistencia antimicrobiana asociados a la formación de biofilm y de esta manera tener información para modificar la terapéutica antibiótica basado en la presencia del biofilm.

### **1.5.2. Justificación práctica**

La resistencia a los antimicrobianos es un problema global de salud pública que presenta una compleja epidemiología, por lo que es necesario investigar para comprender su epidemiología y sus determinantes en poblaciones expuestas como la población de pacientes del ámbito hospitalario. Lo que permitirá comunicar efectivamente la epidemiología con el uso adecuado de los datos epidemiológicos; como los elevados niveles de resistencia a oxacilina en *S. aureus* (más del 50% de resistencia en todas las regiones según la OMS).

La investigación en ciencias de la salud está enfocada en investigar para dar soluciones a los problemas de salud y enfermedad en la población, siendo las líneas de investigación de la Universidad Nacional Federico Villarreal en Salud Pública la que estudia estrategias de prevención y control de enfermedades, su epidemiología en el ámbito comunitario como hospitalario. Asimismo, la línea de investigación en enfermedades infecciosas aborda la prevención y control de las mismas en poblaciones vulnerables como las del ámbito nosocomial, que padecen de infecciones asociadas al cuidado y a la atención de la salud.

La detección y estimación de los resultados de la investigación permitirán la implementación de medidas de control de infecciones para prevenir la diseminación y adecuar su tratamiento, tratando de disminuir los costos de hospitalización y la estancia, repercutiendo en la calidad de vida del paciente y su comunidad; en consecuencia, un mejor enfoque terapéutico, evolución y pronóstico.

Asimismo, el conocimiento de la epidemiología local sobre las infecciones por *Staphylococcus aureus*, sus patrones de sensibilidad a los antimicrobianos y la relación con el biofilm en el Hospital Nacional Hipólito Unanue permitirán hacer una mejor elección del antimicrobiano para diseñar un adecuado tratamiento, que permitirá favorecer la recuperación de la salud y plantear un adecuado abastecimiento de los antimicrobianos disminuyendo la aparición de patógenos bacterianos resistentes en nuestros pacientes.

Los tratamientos de las infecciones bacterianas se basan en compuestos que afectan el crecimiento microbiano, frente a las crecientes tasas de resistencia antimicrobiana y aparición de mecanismos de resistencia emergentes. A todo esto, se suma que las bacterias que forman biofilm resultan menos afectadas por los antimicrobianos en comparación con las cepas planctónicas de la misma especie, lo cual podría deberse a la transferencia de genes de resistencia que ocurre de manera exacerbada dentro de esas comunidades microbianas en el biofilm.

## **1.6. Limitaciones de la investigación**

Esta tesis se centró principalmente en estudiar cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados, y evaluar la relación entre la formación de biofilm y la resistencia a los antimicrobianos en los servicios del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

En los últimos años se han encontrado un creciente aumento de pacientes con aislamiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos tanto en el ámbito nosocomial como en la consulta externa, que remarca importancia en la investigación de este problema.

Los resultados obtenidos presentan una validez externa que está limitada a instituciones como el Hospital Nacional Hipólito Unanue que es una institución referencial del Ministerio de Salud con un nivel III – 1, ubicada en el distrito El Agustino, con una población adscrita de más de 2 millones de habitantes. Siendo comparable con población de pacientes hospitalizados que presentan aislamientos bacterianos, además de ser una muestra importante para llevar a cabo la investigación. Como limitaciones de nuestro estudio podemos mencionar que no se analizaron pacientes ambulatorios, y genes de resistencia relacionados.

## 1.7. Objetivos

### 1.7.1. *Objetivo General*

- Determinar la relación que existe entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016 - 2018.

### 1.7.2. *Objetivos específicos*

- Determinar la resistencia a los antimicrobianos en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.
- Identificar la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.
- Establecer la relación que existe entre la resistencia a oxacilina y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.
- Establecer la relación que existe entre la resistencia a quinolonas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.
- Establecer la relación que existe entre la resistencia a los aminoglicósidos, tetraciclinas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.
- Establecer la relación entre la resistencia a las sulfonamidas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.



- Establecer la relación entre la resistencia a los macrólidos y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.
- Establecer la relación entre la resistencia a las lincosamidas y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018.
- Describir las características demográficas de los pacientes hospitalizados con aislamiento de *Staphylococcus aureus*, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.

## **1.8. Hipótesis**

### **1.8.1. Hipótesis general**

- H<sub>1</sub>: La resistencia antimicrobiana se relaciona con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.
- H<sub>0</sub>: La resistencia antimicrobiana no se relaciona con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.

### **1.8.2. Hipótesis Específicas**

- La resistencia a oxacilina se relaciona con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018.
- La resistencia a quinolonas se relaciona con la formación de biofilm en *S. aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.

- La resistencia en aminoglicósidos se relaciona con la formación de biofilm en *S. aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.
- La resistencia a tetraciclinas se relaciona con la formación de biofilm en *S. aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.
- La resistencia a sulfonamidas se relaciona con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.
- La resistencia a macrólidos se relaciona con formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.
- La resistencia a lincosamidas se relaciona con formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Marco Conceptual

#### 2.1.1. Bases teóricas de la variable resistencia antimicrobiana de *S. aureus*

**2.1.1.1. Características microbiológicas y patogenicia.** *Staphylococcus aureus* es una bacteria caracterizada morfológicamente en la coloración gram como un coco gram positivo que puede encontrarse en pares, cadenas cortas o racimos. Es anaerobio facultativo, desarrollando mejor en condiciones aerobias; conforma la flora normal de la piel y mucosas nasales; siendo las fosas nasales su principal reservorio. Su pared celular es conformada por componentes que le confieren rigidez y estabilidad. El principal componente es el peptidoglicano, que se encuentran asociado a ácidos teicoicos mediante el aminoácido L-lisina. (Salvador, 2005). *Staphylococcus aureus* se consideraba no móvil, pero se han descrito dos formas de motilidad, una forma se denomina propagación (tipo de motilidad deslizante) y la segunda forma implica la formación de cometas, con características observables asociadas con la motilidad deslizante. (Pollitt, 2017)

El género *Staphylococcus* contiene 32 especies, 16 se han encontrado en humanos. En ausencia de factores predisponentes del huésped como inmunosupresión o cuerpos extraños, solo algunas son patógenas. Las más agresivas incluirían a *S. aureus* y *S. lugdunensis* en humanos. En 1880, Louis Pasteur describió y cultivó al *Staphylococcus aureus*. En 1881, Ogston lo denominó con los términos derivados del griego *staphyle* = racimo y *kokkos* = granos. La principal característica que diferencia a *Staphylococcus aureus* de las otras especies es la producción de la enzima coagulasa. Este agente resiste el calor y la desecación, creciendo en condiciones de salinidad. Muestran beta hemólisis en medios con sangre, con característica bioquímica importante de fermentar el manitol para producir ácido láctico. *S. aureus* presenta desarrollo en medios de cultivo como agar sangre, con

crecimiento de colonias que miden de 1 a 3 milímetros. Además, producen un típico pigmento amarillo dorado por la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24 – 36 horas. (Sandoval, 2013)

**2.1.1.2. Sobre la identificación de aislamientos de *Staphylococcus aureus*.** Se puede identificar en base a pruebas bioquímicas como tinción Gram, catalasa y coagulasa.

- **Tinción Gram.** La tinción Gram en un frotis muestra a esta bacteria como cocos Gram positivos, en racimos. La tinción Gram, es uno de los métodos de rutina más importantes en microbiología. En 1844, fue desarrollada por el bacteriólogo danés Christian Gram. (Cervantes, 2014), (Sandoval, 2013).
- **Prueba de Catalasa.** Determina la presencia de la enzima extracelular catalasa, esta enzima es producida por *S. aureus* durante el crecimiento en medios aerobios. Asimismo, permite diferenciar entre el género *Staphylococcus* (catalasa positiva) del género *Streptococcus* (catalasa negativa). La catalasa favorece la supervivencia de *S. aureus* y puede descomponer al peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) en agua y oxígeno molecular produciendo el desprendimiento de burbujas. El  $H_2O_2$ , posee un efecto tóxico sobre las bacterias y es generado por estrés oxidativo por parte de los polimorfos nucleados. (Sandoval, 2013), (Salas-Sánchez, 2010).
- **Prueba de la Coagulasa.** La prueba de coagulasa se puede realizar utilizando diversas variedades de plasmas, como el plasma deshidratado de conejo conteniendo citrato o ácido etilen diamino tetra acético (EDTA) es adecuado para la identificación del *Staphylococcus aureus*, que posee dos tipos de coagulasa: la libre y la ligada. Siendo la prueba en tubo la más adecuada para reconocer la actividad de la enzima coagulasa (Sandoval, 2013).

**2.1.1.3. Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus*.** *S. aureus* posee una gran capacidad para sobrevivir en ambientes adversos por la acción de sus determinantes patogénicos. Se clasificaron a los factores de virulencia en tres grupos:

- Componentes de la pared celular: peptidoglicano (activación del complemento), ácidos teicoicos y proteína A (anti fagocitarios) y la cápsula mucoide (adherencia).
- Enzimas: coagulasa (formación de abscesos), catalasa (catalizadora del peróxido de hidrógeno), estafiloquinasas (destrucción del coágulo), hialuronidasa (invasión hística), b-lactamasas (inactivación de betalactámicos) y lipasas (colonización).
- Toxinas: hemolisinas (rotura de membrana celular), leucocidinas (alteración de la permeabilidad celular), toxina exfoliativa (epidermólisis), toxina TSST (shock toxico) y entero toxina (intoxicación alimentaria).

Los factores de virulencia del *S. aureus* además participan en la adhesión, invasión y evasión de la respuesta inmune del hospedero, clasificándose según su función:

- Factores de adherencia a la célula huésped o matriz extracelular, como las proteínas de unión a fibrinógeno, fibronectina, colágeno y coagulasa.
- Factores de evasión de las defensas del huésped, como las enterotoxinas estafilocócicas; la TSST-1, la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL), proteína A, lipasas y polisacáridos capsulares.
- Factores involucrados en la invasión de la célula huésped y penetración de los tejidos, como la hemolisina alfa, hemolisina beta, gamma y épsilon.

**2.1.1.4. Patología de la infección por *Staphylococcus aureus*.** Ocasiona graves problemas de multirresistencia en el ámbito hospitalario. Dado que posee una rápida respuesta adaptativa a la presión selectiva de agentes antimicrobianos, lo que contribuye a

su emergencia y diseminación. Su continua adquisición de determinantes de resistencia ha determinado su nivel de patogenicidad. (Arciola, 2012). Esta bacteria puede ocasionar diversos tipos de infecciones, y transmitirse a través del cuerpo o membranas mucosas. Se observan tres tipos de infecciones más comunes:

- Infecciones por lesiones superficiales tales como heridas infectadas.
- Infecciones por tratamientos sistémicos o de por vida como el tratamiento de endocarditis, osteomielitis, neumonía, abscesos cerebrales, meningitis y bacteriemias.
- Infecciones por toxinas en casos de envenenamiento por alimentos, síndrome de piel irritada y síndrome por shock tóxico.

**2.1.1.5. Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*.** Una bacteria es considerada como resistente a un agente antimicrobiano cuando la concentración de este último en el sitio de infección no es lo suficientemente alta como para destruir o inhibir la replicación bacteriana. La resistencia antimicrobiana también envuelve aspectos farmacológicos y clínicos. Es una propiedad sumamente flexible, ya que varía con respecto al agente antimicrobiano, la bacteria involucrada y el mecanismo de resistencia. (Solano, 2014), (García, 2011) La resistencia antimicrobiana se encuentra mayormente asociada a la adquisición de elementos genéticos móviles. Estos últimos, portan uno o más genes de resistencia. Los genes de resistencia pueden codificar para proteínas que median la resistencia tanto para agentes antimicrobianos individuales como para agentes de una misma clase. A las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la oxacilina, se les denomina *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM), Las infecciones por SARM están entre las principales causas de infecciones adquiridas en hospitales.

Asimismo, ha surgido como causa de enfermedades en la comunidad. (Lujan, 2013), (Gomes, 2012), (Morejón García, 2012).

El *Staphylococcus aureus* actualmente se observa como resistente a múltiples agentes antimicrobianos y se considera como patógeno crítico en medicina humana. Se ha reportado en la última década un creciente aumento de la resistencia a los antimicrobianos utilizados para la terapéutica de este agente como son los betalactámicos, aminoglicósidos, macrólidos, lincosamidas, cloranfenicol, tetraciclinas, sulfatrimetoprim, rifampicina, quinolonas y los glucopéptidos. (Smith, 2009), (Nilima, 2010), (Borga, 2010), (Carmona, 2012).

**2.1.1.6. Pruebas para detección de resistencia antimicrobiana.** La prueba de susceptibilidad o sensibilidad antimicrobiana denominada antibiograma, permite detectar in vitro los aislamientos bacterianos con resistencia a los antimicrobianos. Si la bacteria no presenta una sensibilidad homogénea a los antibióticos se debe informar el antibiograma, dado que el aumento de la resistencia a los antimicrobianos dificulta el tratamiento empírico. Las técnicas de rutina están basadas en estudios fenotípicos, en el que se observa el crecimiento microbiano en presencia de diferentes antibióticos. Entre estas técnicas se encuentra la dilución en agar, macro dilución y microdilución en caldo, tiras con un gradiente de antibiótico, y requieren de incubación de unas 16 a 24 horas para obtención de resultados. Existen diversos métodos, siendo el más conocido el de Kirby Bauer por disco difusión en agar. Esta prueba es recomendada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), que establece criterios para interpretación para categorizar los niveles de resistencia de los microorganismos a los diferentes agentes antimicrobianos, así los aislamientos se identifican como sensibles, intermedios o resistentes a los antimicrobianos

estudiados. (Solano, 2014), (Tamariz, 2010).

Adicionalmente, en los últimos años han aparecido un considerable número de técnicas que permiten llevar a cabo un antibiograma rápido para *Staphylococcus aureus*. Entre estas cabe destacar las técnicas moleculares, microarrays, así como métodos comerciales utilizados en el trabajo de rutina, técnicas inmunocromatográficas, métodos colorimétricos, métodos de imagen, nefelometría, espectrometría de masas MALDI-TOF, citometría de flujo, quimioluminiscencia y bioluminiscencia, micro fluidos y métodos de lisis bacteriana. Las nuevas metodologías permiten resultados en menor tiempo. Para la interpretación del antibiograma se debe conocer la especie bacteriana en estudio. Siendo beneficios de un resultado rápido de sensibilidad de las bacterias a los antibióticos el aumento de la supervivencia, reducción de gastos y se evita selección de cepas bacterianas resistentes. (March-Rosello, 2017)

### **2.1.2. Bases Teóricas de la variable formación de Biofilm**

**2.1.2.1. Sobre biofilm bacteriano.** Un biofilm es una asociación estructurada de bacterias embebidas en una matriz propia de poero compuesto por polisacáridos, proteínas y ADN. Característicamente, la gradiente de nutrientes y oxígeno va desde la parte superior hacia el fondo de los biofilms, se asocian con disminución de la actividad metabólica e incremento del tiempo de crecimiento bacteriano, las bacterias latentes son responsables de la tolerancia a los antibióticos. (Ping Cheng, 2012). Costerton, citado por Axelsson, menciona que los biofilms son definidos como “poblaciones bacterianas encerradas en un matriz adheridas unas a otras y/o a superficies o interfaces en su organización molecular. Propiedades fisicoquímicas y características de crecimiento ha guiado al concepto de biofilm



como comunidades ecológicas que evolucionaron para permitir la supervivencia de la totalidad de la comunidad. (Costerton, 2003), (Arciola, 2012).

Los biofilm bacterianos causan infecciones crónicas, mostrando mayor tolerancia a los antibióticos, desinfectantes químicos y resisten la fagocitosis del sistema inmune. La persistencia de infecciones por *Staphylococcus* relacionadas a cuerpos extraños es debido a la formación de biofilm. (Ping Cheng, 2012), (Gil, 2014)

El crecimiento del biofilm está asociado con el nivel incrementado de mutaciones y con mecanismos regulados por *quórum sensing*. Mecanismos de resistencia convencionales como betalactamasa cromosómica, bombas de eflujo y mutaciones de las moléculas blanco de antibióticos también contribuyen a la supervivencia de los biofilms. (Mirani, 2013)

**2.1.2.2 Fases de desarrollo del biofilm.** Durante la formación del biofilm se observan las siguientes fases bien diferenciadas (Anexo E): (García, 2003), (Bustos-Martínez, 2006), (Salas Sánchez, 2010), (Londoño, 2011), (Smith, 2009), (Gil, 2014).

- a. Acondicionamiento de la superficie. Adsorción inicial de las células a la superficie del biomaterial: interacciones hidrofóbicas, *AtlE*, *AtlA*.
- b. Adherencia bacteriana. Acumulación en múltiples láminas: mediado por MSCRAMMs.
- c. Maduración del Biofilm o matrix extracelular: producción de exopolisacárido (PNAG), proteínas (*Bap*, *Aap*, *SasG*, *SasC* y *FnbpB*), eDNA, mediado por cooperación entre especies en *quórum sensing*.
- d. Crecimiento y dispersión: Desprendimiento de las células del interior del biofilm a un estado plantónico: señales ambientales, signos de transducción y efectores.

Farber et al, citados por O'Grady. En los catéteres, el biofilm potencia la patogenicidad de los *Staphylococcus* permitiéndoles tolerar los mecanismos de defensa del huésped (actuando como una barrera para evitar ser fagocitados y eliminados por los leucocitos polimorfonucleares) o hacerles menos susceptibles a los agentes antimicrobianos (formando una matriz que impida a los antimicrobianos su contacto con la pared celular del microorganismo). (Costerton, 2003). El Biofilm puede prevenirse mediante la profilaxis o terapia antibiótica agresiva temprana y pueden ser tratados por terapia supresora crónica. Una estrategia prometedora puede ser el uso de enzimas para disolver la matriz del biofilm (DNAasa, alginato liasa, etc.) y los inhibidores de quórum sensing, que incrementarían la susceptibilidad del biofilm a los antibióticos. La patogénesis de las infecciones del torrente sanguíneo asociadas al catéter ha sido relacionada a comunidades sésiles multicelulares de microorganismos con células bacterianas individuales embebidas en una matriz de polisacárido extracelular conocidos como biofilm. (Kyeho, 2013)

Donlan citado por Hassan et al. Indica que los *biofilms* son asociados con muchas condiciones médicas, incluyendo dispositivos médicos permanentes, placa dental, infecciones del tracto respiratorio superior, peritonitis e infecciones urogenitales. Bacterias gram positivas y gram negativas tienen la capacidad de formar biofilm. Las bacterias comúnmente relacionadas incluyen *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. viridans*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*. (Hassan, 2011)

**2.1.2.3. Biofilm en *Staphylococcus aureus*.** *S. aureus* es un importante patógeno en infecciones relacionadas con cuerpos extraños, crecimiento rápido, resistencia a múltiples antibióticos, y su propensión a transformarse de una infección aguda a una persistente, crónica y recurrente. *S. aureus* puede producir una biofilm multicapa incrustada dentro de una capa de glicocalix o limo con expresión heterogénea de proteínas. Inicialmente se describió el componente sólido del glicocalix, compuesto principalmente de ácidos teicoicos (80%) y proteínas estafilocócicas y del huésped. Después se aisló un antígeno de polisacárido específico denominado antígeno intercelular de polisacárido (PIA). El PIA se compone de residuos de N-acetilglucosamina unidos a b-1,6 (80–85%) y una fracción aniónica con menos residuos de D-glucosaminilo no N-acetilado que contiene fosfato y succinato unido a éster (15– 20%). (Archer, 2011) Se menciona la importancia del sistema regulador de dos componentes YycFG y el ADN extracelular en la virulencia, siendo la consolidación del biofilm dependiente o independiente de la expresión del PIA (Wu, 2019).

**2.1.2.4. Métodos para determinar la formación del biofilm.** Para evaluar la formación de biofilm se han desarrollado diversas metodologías que son útiles, dado que permiten detectar la formación del biofilm desde la formación temprana hasta la consolidación de la biocapa que se observa con mayor tiempo de formación, presentando cada método diferente sensibilidad según los agentes bacterianos que se evalúan. Existen varios métodos para detectar la formación de biofilm. Estos incluyen métodos cualitativos como el método en tubo, método en agar rojo congo, y los métodos cuantitativos como el de placa de cultivo de tejidos, ensayo de bioluminiscencia, sensores piezoeléctricos, examinación microscópica fluorescente, entre otros. (Costerton, 2003), (Sandoval, 2013), (Arciola, 2012), (Ping Chen, 2012), (Mathur, 2006), (Hassan, 2011).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de Investigación

El tipo de investigación es de tipo cuantitativa. Básico, conocido también como investigación pura, teórica o dogmática, porque parte de un planteamiento de marco teórico y permanece en él; su finalidad es formular nuevas teorías o modificar las existentes, incrementando los conocimientos científicos o filosóficos, teniendo presente de no contrastarlos con ningún aspecto referido práctico. (Tamayo y Tamayo, 2003).

##### 3.1.1. *Diseño de Investigación*

Esta investigación corresponde al modelo de investigación epidemiológica cuyo propósito es ubicar, analizar y sintetizar el problema, siendo el diseño epidemiológico de tipo correlacional, porque tiene como finalidad determinar el grado de relación no causal existente entre dos o más variables y mediante la aplicación de técnicas estadísticas, se estima la correlación. Es una investigación no experimental, dado que la investigación se realiza sin la manipulación deliberada de variables y en los que sólo se observan los fenómenos en su ambiente natural para después analizarlos. (Tamayo y Tamayo, 2003).

##### 3.1.2. *Ámbito temporal y espacial del estudio*

El estudio se realizó en el periodo comprendido de enero 2016 a diciembre del 2018. Los cultivos, las pruebas de sensibilidad antimicrobiana y la formación de biofilm de los aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados se realizaron en el laboratorio del servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

### **3.2. Población y muestra**

La población estuvo constituida por todos los aislamientos de *Staphylococcus aureus* de muestras clínicas de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo de estudio.

#### **3.2.1. Diseño muestral y selección de la muestra**

Se realizó un muestreo simple no aleatorizado, por lo que no se utilizó una fórmula para determinar la muestra, ya que se utilizó todas las unidades de muestreo que cumplían con los criterios de elegibilidad, que permitió mayor exactitud para el análisis. Siendo seleccionada una muestra conformada por 325 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestras clínicas de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, durante el periodo de estudio.

#### **3.2.2. Unidad de Análisis**

Una cepa de *Staphylococcus aureus* aislada del paciente atendido en servicios de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue en el periodo comprendido de enero 2016 a diciembre del 2018. A quien se le solicitó el análisis de cultivo para determinar presencia de agentes bacterianos.

#### **3.2.3. Criterios de elegibilidad**

Se establecieron los siguientes criterios de elegibilidad de las unidades de análisis:

##### **a. Criterios de inclusión:**

- Aislamientos de *Staphylococcus aureus* de muestras de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo de estudio.

**b. Criterios de exclusión:**

- Se excluyeron a todos los aislamientos microbianos obtenidos de muestras clínicas procedentes de consulta externa.
- Se excluyeron los aislamientos de muestras que evidenciaron contaminación con 3 o más agentes bacterianos.
- Se excluyeron los aislamientos que no presentaron datos para su registro.
- Se excluyeron los aislamientos de agentes bacterianos distintos de *S. aureus*.
- Se excluyeron los aislamientos repetidos de *S. aureus* de un mismo paciente.

**3.3. Operacionalización de variables****3.3.1. Definición conceptual**

- **Variable 1: Resistencia Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*.** Característica de *Staphylococcus aureus* de presentar mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.
- **Variable 2: Formación de Biofilm.** Factor de virulencia de algunas especies bacterianas para conformar poblaciones bacterianas.

**3.3.2. Definición operacional**

- **Variable 1: Resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus aureus*.** Es el fenotipo de resistencia que presenta *Staphylococcus aureus* frente a los antimicrobianos.
- **Variable 2: Formación de Biofilm.** Formación de biofilm por una cepa bacteriana, que se evidencia mediante la metodología estandarizada de cultivo en placas de poliestireno y revelando la formación de biofilm.

## Operacionalización de las Variables

Variable	Tipo de Variable	Escala de medición	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor	Unidad de medida	Instrumento de recolección
Resistencia antimicrobiana en <i>Staphylococcus aureus</i>	Cualitativa	Nominal	Comportamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los antimicrobianos	Resistencia a Oxacilina	Porcentaje de resistencia a oxacilina	Sensible. Resistente.	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
				Resistencia a Quinolonas	Porcentaje de resistencia a ciprofloxacino	Sensible. Resistente	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
				Resistencia a Aminoglicósidos	Porcentaje de resistencia a gentamicina	Sensible. Resistente	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
				Resistencia a Tetraciclinas	Porcentaje de resistencia a tetraciclina	Sensible. Resistente	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
				Resistencia a Sulfonamidas	Porcentaje de resistencia sulfametoxazol/trimetoprima	Sensible. Resistente	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
				Resistencia a Macrólidos	Porcentaje de resistencia a Eritromicina	Sensible. Resistente	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
				Resistencia a Lincosamidas	Porcentaje de resistencia a Clindamicina	Sensible. Resistente	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos
Formación de Biofilm	Cualitativa	Nominal	Formación de Biofilm por una cepa bacteriana.	Detección del Biofilm por características de la lectura por espectrofotometría.	Formación de Biofilm, mediante el método de placa para cultivo de tejido.	Formador de biofilm No formador de biofilm	Frecuencia y porcentaje	Ficha de recolección de datos

### **3.4. Instrumentos**

La recolección de datos fue realizada por la técnica de documentación y la observación directa. Por lo cual los datos de la investigación fueron registrados en un instrumento que fue la ficha de recolección de datos (Anexo D), donde se consignaron a los pacientes hospitalizados que cumplían con los criterios de inclusión. La información demográfica (edad, sexo, procedencia) se documentó de las solicitudes de exámenes microbiológicos. Asimismo, en la ficha de recolección de datos se recolectaron los registros obtenidos del estudio microbiológico del agente aislado, los resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Kirby Bauer en disco difusión y la detección de biofilm en placa de cultivo de tejido para cada unidad de estudio.

### **3.5. Procedimientos**

#### **3.5.1. *Procesamiento de las muestras***

Las muestras de los pacientes procedentes de los servicios de hospitalización fueron transportadas al servicio de microbiología en el área de Bacteriología donde se realizó el cultivo por métodos convencionales según cada tipo de muestra, realizando el aislamiento, diferenciación bioquímica e identificación de las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* según lo descrito en el Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones del Instituto Nacional de Salud. (Sacsquispe & col, 2005)



### **3.5.2. Procesamiento de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos**

La prueba de sensibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* se realizó por el método de Kirby Bauer en agar Muller Hinton, según el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión del Instituto Nacional de Salud y los criterios interpretativos se rigieron según la normas actuales del suplemento *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* del CLSI, evaluándose los antibióticos que correspondieron a cada familia de antimicrobianos, como oxacilina, ciprofloxacina, gentamicina, tetraciclina, clindamicina, eritromicina y sulfametoxazol/trimetoprima. (Calderón, 2002), (CLSI, 2018)

### **3.5.3. Detección de biofilm en placa para cultivo de tejido**

Las cepas de *S. aureus* aislados de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo de estudio se conservaron en crioviales con caldo tripticasa de soya con glicerol 15% en congelación a - 20°C hasta la detección del biofilm por el método en placa para cultivo de tejido (PCT).

Las cepas de *S. aureus* se inocularon en 5 mL de caldo tripticasa de soya glucosado al 1%, y se procedió a incubación 37°C por 24 horas. Cada cepa de cultivo se diluyó 1:100 con medio fresco, y se colocó 200 µL del cultivo diluido en pocillos individuales estériles de fondo plano de poliestireno. Como control negativo se utilizó el caldo tripticasa soya estéril. Llevando a incubación de 37°C por 48 horas.

Se eliminó el contenido de cada pocillo, y se lavó con 200 µL de PBS (pH 7.2) por tres veces. Se realizó la fijación con una solución de acetato de sodio al 2% w/v

por 10 minutos y luego se procedió a colorear con cristal violeta al 0,1%. Se removió el exceso de colorante con agua desionizada y se secó. (Anexo B).

Para la lectura del biofilm formado se utilizó un lector de ELISA con una longitud de onda de 620 nm, y se registró la densidad óptica (OD) del biofilm adherido y coloreado de cada unidad muestral. La interpretación de la producción de biofilm se realizó de acuerdo a los criterios de Stepanovic et al. (Anexo C).

### **3.6. Análisis de datos**

Los datos obtenidos de las variables se ordenaron y fueron ingresados a una base de datos electrónica en una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel donde se realizó el control de calidad. La base de datos depurada fue exportada al programa SPSS versión 21 para el correspondiente análisis. Se realizaron los análisis de las variables con el programa SPSS con aplicación de estadística descriptiva de los datos obtenidos, para las variables demográficas se usó la media aritmética y desviación estándar, para variables cualitativas se usó frecuencias y porcentajes mediante el software WHONET 5.6 y presentación en tablas Microsoft Excel. Para la contrastación de la hipótesis de relación se aplicó la estadística no paramétrica, mediante el estadístico Rho de Spearman. Por la naturaleza de las variables cualitativas se utilizó el estadístico Chi cuadrado para establecer la relación en la tabulación cruzada entre las dos variables, formación de biofilm y la resistencia de cada antimicrobiano. Asimismo, se consideró el valor  $p < 0.05$ , como referente para hallar el nivel de significancia.

### **3.7. Consideraciones Éticas**

Este trabajo de investigación se realizó considerando los siguientes criterios: Para la ejecución de instrumentos de investigación, se solicitó autorización para el desarrollo de procedimientos en el servicio de Microbiología de los aislamientos bacterianos de muestras de pacientes hospitalizados. Además, se consideró los aspectos legales vigentes necesarios para llevar a cabo una investigación. Se ha realizado buenas prácticas de laboratorio para el desarrollo de los procedimientos, considerando la descontaminación adecuada de los agentes biológicos que se estudiaron.

El estudio no involucra la participación de muestras biológicas, se evaluaron solo los aislamientos bacterianos obtenidos de los procesos de microbiología y se obtuvieron datos demográficos del paciente. El estudio por su diseño no requirió consentimiento informado. Se garantizó la confidencialidad de los datos obtenidos, utilizándose un registro de codificación de cada unidad muestral. Los datos obtenidos del estudio se almacenaron en una base de datos digital, y se asignó un código a cada muestra a fin de mantener la confidencialidad de la información, la cual se almaceno en un medio magnético. Solo el investigador tuvo acceso a la información que identifique las cepas obtenidas y no existió algún otro acceso a esta información. En todos los procedimientos del estudio se tratan de preservar la integridad y los derechos fundamentales de los pacientes en la investigación, de acuerdo con los lineamientos de buenas prácticas de laboratorio y de ética en investigación biomédica.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Contrastación de Hipótesis

En la contrastación de hipótesis se aplicó la estadística no paramétrica, mediante la correlación Rho de Spearman, y se relacionó la variable resistencia antimicrobiana y la variable formación de biofilm con un nivel de significancia de 0.05.

- **H1:** Existe una relación significativa entre la formación de biofilm y la resistencia a los antimicrobianos en *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018.
- **Ho:** No existe una relación significativa entre la formación de biofilm y la resistencia a los antimicrobianos en *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016-2018.

**Variable 1:** Resistencia a los antimicrobianos

**Variable 2:** Formación de biofilm.

**Prueba estadística:** Correlación de Spearman.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Regla de decisión:**

- Sí valor  $p < 0.05$ , entonces rechazar Hipótesis nula (Ho). Y se acepta Ha
  - Sí valor  $p > 0.05$ , se acepta la Hipótesis nula (Ho).
- **Decisión:** Al analizar la relación que existe entre las variables resistencia a los antimicrobianos y la formación de biofilm, se obtuvo un coeficiente de

correlación de -0.141 (correlación débil y negativa) y un p-valor obtenido de 0.011, el cual es menor al p-valor tabulado de 0.05, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de la investigación. Esto significa que existe una relación indirecta muy baja entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.**

*Correlación entre la Resistencia antimicrobiana y la Formación de Biofilm en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

<i>Rho de Spearman</i>		<i>Formación de Biofilm</i>
<i>Resistencia antimicrobiana</i>	<i>Coefficiente de correlación</i>	-0.141*
	<i>Sig. (bilateral)</i>	0.011
	<i>N</i>	325
	<i>Bootstrap<sup>c</sup> Sesgo</i>	-0.003
	<i>Error estándar</i>	0.051
	<i>Intervalo de confianza a 95%</i>	<i>Inferior</i> -0.235
		<i>Superior</i> -0.034

Fuente: Datos de la investigación.

*Nota.* Al analizar la relación que existe entre la formación de biofilm y resistencia a cada antimicrobiano en los aislamientos de *S. aureus* de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, mediante el estadístico de correlación de

Spearman se encontró que presenta relación estadísticamente significativa con la resistencia de algunos grupos antimicrobianos como quinolonas, sulfonamidas, lincosamidas y macrólidos, observándose una relación significativa ( $p < 0.05$ ), y además para antimicrobianos como oxacilina, aminoglicósidos y tetraciclinas, no se establece una relación significativa como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2.**

*Relación entre la Resistencia a los antimicrobianos y la formación de Biofilm y en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

<i>Resistencia a los antimicrobianos</i>	<b>Formación de Biofilm</b>	
	<b>Correlación</b>	<b>Significancia</b>
Quinolonas	0.107*	0.027
Aminoglicósidos	0.076	0.085
Tetraciclinas	-0.053	0.168
Sulfonamidas	0.126*	0.011
Macrólidos	0.108*	0.025
Lincosamidas	0.113*	0.020

(\*) La correlación es significativa al nivel 0.05. (Fuente: Datos de la investigación.)

*Nota.* Por la naturaleza de las variables cualitativas se utilizó el estadístico Chi cuadrado para establecer la relación en la tabulación cruzada entre las dos variables, formación de biofilm y la resistencia a cada antimicrobiano en el estudio.

Para establecer relación entre la resistencia a la oxacilina y la formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 1.69 con un grado de libertad y un valor de p mayor de 0.05, que nos indica que no existe una relación significativa entre las variables, como se indica en la Tabla 3.

**Tabla 3.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Oxacilina en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		Formación de Biofilm		Total
		Presente	Ausente	
Oxacilina	Resistencia	187	13	200
		60.7%	76.5%	61.5%
	Sensible	121	4	125
		39.3%	23.5%	38.5%
Total		308	17	325
		100%	100%	100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	1.690 <sup>a</sup>	1	.194		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	1.090	1	.297		
Razón de verosimilitud	1.805	1	.179		
Prueba exacta de Fisher				.305	.148
N de casos válidos	325				

Para establecer relación entre la resistencia a Quinolonas y formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 3.73 con un grado de libertad y un valor de p mayor de 0.05, que nos indica que no existe una relación significativa entre las variables. En la Tabla 4 se muestra los resultados obtenidos con el software estadístico.

**Tabla 4.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Quinolonas en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		Formación de Biofilm		Total
		Presente	Ausente	
Quinolonas	Resistente	181 58.8%	14 82.4%	195 60%
	Sensible	127 41.2%	3 17.6%	130 40%
<b>Total</b>		308 100%	17 100%	325 100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	3.735 <sup>a</sup>	1	.053		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	2.816	1	.093		
Razón de verosimilitud	4.152	1	.042		
Prueba exacta de Fisher				.073	.042
N de casos válidos	325				



Para establecer relación entre la resistencia a Aminoglicósidos y formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 1.86 con un grado de libertad y un valor de p mayor de 0.05, que nos indica que no existe una relación significativa entre las variables. En la Tabla 5 se muestra los resultados obtenidos con el software estadístico.

**Tabla 5.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a los Aminoglicósidos en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		Formación de Biofilm		Total
		Presente	Ausente	
Aminoglicósidos	Resistente	204 66.2%	14 82.4%	218 67.1%
	Sensible	104 33.8%	3 17.6%	107 32.9%
<b>Total</b>		308 100%	17 100%	325 100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	1.896 <sup>a</sup>	1	.169		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	1.236	1	.266		
Razón de verosimilitud	2.102	1	.147		
Prueba exacta de Fisher				.196	.131
N de casos válidos	325				

Para establecer relación entre la resistencia a tetraciclinas y formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 0.93 con un grado de libertad y un valor de p mayor de 0.05, que nos indica que no existe una relación significativa entre las variables. En la Tabla 6 se muestra los resultados obtenidos.

**Tabla 6.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Tetraciclinas en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		<u>Formación de Biofilm</u>		
		Presente	Ausente	Total
<b>Tetraciclinas</b>	<b>Resistente</b>	16	0	16
		5.2%	0%	4.9%
	<b>Sensible</b>	292	17	309
		94.8%	100%	95.1%
<b>Total</b>		308	17	325
		100%	100%	100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación Asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	.929 <sup>a</sup>	1	.335		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	.151	1	.698		
Razón de verosimilitud	1.764	1	.184		
Prueba exacta de Fisher				1.000	.415
N de casos válidos	325				

Para establecer relación entre la resistencia a Sulfonamidas y formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 5.18 con un grado de libertad y un valor de p menor de 0.05, que nos indica que existe una relación significativa entre las variables. En la Tabla 7 se muestra los resultados obtenidos.

**Tabla 7.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Sulfonamidas en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		Formación de Biofilm		Total
		Presente	Ausente	
<b>Sulfonamidas</b>	<b>Resistente</b>	84	9	93
		27.3%	52.9%	28.6%
	<b>Sensible</b>	224	8	232
		72.7%	47.1%	71.4%
<b>Total</b>		308	17	325
		100%	100%	100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación Asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	5.197 <sup>a</sup>	1	.023		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	4.016	1	.045		
Razón de verosimilitud	4.682	1	.030		
Prueba exacta de Fisher				.029	.027
N de casos válidos	325				

Para establecer relación entre la resistencia a Macrólidos y formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 3.81 con un grado de libertad y un valor de p menor de 0.05, que nos indica que no existe relación significativa entre las variables. En la Tabla 8 se muestra los resultados obtenidos con el software estadístico.

**Tabla 8.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Macrólidos en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		Formación de Biofilm		Total
		Presente	Ausente	
<b>Macrólidos</b>	<b>Resistente</b>	224 72.7%	16 94.1%	240 73.8%
	<b>Sensible</b>	84 27.3%	1 5.9%	85 26.2%
<b>Total</b>		308 100%	17 100%	325 100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	3.817 <sup>a</sup>	1	.051		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	2.790	1	.095		
Razón de verosimilitud	4.976	1	.026		
Prueba exacta de Fisher				.051	.037
N de casos válidos	325				

Para establecer relación entre la resistencia a Lincosamidas y formación de biofilm se encontró que el Chi cuadrado fue de 4.19 con un grado de libertad y un valor de p menor de 0.05, que nos indica que existe una relación significativa entre las variables. En la Tabla 9 se muestra los resultados obtenidos.

**Tabla 9.**

*Relación entre la formación de biofilm y la resistencia a Lincosamidas en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

		Formación de Biofilm		Total
		Presente	Ausente	
<b>Lincosamidas</b>	<b>Resistente</b>	197	15	212
		64.0%	88.2%	65.2%
	<b>Sensible</b>	111	2	113
		36.0%	11.8%	34.8%
<b>Total</b>		308	17	325
		100.0%	100%	100%

*Datos de la investigación. (Fuente: Elaboración propia)*

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4.186 <sup>a</sup>	1	.041		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	3.184	1	.074		
Razón de verosimilitudes	4.945	1	.026		
Estadístico exacto de Fisher				.064	.031
Asociación lineal por lineal	4.173	1	.041		
N de casos válidos	325				

## 4.2 Análisis e interpretación

Durante el periodo comprendido de enero 2016 a diciembre 2018, a partir de pacientes procedentes de servicios de hospitalización del Hospital Nacional Hipólito Unanue, se seleccionaron mediante muestreo no probabilístico por conveniencia 325 cepas de *Staphylococcus aureus*, que cumplieron con los criterios de inclusión. A partir de las cuales se establece el objetivo de nuestra investigación, determinar la relación entre la formación de biofilm y la resistencia antimicrobiana.

Para identificar la resistencia a los antimicrobianos de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes hospitalizados se realizó el método de disco difusión Kirby Bauer en agar Muller Hinton, utilizando los antimicrobianos que correspondían a cada familia de antibióticos y los criterios interpretativos se rigieron según las normas actuales del suplemento *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* CLSI. (Calderón, 2002), (CLSI, 2018)

Al evaluar los resultados de resistencia de los antimicrobianos de cada familia de antibióticos, se encontró una mayor resistencia en antimicrobianos como macrólidos con eritromicina (73.8%), lincosamidas con clindamicina (65.2%) , aminoglicósidos con gentamicina (67.1%) y quinolonas con ciprofloxacina (60%), mientras tetraciclinas (4.9%) y sulfonamidas con sulfametoxazol-trimetoprim (28.6%) mostraron menor frecuencia de resistencia, así como rifampicina, cloranfenicol, teicoplanina y linezolid como se observa en la Tabla 10.

**Tabla 10.**

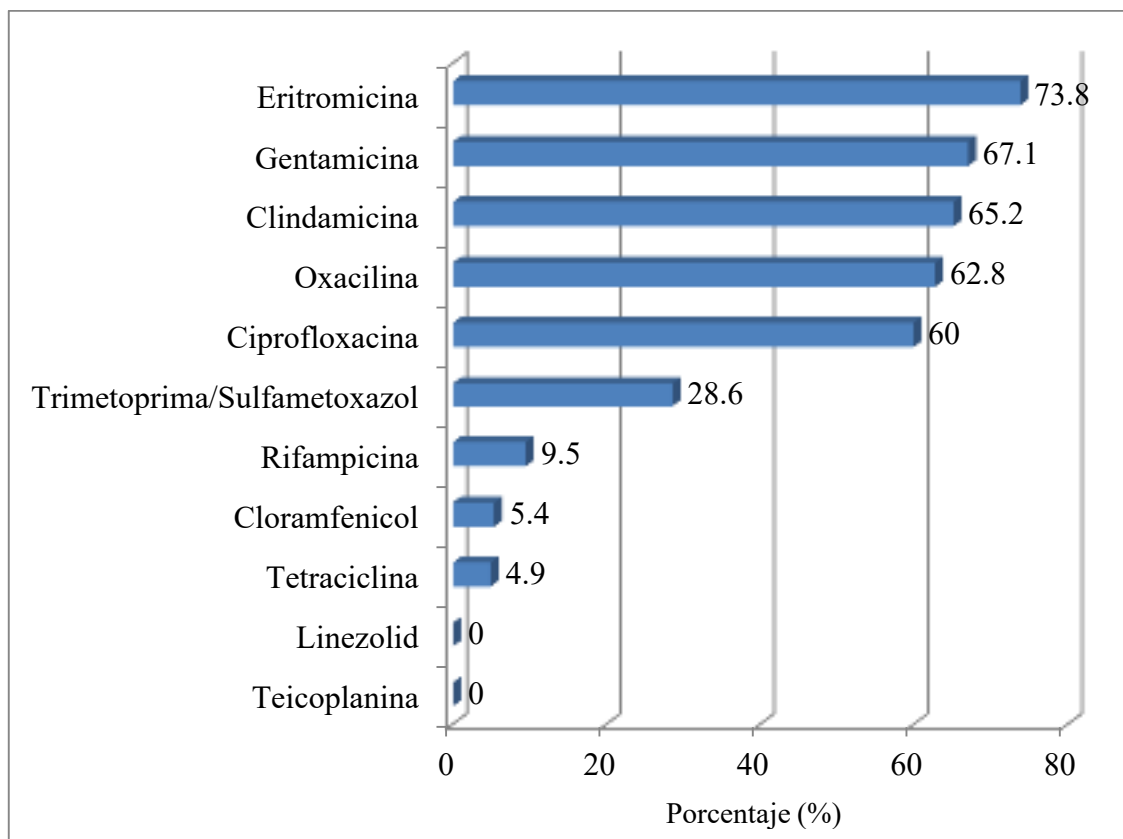
*Patrón de Resistencia Antimicrobiana de Staphylococcus aureus aislados en pacientes de servicios de Hospitalización. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.*

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Número</b>	<b>%R</b>	<b>%S</b>	<b>%R 95%I.C.</b>
Penicilina G	325	94.5	5.5	91.3-96.6
Eritromicina	325	73.8	26.2	64.1-74.4
Gentamicina	325	67.1	32.9	60.3-70.9
Clindamicina	325	65.2	34.8	58.2-68.9
Oxacilina	325	62.8	37.2	57.3-68.0
Ciprofloxacina	325	60	40	51.6-62.6
Trimetoprima/Sulfametoxazol	325	28.6	71.4	21.6-31.4
Rifampicina	325	9.5	90.5	6.4-13.0
Cloranfenicol	317	5.4	94.6	2.3-7.1
Tetraciclina	325	4.9	95.1	1.2-5.0
Teicoplanina	325	0	100	0.0-1.5
Linezolid	307	0	100	0.0-1.5

*Fuente: Servicio de microbiología. Hospital Nacional Hipólito Unanue.*

**Figura 1**

*Distribución del Patrón de Resistencia Antimicrobiana de Staphylococcus aureus aislados en pacientes de servicios de Hospitalización. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.*



*Fuente: datos de la investigación*

Para identificar la formación de biofilm en cepas de *Staphylococcus aureus* se utilizó el método en placa de cultivo de tejido (PCT), el cual según los criterios de Stepanovic permite clasificar el biofilm formado (Anexo C), siendo el valor de corte de la densidad óptica (DOc) definido como el valor de la media de la absorbancia del blanco más tres desviaciones estándar. El blanco consistió en el pocillo con el medio caldo tripticasa soya glucosado al 1% sin inóculo del microorganismo. El valor de absorbancia media fue 0.034 y la desviación estándar de 0.014, por lo tanto, se



estableció como valor de corte de la densidad óptica (DOc) una absorbancia de 0.076. En base al valor de corte, las cepas se clasificaron en: no formadoras de biofilm si la absorbancia del pocillo fue menor o igual a 0.076, formadoras débiles de biofilm si la absorbancia del pocillo era mayor de 0.076 y menor o igual a 2 veces el valor de corte ( $\leq 0.151$ ), formadoras moderadas de biofilm si la absorbancia del pocillo resultó mayor a 0.151 y menor o igual a 4 veces el valor de corte ( $\leq 0.302$ ) y fuerte formador de biofilm cuando la absorbancia supero el valor 0.302. (Anexo C)

Asimismo, cuando se estratificó las cepas de *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados por su capacidad de formación de biofilm, mediante el método en placa de cultivo celular se observa que las cepas con formación fuerte de biofilm representaron el 31.7%, con formación moderada el 43.1%, y con formación débil el 20%, solo un 5.2% no presentaron capacidad de formar biofilm, se observa en la Tabla 11.

**Tabla 11.**

*Distribución de la formación de biofilm en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018*

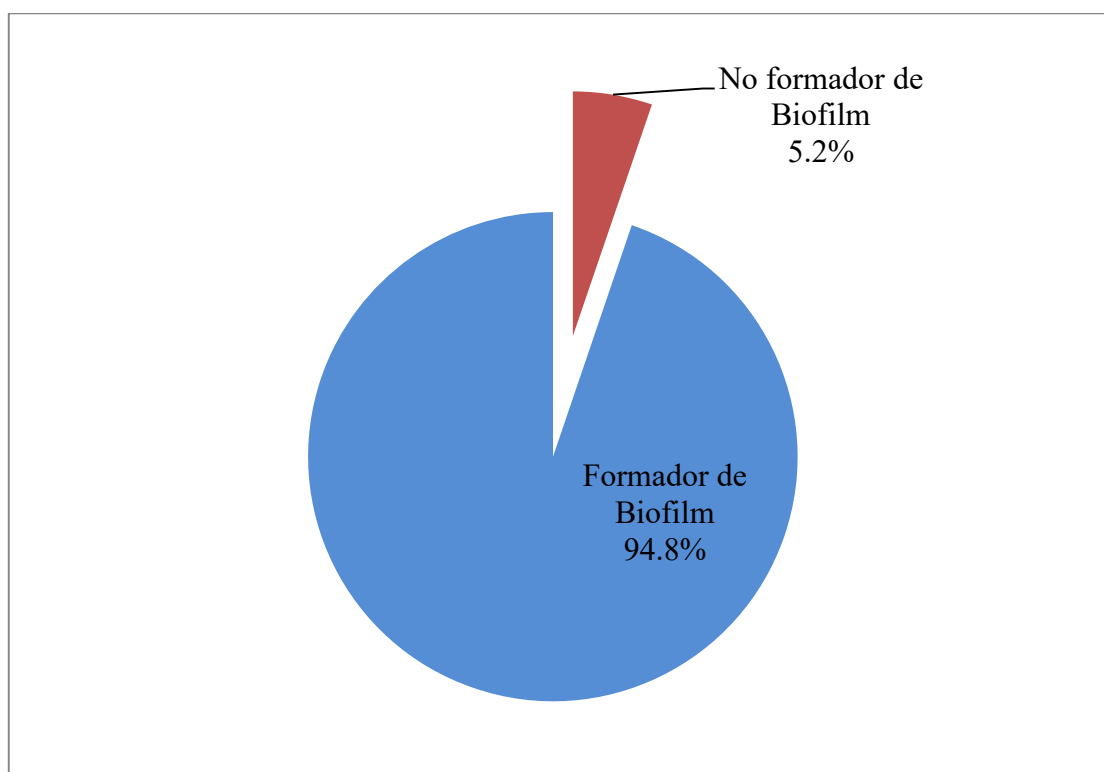
<b>Formación de biofilm</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
Negativo	17	5.2
Débil	65	20.0
Moderado	140	43.1
Fuerte	103	31.7
<b>Total</b>	<b>325</b>	<b>100</b>

*Fuente: Datos de la investigación.*

Las 325 cepas de *Staphylococcus aureus* fueron distribuidas según la capacidad de formación de biofilm mediante el método en placa de cultivo de tejido en dos grupos, así se observó 94.8% con la capacidad de formación de biofilm y 5.2% fueron no formadoras de biofilm, se observa en la Figura 2.

**Figura 2.**

*Formación de biofilm en Staphylococcus aureus aislado de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016-2018.*



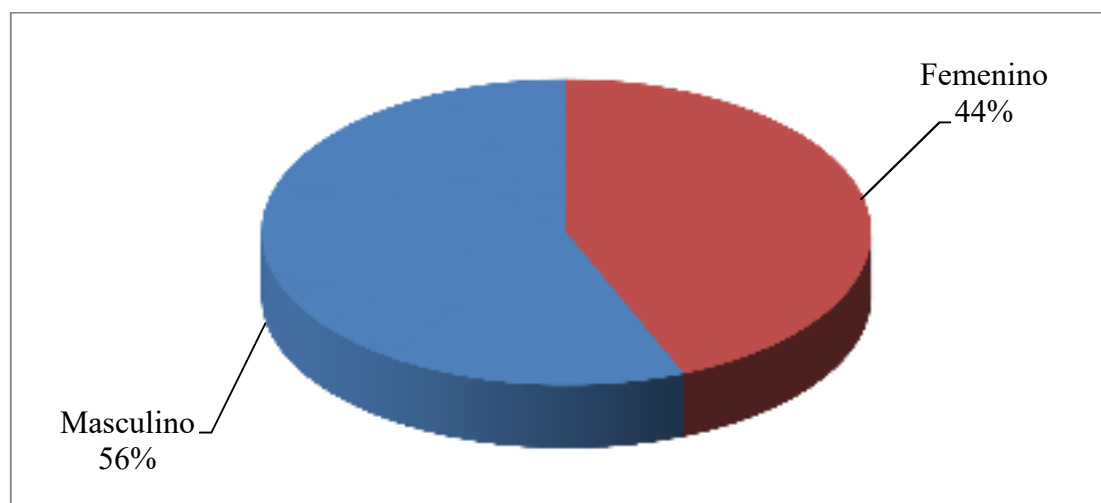
*Fuente: Datos de la investigación.*

Entre los factores demográficos observados en pacientes hospitalizados con aislamientos de *Staphylococcus aureus* en cultivos, se determinó la distribución según el sexo, edad y procedencia.

Se observa en la Figura 3, que de un total de 325 pacientes con aislamientos de *S. aureus* de servicios de hospitalización en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, se encontró una mayor frecuencia que correspondieron a pacientes del sexo masculino con 56.3% (183/325), mientras que solo 43.7% (142/325) correspondieron al sexo femenino, presentando una relación hombre/mujer de 1,3:1.

**Figura 3.**

*Distribución según el sexo de pacientes hospitalizados con aislamiento de Staphylococcus aureus. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018*



*Fuente: Datos de la investigación.*

La edad promedio en los pacientes hospitalizados con aislamiento de *S. aureus* en cultivos fue de 45.2 con una desviación estándar de 23.4. Presentando una frecuencia de distribución por grupos de edades, encontrando con una menor frecuencia en el rango de menores de 12 años con 8.6%, de 12 a 17 años con 4 % (13/325); y en el rango de 18 a 29 años con 16% (52/325). Encontrándose con una mayor frecuencia con 39.7% al rango de 30 a 59 años y con 31.7% (103/325) al rango de mayores de 60 años, observándose una tendencia de aumento en la frecuencia con respecto a la edad, como se observa en la Tabla 12 y la Figura 4.

**Tabla 12.**

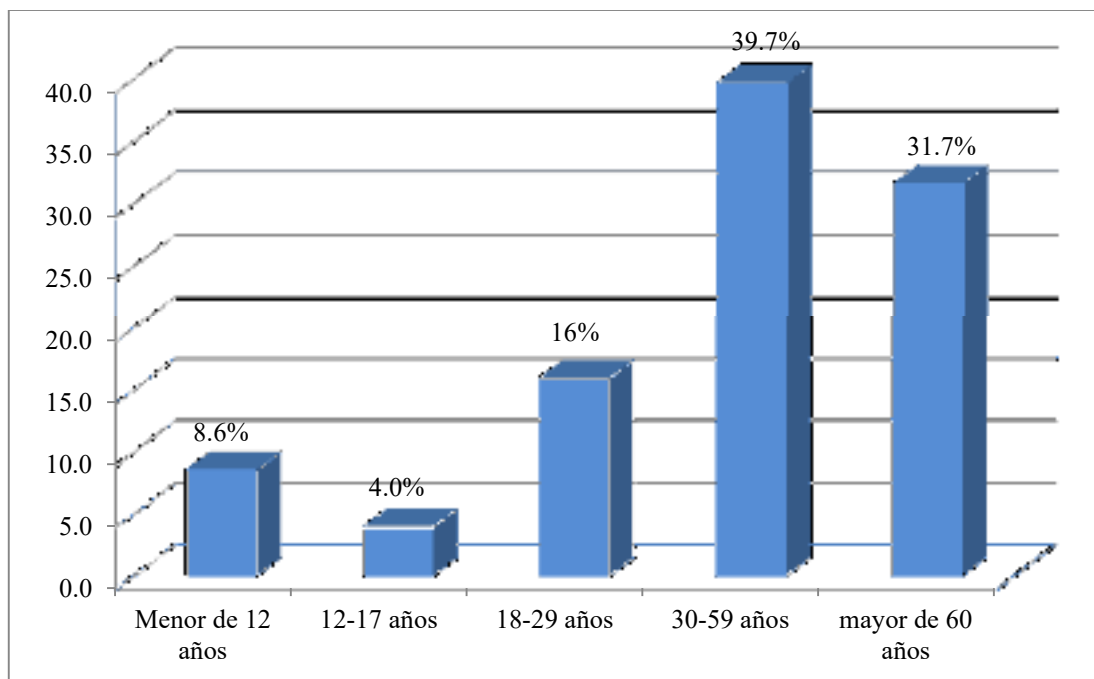
*Distribución según grupos de edad de pacientes hospitalizados con aislamiento de Staphylococcus aureus. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.*

Grupos de edad	N°	%
menor de 12 años	28	8.6
12-17 años	13	4.0
18-29 años	52	16.0
30-59 años	129	39.7
mayor de 60 años	103	31.7
<b>Total</b>	<b>325</b>	<b>100</b>

*Fuente: Datos de la investigación.*

**Figura 4.**

*Distribución según grupos de edad de pacientes hospitalizados con aislamiento de S. aureus. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.*



*Fuente: Datos de la investigación*

Según la procedencia de los pacientes que presentaron cultivos con aislamiento de *Staphylococcus aureus*, con una mayor frecuencia procedían de los servicios de Medicina 38.8% (126), seguido por la Unidad de Terapia Intensiva 12.3% (40), Neumología 11.4% (37), Cirugía especialidades 10.5% (34), Cirugía general 8.9% (29), Neonatología 5,8% (19) y con una menor frecuencia procedían de otros servicios de hospitalizados como Pediatría 4.6%, Cirugía de tórax 4%, Infectología 1.8% y Ginecología 1.8%, como se observa en la Tabla 13 y Figura 5.

**Tabla 13.**

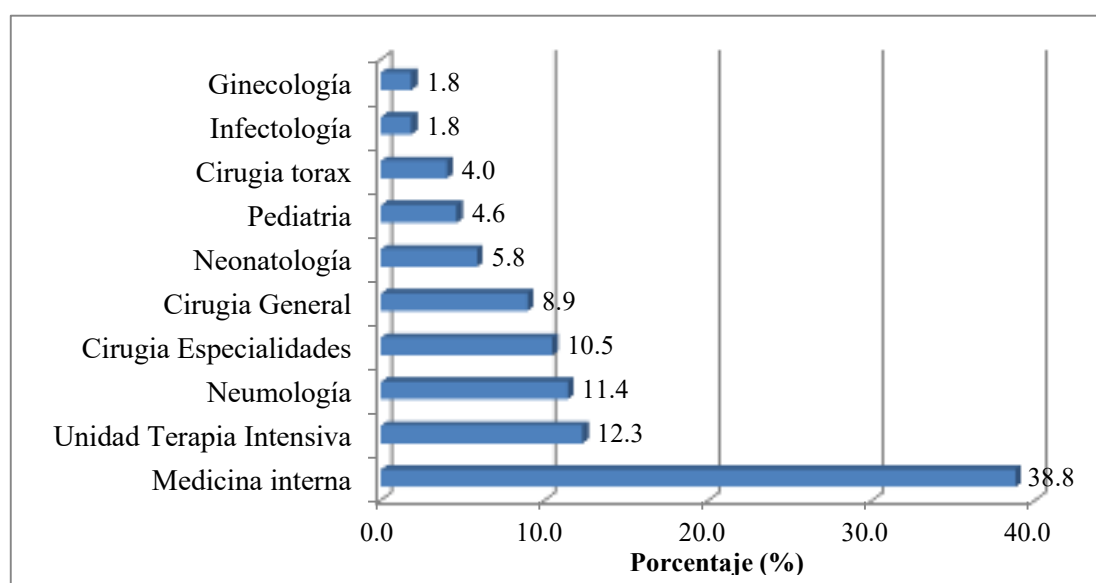
*Distribución según procedencia de pacientes hospitalizados con aislamiento de Staphylococcus aureus. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018*

Servicio de procedencia	N°	%
Medicina interna	126	38.8
Unidad de terapia intensiva	40	12.3
Neumología	37	11.4
Cirugía especialidades	34	10.5
Cirugía general	29	8.9
Neonatología	19	5.8
Pediatría	15	4.6
Cirugía tórax	13	4.0
Infectología	6	1.8
Ginecología	6	1.8
<b>TOTAL</b>	<b>325</b>	<b>100</b>

*Fuente: Datos de la investigación.*

**Figura 5.**

*Distribución de pacientes hospitalizados con aislamiento de Staphylococcus aureus según servicio de procedencia. Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 – 2018.*



## V. Discusión de resultados

### 5.1 Discusión

Los factores de virulencia bacteriana favorecen el desarrollo de las infecciones en la población humana. En nuestra investigación analizamos la formación de biofilm y su relación con la resistencia a los antimicrobianos en *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados, dado que es considerado un microorganismo patógeno importante en el ámbito hospitalario, siendo responsable de una alta mortalidad asociada a diferentes patologías. La producción de biofilm inducido por polisacáridos de adhesión le permite la persistencia en ambientes inanimados como materiales sintéticos. (Lacey, 2016), (Alfonzo, 2017).

Las infecciones asociadas a atención de la salud son un problema de salud pública, se presentan en diferente magnitud en todo el mundo afectando a pacientes que presentan patologías infecciosas como las bacterianas siendo *Staphylococcus aureus* un organismo que se encuentra entre las principales causas de mortalidad en muchos países y en el nuestro. (García, 2018), (Arango, 2018).

La capacidad de *Staphylococcus* para producir biofilm en algunos estudios se ha asociado a infecciones en pacientes hospitalizados (Piechota, 2018), ya que este microorganismo puede colonizar superficies de catéteres, formando microcolonias a partir de los cuales pueden liberarse las bacterias al torrente sanguíneo, manteniendo bacteriemias por periodos prolongados. (Chaves, 2000)

En la investigación se utilizó el método en placa de cultivo celular que emplea micro pocillos de poliestireno para determinar la capacidad de formación de biopelícula en cepas de *Staphylococcus*, presentando adecuada reproducibilidad y se

encontró que los aislamientos exhibieron tres niveles de formación de biopelícula, predominando el nivel moderado (43.1%). Diversos estudios han demostrado que *S. aureus* de origen clínico tienen la misma capacidad de formar biopelícula. (Solano, 2014). En otros estudios se ha evaluado la habilidad de *Staphylococcus* para producir biofilm, encontrándose mayor presencia del gen *ica* operon en aislamientos de hemocultivo (62.6%) que en aislamientos de piel (22.4%), con mejor correlación de otras metodologías fenotípicas como el método en tubo o cultivo en agar rojo congo. (Ruzicka, 2004). El método en placa de cultivo celular es considerado un patrón de oro para la evaluación del biofilm, como se muestra en el estudio realizado por Mathur et al (2006) que evaluaron métodos de detección de biofilm en *Staphylococcus*, demostrando que el método PCT detecto mayor formación de biofilm (57.8%), frente a otras metodologías siendo más sensible, preciso y reproducible para detectar formación de *biofilm* en *Staphylococcus*. Adicionalmente, Ávila et al. (2014), muestra en su estudio la capacidad para detección de biofilm que tiene el método en placa de cultivo celular, encontrando tasas elevadas de formación de biofilm (98%).

Al determinar la resistencia antimicrobiana, se encontró una alta frecuencia de resistencia en algunos antimicrobianos como oxacilina 62.8% en cepas *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo de estudio. Cabe mencionar que en un estudio anterior realizado en esta misma institución por Mamani et al. (2003) se encontraron tasas menores de resistencia a oxacilina (32%), gentamicina (35%) y ciprofloxacina (58%), lo que evidencia que la resistencia a los antimicrobianos va evolucionando y además muestra un aumento progresivo en el tiempo.



En los últimos años se han ido incrementando las tasas de resistencia antimicrobiana en nuestro país, y se denota en algunos reportes en el Perú, como el de Tamariz et al. (2010) en un estudio descriptivo multicéntrico en Lima halló 58% de oxacilina resistentes y Colchado (2016) encontró 57.6% de resistencia a oxacilina en *S. aureus* en tres hospitales de Trujillo.

Otros estudios respaldan nuestros hallazgos como el Kwon et al (2008). Al analizar la relación entre la resistencia a metilicina y formación de biofilm, encontraron que la frecuencia de positividad de biofilm fue 37.9% para cepas oxacilina resistentes. Maleki et al (2018), reportan un 77% de cepas oxacilina resistentes. Sin embargo, no son concordantes a los reportados por Mirani et al (2013) en su estudio en Pakistán encontró un 35,5% de resistencia a oxacilina. De Oliveira et al (2016) en Brasil encontró 21,4% en su estudio. En la investigación no se encontró correlación estadísticamente significativa entre la resistencia al antimicrobiano oxacilina y la capacidad de producción de biofilm. Sin embargo, las cepas de *S. aureus* aisladas de la piel de pacientes son las que presentan una mayor capacidad de producir biofilm, este hecho podría favorecer las condiciones para la colonización y la persistencia en el humano, si se considera que son uno de los principales microorganismos que forman parte de la microbiota de piel. (Gil, 2014). En el estudio de Mirani et al. (2013) en Pakistán, detectaron que el 57% de aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina fueron formadores de biofilm, teniendo implicancia el rol de genes reguladores para la dispersión del biofilm.

Al observar la relación que existe entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue, se encontró que la resistencia antimicrobiana tiene

una relación muy baja e inversa con la formación de biofilm, que podría explicarse por las diferentes correlaciones que presenta cada antimicrobiano frente a la formación de biofilm, siendo las quinolonas, macrólidos, sulfonamidas y lincosamidas las que muestran una relación significativa ( $p < 0.05$ ); encontrándose en sulfonamidas una menor formación de biofilm en las cepas resistentes (27.3%) frente a Quinolonas (58.8%), lincosamidas (64%) y macrólidos (72.7%) que presentan una mayor formación de biofilm en cepas resistentes. El estudio realizado por De Oliveira et al. (2016) en Brasil, muestra resultados discordantes a nuestra investigación; dado que en su investigación el 25% de cepas de *Staphylococcus* spp fueron productoras de biofilm de las cuales el 21.4% de *S. aureus* fueron resistentes a oxacilina y 42.8% resistentes a eritromicina. Ohadian et al. (2014), En Irán, encontraron que la resistencia de *Staphylococcus aureus* formadores de biofilm a los antibióticos como ciprofloxacina (51.3%), eritromicina (87.2%), gentamicina (71.8%) y tetraciclina (89.74%), presentaron tasas elevadas comparables con las obtenidas en nuestro estudio, observándose que el conocimiento de una alta prevalencia de aislamientos de *S. aureus* productores de biofilm y resistente a los antibióticos debería ser una herramienta útil para las decisiones terapéuticas. Nuestros datos son concordantes con Manandhar et al (2018), que en Nepal encontró formación de biofilm en 81.4% de cepas oxacilino resistentes, sugiriendo la asociación entre la formación de biofilm y la resistencia inducible a clindamicina, quinolonas, eritromicina y cotrimoxazol.

El hecho de encontrar que el 94.8% de las cepas aisladas de pacientes hospitalizados, presenten el factor de virulencia formación de biofilm nos indica el potencial riesgo que representa, lo cual es más relevante en *S. aureus*; este hallazgo refuerza la necesidad de prevenir y vigilar las infecciones asociadas al cuidado y la

atención de la salud, como procedimientos invasivos como cateterismo. Concordando con lo afirmado por Chaves et al (2000) quien evaluó cepas de *S. aureus* de pacientes hospitalizados encontrando formación de biofilm en más del 50%, según estos datos, las cepas de *S. aureus* aislados en muestras de los pacientes hospitalizados presentan capacidad para formar biofilm, lo que significa gran capacidad para colonizar superficies en el ámbito hospitalario.

Es oportuno resaltar que en la muestra de 325 cepas de *S. aureus* aislado de pacientes hospitalizados se encontró que el 94.8% fueron formadoras de biofilm, lo que sugiere que este patógeno produce diversos grados de biofilm y que sumado a la presencia de resistencia bacteriana puede tener un papel muy importante en la interacción de mecanismos de resistencia bacteriana ocasionando infecciones persistentes que tendrían un mal pronóstico frente a la terapia antibiótica. Nuestros hallazgos son similares con los encontrados por Ohadian et al. (2014) que encontraron 97.5% de formación de biofilm en cepas oxacilina resistentes, que procedían de pacientes hospitalizados. Sin embargo, no son concordantes con la investigación de Kwon et al (2008), que encontraron menores tasas de formación de biofilm con un 37.9%, resaltando que las cepas más resistentes a los antibióticos presentaron mayor probabilidad del desarrollo de biofilm en dispositivos médicos.

Cuando agrupamos la variable formación de biofilm según la intensidad de su formación encontramos que de las 308 cepas con la capacidad de formación de biofilm, el 20% presentaron una intensidad débil, el 43.1% presentaron intensidad moderada, mientras el 31.7% con intensidad fuerte. Concordantes con otros estudios realizados.

Asimismo, la distribución de pacientes con aislamientos de *Staphylococcus aureus*, según el sexo el 44% correspondieron a pacientes del sexo femenino, mientras que el 56% correspondieron al sexo masculino, lo cual no remarca diferencia significativa, o podría estar influenciado por el tipo de muestras de donde se aislaron las cepas de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados.

En nuestro estudio la distribución según la procedencia de pacientes con aislamiento de *Staphylococcus aureus* presento mayor frecuencia de casos que correspondieron al servicio de medicina interna 38.8%, seguidos por la unidad de terapia intensiva 12.3%, neumología 11.4% y en otros pacientes fue menor la frecuencia por las características del Hospital Nacional Hipólito Unanue, que atiende a una población general y con diversos cuadros de comorbilidad.

## VI. CONCLUSIONES

- La resistencia antimicrobiana se relaciona con la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016 - 2018.
- Existe relación indirecta débil entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Hipólito Unanue.
- No existe relación entre la resistencia a oxacilina, quinolonas, aminoglicósidos, tetraciclina, macrólidos y la formación de biofilm en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados.
- Existe una correlación baja entre la resistencia a las sulfonamidas y la formación de biofilm con un coeficiente Rho de Spearman de 0.142;  $p = 0.015 < 0.05$  en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados.
- Existe una correlación baja entre la resistencia a lincosamidas y la formación de biofilm con un coeficiente Rho de Spearman de 0.113;  $p = 0.02 < 0.05$  en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados.
- La frecuencia de pacientes hospitalizados que presentaron aislamiento de *S. aureus* en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, según el sexo fue predominantemente masculino con 53.6%; la edad promedio fue de 45 años y la procedencia más frecuente se encontró en los servicios de medicina interna (39%), unidad de terapia intensiva (12%), neumología (11%) y cirugía de especialidades (10,5%), siendo menos frecuente en los servicios de cirugía general, neonatología, pediatría, infectología y ginecología.

## VII. RECOMENDACIONES

- Para determinar una mejor correlación entre la formación de biofilm y la formación de biofilm, incluso una asociación entre los factores de virulencia se podría evaluar dos poblaciones con una proporción similar, que permita analizar el comportamiento de las dos variables.
- Se debería implementar métodos para determinar la presencia de biofilm de a fin de conocer la magnitud de la presencia de este factor de virulencia en aislamientos bacterianos de muestras clínicas por sus implicancias en la resistencia a los antimicrobianos.
- De acuerdo a nuestro estudio se observa un mayor predominio de infecciones en pacientes varones hospitalizados en servicios de medicina y cirugía, por lo que se deberían fomentar y/o realizar investigaciones en este grupo de pacientes por presentar un mayor riesgo y conocer sus implicancias como problema de salud pública.
- Realizar estudios moleculares de genes asociados a formación de biofilm podrían complementar estudios de asociación entre la resistencia a los antimicrobianos y los factores de virulencia.

## VIII. REFERENCIAS

- Arciola C R, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton J W. (2012) Biofilm formation in *Staphylococcus* implants infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials*. (33), 5967 – 5982.
- Arango Díaz, A., López Berrío, S., Vera Núñez, D., Castellanos Sánchez, E., Rodríguez Sanabria, P., & Rodríguez Feitó, M. (2018). Epidemiología de las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria. *Acta Médica Del Centro*. 12(3), 262-272. Recuperado de <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/923/1165>
- Archer, NK, Mazaitis, MJ, Costerton, JW, Leid, JG, Powers, ME y Shirtliff, ME (2011). *Staphylococcus aureus* biofilms: propiedades, regulación y roles en la enfermedad humana. *Virulencia*. 2(5), 445–459. doi: 10.4161 / viru.2.5.17724
- Alfonso, M. y Pérez, Y. (2017) Elementos de interés clínico en la microbiología molecular de *Staphylococcus aureus*. *Rev Cub Med Mil*; 46(4), 407-416. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572017000400011&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572017000400011&lng=es).
- Ávila, Y., Ginestre, M., Valero, K., Castellano, M., Romero, S., López, A. et al. (2014) Producción de Enterotoxina y Biofilm en Aislamientos Clínicos de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina. *Kasmera*. 42 (2), 105-115.
- Borga HG, Caiafa CG, La Rosa FM, González F, Silva M, Caldera J, Pitteloud J. (2010) Frecuencia y resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus* en

- infecciones nosocomiales en el Hospital Universitario de Caracas, años 2004 y 2007. *CIMEL*. 15(1), 28-30.
- Bustos-Martínez, J., Hamdan-Partida, A., Gutiérrez-Cardenas, M. (2006) *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev. Biomed*. 17(4), 287-305.
- Carmona, E., Sandoval, S., García, C. (2012) Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* proveniente de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 29(2), 206 - 211.
- Calderón, R., Yagui, M. y Sacsquispe, R. (2002) Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.
- Cervantes-García, E., García-González, R., Salazar-Schettino, P. (2014) Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*. 61 (1), 28-40.
- Champi M, Silva Z et al. (2016) Mapa Microbiológico – Componente intrahospitalario. En: Informe Anual 2015. Lima: Hospital Nacional Hipólito Unanue. 42p.
- Chaves, E., Rojas, J., Rivera, P. & Hernández, F. (2000). Prevalencia de cepas de *Staphylococcus* productoras de biopelícula y con receptores FC aislados de muestras clínicas y de individuos sanos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 21(1-2), 51-56.



- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Eighth Informational Supplement*. CLSI document M100-S28, USA.
- Colchado Rojas, P. (2016). *Frecuencia de Staphylococcus aureus coagulasa positivo y Staphylococcus coagulasa negativo resistentes a Meticilina y Clindamicina inducible* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.  
Citado de: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9022>
- Coraça-Huber D.C., Fille M., Hausdorfer J, Pfaller K, Nogler M. (2012) *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antibiotic susceptibility tests on polystyrene and metal surfaces. *Journal of Applied Microbiology*, (112), 1235–1243.
- Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. (2003) The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest*. (112), 1466–77.
- García, A., Martínez, C., Juárez, R. I., Téllez, R., Paredes, M. A., Herrera, M. del R., & Giono, S. (2018) Resistencia a meticilina y producción de biopelículas en aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativa en México. *Biomédica*, 2018, 39(3), 2-28.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4131>
- García Apac C. (2011) *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. *Acta Med Per*. 2011. 28(2), 159 - 162.
- García C. P, Payá G. E, Olivares C. R, Cotera F., Rodríguez T., Sanz R. M. (2003) Diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. *Rev chil infectol*. 20(1), 41-50.

- Gil C, Solano C, Burgui S, Latasa C, García B, Toledo-Arana A, Lasa I, & Valle J. (2014) Biofilm Matrix Exoproteins Induce a Protective Immune Response against *Staphylococcus aureus* Biofilm Infection. *Infection and Immunity*. 82(3), 1017 – 1029. <https://doi.org/10.1128/IAI.01419-13>.
- Gil M, Merchant K, Quevedo G, Sánchez A, Nicita G, Rojas T, Sánchez J, Finol M. (2015) Formación de biopelículas en aislados de *Staphylococcus aureus* según susceptibilidad antimicrobiana y la procedencia clínica. *Academia Biomédica Digital VITAE*. 62 (1), 1 – 8.
- Gomes S, Altafi S, Garcia KM, Emery CL, Hamilton R, Brooks AD, Joshi SG. (2012) Occurrence of and risk factors for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* at a teaching hospital in Philadelphia. *American Journal of Infection Control*. 40(1), 381-383.
- Hajjej Z, Nasri M, Sellami W, Gharsallah H, Labben I, Ferjani M. (2014) Incidence, risk factors and microbiology of central vascular catheter related bloodstream infection in an intensive care unit. *J Infect Chemother*. 20 (3), 163-168. doi: 10.1016/j.jiac.2013.08.001.
- Hardy KJ, Oppenheim BA, Gossain S, Gao F, Hawkey PM. (2006) A Study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 27(2), 127-32.
- Kusch H, Engelmann S. (2014) Secrets of the secretome in *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*. 304 (1), 133– 141.
- Kwon AS, Park GC, Ryu SY, Lim DH, Lim DY, Choi CH, Park Y, Lim Y. (2008) Higher biofilm formation in multidrug-resistant clinical isolates of

*Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 32(1), 68–72. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.02.009.

Kyeho Shin, Yuna Yun, Sung Won Yi, Hyun Gee Lee, Jun-Cheol Cho, Kyung-Do Suh, Jooyoung Lee, Jiyong Park. (2013) Biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from human skin. *J Dermatol Sci*. 71(1), 130–137.

Lacey KA, Geoghegan JA and McLoughlin RM. (2016) The Role of *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in Skin Infection and Their Potential as Vaccine Antigens. *Pathogens*. 5(1), 1 - 17.

Londoño P AL, Ardila F M, & Ossa P D. (2011) Epidemiología de la infección asociada a catéter venoso central. *Rev Chil Pediatría*. 82 (6), 493-501.  
<https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062011000600003>

Luján Roca, DA. (2013) *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares. *An Fac med*. 74 (1), 57-62.

Maleki A, Bimanand L, Taherikalani M, Azizi Jalilian F, Sadeghifard N, Ghafourian S, Mahdavi Z, Mohamadi S, Sayehmiri K, Hematian A, Pakzad I. (2018) Association between biofilm production, adhesion genes and drugs resistance in different SCCmec types of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from several major hospital of Iran. *Iran J Basic Med Sci*. 21(4), 400-403.

Mamani E, Luján D, Pajuelo G. (2006) Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*. Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. *Anales de la Facultad de Medicina*. 67(2), 120-124.

- Manandhar S, Singh A, Varma A, Pandey S, Shrivastava N. Biofilm Producing Clinical *Staphylococcus aureus* Isolates Augmented Prevalence of Antibiotic Resistant Cases in Tertiary Care Hospitals of Nepal (2018). *Front Microbiol.* 27 (9), 2749, 1 - 19. doi: 10.3389/fmicb.2018.02749.
- March-Rosselló, GA. (2017) Métodos rápidos para la detección de resistencia bacteriana a antibióticos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 35(1), 182-188.
- Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. (2006) Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol.* 24(1), 25-29.
- Mederos H J, Morejón-García M. (2014) Frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital Manuel Fajardo Rivero. *Revista Habanera de Ciencias Médicas.* 13(3), 406-416.
- Mirani Z A, Aziz M, Naseem Khan M, Hassan N, Khan I S. (2013) Biofilm formation and dispersal of *Staphylococcus aureus* under the influence of oxacilin. *Microbial Pathogenesis.* 61(1), 66-72.
- Morejón-García M. (2012) *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Un problema actual. *Dermatol Perú.* 22(1), 29 – 33.
- Mottola C, Matias C, Mendes J, Melo-Cristino J, Tavares L, Cavaco-Silva P, Oliveira M. (2016) Susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* biofilms in diabetic foot infections. *BMC Microbiology.* 16 (1), 119.
- Nilima V. Telang, Meena G. Satpute, Krishna B. Niphadkar, Suresh G. Joshi. (2010) An increased incidence of biofilm producing multidrug-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital from India: A 2-year study. *Am J Infec Control.* 38 (2), 165-166.

- Ohadian Moghadam S, Pourmand MR, Aminharati F. (2014) Biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients, Iran. *J Infect Dev Ctries.* 8(12), 1511-1517.
- Ojeda F, Megías L. (2000) Infecciones asociadas a catéteres. Obtenido en: <http://www.uninet.edu/cin2000/conferences/ojeda/ojeda.html>.
- Piechota M, Kot B, Frankowska-Maciejewska A, Gruzewska A, Wozniak-Kosek A. (2018) Biofilm formation by Methicillin Resistant and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* strains from hospitalized patients in Poland. *BioMed Research International.* 2018 (1), 1-7.
- Ping Chen, Johnathan J. Abercrombie, Nicole R. Jeffrey, Kai P. Leung. (2012) An improved medium for growing *Staphylococcus aureus* biofilm. *Journal of Microbiological Methods.* 90(1), 115–118.
- Pinilla G, Bautista A, Cruz C, Chavarro B, Navarrete J, Muñoz L, Gutiérrez J. (2017) Determinación de factores de adhesión asociados a la formación de biopelícula en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. *Nova.* 15 (27), 67 – 75.
- Pollitt, E., & Diggle, S. P. (2017). Defining motility in the Staphylococci. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 74(16), 2943–2958. doi:10.1007/s00018-017-2507-z.
- Pronovost P, Needham D, Berenholtz S. (2006) An intervention to decrease catheter related bloodstream Infections in the ICU. *N Eng Med.* (355), 2725-2732.
- Růzicka F, Holá V, Votava M, Tejkalová R, Horvát R, Heroldová M, Woznicová V (2004) Biofilm detection and clinical significance of *Staphylococcus*

- epidermidis* isolates. *Folia Microbiol.* 49(5), 596-600. doi: 10.1007/BF02931540. PMID: 15702552.
- Sacsquispe C R; Ventura E G. (2005) Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 109 p. — (Serie de Normas Técnicas; 28).
- Salas-Sánchez OA, Rivera-Morales I. (2010) Incidencia de infecciones relacionadas a catéteres venosos centrales en la Unidad de Cuidados Intensivos de un hospital universitario. *Medicina Universitaria.* 12 (47), 91-95.
- Salvador C ACBA. (2005) Técnicas para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el laboratorio de microbiología clínica. *Asociación Española de Farmacéuticos Analistas.* (1), 74-78.
- Sandoval M, Guevara A, Torres K, & Vilorio V. (2013) Epidemiología de las infecciones intrahospitalarias por el uso de catéteres venosos centrales. *Kasmera.* 41(1), 7 – 15.
- Smith K, Perez A, Ramage G, Gemmell Curtis G, Lang Sue. (2009) Comparison of biofilm-associated cell survival following in vitro exposure of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms to the antibiotics clindamycin, daptomycin, linezolid, tigecycline and vancomycin. *Int J Antimicrob Ag.* 33(4), 374–378.
- Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. (2000) A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods.* 40 (1), 175 – 179.
- Solano C, Echeverz M, Lasa I. (2014) Biofilm dispersion and *quorum sensing*. *Current Opinion in Microbiology.* 18(1), 96–104.

- Tamariz J, Agapito J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M, Zerpa R, Guerra H. (2010) *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. *Rev Med Hered.* 21 (1), 4-10.
- Tamayo y Tamayo, Mario. (2003) El Proceso de la Investigación Científica. Cuarta Edición. Editorial Limusa. México D. F.
- Vázquez-Sánchez, D & Rodríguez-López, P. (2018). *Staphylococcus aureus*. Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus*. London (United Kingdom): Elsevier – Academic Press. ISBN 978-0-12-809671-0. DOI: 10.1016/B978-0-12-809671-0.00005-X. 87 – 103.
- Verástegui R; Balmaceda M, Guardia C. (2018). *Bacteriemia por Staphylococcus aureus en el Hospital Cayetano Heredia entre junio 2017 - diciembre 2018*. (Tesis de pregrado). Universidad Cayetano Heredia, Lima, Perú.
- Wu S, Huang F, Zhang H, Lei L. (2019) *Staphylococcus aureus* biofilm organization modulated by YycFG two-component regulatory pathway. *J Orthop Surg Res.* 14(1), 1-10 doi: 10.1186/s13018-018-1055-z
- Yagui, Martin. (2018). Resistencia antimicrobiana: nuevo enfoque y oportunidad. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica.* 35(1), 7-8. Recuperado en 25 de septiembre de 2018, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342018000100002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100002&lng=es&tlng=es).

## **IX. ANEXOS**



**Anexo A.**  
**Matriz de consistencia**

<b>TÍTULO: “Relación entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016 - 2018”.</b>						
<b>PROBLEMA</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>VARIABLES E INDICADORES</b>			
<p><b>PROBLEMA PRINCIPAL:</b> ¿Qué relación existe entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue, 2016 - 2018?</p> <p><b>PROBLEMAS SECUNDARIOS</b> ¿Qué relación existe entre la resistencia a oxacilina y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué relación existe entre la resistencia a quinolonas y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué relación existe entre la resistencia a aminoglicósidos y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué relación existe entre la resistencia a las Sulfonamidas y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué relación existe entre la resistencia a tetraciclinas y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué relación existe entre la resistencia a los Macrólidos y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué relación existe entre la resistencia a las Lincosamidas y la formación de biofilm en</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL:</b> Establecer la relación que existe entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016 - 2018.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS:</b> Establecer la relación que existe entre la resistencia a oxacilina y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Establecer la relación que existe entre la resistencia a quinolonas y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Establecer la relación que existe entre la resistencia a los aminoglicósidos y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Establecer la relación que existe entre la resistencia a las Sulfonamidas y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Establecer la relación que existe entre la resistencia a las tetraciclinas y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Establecer la relación que existe entre la resistencia a los Macrólidos y la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Establecer la relación que existe entre la resistencia a las lincosamidas, y la formación</p>	<p><b>HIPÓTESIS GENERAL:</b> La resistencia antimicrobiana se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016 - 2018.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICAS:</b> La resistencia a oxacilina se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>La resistencia a quinolonas se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>La resistencia a los aminoglicósidos se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>La resistencia a las Sulfonamidas se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>La resistencia a las tetraciclinas se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>La resistencia a los macrólidos se relaciona con la formación de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>La resistencia a las lincosamidas se relaciona con la formación de biofilm en</p>	<p><b>- Variable 1:</b> <b>Resistencia Antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i></b></p>			
			<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Ítems</b>	<b>Niveles y rangos</b>
			Resistencia a Oxacilina	Porcentaje de resistencia a oxacilina	Sensible Resistente	<p><b>ALTA</b> (Resistencia a más de 4)</p> <p><b>MEDIA</b> (Resistencia a 3-4)</p> <p><b>BAJA</b> (Resistencia a 1-2)</p>
			Resistencia a Quinolonas	Porcentaje de resistencia a ciprofloxacino	Sensible Resistente	
			Resistencia a los Aminoglicósidos,	Porcentaje de resistencia a gentamicina	Sensible Resistente	
			Resistencia a Sulfonamidas	Porcentaje de resistencia a sulfatrimetoprim	Sensible Resistente	
			Resistencia a Tetraciclinas	Porcentaje de resistencia a tetraciclina	Sensible Resistente	
			Resistencia a Macrólidos,	Porcentaje de resistencia a eritromicina	Sensible Resistente	
			Resistencia a Lincosamidas	Porcentaje de resistencia clindamicina	Sensible Resistente	
			<p><b>- Variable 2:</b> <b>Formación de Biofilm</b></p>			
<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Ítems</b>	<b>Niveles y rangos</b>			
Detección del Biofilm por características de la lectura por espectrofotometría.	Formación de Biofilm, mediante el método de placa para cultivo de tejido.	Alto Moderado Débil Negativo	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>			

<p><i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados, HNHU?</p> <p>¿Qué características demográficas presentan los pacientes con aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>, Hospital Nacional Hipólito Unanue?</p>	<p>de biofilm en <i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p> <p>Identificar las características demográficas de los pacientes hospitalizados con aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>. Hospital Nacional Hipólito Unanue.</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i> de pacientes hospitalizados. HNHU.</p>	<p><b>ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA E INFERENCIAL</b></p>
<p><b>TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN</b></p>	<p><b>POBLACIÓN Y MUESTRA</b></p>	<p><b>TÉCNICAS E INSTRUMENTOS</b></p>	
<p><b>TIPO: Básico</b> Recibe igualmente el nombre de investigación pura, teórica o dogmática, porque parte de un planteamiento de marco teórico y permanece en él; su finalidad es formular nuevas teorías o modificar las existentes, en incrementar los conocimientos científicos o filosóficos, teniendo presente de no contrastarlos con ningún aspecto referido práctico. (Tamayo (2010, p. 8).</p> <p><b>NIVEL:</b> Correlacional</p> <p><b>DISEÑO:</b> No experimental. El diseño no experimental, de corte transeccional, según Hernández. (2010, p.149), se realizan sin la manipulación deliberada de variables y en los que sólo se observan los fenómenos en su ambiente natural para después analizarlos.</p>	<p><b>POBLACIÓN:</b> Constituido por los pacientes hospitalizados que presenten aislamientos bacterianos durante el periodo de estudio.</p> <p><b>TAMAÑO DE MUESTRA:</b> 325 cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de Pacientes hospitalizados, durante el periodo 2016-2018.</p> <p><b>Enfoque de la Investigación:</b> Cuantitativo</p>	<p><b>Variable 1:</b> <b>Resistencia Antimicrobiana</b></p> <p><b>Técnica:</b> Prueba de sensibilidad por disco difusión, según CLSI.</p> <p><b>Instrumentos:</b> Equipos y materiales específicos. Hoja de recolección de datos.</p> <p><b>Variable 2:</b> <b>Formación de Biofilm</b></p> <p><b>Técnica:</b> Método de placa para cultivo de tejido. <b>Instrumentos:</b> Hoja de recolección de datos.</p> <p><b>Año:</b> 2016-2018</p> <p><b>Monitoreo:</b> 2016-2018.</p> <p><b>Ámbito de Aplicación:</b> HNHU - MINSA</p>	

## Anexo B

### MÉTODO EN PLACA DE CULTIVO DE TEJIDO (PCT)

La formación de biofilm de los aislamientos de *Staphylococcus aureus* se analizó en placas de microtitulación de poliestireno de 96 pocillos.

1. Inocular las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* en caldo tripticasa soya glucosado al 1% previa dilución de 1:200, incubar a 37 ° C por 24 horas.
2. Se inocularon alícuotas de 20 µl de cultivos de la noche anterior en 180 µl de caldo tripticasa soya glucosado al 1% en 96 pocillos de fondo plano, placas de microtitulación de poliestireno, se utilizó como control negativo pocillos con el caldo tripticasa de soya estéril glucosado al 1% y se incubaron durante 48 horas a 37°C en condiciones estáticas.
3. Se eliminó el contenido de cada pocillo, luego se lavó con 200ul de Buffer fosfato salino (pH 7.2) tres veces.
4. Se fijó con solución de acetato de sodio al 2 % por espacio de 30 minutos y se coloreo con cristal violeta al 0.1 % por un tiempo de 30 minutos.
5. Se removió el exceso de colorante con agua desionizada y se dejó secar en la estufa por 30 minutos a 37°C ó 42°C.
6. Previo a la lectura se solubilizo con alcohol 70° agregando 200 ul a los 96 pocillos y se procedió a realizar la lectura en el lector de ELISA a una longitud de onda de 450 - 630 nm.

La interpretación de la producción de biofilm se realiza de acuerdo a los criterios de Stepanovic.

## Anexo C

### INTERPRETACIÓN DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM

#### Método de Placa de cultivo de tejido. (PCT)

Valor promedio de la Densidad Óptica	Producción de Biofilm
$\leq \text{DOc} / \text{DOc} < \text{o} \leq 2\text{x DOc}$	Negativo / Débil
$2\text{x\_DOc} < \text{o} \leq 4\text{x DOc}$	Moderado
$> 4\text{x DOc}$	Fuerte

(Cut-off) Valor de corte de la Densidad Óptica (DOc)= Promedio DO del control negativo + 3x desviación estándar del control negativo.

## Anexo D

## FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

“Relación entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes hospitalizados. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2016 – 2018.”

<b>Datos demográficos</b>
---------------------------

Fecha de muestra:		N° Ficha:	
Procedencia de la muestra:		Edad:	Sexo:
Código de cultivo/cepa:		Pabellón:	Cama:

<b>Estudio Microbiológico</b>
-------------------------------

<b>Prueba de Sensibilidad</b>
-------------------------------

Antimicrobianos	Halo de inhibición	Sensible	Resistente	Observación
Oxacilina				
Ciprofloxacino (Quinolonas)				
Gentamicina (Aminoglicósidos )				
Tetraciclina (Tetraciclinas)				
Sulfatrimetoprim (Sulfonamidas)				
Eritromicina (Macrólidos)				
Clindamicina (Lincosamidas)				

<b>Detección de Biofilm</b>
-----------------------------

Método de detección de Biofilm	Positivo	Negativo
Prueba de placa para cultivo de tejido (PCT)		

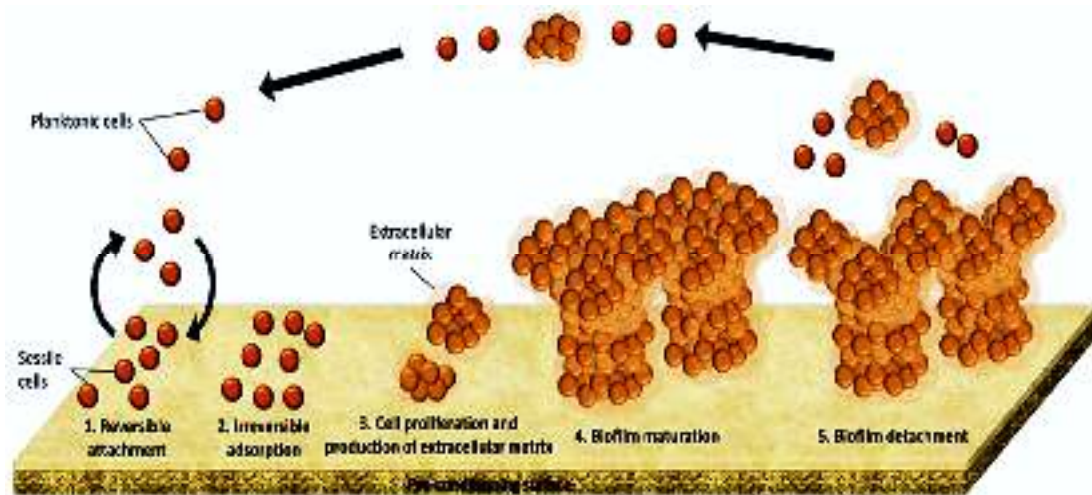
Negativo: (-)

Positivo: Débil (+) Moderado (++) Fuerte (+++)

Observaciones: \_\_\_\_\_

## Anexo E

## FASES DE FORMACIÓN DE BIOFILM



**Figura 6. El ciclo del biofilm.** (Fuente: Vázquez-Sánchez, D; Rodríguez-López, P. *Staphylococcus aureus. Biofilm formation of Staphylococcus aureus. Capítulo 5. Pp.87-103. 2018*)

## ANEXO F.

### Definiciones de Términos

**CDC:** Centro de Control de Enfermedades.

**CLSI:** Clinical Laboratory Standard Institute. Traducido del inglés como Instituto de estándares para el Laboratorio Clínico.

**CIM:** Concentración Mínima Inhibitoria. Es la mínima concentración de un compuesto antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo patógeno en un 99.9%.

**EDTA:** Ácido etilen diamino tetra acético.

**H.N.H.U.:** Hospital Nacional Hipólito Unanue. Institución de hospitalaria de nivel III - 1 pertenece al Ministerio de Salud, Lima – Perú.

**Infección Intrahospitalaria:** Toda infección que no esté presente o incubándose en el momento del ingreso en el hospital, que se manifieste clínicamente, o sea descubierta por la observación directa durante la cirugía, endoscopia y otros procedimientos o pruebas diagnósticas, o que sea basada en el criterio clínico. Se incluyen aquellas que por su período de incubación se manifiestan posteriormente al alta del paciente y se relacionen con los procedimientos o actividad hospitalaria.

**ICAM:** del inglés *inter celular adhesión molecules*, moléculas de adhesión intercelular.

**INS:** Instituto Nacional de Salud.

**MSCRAMM:** del inglés *microbial – surface components recognizing adhesive matrix molecules*, son componentes que facilitan la producción de glicocálices, siendo este mecanismo facilitador de la colonización posterior.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**QS:** *quorum sensing*, Se denomina de esta manera a la señal que se produce entre las bacterias es decir una comunicación bacteriana a través de auto inductores que se generan por la influencia de factores internos o externos.

**Resistencia Antibacteriana:** se define específicamente como la resistencia a los antibióticos que desarrollan las bacterias comunes causantes de infecciones.

**Resistencia Antimicrobiana:** La resistencia a los antimicrobianos es la resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era

vulnerable. El término ‘resistencia a los antimicrobianos’ es más amplio y comprende la resistencia a los fármacos utilizados para tratar infecciones causadas por otros microorganismos, como parásitos, virus y hongos.

**Rho spearman:** En estadística, el coeficiente de correlación de Spearman,  $\rho$  (ro) es una medida de la correlación entre dos variables aleatorias continuas. Para calcular “ $\rho$ ”, los datos son ordenados y reemplazados por su respectivo orden.

**Sésil:** Forma de crecimiento de las bacterias en superficies profundas.

**Simbiosis:** Relación ínter específico en las que ambos organismos obtienen un beneficio, este beneficio les es necesario para su supervivencia, por lo que la muerte de uno de los dos organismos provocará la muerte del otro.

**TSA:** Agar tripticasa de soya, medio de cultivo no selectivo, útil para para el desarrollo de agentes bacterianos.

**UTI:** Unidad de terapia intensiva, servicio de hospitalización.

**VCAM:** del inglés *vascular- cell adhesión molecules*, moléculas de adhesión celular.

### **Datos del investigador**

*Email :* [rokycha@yahoo.com](mailto:rokycha@yahoo.com)

Teléfono-celular: 997600875.

Teléfono Trabajo: 362-7777. Anexo:2133. Hospital Nacional Hipólito Unanue.  
Servicio de Microbiología, Inmunología y biología molecular.

---

**Título:** Relación entre la resistencia antimicrobiana y la formación de biofilm en *Staphylococcus aureus* de pacientes hospitalizados, Hospital Nacional Hipólito Unanue 2016-2018.

**Autor:** ROKY GOVANNI CHAMPI MERINO

**Asesor:** Dr. CARLOS SOTO LINARES

**Lugar donde se desarrolló la Tesis:** Hospital Nacional Hipólito Unanue.

---

*Somos tan fuertes como vivamos unidos, Tan débiles como estemos divididos. RC*