



**OBJSN**  
Online Brazilian Journal of Nursing

**Español**

Universidad Federal Fluminense

ESCUELA DE ENFERMERÍA  
AURORA DE AFONSO COSTA



Notas Previas



## Monitoreo molecular de *Staphylococcus aureus* en lesiones crónicas: estudio descriptivo

Bruna Maiara Ferreira Barreto<sup>1</sup>; Fernanda Soares Pessanha<sup>1</sup>; Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira<sup>1</sup>; Geraldo Renato de Paula<sup>1</sup>; Lenise Arneiro Teixeira<sup>1</sup>; Ana Clara Silveira Marques<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Federal Fluminense

### Resumen

La presencia de infección en heridas ralentiza el proceso de cicatrización. Los principales microorganismos aislados son *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. **Objetivo:** analizar el perfil fenotípico y genotípico de cepas de *Staphylococcus aureus* en lesiones crónicas de pacientes ambulatoriales tratadas con hidrogel a 2% o poliuretano. Tal análisis dará subsidios para la decisión del tratamiento adecuado y mayor rapidez en el proceso de reparo tecidual. **Método:** Pesquisa descriptiva con enfoque cuantitativo, por medio de la colecta de espécimen clínico de las lesiones por *swab* con cultura bacteriana, identificación y caracterización molecular.

**Descriptores:** Úlcera; Infección de la Herida; *Staphylococcus Aureus*; Enfermería.

El *S. aureus* es uno de los microorganismos más prevalentes en lesiones<sup>(1)</sup>. No obstante, la identificación del agente etiológico sólo por señales y síntomas clínicos es difícil debido a la gran cantidad de microorganismos que pueden ser aislados en culturas<sup>(1)</sup>. La utilización de métodos fenotípicos y, principalmente, genotípicos para determinar la presencia microbiana y evaluar el perfil de susceptibilidad a antimicrobianos y gérmenes de virulencia en bacterias presentes en heridas crónicas permite nortear un tratamiento adecuado.

### Hipótesis

Los *Staphylococcus aureus* presentes en las heridas crónicas presentan diferentes perfiles de resistencia antimicrobiana.

## OBJETIVOS

Objetivo general: analizar el perfil fenotípico y genotípico de cepas de *Staphylococcus aureus* en lesiones crónicas de pacientes ambulatoriales tratadas con hidrogel a 2% o placa de poliuretano. Objetivos específicos: identificar cepas de *S. aureus* en las lesiones crónicas utilizando métodos fenotípicos y genotípicos; determinar la susceptibilidad de esos microorganismos a los antimicrobianos y biocidas comumente utilizados; detectar la presencia de los genes *mecA* y *pyl* utilizando PCR (reacción en cadena de la polimerase); verificar la diversidad genética de las cepas detectadas por medio del PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis); evaluar la influencia del hidrogel a 2% o poliuretano en las lesiones de los pacientes colonizados, contaminados o infectados con *S. aureus*.

## MÉTODO

Pesquisa descriptiva, con enfoque cuantitativo, realizada en el Ambulatorio de Reparación de Heridas del Hospital Universitario Antônio Pedro (HUAP/UFF) y Policlínica Comunitaria de Artilugio. La población atendida en la clínica es de 186 pacientes por año<sup>(2)</sup>. La muestra será determinada por conveniencia, con 70 pacientes o cuatro meses de colecta (noviembre de 2014 a febrero de 2015), lo que fuese alcanzado primero. Criterios de inclusión: edad de más de 18 años; presentar lesión tisular crónica; usar hidrogel a 2% o poliuretano en la lesión. Criterios de exclusión: presentar lesión(es) crónica(s) con área menor que 3cm<sup>2</sup> o con sólo necrosis en la cama; usar medicamentos inmunosupresores. Criterio de discontinuidad: cambio de producto durante los 15 días entre las colectas del primero y de segundo *swab*.

La colecta de datos es obtenida en dos consultas de enfermería (D0 y D15), con registro de los datos de los pacientes: identificación, clínicos, descriptivos de la lesión, cálculo del área de la herida por planimetría y fotografía. El análisis microbiológico será realizado en el Laboratorio de Control Microbiológico (LCM) de la Facultad de Farmacia y ocurrirá por medio de la siembra del *swab* en Manitol Salgado (Difco). Después de la incubación, colonias sugestivas de *S. aureus* serán sometidas a los test de coloración de Gram, catalase, coagulase, test de disco difusión y de la determinación de la concentración mínima inhibitoria conforme Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

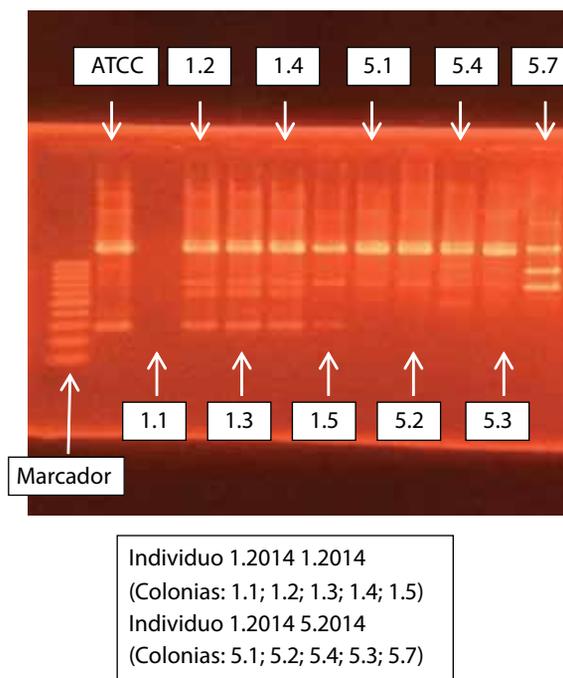
La evaluación de genes ocurrirá por PCR. Los amplicones serán sometidos a la electroforesis en gel de agarosa 1,5%, pintados con brometo de etidio y visualizados sobre la luz ultravioleta. Para evaluación de la diversidad clonal de las cepas encontradas será realizado el PFGE utilizando el sistema CHEF-DR III.

El análisis estadístico será en etapas. Primera

etapa: tabulación de los datos clínicos de las heridas en planillas en el software Microsoft Excel (Número de série KGFVY-7733B-8WCK9-KTG64-BC7D8); evaluación de la normalidad por el test de Shapiro-Wilk (muestra menor que 50 individuos) o Kolmogorov-Smirnov (muestra mayor que 50 individuos) y análisis por estadística descriptiva en el software BioStat 5.3 (licencia de uso gratis). Segunda etapa: correlaciones de la carga microbiana usando Pearson (datos normales) o Spearman (datos no normales); resistencia a antimicrobianos; genes determinantes de esa resistencia. Nivel de significancia de 0,05.

Para analizar diferentes cepas de *S. aureus* que infectan o colonizan la misma herida, se realizó un pre-test con ensayos de amplificación polimórfica DNA-PCR (RAPD-PCR) con primer 1254 (5'-CCGCAGCCAA-3') de diferentes colonias a partir del aislamiento bacteriano de un mismo paciente. Los productos fueron analizados por corrida electroforética en gel de agarosis a 1,5% (70V por 2h) para dos muestras determinadas por conveniencia (cinco diferentes colonias obtenidas a partir del aislamiento primario de dos pacientes - Fig 1). Por medio de este análisis, observamos que 75% de las colonias aisladas del paciente 1 presentaron el mismo perfil genético, sugiriendo tratarse de un único clon. En la colonia 1.1 no hubo amplificación, probablemente debido a la falla en la obtención del DNA de la muestra. En el paciente 5, los perfiles genéticos son semejantes en 60% de los casos. Así, se cree que el aislamiento e identificación de sólo una única colonia será representativo de la población de *S. aureus* de la lesión.

Figura 1: Resultado de la corrida electroforética. Niterói, 2015.



## CITAS

1. Martins MA, Tipple AFV, Reis C, Santiago SB, Bachion MM. Úlcera crônica de perna de pacientes em tratamento ambulatorial: análise microbiológica e de suscetibilidade antimicrobiana. *Cienc Cuid Saude (Online)* [Internet]. 2010 [cited 2015 Jan 19]; 9(3). Available: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/CiencCuidSaude/article/viewFile/8178/6635>
2. Oliveira BGRB, Castro JBA, Granjeiro JM. Panorama epidemiológico e clínico de pacientes com feridas crônicas tratados em ambulatório. *Rev enferm UERJ (Online)* [internet]. 2013 [cited 2015 Jan 20] 21(1). Available from: <file:///C:/Users/Win/Downloads/10035-34730-1-PB.pdf>
3. Silva PV, Cruz RS, Keim LS, Paula GS, Carvalho BTF, Coelho LR, Carvalho MCS, Rosa JMC, Figueiredo MAS, Teixeira LA. The antimicrobial susceptibility, biofilm formation and genotypic

profiles of *Staphylococcus haemolyticus* from bloodstream infections. Mem Inst Oswaldo Cruz (Online) [Internet]. 2013 (Cited 2015 Jan 20) (108)6. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v108n6/0074-0276-mioc-108-06-0812.pdf>

---

**Participación de los autores en la pesquisa:** Todos los autores participaron de las fases de esa publicación en una o más etapas a seguir, conforme con las recomendaciones del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, 2013), o sea, participación substancial en la concepción o confección del manuscrito o de la colecta, análisis o interpretación de los datos, elaboración del trabajo o realización de revisión crítica del contenido intelectual, aprobación de la versión sometida.

**Detalles del Proyecto:** Proyecto de Disertación de la Maestría Académica en Ciencias del Cuidado en Salud – UFF

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Beatriz Guitton Renaud Baptista de Oliveira

**Co-orientadora:** Prof Dr<sup>a</sup> Lenise Arneiro Teixeira

**Aprobación en el Comité de Ética en Pesquisa:** CAAE 33740214.2.0000.5243. Parecer de aprobación: 815.353, 03/10/2014.

**Apoyo financiero:** Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq).

---

Todos los autores participaron de las fases de esa publicación en una o más etapas a continuación de acuerdo con las recomendaciones del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, 2013): (a) participación substancial en la concepción o confección del manuscrito o de la recolecta, análisis o interpretación de los datos; (b) elaboración del trabajo o realización de la revisión crítica del contenido intelectual; (c) aprobación de la versión sometida. Todos los autores declaran para los debidos fines que es de su responsabilidad el contenido relacionado con todos los aspectos del manuscrito sometido al OBJN. Garantizan que las cuestiones relacionadas con la exactitud o integridad de cualquier parte del artículo fueron debidamente investigadas y resueltas. Eximiendo por lo tanto el OBJN de cualquier participación solidaria en eventuales procesos judiciales sobre la materia en aprecio. Todos los autores declaran que no poseen conflicto de intereses, de orden financiera o de relacionamiento, que inflencie la redacción y/o interpretación de los resultados. Esa declaración fue firmada digitalmente por todos los autores conforme recomendación del ICMJE cuyo modelo está disponible en [http://www.objnursing.uff.br/normas/DUDE\\_final\\_13-06-2013.pdf](http://www.objnursing.uff.br/normas/DUDE_final_13-06-2013.pdf)

---

Recibido: 28-11-2014

Revisado: 26-02-2015

Aprobado: 26-02-2015