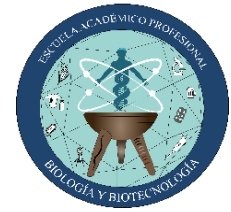




**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**



**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE**  
**BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**

**TESIS**

Perfil de resistencia antimicrobiana y tipificación del casete cromosómico estafilocócico  
*mec* en *Staphylococcus aureus* de origen clínico y de portadores comunitarios en  
Cajamarca.

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

**Presentado por:**

**BACH. JESÚS MIGUEL LLASHA SÁNCHEZ**

**ASESOR**

**DR. MBLGO. MARCO ANTONIO RIVERA JACINTO**

**Cajamarca – Perú**

**2024**

## **CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD**

1. Investigador: **Bachiller Jesús Miguel Llasha Sánchez**  
  
DNI: **76147635**  
  
Escuela Profesional/Unidad UNC: **ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**
2. Asesor: **Dr. Mblgo. Marco Antonio Rivera Jacinto**  
  
Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**
3. Grado académico o título profesional al que accede:  
 Bachiller      Título profesional      Segunda especialidad  
Maestro      Doctor
4. Tipo de Investigación:  
 Tesis    Trabajo de investigación    Trabajo de suficiencia profesional  
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:  
**Perfil de resistencia antimicrobiana y tipificación del casete cromosómico estafilocócico *mec* en *Staphylococcus aureus* de origen clínico y de portadores comunitarios en Cajamarca.**
6. Fecha de evaluación del Software antiplagio: **17/5/2024 - 10:17 AM GMT - 5**
7. Software antiplagio: **TURNITIN**
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **8 %**
9. Código Documento: **oid:3117:355424911**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud: **APROBADO**

Cajamarca, 20 de mayo del 2024



Copyright©

**Jesús Miguel Llasha Sánchez**

Todos los derechos reservados

## FICHA CATALOGRÁFICA

Llasha, J. 2024. **Perfil de resistencia antimicrobiana y tipificación del casete cromosómico estafilocócico *mec* en *Staphylococcus aureus* de origen clínico y de portadores comunitarios en Cajamarca** / Jesús Miguel Llasha Sánchez.

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesor: Dr. Marco Antonio Rivera Jacinto

Disertación Académica para optar el Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo  
UNC - 2024.

**Perfil de resistencia antimicrobiana y tipificación del casete cromosómico estafilocócico *mec* en *Staphylococcus aureus* de origen clínico y de portadores comunitarios en Cajamarca.**

**AUTOR:** Bach. Jesús Miguel Llasha Sánchez

**ASESOR:** Dr. Maco Antonio Rivera Jacinto

Tesis evaluada y aprobada para la obtención del Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

**JURADO EVALUADOR**



**PRESIDENTE**

M. Cs. John López Orbegoso



**SECRETARIA (O)**

M. Cs. William Edgardo Soriano Castillo



**VOCAL**

M. Cs. Nestor Estuardo Carbajal Caballero

Cajamarca, 2024 – Perú



**MODALIDAD "A"**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

En Cajamarca, siendo las 08:00 del 22 de Marzo del 2024, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente II-304 de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada: Perfil de resistencia antimicrobiana y tipificación del casete cromosómico estafilocócico mec en Staphylococcus aureus de origen clínico y de portadores comunitarios en Cajamarca

del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas:

Jesús Miguel Alasha Sánchez

Siendo las 09:26 del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: MUY BUENO, con el calificativo de: 18, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra APTO para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**.

Miembros Jurado Evaluador		Firma
Nombres y Apellidos		
Presidente:	<u>M.Cs. John Victor López Orbegoso</u>	
Secretario(a):	<u>M.C. William Edgardo Soriano Castillo</u>	
Vocal:	<u>M.Cs. Nestor Estuardo Carbajal Caballero</u>	
Accesitaria:		
Asesor (a):	<u>Dr. Marco Antonio Rivera Jacinto</u>	
Asesor (a):		

Términos de Calificación:  
 EXCELENTE (19-20)  
 REGULAR (12-13)

MUY BUENO (17-18)  
 REGULAR BAJO (11)

BUENO (14-16)  
 DESAPROBADO (10 a menos)

A:

A mis amados padres, Lorenzo Llasha Gutiérrez y María Sabina Sánchez Faichín, por darme la vida, por enseñarme a luchar y por su confianza en mí para lograr este primer logro profesional.

“La suerte solo favorece a la mente preparada”

Louis Pasteur



## **Agradecimiento**

A Dios, por darme la fortaleza para sacar adelante este trabajo, a pesar de las dificultades.

A mis docentes, quienes me brindaron las competencias necesarias para el desarrollo de esta investigación, especialmente a mi asesor Dr. Marco Antonio Rivera Jacinto por aportar con su experiencia, y por el acceso al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca.

A los tesisistas de la E.A.P. Biología y Biotecnología con quienes coincidí en el laboratorio, por sus sugerencias, ayuda y compañía.

## Tabla de contenido

<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>1</b>
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>3</b>
MARCO TEÓRICO .....	<b>3</b>
2.1. Antecedentes de la investigación.....	<b>3</b>
2.2 Bases teóricas .....	<b>7</b>
2.2.1. Género <i>Staphylococcus</i> .....	<b>7</b>
2.2.1.1. Colonización y transmisión.....	<b>8</b>
2.2.1.2. Patogenia.....	<b>8</b>
2.2.2. Resistencia antimicrobiana en <i>S. aureus</i> .....	<b>9</b>
2.2.2.1. Resistencia a meticilina en <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>10</b>
2.2.2.2. SCCmec .....	<b>12</b>
2.2.2.5. Clasificación de los elementos SCCmec.....	<b>14</b>
2.2.2.6. Resistencia a antibióticos no $\beta$ -lactámicos en <i>S. aureus</i> .....	<b>16</b>
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>19</b>
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS .....	<b>19</b>
3.1. Material biológico.....	<b>19</b>
3.2. Recolección de los aislamientos.....	<b>19</b>
3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>26</b>
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	<b>26</b>
4.1. Resultados .....	<b>26</b>
4.2. Discusión.....	<b>30</b>
<b>CAPÍTULO V</b> .....	<b>36</b>
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	<b>36</b>
5.1. Conclusiones.....	<b>36</b>
5.2. Recomendaciones .....	<b>36</b>
<b>LISTA DE REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>37</b>
<b>APÉNDICES</b> .....	<b>45</b>

## **Lista de abreviaciones**

**ATCC:** American Type Culture Collection

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute

**FOX:** Cefoxitina

**HRDC:** Hospital Regional Docente de Cajamarca

**MDR:** Multidrogorresistente

**PBP:** Proteína de unión a penicilina

**PBP2a:** Proteína de unión a penicilina modificada

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**PCR-multiplex:** Reacción en Cadena de la Polimerasa múltiple

**PVL:** Leucocidina de Panton-Valentine

**SARM:** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

**SARM-AC:** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad.

**SARM-AH:** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la asistencia médica.

**SCC*mec*:** Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*

**Perfil de resistencia antimicrobiana y tipificación del casete cromosómico *mec* en  
*Staphylococcus aureus* de origen clínico y de portadores comunitarios en  
Cajamarca.**

## Resumen

Desde un punto de vista evolutivo, *Staphylococcus aureus* es un patógeno con capacidades genéticas únicas, y cada vez son menos las opciones para tratar cuadros infecciosos ocasionados por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), representando un problema para salud pública en todo el mundo. **Objetivo:** El objetivo de este estudio fue evaluar los perfiles de resistencia de *S. aureus* de origen clínico y de portadores comunitarios, y tipificar molecularmente el tipo de casete *SCCmec* presente en aislamientos SARM. **Métodos:** La evaluación del perfil de resistencia e identificación presuntiva de SARM se realizó mediante el método de Kirby-Bauer, y la tipificación molecular se realizó mediante una doble PCR-multiplex. **Resultados:** Se evaluaron 96 aislamientos de *S. aureus* (de origen clínico y de portadores sanos); el 64 % de los aislamientos clínicos fueron SARM y el 82,6 % de estos portaba el *SCCmec* tipo I y presentaban resistencia fenotípica a clindamicina, eritromicina, ciprofloxacina y gentamicina. Además, el 8,7 % de los SARM portaban el *SCCmec* tipo IV y expresaban un perfil de resistencia reducido. **Conclusiones:** Este estudio concluye que el SARM portador del *SCCmec* tipo I es el predominante entre los aislamientos de origen clínico del HRDC; este clon presenta además un perfil de multidrogorresistencia. No se encontró aislamientos de SARM entre los portadores comunitarios.

**Palabras clave:** *S. aureus*, SARM, *SCCmec*, PCR-multiplex.

## Summary

From an evolutionary point of view, *Staphylococcus aureus* is a pathogen with unique genetic capabilities, and there are fewer and fewer options to treat infectious conditions caused by methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), representing a public health problem worldwide. **Objective:** The objective of this study was to evaluate the resistance profiles of *S. aureus* of clinical origin and community carriers, and to molecularly type the SCC*mec* cassette type present in MRSA isolates. **Methods:** The evaluation of the resistance profile and presumptive identification of MRSA was performed using the Kirby-Bauer method, and molecular typing was performed using a double-multiplex PCR. **Results:** 96 *S. aureus* isolates were evaluated (of clinical origin and from healthy carriers); 64% of the clinical isolates were MRSA and 82.6% of these carried SCC*mec* type I and presented phenotypic resistance to clindamycin, erythromycin, ciprofloxacin and gentamicin. Furthermore, 8.7% of MRSA carried SCC*mec* type IV and expressed a reduced resistance profile. **Conclusions:** This study concludes that MRSA carrying SCC*mec* type I is the predominant one among the isolates of clinical origin of HRDC; This clone also presents a multidrug resistance profile. No MRSA isolates were found among community carriers.

**Keywords:** *S. aureus*, MRSA, SCC*mec*, multiplex PCR.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

El patógeno bacteriano grampositivo, *Staphylococcus aureus* causa diversas afecciones humanas, como bacteremia, endocarditis e infecciones de piel, tejidos blandos y tracto genitourinario, tanto de origen comunitario como nosocomial (1)(2). Para afrontar la aparición de *S. aureus* productor de penicilinas, en 1959, se introdujo el  $\beta$ -lactámico semisintético meticilina; frente al cual solo dos años después, se reportó el primer aislamiento de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), y actualmente está diseminado por todo el mundo. La resistencia en SARM está conferida por la modificación de una proteína de la pared celular (PBP), siendo la diana de acción de la meticilina. Esta proteína modificada está codificada en el gen *mecA* y está localizado en el elemento genético móvil denominado SCC*mec*, por las siglas de *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (3).

Según el estudio del SENTRY, un programa de vigilancia antimicrobiana mundial donde se evaluaron 191 460 aislamientos clínicos de *S. aureus* recolectados en 45 países durante el período 1997-2016, en Europa SARM representó el 40,3 % de *S. aureus*, en América del Norte fue el 47% y América Latina fue de 38,7% (4). En un inicio, SARM solo estaba asociado a infecciones adquiridas en los hospitales; sin embargo, desde la década de los 90's, se han reportado cuadros infecciosos fuera del ambiente hospitalario; lo cual evidencia de la transmisión de SARM desde el hospital hacia la comunidad, a través del personal asistencial, mediante parientes o mediante otros pacientes (5).

La prevalencia de SARM varía en diferentes regiones del mundo; por ejemplo, es de menos del 5% en países del norte europeo como Dinamarca, Noruega, Países Bajos y Suecia, y es mayor al 25% en países del sur europeo como España, Grecia, Italia y Portugal (6). Para el 2005, en Estados Unidos, SARM estaba presente en más del 50 % de infecciones causadas por *S. aureus*, lo cual condujo a la aplicación de una estrategia de prevención multifacética en el 2007, que incluía la detección de SARM, precauciones de contacto, higiene de manos y cambio de la cultura institucional. Este programa ayudó a reducir las infecciones por SARM en 62 % en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y en 45 % en otras salas hospitalarias (7). Según estudios multicéntricos, la prevalencia de

SARM en el Perú está cerca del 60 % (8) y en la región Cajamarca se ha reportado una frecuencia de 56,3 % (9).

Los elementos *SCCmec* de SARM también pueden contener y transportar genes de resistencia a otros antibióticos, como a aminoglucósidos, lincosamidas y macrólidos, y también a algunos metales pesados (10). Actualmente están descritos 14 tipos moleculares de *SCCmec* (11), esta tipificación de los SARM es importante ya que permite evaluar su epidemiología y evolución en los brotes de cada región y a nivel mundial (12). Además, para simplificar la tipificación, se ha desarrollado dos reacciones en cadena de la polimerasa múltiple (PCR-multiplex) con la cual se pueden identificar diferentes tipos de *SCCmec* (13). En el presente estudio se ha implementado esta PCR-multiplex siendo fundamental para dilucidar el clon de SARM predominante y clones circulantes en el Hospital Regional Docente de Cajamarca (HRDC).

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, el objetivo de este estudio fue determinar el perfil de resistencia y tipificar molecularmente el *SCCmec* de SARM aislado de pacientes atendidos en el HRDC y de portadores comunitarios en Cajamarca; el perfil de resistencia fue evaluado mediante el método de Kirby-Bauer y la tipificación molecular con la implementación de dos reacciones de PCR-multiplex para detectar 9 tipos de *SCCmec* (I-VI, VIII, IX y XIV).



## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la Investigación

En España, en 2006, a partir del aumento de infecciones por SARM en un hospital pediátrico, se realizó un estudio retrospectivo. De 24 SARM aislados de pacientes pediátricos, el 54% presentó resistencia a eritromicina, 37% a clindamicina, 17 % a gentamicina, 12% a ciprofloxacino, y el 100% fue sensible al ácido fusídico, a cotrimoxazol, a mupirocina, a rifampicina, a teicoplanina y también a vancomicina; siete SARM presentaron características comunitarias como portar el SCC*mec* tipo IV, producir Leucocidina (PVL) y únicamente eran resistentes a oxacilina. Este estudio reportó por primera vez la presencia de SARM comunitario en España (14).

En 2010, se evaluaron a portadores de SARM entre asistentes a dos conferencias médicas internacionales en Taiwán. El 87 % de los asistentes eran médicos, de entre los cuales se detectó SARM mediante PCR en 10 asistentes de cinco países (Filipinas, Japón, Vietnam, Korea y Bangladesh). De los seis cultivos analizados, el 100% fue resistente a penicilina, pero susceptibles a ácido fusídico, linezolid, teicoplanina, trimetoprim/sulfametoxazol y vancomicina; tres aislamientos eran MDR. Los seis aislamientos portaban el SCC*mec* tipo IV, y no se encontró la PVL en ninguno de ellos. Este estudio reveló la necesidad de investigación en relación a la diseminación de SARM entre el personal de salud (15).

En Venezuela, en 2014, realizaron un estudio sobre la susceptibilidad antimicrobiana, producción de PVL y tipo de SCC*mec* de 54 aislamientos de SARM de pacientes hospitalizados. Se observó que el 83,3 % presentó resistencia a eritromicina, el 64,81 % presentó resistencia a clindamicina, amikacina, gentamicina y levofloxacina, el 66,67 % a ciprofloxacina y el 62,96 % a gatifloxacina. El 53,7 % de los aislamientos portaban el SCC*mec* tipo IV, el 40,7 % tipo I, el 3,7 % subtipo Ia y el 1,8 % subtipo IIIb. Además, 19 aislamientos resultaron positivas para PVL y todas portaban SCC*mec* tipo IV. Esto indica la diseminación de genotipos que anteriormente se asociaban solo a infecciones adquiridas en la comunidad (SCC*mec* IV y V) en entornos hospitalarios (16).

En Bolivia, en 2014, identificaron a portadores de *S. aureus* en 280 pacientes hospitalizados de ocho hospitales y se realizó la tipificación del SCC*mec*. El 14,6%

de pacientes hospitalizados eran portadores de *S. aureus*, de los cuales cinco eran SARM y portaban el SCCmec tipo IV. El 83% presentó resistencia a penicilina G, 14 % a tetraciclina, 8 % a gentamicina, 6 % a cloranfenicol y 3 % a eritromicina, y se observó sensibilidad a ciprofloxacina, linezolid, rifampicina y a trimetoprim-sulfametoxazol en todos los aislamientos. Los autores concluyeron que, a pesar de que la colonización por SARM fue baja, se deben implementar medidas de control para limitar su diseminación (17).

En Irán, en 2015, se seleccionaron 500 aislamientos de *Staphylococcus spp.* de diferentes hospitales. Mediante métodos fenotípicos y genotípicos se identificaron los SARM, y se evaluó la presencia de genes determinantes de resistencia mediante PCR, para macrólidos (*erm A y C*),  $\beta$ -lactamasa (*blaZ*) y genes de virulencia como *eta*, *sea*, *hla*; además, mediante PCR-multiplex se tipificaron los elementos SCCmec. El 74,4 % de todos los *Staphylococcus spp.* fueron *S. aureus*, de los cuales el 53,8 % poseían el gen *mecA* y se distinguieron como SARM. El SCCmec tipo IV se encontró en el 30,6 % de los aislamientos de SARM y los tipos de SCCmec III, II y I representaron el 30 %, 22 % y 17,5 %, respectivamente. Este estudio mostró que los genes de resistencia evaluados tenían frecuencias más altas en SCCmec de tipo I y IV (18).

En China, en 2019, en un hospital infantil, se caracterizaron aislamientos a partir de infecciones comunitarias por *S. aureus*, entre 2015 – 2018. Los aislamientos se caracterizaron en base a su susceptibilidad antimicrobiana, tipificación de secuencias multilocus (ST), tipificación *spa*, tipo de SCCmec y genes de virulencia. Se observó sensibilidad a vancomicina, quinupristina dalfopristina, nitrofurantoína, linezolid, y tigeciclina. La resistencia a penicilina se observó en el 94,5 % de aislamientos; además el 45,1 % fueron resistentes a cefoxitina, 61,2 % a eritromicina, 58,2 % a clindamicina, 22 % a tetraciclina y 11% a Trimetropin-sulfametoxazol. La tipificación de SCCmec reveló que el tipo IV fue el más común (61 %), seguido por el tipo V (34,1 %) y aislamientos individuales portadores de SCCmec I y II. Este estudio revela una asociación de los SCCmec IV y V con SARM-AC (19).

En Hainan (China), en 2019, se estudiaron las características moleculares de *S. aureus*, de los cuales 76 eran SARM y 151 SASM. Los aislamientos de SARM presentaban resistencia a más grupos de antibióticos en comparación con aislamientos de SASM; resistencia a penicilina (100 % frente a 88,7 %), a

eritromicina (75 % frente a 35,8 %), a clindamicina (64,5 % frente a 29,8 %), a gentamicina (18,4 % frente a 8,6 %), a rifampicina (17,1 % frente a 4,6 %) y a levofloxacina (15,8 % frente a 6,6 %). El SCCmec de tipo IV estuvo presente en el 56 % de aislamientos SARM, SCCmec tipo I en el 1 %, tipo II en el 3 %, tipo III en el 6 %, de tipo IVc en el 5 % y el de tipo V en el 9 %; y nueve aislamientos de clasificaron como no tipificables. Mediante una combinación de los secuenciotipos (ST) y los tipos de SCCmec, se observó que el ST45-SCCmec IVa fue el clon más predominante, siendo este poco frecuente en China pero predominante en la Región de Hainan (20).

En Sudáfrica, en 2020, a partir de hemocultivos se obtuvieron 5820 aislados de *S. aureus* entre 2012 - 2017 de diversos centros hospitalarios, a los cuales se caracterizó molecularmente. Los clones de SARM fueron definidos por su tipo de secuencia (ST), tipo de SCCmec y tipo de *spa*. Se observó un predominio de SCCmec tipo III en todos los años, seguido del tipo IV, excepto en el 2011 que sucedió lo contrario. Los aislamientos que portaban SCCmec presentaban resistencia a penicilina, oxacilina, meticilina, ciprofloxacina, daptomicina, eritromicina, trimetoprima sulfametoxazol, tetraciclina, levofloxacino, moxifloxacino y gentamicina. El SCCmec tipo II predominó en aislamientos resistentes a clindamicina y el SCCmec tipo IV en aislamientos resistentes a rifampicina (21).

En Kuwait, en 2020, se compararon los patrones de resistencia a los antimicrobianos y las características genotípicas de 4726 aislamientos de SARM obtenidos de hospitales públicos entre 2016 y 2017. Estos aislamientos se caracterizaron mediante antibiograma, tipificación de SCCmec, presencia del gen de la proteína A y microarray de ADN. Los observó resistencia al ácido fusídico (52,9%), kanamicina (41,6%), tetraciclina (37,5 %), trimetoprima (36,2 %), ciprofloxacina (35,7 %), gentamicina (32,5%), eritromicina (36,2%), clindamicina (16,9 %) y cloranfenicol (14,1 %). El tipo de SCCmec dominante entre los SARM fue el SCCmec tipo IV (47 %), seguido del SCCmec tipo V (29,8 %), III (12,1 %), VI (9,3 %), II (0,5 %) y I (0,08 %). Además, 34 aislamientos portaban la combinación de los tipos SCCmec IV + V (22).

A continuación, se describen algunos estudios en SARM en el Perú:

En Lima, en 2010 se estudió la prevalencia de SARM-AC en 276 aislamientos de *S. aureus* recolectados entre 2005 y 2006 en tres hospitales. El 50 % fueron identificados como SARM, y el 66,2 % de estos correspondían a pacientes hospitalizados con infección de piel y tejidos blandos, y con bacteriemias; y menos frecuentes en aislamientos provenientes de vías respiratorias. De los SARM, 9 se catalogaron como SARM-AC, 129 como SARM-AH y no se logró determinar 22 aislamientos. Además, el gen la Leucocidina se observó en 25 aislamientos (11 SARM y 14 SASM), la mayor proporción de PVL se observó en SASM frente a SARM (12,1 % vs 6,9 %). Este estudio muestra que la presencia de PVL no se relaciona con la resistencia a la meticilina y ( $p = 0,138$ ) (8).

En Piura, en 2011, se determinó la frecuencia de portación nasal de SARM entre los trabajadores de salud de un hospital de Piura, en 2018. De 311 individuos, 50 eran portadores de *S. aureus* (16,08 %) y de estos 41 eran SARM (82 %). Estos resultados indican que el profesional de salud es un reservorio de SARM (23).

En Lima, en 2015, se determinó la frecuencia de SARM en trabajadores de salud y compararlas molecularmente con SARM de pacientes con bacteriemia. Entre 172 trabajadores de la salud se aislaron *S. aureus* en el 22,7 %, y el 8,7 % fueron portadores nasales de SARM. La frecuencia de portadores de SARM fue menor en Ginecología y Obstetricia (2,1 %) en comparación con Medicina y Cirugía (13,3 %) ( $p = 0,015$ ). En base a la combinación de secuencias multilocus, tipo de *spa* y tipo de *SCCmec* los SARM fueron agrupados en dos clones: ST5-*spa* t149-*SCCmec* I y ST172-*spa* t148-*SCCmec* no tipificable), y ningún aislamiento portaba la PVL. Ambos genotipos eran co-resistentes a eritromicina, clindamicina y ciprofloxacino. El 50 % de los aislamientos de *S. aureus* de hemocultivos eran SARM, de entre ellos el ST5-*spa* t149-*SCCmec* I se encontró en el 64,3 % y el ST172-*spa* t148-*SCCmec* no tipificable en el 21,4 %. Además, los patrones de resistencia de hemocultivos fueron idénticos a los descritos entre los trabajadores de salud (24).

Otro estudio en Lima, en 2021, a partir de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, se determinó la frecuencia de SARM-AC, patrones de resistencia antimicrobiana y genotipado de 115 aislados de *S. aureus*. Del total de aislamientos de *S. aureus* el 21 % correspondía a secreciones no especificadas, 20 % de sangre, 14,8 % de secreciones traqueobronquiales y 14,8 % de piel. El 75 % de los SARM eran resistentes a clindamicina, eritromicina, gentamicina y ciprofloxacino. Entre los

SARM, el 79 % portaban el SCC*mec* tipo I, el tipo III (1,9 %) y el tipo IV (7,5 %) y en el 11,3 % de aislamientos no se pudo determinar el tipo de SCC*mec* (25).

En Cajamarca, en 2023, a partir de *S. aureus* de aislados de pacientes atendidos en el Hospital Regional, se determinó la frecuencia de del gen *mecA*. Se evaluaron 71 aislamientos identificados como *S. aureus* mediante PCR para el gen *mecA*. Se evidenció que el 56,3 % de los *S. aureus* portaban el gen *mecA*, es decir eran SARM, siendo más frecuente entre muestras de secreción bronquial (38 %) (9). Este estudio demostró la alta frecuencia de SARM, y evidencia la presencia alarmante de SARM en los hospitales de la región.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1. Género *Staphylococcus*

Este género lo integran muchas especies que se pueden encontrar en muestras clínicas humanas. Son cocos grampositivos que usualmente se agrupan como racimos, inmóviles, y producen catalasa; siendo *Staphylococcus aureus* el patógeno más importante (26). Las colonias de un mismo aislamiento de *S. aureus* generalmente tienen el mismo brillo, borde, pigmentación y tamaño; y algunos aislamientos presentan diferentes formas de colonia (27).

*S. aureus* es un anaerobio facultativo, y se puede cultivar en diferentes medios de cultivo, como BHI (*brain and heart infusion*), caldo de soya-tripticosa, agar manitol salado, agar Baird-Parker y agar colistina-ácido nalidíxico (CNA). Estos medios permiten el cultivo de estafilococos y otros grampositivos (27). Se pueden utilizar una variedad de pruebas bioquímicas para identificar colonias de *S. aureus*, como la prueba de coagulasa, antígenos específicos, fermenta manitol y produce desoxirribonucleasa. El test de la coagulasa es la tradicional estándar de oro para diferenciar *S. aureus* y el denominados grupo de estafilococos coagulasa negativos (SCN) (28).

En la década de 1920, la presencia de la coagulasa (una enzima que coagula el plasma) se la asoció con la patogenicidad, posteriormente en 1930 se desarrolló una prueba de coagulasa la cual fue importante para avanzar en el diagnóstico de este patógeno (29). En la actualidad, la técnica denominada reacción en

cadena de la polimerasa (PCR) permite identificar genes propios de *S. aureus* (30).

#### **2.2.1.1. Colonización y transmisión**

*S. aureus* se considera parte de la microbiota del humano, que tiene como área normal de colonización a las fosas nasales anteriores. Se estima que este patógeno coloniza de forma asintomática a la tercera parte de la población mundial (31); sin embargo, los pacientes hospitalizados son más propensos de colonización por esta bacteria. Es así que, frecuentemente se reportan brotes hospitalarios en todo el mundo; y actualmente también causa infecciones adquiridas en la comunidad (30).

Los estafilococos se encuentran en el aire, aguas residuales, agua, leche, alimentos, superficies ambientales, animales y el humano; siendo estos dos últimos los principales reservorios. Las personas que manipulan alimentos son uno de las principales agentes contaminantes de los alimentos, ocasionado por la ingesta de toxinas estafilocócicas (32).

#### **2.2.1.2. Patogenia**

Los cuadros infecciosos ocurren especialmente en personas colonizadas, cuando su sistema inmune se ve comprometido. En el peor de los casos este microorganismo puede llegar a la sangre y a partir de allí diseminarse a los diferentes órganos, produciendo diversos tipos de infecciones; incluso si esto no sucede, las toxinas pueden provocar diversos síndromes localizados o sistémicos. Además, el uso de algunos antibióticos favorece a la síntesis de toxinas estafilocócicas (33).

El ingreso del patógeno sucede cuando la barrera mucocutánea se ve alterada por heridas o alguna operación quirúrgica; además, esta bacteria puede adherirse a médicos y superficies, favoreciendo su diseminación. *S. aureus* logra evitar la respuesta inmune del hospedero, mediante la formación de cápsula y producción de inhibidores del complemento (34).

Este patógeno invade a su huésped debido a que posee un complejo sistema de factores de virulencia, el cual está coordinado por el *quorum sensing*, el cual está formado por moléculas que producen las bacterias

denominados “autoinductores”, que sirven para la comunicación entre células bacteriana, de esta manera se activan una gran cantidad de genes de virulencia. El sistema de regulación de genes accesorios o *agr*, es el sistema de QS que más se conoce en *S. aureus*, y se conoce que algunos cuadros clínicos específicos se relacionan con algunos tipos de *agr* (35). La características patogénicas de esta bacteria se deben al gran número de factores de virulencia, los cuales se describen en la tabla 1.

**Tabla 1:** Factores de virulencia de *S. aureus*.

Factores de virulencia	Etapas de la patogenia	Infecciones asociadas
Fibronectina Factor de agregación Sialoproteína ósea	Adherencia	Artritis Endocarditis Infección por catéteres y prótesis Osteomielitis
Formación de biofilm Variantes de colonias pequeñas	Persistencia	Fibrosis quística Reinfecciones
Cápsula Citotoxinas Proteína A	Evasión del sistema inmune	Abscesos Infecciones cutáneas Neumonía
Hialuronidasa Lipasa Nucleasa Proteasa	Invasión	Daño tisular Infecciones sistémicas
$\alpha$ -toxina Enterotoxinas TSST-1 Exfoliatinas A y B	Cuadros tóxicos Shock séptico	Intoxicaciones alimentarias Sépsis Síndrome del shock tóxico Síndrome de piel escaldada

Tomado de (35).

### 2.2.2. Resistencia antimicrobiana en *S. aureus*

Al igual que otros organismos vivos, las bacterias están en constante adaptación a las condiciones adversas. En ese sentido, la resistencia antimicrobiana se entiende como la invulnerabilidad de un microorganismo cuando se lo expone a un antibiótico, lo cual en términos médicos indica fallas en el tratamiento de infecciones (36).

Curiosamente, la resistencia a los antibióticos se observó primero en *S. aureus*, y en la actualidad se conocen diversos mecanismos moleculares mediante los cuales a adquirido resistencia a la mayoría de fármacos disponibles (37). En la

década de 1940, la penicilina era útil para tratar infecciones estafilocócicas; sin embargo, pocos años después, se reportó resistencia a penicilina mediada por una  $\beta$ -lactamasa. Dos décadas después el 60 % de los aislamientos intrahospitalarios eran resistentes a penicilina (1)(38).

#### **2.2.2.1. Resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus***

Introducida en 1959, la meticilina es una penicilina semisintética resistente a  $\beta$ -lactamasa, representó una nueva opción para tratar aquellas infecciones estafilocócicas que ya eran resistentes a penicilina. La meticilina, así como las cefalosporinas presentan una estructura que escapa de la acción de las  $\beta$ -lactamasa (2); y al igual que la penicilina, actúa sobre la pared celular bacteriana (39)(40). La resistencia a meticilina en *S. aureus* o SARM, se describió por primera vez en 1961 en Reino Unido especialmente en entornos hospitalarios (41), este tipo de resistencia no está mediado por mecanismos enzimáticos y le confiere a *S. aureus* resistencia a todos los  $\beta$ -lactámicos (10)

El mecanismo mediante el cual *S. aureus* adquiere resistencia a meticilina generalmente se debe a modificaciones en las denominadas proteínas de unión a penicilina (PBP), que es a donde se dirige la meticilina. A estas proteínas modificadas se las denomina PBP2a o PBP2', las cuales confieren resistencia a la meticilina y a todos los  $\beta$ -lactámicos; además, estas PBP modificadas están codificadas en el gen *mecA* (2).

Este gen puede diseminarse entre estafilococos mediante el casete cromosómico estafilocócico *mec* (*SCCmec*), por lo que la aparición de SARM se debe a la adquisición de estos *SCCmec* en el genoma de cepas susceptibles. SARM representa un desafío para el mundo médico en términos de tratamiento y control de infecciones estafilocócicas. SARM generalmente representa por lo menos del 25 – 50 % de las afecciones estafilocócicas en hospitales (42).

Desde 1990, en el mundo se observaron cambios epidemiológicos en las infecciones causadas por SARM, debido a la aparición de infecciones en entornos comunitarios, fuera de los hospitales, las cuales pueden causar



infecciones severas y muerte (3). Desde entonces han evolucionado numerosos genotipos de SARM (41).

En un inicio, las infecciones por SARM eran de origen nosocomial, y frecuentemente infectaba a personas hospitalizadas, enfermeras o médicos; es así que, se lo denominó *S. aureus* adquirido en el hospital (SARM-AH), aunque se recomienda mejor denominarlo “asociado a la atención médica” (43). Generalmente, SARM representa al menos del 25 al 50 % de las infecciones de *S. aureus* en entornos hospitalarios. Esto representa una gran preocupación por su alta morbimortalidad, por su resistencia a todas las penicilinas disponibles y a todos los  $\beta$ -lactámicos (tabla 2), excepto ceftarolina y ceftobiprol (44).

Sin embargo, en la actualidad las infecciones por SARM pueden presentarse en personas fuera de los hospitales, sin estar expuestos a los factores de riesgo hospitalarios como cirugía, estancia en UCI, presencia de dispositivos médicos invasivos, u otros; a esto se le denomina *S. aureus* asociado a la comunidad (SARM-AC) (3).

Al categorizar las infecciones por *S. aureus* y SARM la terminología puede ser confusa. Los expertos prefieren usar “asociado a la comunidad” a otros términos como “adquirido a la comunidad” o “de inicio en la comunidad”. Hasta hace unos años las características moleculares se usaban para categorizar los aislamientos como SARM-AC o SARM-AH. Por ejemplo, comúnmente las infecciones por SARM-AC lo causaban aislamientos portadores del SCCmec tipo IV y V. Las infecciones por SARM-AH generalmente eran causadas por aislamientos que portaban SCCmec tipo I, II y III. Además, algunos genotipos de SARM-AC producen Leucocidina de Pantón-Valentine o PVL (tabla 2) (45).

**Tabla 2:** Características de SARM según su origen.

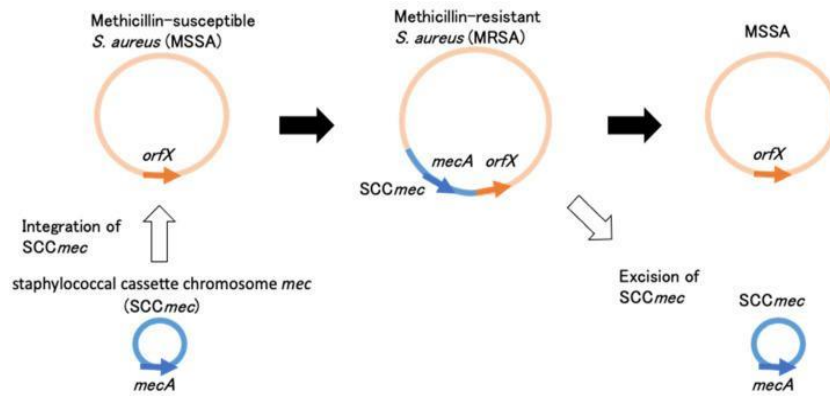
Propiedades	SARM-AC	SARM-AH
SCC <i>mec</i>	IV y V	I, II, III y VI
<i>PVL</i>	Presente en $\geq 75$ %	Presente en $< 5$ %.
Resistencia antibacteriana	$\beta$ -lactámicos, macrólidos y fluoroquinolonas.	$\beta$ -lactámicos, macrólidos, clindamicina, tetraciclina, fluoroquinolonas y aminoglucósidos
Tiempo de división celular	30 minutos	45-60 minutos

Adaptado de (46)(13).

#### 2.2.2.2. SCC*mec*

SARM se caracteriza por la presencia del SCC*mec*, es así que la aparición de nuevos linajes de SARM se debe a la inserción del elemento SCC*mec* en genotipos susceptibles, estos elementos genéticos se transfieren entre especies de *Staphylococcus* (47).

Los elementos SCC*mec* son integrados en la región *orfX* del genoma de *S. aureus*; además, estos elementos pueden integrar otros genes de resistencia y/o genes de virulencia (48). El SCC*mec* tiene un tamaño relativamente grande (21-67 kb), transporta al *mecA* y a sus genes reguladores (*mecI* y *mecR1*). Además, contiene los genes *ccr*, que codifican una recombinasa responsable de la movilidad del elemento SCC*mec* (Figura 1). Por otra parte, complejo *mec* lo conforman el gen *mecA* y sus genes reguladores (3).



**Figura 1:** Representación de la escisión e integración de SCC<sub>mec</sub> en *S. aureus* (11).

Debido a que los complejos *mec* y *ccr* tienen un papel fundamental en la clasificación de los elementos SCC<sub>mec</sub>, se los detallará a continuación.

### i. Complejo *ccr*

El complejo del gen *ccr*, lo componen los genes *ccr*, rodeados por *orfs*. Los genes *ccr* codifican ADN recombinasas, las cuales pueden catalizar la escisión del SCC<sub>mec</sub> y su integración en el cromosoma de *S. aureus*, siendo responsable de la movilización del casete (49). La integración y/o escisión de los elementos SCC<sub>mec</sub> en el cromosoma de *S. aureus* se cataliza a través de *ccrAB* y/o *ccrC*. En la actualidad se conocen 9 tipos de complejos *ccr* (tabla 3). Los tipos 7 y 8 solo se encuentran en SARM, mientras que el tipo 6 solo se encuentra en estafilococos diferentes a *S. aureus* (42).

**Tabla 3:** Tipos del complejo de gen *ccr* en los diferentes tipos de SCC<sub>mec</sub> (42).

Tipo de SCC <sub>mec</sub>	Tipo de complejo <i>ccr</i>
I, IX	1
II, IV	2
III	3
VI, VIII	4
V, VII, XIV	5
X	7
XI	8
XII, XIII	9

## ii. Complejo del gen *mec*

El complejo *mec* está compuesto por el gen *mecA*, genes reguladores (*mecR1* y *mecI*) y la secuencia de inserción IS431. La unión de los genes, IS431-*mecA*-*mecR1*-*mecI* se informó por primera vez en Suiza y se designó como complejo génico *mec* de Clase A (13). En la actualidad se distinguen seis clases de complejos *mec* (tabla 4) (50).

**Tabla 4:** Complejos de gen *mec*

Tipo de SCC <i>mec</i>	Clase de complejo <i>mec</i>	Estructura del complejo <i>mec</i>
II, III, VIII, XIII, XIV	A	IS431- <i>mecA</i> - <i>mecR1</i> - <i>mecI</i>
I, IV, VI	B	IS431- <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> - $\Psi$ IS1272
IV	B2	IS431- <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> -Tn4001- $\Psi$ IS1272
VII, X	C1	IS431 <sup>→</sup> - <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> -IS431 <sup>→</sup>
V, IX, XII	C2	IS431 <sup>→</sup> - <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> -IS431 <sup>←</sup>
XI	E	<i>blaZ</i> - <i>mecC</i> - <i>mecR1<sub>c</sub></i> - <i>mecI<sub>c</sub></i>

Adaptado de (50)

### 2.2.2.5. Clasificación de los elementos SCC*mec*

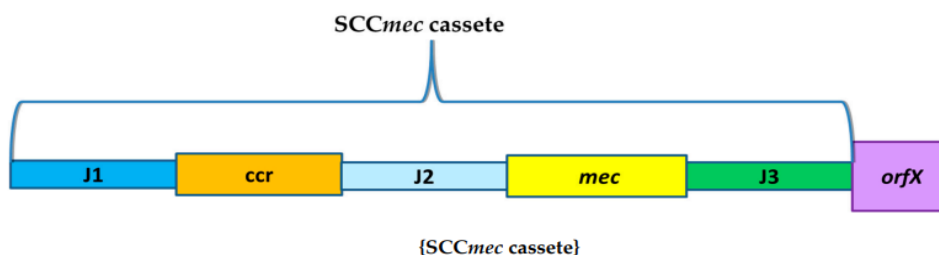
Los elementos SCC*mec* se tipifican en base al complejo *mec* y el complejo *ccr* que portan, y se pueden subtipificar en base a las denominadas regiones J del casete (8); describiéndose 14 tipos hasta la fecha (tabla 5) (50). El organismo internacional en relación a la clasificación y nomenclatura de los casetes es el “*International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements*”, o por sus siglas IWG-SCC, la cual forma una red intelectual para el estudio de estos elementos, establece un consenso en cuanto a su nomenclatura y define los requisitos para describir nuevos SCC*mec* (47).

**Tabla 5:** Tipos de *SCCmec*

Tipo de <i>SCCmec</i>	Tamaño (kb)	Complejo <i>o ccr</i>	Complejo <i>o mec</i>	Alta prevalencia
<b>I</b>	34,4	1	B	AH
<b>II</b>	53,0	2	A	AH
<b>III</b>	66,9	3	A	AH
<b>IV</b>	24,3	2	B	AH y AC
<b>V</b>	27,6	5	C2	AH y AC
<b>VI</b>	23,0	4	B	AH
<b>VII</b>	32,4	5	C1	NA
<b>VIII</b>	32,1	4	A	NA
<b>IX</b>	43,7	1	C2	NA
<b>X</b>	50,8	7	C1	NA
<b>XI</b>	29,4	8	E	AG
<b>XII</b>	49,3	9	C2	NA
<b>XIII</b>	29,2	9	A	NA
<b>XIV</b>	81,5	5	A	NA

AH: Asociado al hospital; AC: asociado a la comunidad; AG: asociado al ganado; NA: no asociado. Adaptado de (50)(13).

Los tipos I, II y III son relativamente grandes y albergan otros genes de resistencia; se encuentran generalmente en SARM-AH. Por otra parte, los tipos IV y V son más pequeños y se encuentran principalmente en SARM-AC. Sin embargo, en la actualidad genotipos comunitarios se identifican también en entornos hospitalarios (51). En la figura 2 se observa la estructura general de un elemento *SCCmec*.



**Figura 2:** Elementos *SCCmec*, compuestos por el complejo *mec*, el complejo *ccr*, y por las regiones variables J (51).

El plásmido pU110 contiene el gen de resistencia a la kanamicina y tobramicina, se encuentra frecuentemente en el *SCCmec* de tipo II y algunas veces en los elementos *SCCmec* de tipo I y IV. El plásmido pT18,

contiene el gen *tetK* que codifica la resistencia a tetraciclina, se localiza en la mayoría de SCC*mec* tipo III y V. El transposón Tn554, contiene genes de resistencia a eritromicina y espectinomicina (*ermA* y *spc*), y se lo ha identificado en los SCC*mec* tipo II y VIII (13).

La determinación del tipo de SCC*mec* que portan los SARM es un aspecto fundamental en su epidemiología, desde que se llegó al consenso de que los clones de SARM pueden definirse por el tipo de SCC*mec* que portan (13).

#### **2.2.2.6. Resistencia a antibióticos no $\beta$ -lactámicos en *S. aureus***

##### **a) Resistencia a los macrólidos y lincosamidas.**

La mayoría de aislamientos de SARM que son resistentes a eritromicina también lo son a clindamicina. Esta resistencia está codificada por el gen *erm*, el cual induce la metilación de la subunidad 23S ribosomal, lo que resulta en la modificación de los sitios diana de estos antibióticos. Estos aislamientos se pueden dividir en dos clases fenotípicas: con resistencia constitutiva sin necesidad de previa inducción y aislamientos cuya resistencia a clindamicina es inducida por eritromicina (52). Para identificar aislamientos de *S. aureus* con resistencia inducible a clindamicina, se utiliza el test de difusión de doble disco (D-test). En el caso de resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina (D-test negativo), se debe a la resistencia a eritromicina mediada por una bomba de expulsión (53).

Los fenotipos observables mediante el método de difusión con discos de eritromicina y clindamicina son: resistencia a eritromicina y clindamicina, resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina con un achatamiento del halo de clindamicina en la proximidad de la eritromicina (D-test positivo) (figura 3), resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina sin achatamiento del halo (D-test negativo) (52).



**Figura 3:** Imagen de un D-test positivo en SARM. Se muestra el halo con un achatamiento en la proximidad al disco de eritromicina (53).

#### **b) Resistencia a aminoglucósidos**

Los antibióticos del grupo de los aminoglucósidos (kanamicina, tobramicina, gentamicina y estreptomina) actúan a nivel de la subunidad 30S ribosomal, inhibiendo la síntesis proteica. Para ello, *S. aureus* ha desarrollado diferentes mecanismos de resistencia, que incluyen defectos en la permeabilidad para el ingreso del antibiótico en la bacteria, alteraciones ribosomales, y modificación de aminoglucósidos que generan pérdida en la afinidad por el ribosoma (37).

#### **c) Resistencia a quinolonas**

A pesar de que las fluoroquinolonas se introdujeron en un inicio para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias gramnegativas, su espectro de actividad permite usarlos para el tratamiento de infecciones estafilocócicas. La diana de las quinolonas como el ciprofloxacino son la ADN girasa y topoisomerasas IV. Mutaciones cromosómicas en regiones determinantes de resistencia a quinolonas reducen la afinidad de la quinolona con su diana (54). La resistencia a las fluoroquinolonas también puede estar mediada por la sobreexpresión de bombas de eflujo (55).

#### **d) Resistencia a tetraciclinas**

Las tetraciclinas, incluida la tigeciclina actúan uniéndose a la subunidad 30S en el lugar donde se reconoce el ARNm con el anticodón del ARNt. Uno de los mecanismos de resistencia a las tetraciclinas es la expresión de bombas de eflujo (TetK y TetL). TetK está codificado en un plásmido pT181 y se

encuentra dentro del elemento *SCC<sub>mec</sub>* de tipo III (55). Además, se conoce otra bomba de eflujo codificada cromosómicamente, denominada Tet38 la cual confiere resistencia a tetraciclina cuando se inactiva la proteína represora (MgrA) (56).

#### **e) Resistencia a linezolid**

El antibiótico Linezolid pertenece al grupo de las oxazolidinonas, es un antibiótico completamente sintético que actúa sobre el ribosoma bacteriano; en el 2000 se aprobó su uso para infecciones de SARM difíciles de tratar (55). Actúa sobre el ARNr 23S, inhibiendo la síntesis de proteínas. La resistencia a linezolid puede deberse a mutaciones en el dominio V del gen ARNr 23S; otro mecanismo es a través de la adquisición del gen *cfr* (metiltransferasa ribosomal), este gen está asociado con elementos genéticos móviles (56). Desde que se comenzó a usar linezolid se han reportado pocos aislamientos resistentes a linezolid por mutaciones en el sitio diana o por adquirir el gen *cfr* (37).

#### **f) Resistencia a vancomicina**

El glucopéptido vancomicina se usa ampliamente para el tratamiento de infecciones causadas por SARM. La vancomicina tiene como diana de acción los últimos residuos de D-ala-D-ala del MurNAc-pentapéptido, e impide la transglicosilación y transpeptidación mediada por la PBP2 y PBP2a en SARM, impidiendo el ensamblaje del peptidoglucano (56)(55). A partir de la década de 1980, como respuesta a la creciente frecuencia de SARM en todo el mundo, hubo un aumento considerable en el uso de la vancomicina, esto es una muestra de la presión selectiva enfocado en los aislamientos de SARM (57). Es así que, en las últimas décadas han incrementado los reportes de *S. aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA) y resistencia completa a vancomicina (VRSA), lo cual representa un problema grave para el sistema de salud mundial. Los primeros aislamientos de VRSA en 2002 en Estados Unidos portaban el transposón *Tn1546* adquirido de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina. El mecanismo de resistencia implica la alteración del dipéptido D-ala-D-ala a D-alanil-D-lactato, el cual tiene una disminución en la afinidad por los glucopéptidos (57).



## CAPÍTULO III

### DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

#### 3.1. Material biológico

Noventa y seis aislamientos de *S. aureus* analizados en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca, 75 aislamientos provenientes de pacientes atendidos en el HRDC y 21 aislamientos de portadores comunitarios asociados a la producción de derivados lácteos.

#### Nivel de Investigación

Nivel descriptivo.

#### Tipo y diseño de investigación

Investigación de tipo básico con diseño no experimental.

#### Marco muestral

Aislamientos de *S. aureus* identificados en el Laboratorio de Microbiología del HRDC de agosto 2019 a febrero de 2020, y de setiembre a noviembre de 2022.

Aislamientos identificados como *S. aureus* en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca, provenientes de portadores asociados a la producción de derivados lácteos de diferentes plantas procesadoras de la Región Cajamarca.

#### Unidad de estudio

Cada uno de los aislamientos de *S. aureus* aislados de pacientes atendidos en el HRDC y de portadores asociados a la producción de derivados lácteos.

#### 3.2. Recolección de los aislamientos

Los aislamientos clínicos de *S. aureus* fueron transportados en cadena de frío al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, y fueron criopreservados en BHI con glicerol al 20 % a -86 °C. Las muestras de manos de portadores comunitarios se transportaron al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca, en donde se realizó el aislamiento e identificación de *S. aureus* que fueron criopreservados en BHI con glicerol al 20 % a -86 °C.

### **3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.3.1. Descripción de los aislamientos**

Para una correcta descripción de los aislamientos clínicos de *S. aureus* se elaboró una ficha de recolección de datos, con la siguiente información: código, edad, sexo, tipo de infección (hospitalario o comunitario), tipo de muestra (p.ej. secreción, orina, sangre, etc.) y servicio hospitalario (Apéndice 1).

#### **3.3.2. Determinación del perfil de resistencia antibacteriana de *S. aureus***

##### **I. Reactivación de los aislamientos de *S. aureus***

Los aislamientos conservados en BHI con glicerol al 20 % a -86 °C, se los sembró en agar Baird Parker e incubó a 37 °C por 24 horas. Posteriormente se verificó la pureza del cultivo observando las colonias típicas, coloración gram y se comprobó la especie mediante la prueba de coagulasa en tubo (26) (Apéndice 2). También se reactivaron las cepas de referencia de *S. aureus* ATCC 29213 y ATCC 33592 en agar sangre.

##### **II. Antibiograma**

La resistencia a los antimicrobianos de todos los aislamientos de *S. aureus* se determinó mediante el método de difusión con disco o de Kirby Bauer en agar Müller-Hinton. Se utilizaron discos con antibióticos de los diferentes grupos, siguiendo las directrices del CLSI (58), EUCAST (59) y SFM (60). Para la identificación presuntiva de SARM se utilizó el disco de Cefoxitina de 30 µg (FOX) y, los discos que se usaron para el antibiograma son los que se utilizan frecuentemente en el tratamiento de SARM: ciprofloxacino de 5 µg (CIP), clindamicina de 2 µg (DA), eritromicina de 15 µg (E), gentamicina de 10 µg (CN), tetraciclina de 30 µg (TE), trimetoprima sulfametoxazol de 25 µg (SXT) y Linezolid (10 µg). La resistencia inducible a clindamicina se realizó mediante la prueba de aproximación con disco de eritromicina (prueba D) (52). Además, solo se determinó la susceptibilidad a vancomicina mediante disco de vancomicina de 30 µg (VA), ya que no existen los puntos de corte para determinar los fenotipos Intermedio/ Resistente a vancomicina mediante el método de difusión con disco (61).

### **3.3.3. Detección de SARM**

#### **I. Identificación de SARM mediante disco de cefoxitina**

La identificación de SARM se realizó mediante el método de difusión con disco de cefoxitina de 30 µg (FOX) en agar Müller-Hinton con una suspensión bacteriana equivalente al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland y se incubaron a 37 °C durante 16-18 h. Se considera como resistente a meticilina aquellos aislamientos con halos de inhibición  $\leq 21$  y sensibles aquellas con halo de inhibición  $\geq 22$ , según lo establecido por el Clinical Standards Institute (CLSI) (58).

#### **II. Extracción de ADN genómico de SARM**

La extracción de ADN genómico de SARM se realizó usando shock térmico para inactivar nucleasas que podrían interferir en la extracción, e inmediatamente se usó el kit PureLink® Genomic DNA Mini Kit (62). Para ello, se preparó una suspensión con 3-5 colonias de cultivo de 18 horas en un tubo eppendorf de 1.5 ml con 150 µl de agua grado molecular, homogenizando mediante vortex por 5 segundos. El shock térmico se realizó colocando los tubos con la suspensión bacteriana en baño maría a 80 °C durante 10 minutos e inmediatamente pasar a -20 °C en congeladora, esto se repitió una sola vez para cada aislamiento y se dejó descongelar la suspensión durante 5 minutos a T° ambiente.

Se siguieron las indicaciones del kit PureLink® Genomic DNA Mini Kit (62), usando como muestra la suspensión bacteriana después del shock térmico. La digestión de la muestra se realizó añadiendo 180 µl de tampón de digestión de lisozima (20 mg/ml) a la muestra y agitando mediante vórtex durante 5 segundos; se incubó a 37 °C durante 45 minutos en un termobloque Thermo Scientific™, realizando vórtex cada 15 minutos. Se añadió 20 µl de proteinasa K y 200 µl de tampón de unión/lisis; siempre mezclando mediante vórtex. Posteriormente se incubó a 55 °C en termobloque durante 45 minutos, realizando un breve vórtex cada 15 minutos. Para finalizar la lisis se agregó 200 µl de etanol puro y se mezcló mediante vórtex.

Para la unión del ADN genómico, se usaron las columnas y tubos de recolección suministrados por el kit PureLink®. Se agregó 640 µl del preparado

de lisis previa a la columna de centrifugación y se centrifugó a 10 000 g durante un minuto a T° ambiente. Se desechó el tubo de recolección y se colocó un tubo de recolección limpio. El lavado se realizó agregando 500 µl del buffer de lavado 1 y centrifugado a 10 000 g durante un minuto, se desechó el tubo de recolección y se colocó uno limpio. Se realizó un segundo lavado agregando 500 µl del buffer de lavado 2 y se centrifugó a 21 000 g durante 3 minutos a T° ambiente; se desechó el tubo de recolección.

Para recolectar el ADN genómico se colocó la columna de centrifugación (con el ADN unido) en un tubo eppendorf de 1.5 ml estéril. Se agregó 60 µl de buffer de elución a la columna, se dejó incubar durante 1 minuto a T° ambiente y se centrifugó a 21 000 g durante 2 minutos a T° ambiente. El ADN genómico queda contenido en el tubo eppendorf. Las muestras de ADN genómico de SARM se conservaron a -20 °C hasta su posterior análisis.

#### **3.3.4. Tipificación del SCC*mec* de SARM.**

Las cepas de referencia ATCC 29213 y ATCC 33592 sirvieron como control negativo y positivo respectivamente para la presencia del elemento genético móvil SCC*mec*; la cepa de referencia ATCC 33592 porta el SCC*mec* tipo III.

Los casetes se clasifican en tipos de acuerdo a la combinación del tipo de complejo *ccr* y la clase de complejo *mec* que portan los aislamientos de SARM (13). Para esto en el presente estudio se utilizaron 12 primers, mediante una metodología basada en 2 PCR multiplex (Tabla 6). El tipo de casete se determinó mediante el patrón de amplificación para los tipos de complejo *ccr* y la clase de complejo *mec*, de acuerdo a lo mostrado tabla 5. Esta metodología nos permite identificar 9 tipos de casetes (SCC*mec* tipo I – VI, VIII, IX y XIV).

**Tabla 6:** Primers usados para la tipificación del SCC*mec*.

Región de SCC <i>mec</i>	Nombre de los Primers	Construido sobre gen:	Secuencia de nucleótidos	Tamaño de producto de PCR
<b>Primera PCR-multiplex</b>				
Complejo <i>ccr</i> :				
<b>Tipo 1 (<i>ccrA1-ccrB1</i>)</b>	$\alpha 1$	<i>ccrA1</i>	AACCTATATCATCAATCAGTACGT	695 pb
	$\beta c^a$	<i>ccrB1, B2, B3</i>	ATTGCCTTGATAATAGCCITCT	
<b>Tipo 2 (<i>ccrA2-ccrB2</i>)</b>	$\alpha 2$	<i>ccrA2</i>	TAAAGGCATCAATGCACAAACACT	937 pb
	$\beta c^a$			
<b>Tipo 3 (<i>ccrA3-ccrB3</i>)</b>	$\alpha 3$	<i>ccrA3</i>	AGCTCAAAAGCAAGCAATAGAAT	1791 pb
	$\beta c^a$			
<b>Tipo 4 (<i>ccrA4-ccrB4</i>)</b>	$\alpha 4.2$	<i>ccrA4</i>	GTATCAATGCACCAGAACTT	1287 pb
	$\beta 4.2$	<i>ccrB4</i>	TTGCGACTCTCTTGGCGTTT	
<b>Tipo 5 (<i>ccrC1</i>)</b>	$\gamma R$	<i>ccrC1</i>	CCTTTATAGACTGGATTATTCAAATAT	518 pb
	$\gamma F$	<i>ccrC1</i>	CGTCTATTACAAGATGTTAAGGATAAT	
<b>Segunda PCR-multiplex</b>				
Complejo <i>mec</i>				
<b>Clase A (<i>mecA-mecI</i>)</b>	mI6	<i>mecI</i>	CATAACTTCCCATTCTGCAGATG	1965 pb en SCC <i>mec</i> tipo II
	mA7 <sup>b</sup>	<i>mecA</i>	ATATACCAAACCCGACAACTACA	y 1797 pb en el tipo III
<b>Clase B (<i>mecA-IS1272</i>)</b>	IS7	<i>IS1272</i>	ATGCTTAATGATAGCATCCGAATG	2827 pb
	mA7 <sup>b</sup>			
<b>Clase C2 (<i>mecA-IS431</i>)</b>	IS2	<i>IS431</i>	TGAGGTTATTCAGATATTTTCGATGT	804 pb
	mA7 <sup>b</sup>			

Adaptado de (13).

<sup>a</sup> Primer con Inosina en la posición 19 para poder reconocer 3 tipos de genes *ccr*: *ccrB1*, *ccrB2* y *ccrB3*.

<sup>b</sup> Primer para el gen *mecA*, permite tipificar la clase del complejo *mec*.

#### **3.3.4.1. PCR multiplex para determinar el tipo de complejo *ccr*.**

Para identificar el tipo de *ccr* se utilizaron 8 primers: 4 primers para identificar *ccr1-3* (un primer forward común para 3 primers reverse específicos para *ccrA1*, *ccrA2* y *ccrA3*), 2 primers para identificar *ccr4* y 2 primers para identificar *ccr5* (63).

Las mezclas de reacción de 25 µl para cada muestra contenían 12.5 µl del Master Mix Quick-Load® *Taq* 2X (contiene *Taq* DNA Polimerasa (33 U/ml), dNTP's (0.2 mM), MgCl<sub>2</sub> (1.5 mM), KCl (50 mM) y colorantes de rastreo como Orange G y Xilene Cyanol FF), 4 µl de primers (0.5 µl de cada uno), 5.5 µl de agua grado molecular y 3 µl de ADN genómico. Los colorantes que contiene el Master Mix permite cargar de manera directa los productos de PCR en el gel de agarosa.

Las condiciones de PCR fueron desnaturalización inicial de 95 °C por 30 segundos, 35 ciclos (desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, alineación a 57 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C por 2 minutos) y una extensión final a 68 °C por 7 minutos; los productos de PCR se mantuvieron a 4 °C.

#### **3.3.4.2. PCR multiplex para determinar la clase de complejo *mec* (62).**

Para identificar la clase de complejo *mec* se utilizaron 4 primers, un primer forward para 3 primers reverse específicos para las Clases A, B y C2 (11).

En la segunda PCR multiplex se utilizó la misma mezcla de reacción que la primera, excepto por los primers (mA7, mI6, IS7 e IS; 0.5 µL de cada uno). Las condiciones de PCR fueron las siguientes: Desnaturalización inicial a 95 °C por 30 segundos, 35 ciclos (desnaturalización a 95 °C, alineación a 60°C por un minuto y extensión a 68 °C por 2 minutos) y una extensión final durante 7 minutos; los productos de PCR se mantuvieron a 4 °C (63).

#### **3.3.4.3. Electroforesis en gel de agarosa**

Se preparó un gel de agarosa al 1.5 %, con Sybr Safe al 1 % como colorante. Para ello se pesó 1.5 g de agarosa y se agregó 50 mL de buffer

TAE 1X; se disolvió la agarosa completamente usando un microondas. Se agregó 10  $\mu\text{L}$  de Sybr Safe (Invitrogen<sup>TM</sup>), se mezcló bien la solución y se vació el contenido en el molde del gel, evitando formar burbujas. Una vez que el gel se solidificó se colocó en la cubeta de electroforesis y se agregó buffer TAE 1X hasta cubrir el gel.

En el primer y último carril del gel se colocó 5  $\mu\text{L}$  de marcador de peso molecular de 1 kb Opti-DNA Marker. A continuación, se colocaron 5  $\mu\text{L}$  de cada producto de PCR en los distintos carriles del gel, así como los controles positivos y negativos. Posteriormente se cerró la cubeta y se conectó a la fuente de poder; el corrido se realizó a 100 Voltios durante 45 minutos. Una vez finalizado el corrido de electroforesis, se transfirió al transiluminador con luz UV para observar y fotodocumentar las bandas correspondientes de las dos PCR multiplex.

#### **3.4. Técnicas de procesamiento y análisis de los datos**

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics 25. La asociación entre los tipos de SCC $_{mec}$  y el perfil de resistencia fue evaluado mediante la prueba de Chi-cuadrado y/o el test exacto de Fisher. Además, la significancia estadística se estableció con un  $p \leq 0.05$ , con un nivel de confianza del 95% y error de 5%.

## CAPÍTULO IV

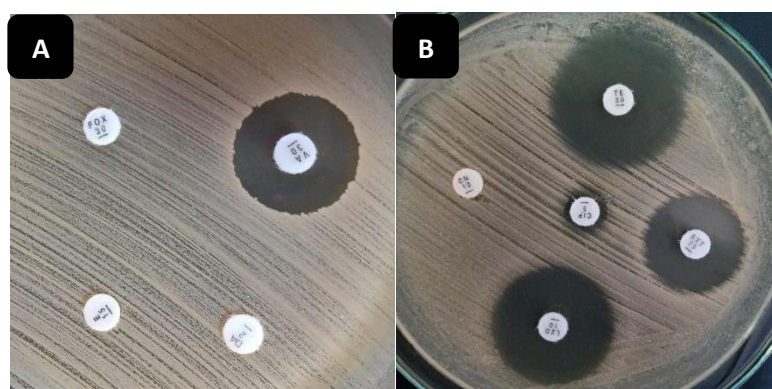
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados

En este estudio se analizaron 96 aislamientos de *S. aureus*, 75 de los cuales fueron de origen clínico y 21 provinieron de portadores asociados a la producción de derivados lácteos en Cajamarca. El 82,7 % de los aislamientos clínicos provinieron de muestras respiratorias (incluyendo secreciones y aspirados bronquiales, secreciones faríngeas y esputo), 6,7 % de exudados, 4 % de catéter venoso central y sangre (en ambos casos) y 2,7 % de orina (Tabla 7).

**Tabla 7.** Aislamientos de *S. aureus* según tipo de muestra clínica

Tipo de muestra clínica	Aislamientos por	Aislamientos	Aislamientos
	tipo de muestra [n (%)]	SASM n (%)	SARM n (%)
<b>Respiratoria</b>	62 (82,7)	20 (74,1)	42 (88)
<b>Exudado</b>	5 (6,7)	4 (14,8)	1 (2)
<b>Sangre</b>	3 (4)	1 (3,7)	2 (4)
<b>Catéter venoso central</b>	3 (4)	1 (3,7)	2 (4)
<b>Orina</b>	2 (2,7)	1 (3,7)	1 (2)
<b>Total</b>	75 (100)	27 (36)	48 (64)

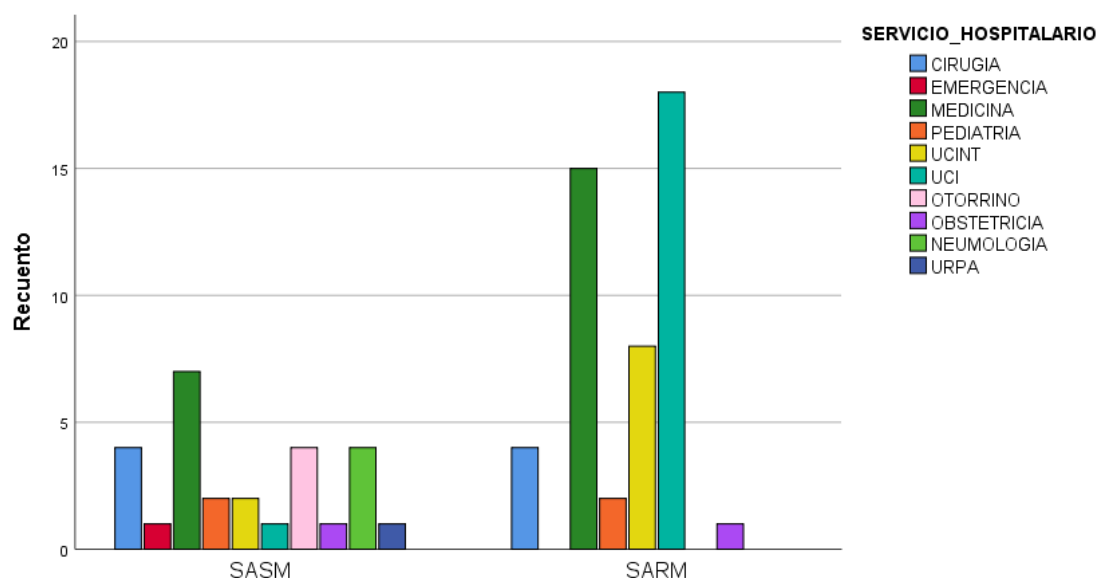


**Figura 4.** Aislamiento clínico de SARM-1026 de una secreción bronquial de paciente en cuidados intensivos. A) Se observa resistencia a cefoxitina (FOX), eritromicina (E), clindamicina (DA) y sensibilidad a vancomicina (VA); B) Se observa resistencia a ciprofloxacina (CIP) y gentamicina (CN), y sensibilidad a tetraciclina (TE), Trimetropim sulfametoxazol (SXT) y a linezolid (LZD).



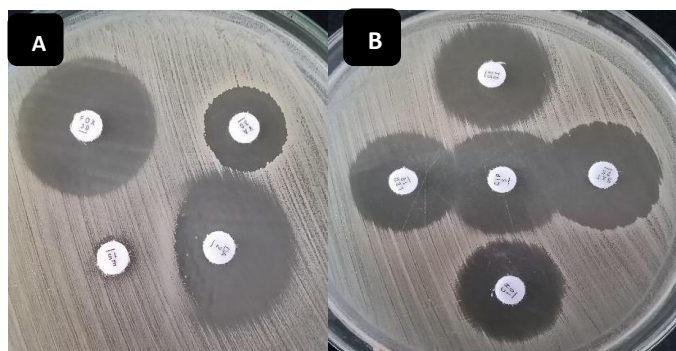
Los aislamientos clínicos SARM se diferenciaron mediante la prueba de tamizaje con el disco de Cefoxitina de 30 µg (FOX) como se observa en la figura 4-A, donde además se observa co-resistencia a eritromicina y clindamicina; en la imagen 4-B también se observa co-resistencia a gentamicina y ciprofloxacina. El 64% de los aislamientos clínicos fueron identificados fenotípicamente como SARM y los demás fueron SASM (36 %) (Tabla 7).

En cuanto a la proporción de SARM entre los aislamientos de *S. aureus* de los diferentes servicios hospitalarios se encontró que 18/19 (94,7 %) aislamientos provenientes de pacientes ingresados en UCI fueron SARM; 15/22 (68,1 %) de Medicina, 8/10 de UCINT (80 %), y el 50 % de los aislamientos obtenidos de los servicios de Cirugía, Pediatría y Obstetricia (4/8, 2/4 y 1/2, respectivamente) (Figura 5).



**Figura 5.** Distribución de SASM y SARM en los diferentes servicios hospitalarios del HRDC

La resistencia entre los aislamientos SASM (n = 27) se distribuyó de la siguiente manera: 18,5 % de los SASM fueron resistentes a tetraciclina y a clindamicina (en ambos casos), 14,8 % a eritromicina y 7,4 % a linezolid (Tabla 8). Además, un perfil de resistencia inducible a clindamicina se observó en el 11,1 % de los SASM (Figura 2-A). El 66,6 % de los SASM (18/27) resultaron sensibles a todos los antibióticos probados.



**Figura 6.** Aislamiento clínico de SARM-1510 que presenta resistencia inducible a clindamicina (fenotipo iMLS<sub>B</sub>), pero con sensibilidad al resto de antibióticos probados.

**Tabla 8.** Resistencia antibacteriana en *S. aureus* de origen clínico

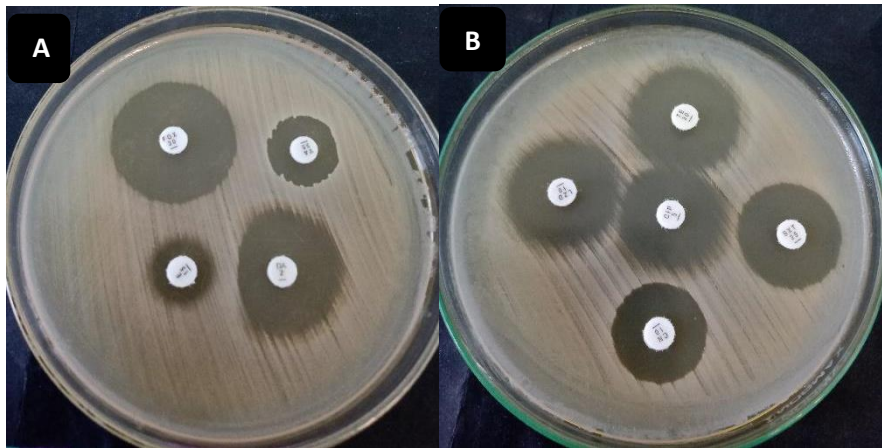
	<b>Aislamientos de <i>S. aureus</i> resistentes</b>	<b>SASM</b>	<b>SARM</b>
<b>Antibiótico</b>	<b>N (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
Eritromicina (E)	49 (65,3)	4 (14,8)	45 (93,75)
Clindamicina (DA)	50 (66,6)	5 (18,5)	45 (93,75)
Ciprofloxacina (CIP)	43 (57,3)	0 (0)	43 (89,5)
Trimetropin- Sulfametoxazol (SXT)	2 (2,6)	0 (0)	2 (4,1)
Gentamicina (CN)	43 (57,3)	0 (0)	43 (89,5)
Tetraciclina (TE)	7 (9,3)	5 (18,5)	2 (4,1)
Linezolid (LZD)	4 (5,3)	2 (7,4)	2 (4,1)
<b>TOTAL</b>	<b>75 (100)</b>	<b>27 (36)</b>	<b>48 (64)</b>

La mayoría de los aislamientos de SARM (82,6 %) presentaron resistencia conjunta a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina y gentamicina; siendo este el perfil de resistencia más diseminado entre los SARM aislados de pacientes atendidos en el HRDC (Tabla 3).

**Tabla 9.** Perfil de resistencia y tipo de *SCCmec* de SARM aislados de pacientes atendidos en el HRDC.

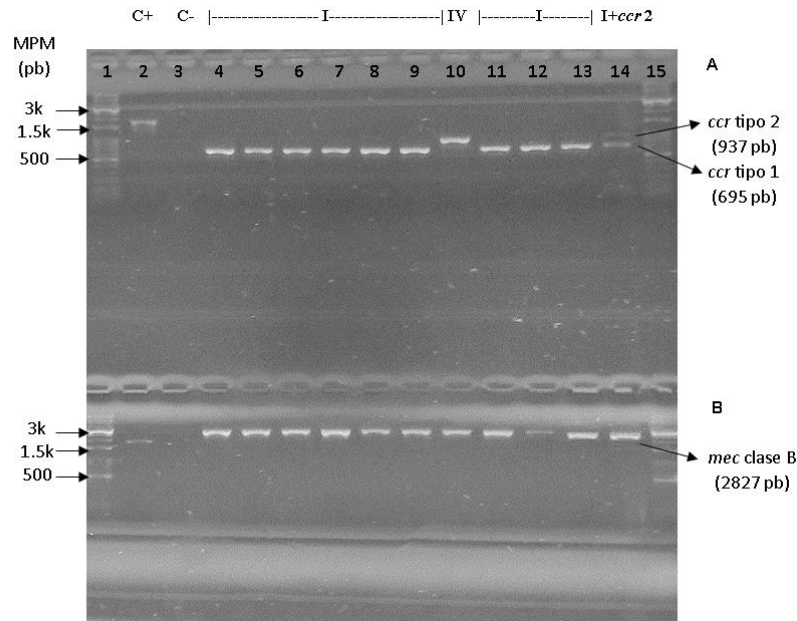
<b>Perfil de resistencia</b>	<b>Total N = 46</b>	<b>Tipo de <i>SCCmec</i></b>
Solo resistente a FOX	3 (6,5 %)	IV
FOX-E-DA	1 (2,2 %)	IV
FOX-E-DA-CIP-CN	38 (82,6 %)	I
FOX-E-DA-CIP-CN-SXT	1 (2,2 %)	I
FOX-E-DA-CN-TE-LZD	1 (2,2 %)	I + <i>ccr</i> tipo 2
FOX-E-DA-CIP-CN-LZD	1 (2,2 %)	I
FOX-E-DA-CIP-CN-SXT-TE	1 (2,2 %)	II + <i>ccr</i> tipo 5

Por otra parte, todos los aislamientos de *S. aureus* provenientes de portadores (manipuladores de derivados lácteos) presentaron sensibilidad a cefoxitina y solo el 9,5 % (2/21) presentó resistencia a más de uno de los antibióticos no  $\beta$ -lactámico probados en el presente estudio. Se observó resistencia a Trimetropin-Sulfametoxazol en el 14,2 % (3/21), a eritromicina en el 9,5 % y un aislamiento fue resistente a tetraciclina. Es de resaltar que el 9,5 % (2/21) que presentó resistencia a eritromicina, también expresaron resistencia inducible a clindamicina (fenotipo iMLS<sub>B</sub>) (Imagen 3-A). El 47,6 % de aislamientos de portadores fueron sensibles a todos los antibióticos probados.



**Figura 7.** Perfil de resistencia del aislamiento de *S. aureus*-29 proveniente de un portador en el que se observa, A) resistencia inducible a clindamicina (Prueba D+). B) sensibilidad al resto de antibióticos no  $\beta$ -lactámicos utilizados.

La distribución de los SARM (n = 46) según el tipo de SCC<sub>mec</sub> fue la siguiente: Tipo I 89,1 %, IV 8,7 % y II 2,1 %. El perfil de resistencia FOX-E-DA-CIP-CN fue el más frecuente (82,6 %) entre los aislamientos de SARM y todos ellos portan el SCC<sub>mec</sub> tipo I (Tabla 3). Además, se identificó un aislamiento con SCC<sub>mec</sub> I + *ccr* tipo 2 y un aislamiento con SSC<sub>mec</sub> 2 + *ccr* tipo 5 (Figura 4). Dos aislamientos resistentes a FOX no portaban ningún SCC<sub>mec</sub>.



**Figura 8.** Electroforesis en gel de agarosa de los genes que definen el tipo de *ccr* (A) y la clase de *mec* (B); carriles 1 y 15: marcador de peso molecular de 1kb, carril 2: control positivo ATCC 33592 con *SCCmec* tipo III (*ccr* tipo 3 + *mec* clase A), carril 3: control negativo ATCC 29213, carriles 4-9 y 11-13 con *SCCmec* tipo I (*ccr* tipo 1 + *mec* clase B), carril 10 con *SCCmec* tipo IV (*ccr* tipo 2 + *mec* clase B) y el carril 14 con *SCCmec* tipo 1+ un *ccr* tipo 2 adicional.

Para determinar si existe una asociación entre el perfil de resistencia y el tipo de *SCCmec*, no fue posible utilizar la Prueba de Chi cuadrado, debido a que más del 20% de las celdas de la tabla de contingencia tuvieron valores esperados menores a 5, y se utilizó el test exacto de Fisher; evidenciando que si existe una asociación con un p-valor = 0.000. Además, no se encontró asociación entre la resistencia a meticilina y el tipo de muestra clínica (p-valor = 0.246), tampoco con el sexo (p-valor = 0.557).

#### 4.2. Discusión

*S. aureus* es un patógeno cada vez más importante, debido a su capacidad de generar resistencia a la mayoría de fármacos disponibles para su tratamiento y al número de factores de virulencia que expresa (64). Específicamente SARM tiene mayor relevancia debido a que expresa una PBP modificada codificada en el gen *mecA*, que evita la acción de todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos y otros grupos de antimicrobianos (10).

Este estudio muestra una alta frecuencia de SARM en aislamientos clínicos del HRDC, (64 %), la cual es mayor a la frecuencia promedio reportada para Latinoamérica que se estima alrededor del 40%, con distribución variable en distintos países, incluyendo el Perú con 54 %, es de considerar que el estudio mencionado solo utilizó aislamientos de bacteremias, en cambio en la presente tesis se evaluaron aislamientos provenientes de diferentes muestras clínicas (65). Un estudio previo en *S. aureus* aislados de pacientes atendidos en el HRDC estimó que la frecuencia de SARM es mayor al 50 % (9); con estos estudios se demuestra que la presencia de SARM es un problema de salud pública en el HRDC que debe ser atendido a la brevedad posible, lo que implica la necesidad de establecer estrategias de prevención para limitar su propagación en la población de Cajamarca.

Todos los aislamientos de *S. aureus* procedentes de portadores comunitarios fueron SARM; sin embargo, cada vez son más los reportes de SARM en personas sanas manipuladoras de alimentos, por lo que se debe continuar con su vigilancia (66). El 14,2 % de estos aislamientos presentó resistencia a SXT, un antimicrobiano que pertenece a la clase de inhibidores del folato y es una alternativa para el tratamiento de SARM causante de infecciones de piel y tejidos blandos; la resistencia a SXT se debe a mutaciones en el gen *dfr*, y se ha demostrado que la exposición *in vitro* de *S. aureus* a SXT contribuye a la aparición de clones resistentes (67). Por otra lado, en estos mismos aislamientos se observó resistencia a tetraciclina en un 4,7 %; las tetraciclinas, incluida la tigeciclina, inhiben la síntesis proteica al unirse a la subunidad ribosomal 30S y la resistencia generalmente esta conferida por bombas de eflujo codificadas por el gen *Tet(K)* y que puede estar contenido en el plásmido pT181, el mismo que tiene capacidad de integrarse entre los elementos *SCCmec* de los SARM (56).

El 9,5 % de aislamientos comunitarios expresaron resistencia a eritromicina y a la vez resistencia inducible a clindamicina (fenotipo iMLS<sub>B</sub>). La resistencia inducible a clindamicina solo es detectada mediante la Prueba D y no mediante pruebas de rutina (68). El presente estudio evidencia que la resistencia inducible a clindamicina se encuentra fuera del ambiente hospitalario en la Región de Cajamarca. Estos resultados cobran relevancia debido a que, en la actualidad en el Perú no existen estudios que evalúen este de tipo fenotipo en aislamientos comunitarios de *S. aureus*. Además, aunque en este estudio ninguno de los aislamientos provenientes de

portadores fue SARM, es necesario implementar la vigilancia de esta bacteria tanto entre los manipuladores o trabajadores como entre los distintos productos lácteos producidos en Cajamarca, pues se ha reportado SARM en leche y sus derivados en diferentes regiones del mundo (69)(70)(71).

En relación a SARM en el Perú, existen pocos estudios que evalúen su perfil de resistencia y que hayan hecho su tipificación molecular, siendo esto esencial para abordar el problema mundial que representa la aparición de nuevos clones más resistentes y virulentos, que pueden causar brotes infecciosos tanto hospitalarios como comunitarios (17,72). La presencia del elemento *SCC<sub>mec</sub>* es la característica definitoria en la identificación de aislamientos SARM, y no siempre la resistencia a cefoxitina en *S. aureus* define un SARM; la presencia de SARM tiene gran relevancia pues implica la resistencia de la bacteria frente a todos los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos, e incluso puede contener nuevas estructuras genéticas extracromosómicas como Tn554, pT181 y pUB110, que le pueden conferir resistencia a otros grupos de antimicrobianos (42).

El 82,7 % de todas las muestras clínicas fueron de origen respiratorio y el 87,5% de las muestras respiratorias presentaron aislamientos SARM. El predominio de SARM en estas muestras provenientes del HRDC podría deberse a la existencia de algunas características de virulencia propias del tipo de clon SARM, pues en otros hospitales SARM se aísla con mayor frecuencia de otro tipo de muestras. Una de las estrategias conocidas que tiene SARM para colonizar los pulmones de pacientes expuestos a ventilación mecánica es la formación de *biofilm*; sobre todo en pacientes con hospitalización prolongada y en situación de presión antibiótica (73). Este estudio no aborda los factores de virulencia en *S. aureus*; sin embargo, la información del predominio de este patógeno en muestras respiratorias es una alerta importante a considerar en el HRDC, y los hallazgos pueden servir de precedente para estudios que busquen establecer la relación entre los factores de virulencia y el tipo de muestra de donde provienen los aislamientos.

Este estudio revela altas proporciones de SARM, especialmente en dos de los servicios hospitalarios de donde provinieron las muestras; el 94,7 % de *S. aureus* que provinieron del servicio de UCI fueron SARM, así como el 80 % de aislamientos que tuvieron su origen en el servicio de Medicina. Las infecciones por *S. aureus* adquiridas en UCI pueden ser autógenas, o transmitidas por las manos del personal

de salud o transmitidas por el aire; por ello se recomienda exámenes que muestren el estado de portador o no portador del paciente al momento de su ingreso, la limpieza sistemática del ambiente hospitalario y la higiene de manos frecuente del personal asistencial (74).

El 82,6 % de los aislamientos SARM presentaron co-resistencias frente a eritromicina, clindamicina, gentamicina y ciprofloxacina, constituyendo uno de los perfiles más frecuentes encontrados en este estudio; todos los aislamientos con este perfil portaron el SCCmec tipo I. Este perfil de resistencia es idéntico al encontrado en más del 75 % de aislamientos SARM de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia (Lima, Perú) durante el 2017, según un estudio publicado en el 2022; en este estudio también se encontró que la mayoría de los SARM portaban el SCCmec tipo I y solo un aislamiento presentó el SCCmec tipo III (25). Otros reportes de Perú indican que la mayoría de aislamientos de SARM hospitalarios corresponden al clon chileno-cordobés, portador del SCCmec tipo I y no productor de PVL (65)(25). Nuestros resultados confirman que este clon nosocomial también predomina en el HRDC y aportan al conocimiento de la epidemiología molecular de SARM en el Perú; aunque la información fenotípica y molecular de SARM en otras regiones del país aún es escasa.

El perfil de resistencia FOX-E-DA-CIP-CN descrito en este trabajo (Tabla 9) bien podría ser utilizado como marcador fenotípico del clon chileno-cordobés para diferenciarlo de otros clones en un brote sospechoso de SARM, y la susceptibilidad a trimetoprima-sulfametoxazol sirve para diferenciarlo del clon brasileño, portador del SCCmec tipo III (75). Otros perfiles más amplios que observamos en aislamientos individuales fueron: FOX-E-DA-CIP-CN-SXT (con SCCmec tipo I), FOX-E-DA-CN-TE-LZD (con SCCmec tipo I + *ccr* tipo 2), FOX-E-DA-CIP-CN-LZD (con SCCmec tipo I) y FOX-E-DA-CIP-CN-SXT-TE (con SCCmec tipo II + *ccr* tipo 5); esto constituye un dato relevante, pues resalta la importancia de genotipificar los SARM que presentan perfiles de resistencia distintos o más amplios, y que podrían constituirse en nuevos clones que produzcan brotes hospitalarios difíciles de controlar ya que las opciones de tratamiento pueden verse disminuidas.

La resistencia a clindamicina (constitutiva e inducida) se observó en el 66,6 % de todos los aislamientos clínicos de *S. aureus*, pero la resistencia a clindamicina inducida por eritromicina sólo se observó entre los aislamientos SARM,

constituyendo el 11,1 % de estos. Este hallazgo difiere de los resultados obtenidos por otro estudio en la ciudad de Lima, donde la resistencia a clindamicina representó el 48,2 % del total de aislamientos de *S. aureus*; además, la resistencia inducida en ese estudio se presentó en el 4,8 % del total de aislamientos, tanto en SASM (3,3 %) como en SARM (1,5 %) (76). En general, la frecuencia de resistencia a clindamicina en el HRDC es elevada, y si bien la resistencia inducida a clindamicina es proporcionalmente baja, esta no se logra detectar en las pruebas de rutina. Por ello, la prueba D debe ser incluida en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en todos los aislamientos de *S. aureus*, debido a que este tipo de resistencia puede conducir a un fracaso clínico cuando se emplea la clindamicina como la opción terapéutica (77).

Los tipos de elementos genéticos *SCCmec* se distribuyen de forma distinta en los diferentes países de Sudamérica; en países del norte como Colombia y Venezuela predomina el clon USA300, mientras que en Perú predomina el denominado clon chileno-cordobés, portadores de los *SCCmec* tipo IV y I, respectivamente (65). De igual manera, en otras partes del mundo SARM tiene características moleculares únicas; por ejemplo, en un estudio en Kuwait, el clon nosocomial de SARM predominante fue el *SCCmec* tipo IV; además, 34 aislamientos portaban dos tipos de *SCCmec*, el IV y V (22). Estos datos muestran que SARM puede integrar más de un elemento *SCCmec* en su genoma, lo cual incrementa su capacidad de resistencia antimicrobiana, y por tanto su virulencia. De manera similar, en el presente estudio se identificó un SARM que portaba un *SCCmec* tipo I + *ccr* tipo 2 y otro con un *SCCmec* tipo II + *ccr* tipo 5 (Figura 4). Posiblemente, la presencia de estas recombinasas sirva para la integración posterior de nuevos elementos *SCCmec* en el genoma de SARM; en ese sentido, y dados los hallazgos de este estudio, es necesario implementar la vigilancia frente a la aparición de nuevos clones de SARM en el HRDC y también en otros centros hospitalarios de la región.

Los elementos *SCCmec* de tipo I, II, III y VI han sido asociados con brotes nosocomiales (SARM-AH) alrededor de todo el mundo, mientras que los genotipos portadores de *SCCmec* tipos IV y V se los asocia con infecciones adquiridas en la comunidad (SARM-AC); aunque cada vez son más los reportes de genotipos de origen comunitario causante de infecciones intrahospitalarias (13). La mayoría de SARM evaluados en el presente estudio portaban el *SCCmec* tipo I, característico de



SARM-AH; además, en un aislamiento portador de *SCCmec* tipo II + *ccr* tipo 5 se observó resistencia a 6 grupos de antimicrobianos no  $\beta$ -lactámicos, siendo este el perfil más amplio. Asimismo, cuatro aislamientos de SARM portaban el *SCCmec* tipo IV, tres de estos solo presentaron resistencia a cefoxitina y un aislamiento fue co-resistente a eritromicina y clindamicina. Aunque la frecuencia de SARM-AC en el presente estudio fue baja, desde 1990 se han reportado brotes en todo el mundo, y a menudo son más virulentos debido a la expresión de PVL, por lo que se recomienda su vigilancia.

Este estudio se revela la necesidad de implementar estrategias para prevenir y controlar la transmisión de SARM en el HRDC. La higiene de manos entre los trabajadores de la salud es fundamental para prevenir la transmisión de SARM y una de las más fáciles de implementar en nuestros hospitales. En Corea, la implementación de una campaña de higiene de manos en el personal asistencial redujo en un 33 % la incidencia de bacteremia por SARM entre los pacientes hospitalizados; además, los investigadores concuerdan en que la higiene de manos también deben realizarla los pacientes y visitantes (78). En Singapur, la tipificación molecular de SARM aislados de los ambientes hospitalarios, de manos de trabajadores de la salud y de los pacientes, reveló que estos estaban genéticamente relacionados; esto demuestra la transmisión cruzada dentro del ambiente hospitalario, por ello, la limpieza ambiental efectiva y los monitoreos constantes del ambiente hospitalario son necesarios para prevenir la transmisión de SARM (79). En países más desarrollados la detección activa de portadores de SARM combinado con otras medidas de control redujo las tasas de infección por SARM (72).

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- Las co-resistencias a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina y gentamicina representaron el perfil de resistencia predominante entre los aislamientos clínicos de SARM del HRDC y no se identificó ningún SARM entre los aislamientos provenientes de portadores comunitarios.
- El clon portador del SCC*mec* tipo I predominó entre los aislamientos clínicos de SARM provenientes del HRDC, representando el 82,7 % de estos; además, el SCC*mec* tipo I y el perfil de resistencia a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina y gentamicina vinculan a estos aislamientos con el clon chileno-cordobés.
- Los resultados revelaron la presencia de resistencia inducible a clindamicina tanto en el 9,5 % de aislamientos de portadores comunitarios, así como en el 11,1 % de los aislamientos clínicos.

#### 5.2. Recomendaciones

En general, se recomienda la implementación de la vigilancia epidemiológica de SARM tanto en el HRDC como entre otros establecimientos de salud de la Región Cajamarca.

## LISTA DE REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Monica Gil DDM. *Staphylococcus aureus* : Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infectol. 2000;17(2):145–52.
2. Camarena JJ, Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control Calid SEIMC [Internet]. 1999;1–4. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
3. Luján Roca DA. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares. An la Fac Med. 2013;74(1):57.
4. Diekema DJ, Pfaller MA, Shortridge D, Zervos M, Jones RN. Twenty-year trends in antimicrobial susceptibilities among *Staphylococcus aureus* from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Open Forum Infect Dis. 2019;6(Suppl 1):S47–53.
5. Chávez M, Erazo NC, Reina DA, Esparza M. Métodos de tipificación y epidemiología molecular de *Staphylococcus aureus* con resistencia a la meticilina. Biosalud. 2015;14(2):81–90.
6. Tiemersma EW, Bronzwaer SLAM, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant staphylococcus aureus in Europe, 1999-2002. Emerg Infect Dis. 2004;10(9):1627–34.
7. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2008;46.
8. Tamariz J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M, Zerpa R, et al. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. Rev Medica Hered. 2011;21(1):4–10.
9. Martín BCA, Ramón QRH, Arturo VFJ, Antonio RJM. Frecuencia del gen mecA en *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente en un hospital de tercer nivel en Perú. 2023;46(1):27–32.
10. Aguayo-Reyes A, Quezada-Aguiluz M, Mella S, Riedel G, Opazo-Capurro A, Bello-Toledo H, et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en

- Staphylococcus aureus* . Rev Chil Infectol. 2018;35(1):7–14.
11. Uehara Y. Current Status of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec). Antibiotics. 2022;11(1):1–12.
  12. Oliveira DC, Lencastre H De. Multiplex PCR Strategy for Rapid Identification of Structural Types and Variants of the mec Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* . 2002;46(7):2155–61.
  13. Lei T, Yang J, Becker A, Ji Y. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) Protocols. In: Methods in Molecular Biology. 2020. p. 125–38.
  14. Broseta A, Chaves F, Rojo P, Otero JR. Emergencia de un don de *Staphylococcus aureus* resistente a metililina de origen comunitario en la población pediátrica del sur de Madrid. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2006;24(1):31–5.
  15. Huang YC, Su LH, Wu TL, Lin TY. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in international medical conference attendees. J Microbiol Immunol Infect [Internet]. 2019;52(2):242–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.08.004>
  16. Castellano M, Cavazza M, Perozo A. Tipo de cassette cromosómico estafilocócico en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metililina. Kasmera. 2014;42(2):116–30.
  17. Bartoloni A, Riccobono E, Magnelli D, Villagran AL, Di Maggio T, Mantella A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients from the Bolivian Chaco. Int J Infect Dis [Internet]. 2015;30:e156–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.12.006>
  18. Taherikalani M, Mohammadzad MR, Soroush S, Maleki MH, Azizi-Jalilian F, Pakzad I, et al. Determining the prevalence of SCCmec polymorphism, virulence and antibiotic resistance genes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates collected from selected hospitals in west of Iran. J Chemother. 2016;28(2):104–9.
  19. Wang X, Shen Y, Huang W, Zhou Y. Characterisation of community-acquired *Staphylococcus aureus* causing skin and soft tissue infections in a children's hospital in Shanghai, China. Epidemiol Infect. 2019;

20. Li X, Huang T, Xu K, Li C, Li Y. Molecular characteristics and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolates in Hainan, China. 2019;1–12.
21. Singh-Moodley A, Lowe M, Mogokotleng R, Perovic O. Diversity of SCCmec elements and spa types in South African *Staphylococcus aureus* mecA-positive blood culture isolates. BMC Infect Dis. 2020;20(1):1–12.
22. Boswihi SS, Udo EE, AlFouzan W. Antibiotic resistance and typing of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Kuwait hospitals, 2016–2017. BMC Microbiol. 2020;20(1):1–9.
23. Calvay KGM. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina regional José Cayetano Heredia de la ciudad de Piura, Perú. 2011;1–110.
24. Garcia C, Acuña-Villaorduña A, Dulanto A, Vandendriessche S, Hallin M, Jacobs J, et al. Dynamics of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare workers in a tertiary-care hospital in Peru. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2016;35(1):89–93.
25. Cabrejos-Hirashima L, Vives-Kufof C, Inga-Salazar J, Astocondor L, Hinostraza N, García C. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* metilicilinoresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2021;38(2):313–7.
26. Koneman E, Allen SD, Dowell VR, Sommers HM. Diagnóstico microbiológico. 1985;533.
27. Gillespie SH, Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology: Second Edition. Principles and Practice of Clinical Bacteriology: Second Edition. 2006. 1–605 p.
28. Bagnoli F, Rappuoli R, Grandi G. *Staphylococcus aureus* : Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis. Current Topics in Microbiology and Immunology. 2014. 379–380 p.
29. Fetsch A. *Staphylococcus aureus* . 2018.
30. Cervantes Garcia E, Garcia Gonzales R, Salazar Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus* . Anti-Corrosion Methods Mater. 1964;11(4):11–4.

31. Ondusko DS, Nolt D. *Staphylococcus aureus* . *Pediatr Rev*. 2018;39(6):287–98.
32. Bennett RW, Hait JM, Tallent SM. *Staphylococcus aureus* . *Guid to Foodborne Pathog*. 2013;2:26–44.
33. Castañón-sánchez CA. Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus* . *Evid Médica e Investig en Salud*. 2012;5(3):79–84.
34. Portillo ME, del Pozo JL. Infecciones por estafilococo. *Med* [Internet]. 2018;12(49):2890–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.02.002>
35. Berga AP. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2009 [cited 2023 Jul 7]. 208 p. Available from: <https://www.google.com/search?tbm=bks&q=Infecciones+producidas+por+Staphylococcus+aureus>
36. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos Díaz L. Structural and physiological implications of bacterial cell in antibiotic resistance mechanisms. *Int J Morphol*. 2017;35(4):1214–23.
37. Lacueva M. Resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus* . *Evolución y perspectiva*. 2017;
38. Jimenez J, Correa M. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina : bases moleculares de la resistencia , epidemiología y tipificación. 2009;
39. Bryson V. Genetics of Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* . *Ann N Y Acad Sci*. 2009;65(3):161–8.
40. Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : The role of Pantón-Valentine leukocidin. *Lab Investig*. 2007;87(1):3–9.
41. Elston DM. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* . *J Am Acad Dermatol*. 2007;56(1):1–16.
42. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* : Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. 2018 Oct 1;31(4).
43. Lam IÁ, Bittar JP. *Staphylococcus aureus* , evolución de un viejo patógeno. *Rev*

- Cubana Pediatr. 2012;84(4):383–91.
44. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* : Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. 2018;31(4):1–103.
  45. Miller LG, Kaplan SL. *Staphylococcus aureus* : A Community Pathogen. Infect Dis Clin North Am. 2009;23(1):35–52.
  46. Mondragón Bustos J. Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente ( MRSA ): Revisión actualizada de epidemiología , patogénesis. 2021;1–61.
  47. Ito T, Hiramatsu K, Oliveira DC, De Lencastre H, Zhang K, Westh H, et al. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): Guidelines for reporting novel SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(12):4961–7.
  48. Malachowa N, Deleo FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus* . Cell Mol Life Sci. 2010;67(18):3057–71.
  49. Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) classification and typing methods: An overview. Polish J Microbiol. 2011;60(2):95–103.
  50. Mlynarczyk-Bonikowska B, Kowalewski C, Krolak-Ulinska A, Marusza W. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus* . Int J Mol Sci. 2022;23(15).
  51. Lee AS, Lencastre H De, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* . Nat Publ Gr [Internet]. 2018;4(May):1–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
  52. Morosini MI, Cercenado E, Ardanuy C, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. Vol. 30, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2012. 325–332 p.
  53. Montoya Claramunt I, Mira O. M, Álvarez A. I, Cofré G. J, Cohen V. J, Donoso W. G, et al. Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Rev Chil Pediatr. 2009;80(1):48–53.

54. Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* . Clin Microbiol Infect. 2006;12(SUPPL. 1):3–8.
55. Foster TJ. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* . Current status and future prospects. FEMS Microbiol Rev. 2017;41(3):430–49.
56. Vestergaard M, Frees D, Ingmer H. Antibiotic resistance and the MRSA problem. Gram-Positive Pathog. 2019;747–65.
57. Gardete S, Tomasz A, Gardete S, Tomasz A. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* . 2014;124(7):2836–40.
58. Clinical LSAI. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Supplement M100S. 2016.
59. EUCAST. *Staphylococcus aureus* Calibration of zone diameter breakpoints to MIC values and/or resistance mechanisms. 2020;(January). Available from: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_criteria/Validation\\_2020/S.\\_aureus\\_v\\_7.0\\_January\\_2020.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_criteria/Validation_2020/S._aureus_v_7.0_January_2020.pdf)
60. Bonnet R, Bru J-P, Caron F, Cattoen C, Dubreuil L, Jarlier V, et al. Recommandations 2017 du Comité de l’antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Société Française Microbiol [Internet]. 2017;1(0):125. Available from: file:///C:/Users/aqsxd/Desktop/CASFMV2\_SEPTEMBRE2018.pdf
61. Garcia Rodriguez JA. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Hum Vet Med. 2012;4(2):76–81.
62. Thermo Fisher Scientific. PureLink ® Genomic DNA kits for Purification of Genomic DNA. Invit by Lifetechnologies [Internet]. 2021;(25):1–48. Available from: <https://bit.ly/428B3XC>
63. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: Rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(1):264–74.
64. Myles IA, Datta SK. *Staphylococcus aureus* : An introduction. Semin Immunopathol. 2012;34(2):181–4.



65. Arias CA, Jinnethe R. A Prospective Cohort Multicenter Study of Molecular Epidemiology and Phylogenomics of *Staphylococcus aureus* . Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2017;61(10):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.00816-17>.
66. Taus M R, Sosa N, Goldaracena CA, Grenovero S, Larrivey M A, Alen R 5, et al. Portación de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos de la ciudad de Gualeguaychú. Supl CDyT. 2020;10(11):40.
67. Sato T, Ito R, Kawamura M, Fujimura S. The Risk of Emerging Resistance to Trimethoprim/ Sulfamethoxazole in *Staphylococcus aureus* . Infect Drug Resist. 2022;15(August):4779–84.
68. Sedighi I, YOUSEFI M, Pak N, SEYF R. Método de prueba D para la detección de resistencia inducible a clindamicina en estafilococo auroso. 2009 [cited 2023 Aug 27]; Available from: [https://www.sid.ir/EN/VEWSSID/J\\_pdf/92320090312.pdf](https://www.sid.ir/EN/VEWSSID/J_pdf/92320090312.pdf)
69. Alghizzi M, Shami A. The prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in milk and dairy products in Riyadh, Saudi Arabia. Saudi J Biol Sci [Internet]. 2021;28(12):7098–104. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.004>
70. Al-Ashmawy MA, Sallam KI, Abd-Elghany SM, Elhadidy M, Tamura T. Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products. Foodborne Pathog Dis. 2016;13(3):156–62.
71. Basanisi MG, Bella G La, Nobili G, Franconieri I, Salandra G La. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ( MRSA ) isolated from milk and dairy products in South Italy. Food Microbiol [Internet]. 2017;62:141–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.020>
72. Cho SY, Chung DR. Infection prevention strategy in hospitals in the era of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Asia-pacific region: A review. Clin Infect Dis. 2017;64(Suppl 2):S82–90.
73. Gomes Fernandes M, Prat i Aymerich C, Lacoma de la Torre A, Yero D, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Genètica i de Microbiologia.

- Infecciones respiratorias por *Staphylococcus aureus* : implicación clínica de factores de virulencia y persistencia. TDX (Tesis Dr en Xarxa) [Internet]. 2018;1–179. Available from: <http://www.tesisenred.net/handle/10803/663955>
74. Mehta Y, Hegde A, Pande R, Zirpe KG, Gupta V, Ahdal J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Intensive Care Unit Setting of India: A Review of Clinical Burden, Patterns of Prevalence, Preventive Measures, and Future Strategies. *Indian J Crit Care Med*. 2020;24(1):55–62.
  75. Becker AP, Santos O, Castrucci FM, Dias C, D’Azevedo PA. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Cordobes/Chilean clone involved in nosocomial infections in Brazil. *Epidemiol Infect*. 2012;140(8):1372–5.
  76. Tamariz Ortiz JH, Cruz Quintanilla J, Atencia Porras A, Figueroa Tataje J, Horna Quintana G, Guerra Allison H. Resistencia a clindamicina inducida por eritromicina en *Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima, Perú. *Acta Médica Peru* [Internet]. 2009;26(1):12–6. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v26n1/a06v26n1.pdf>
  77. Castellano González Maribel J, Perozo Mena Armindo J, Molero Cubillán Mariheddy de J, Montero Araujo Sinead del C, Primera Rodríguez Francisco J. Resistencia a la clindamicina inducida por eritromicina en cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico. *Kasmera*. 2015;43(1):34–45.
  78. Chun JY, Seo HK, Kim MK, Shin MJ, Kim SY, Kim M, et al. Impact of a hand hygiene campaign in a tertiary hospital in South Korea on the rate of hospital-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and economic evaluation of the campaign. *Am J Infect Control* [Internet]. 2016;44(12):1486–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2016.07.009>
  79. Tan TY, Tan JSM, Tay H, Chua GH, Yong Ng LS, Syahidah N. Multidrug-resistant organisms in a routine ward environment: Differential propensity for environmental dissemination and implications for infection control. *J Med Microbiol*. 2013;62(PART5):766–72.

## APÉNDICES

### Apéndice 1. Descripción de aislamientos clínicos de *S. aureus*

#### Ficha 1. Descripción preliminar de los aislamientos clínicos:

Edad del paciente: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Código: \_\_\_\_\_ Fecha de cultivo: \_\_\_\_\_

Tipo de muestra: \_\_\_\_\_

Origen de la infección:

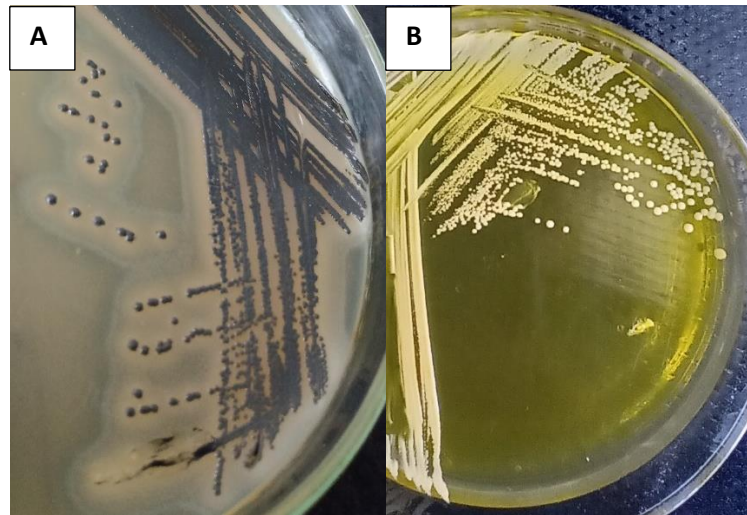
Hospitalario:

Comunitario:

*Perfil de resistencia:*

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Resistencia</b>	<b>SCCmec</b>
Cefoxitina		
Eritromicina		
Clindamicina		
Ciprofloxacina		
Gentamicina		
Tetraciclina		
Trimetoprim- sulfametoxazol		
Linezolid		
Vancomicina		

## Apéndice 2. Identificación de *S. aureus*



Identificación de *S. aureus*-529. A) Colonias negras y producción de lecitinasa en agar Baird-Parker. B) Colonias doradas en agar manitol salado. C) Prueba positiva de coagulasa. D) Vista microscópica

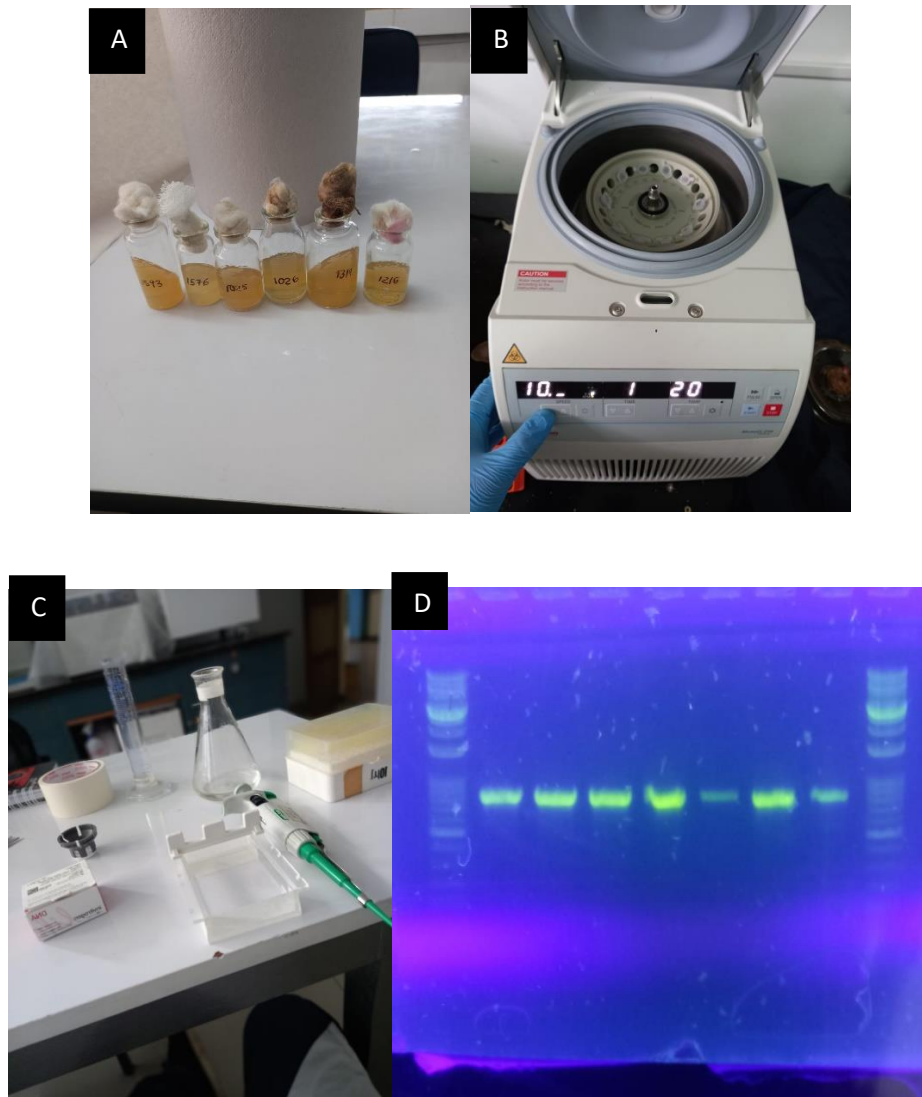
### Apéndice 3. Descripción de aislamientos SARM

Cuadro 1. SARM clínicos

Aislamiento	Tipo de muestra	Servicio	Perfil	Tipo de SCCmec
529	Sangre	Cirugía	E-DA-CIP-CN	I
638	Sangre	Pediatría	E-DA-CIP-CN	I
1017	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN-SXT	I
1026	Catéter venoso central	Cirugía	E-DA-CIP-CN	I
1082	Aspirado bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1088	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1120	Secreción bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
1125	Aspirado bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1141	Aspirado bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
1169	Catéter venoso central	Cirugía	E-DA-CIP-CN	I
1244	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1273	Secreción bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN-LZD	I
1307	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1315	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1319	Aspirado bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1381	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1396	Aspirado bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1425	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1576	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1593	Secreción bronquial	Obstetricia	E-DA-CIP-CN	I
1735	Aspirado bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1737	Secreción bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
2166	Orina	Medicina	E-DA-CIP-CN-SXT-TE	II + <i>ccr</i> tipo 5
1216	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1203	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1240	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1276	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1277	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1286	Secreción bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
1301	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1316	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1323	Secreción bronquial	UCI	Solo a FOX	IV
1341	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1354	Secreción bronquial	UCI	Solo a FOX	IV
1383	Secreción bronquial	Cirugía	E-DA-CIP-CN	I
1397	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I
1410	Secreción bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
1431	Secreción bronquial	Medicina	E-DA-CIP-CN	I

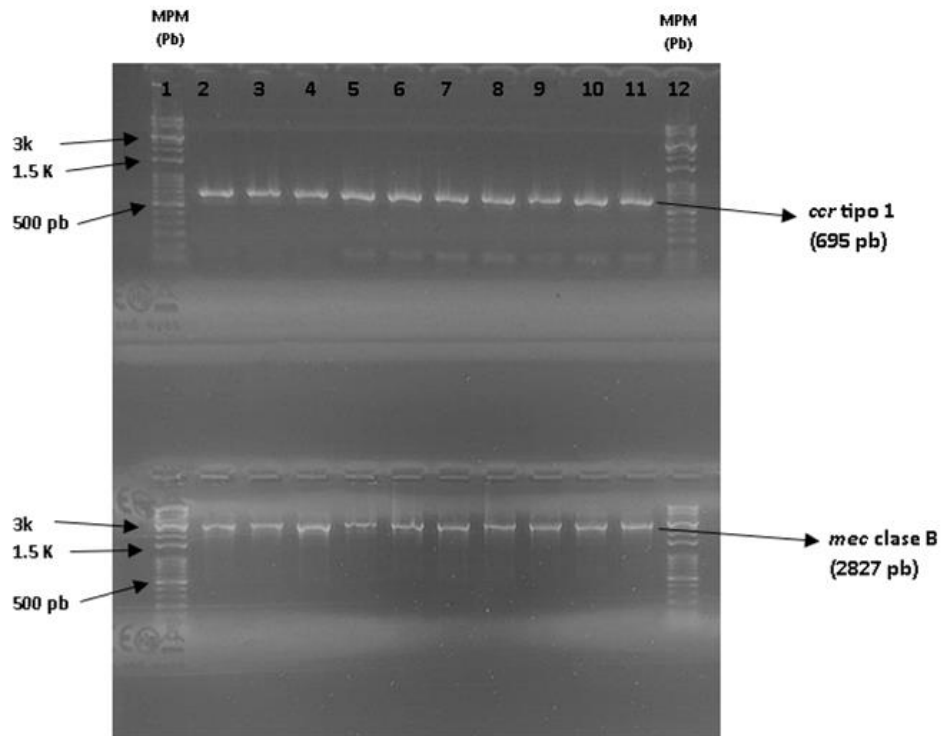
1495	Secreción bronquial	Medicina	E-DA	IV
1518	Aspirado bronquial	UCI	Solo a FOX	IV
1609	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1655	Secreción bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
1683	Aspirado bronquial	UCINT	E-DA-CIP-CN	I
1690	Aspirado bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1719	Secreción bronquial	UCI	E-DA-CIP-CN	I
1804	Exudado	Pediatría	E-DA-CN-TE-LZD	I + <i>ccr</i> tipo 2

#### Apéndice 4. Procesos implicados en la extracción de ADN genómico



**Figura 2.** Principales procesos implicados en la extracción de ADN genómico. A) Aislamientos SARM de 18 h de incubación. B) La centrifugación se utiliza en repetidas ocasiones. C) Material utilizado en la preparación del gel de agarosa. D) Bandas de ADN genómico.

**Apéndice 5.** Electroforesis en gel de agarosa de los productos para las dos PCR-multiplex



**Figura 3.** Aislamientos de SARM portadores de SCC*mec* tipo I. A) Productos de PCR para el tipo de complejo *ccr*. B) Productos de PCR para la clase de *mec*