UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Staphylococcus aureus RESISTENTE A METICILINA (MRSA): PATÓGENO REEMERGENTE A NIVEL HOSPITAL Y COMUNIDAD

Trabajo Monográfico de Actualización

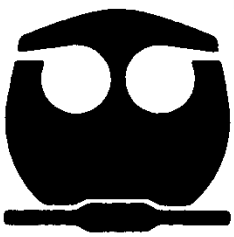
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

MARIBEL CALDERON LEON

MÉXICO, D.F. **2012**



Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: **ADRIANA GUADALUPE MEJIA CHAVEZ**

VOCAL: Profesor: **MARTHA GILES GOMEZ**

SECRETARIO: Profesor: **CLAUDIA JAZMIN PEREYRA QUIROZ**

1er. SUPLENTE: Profesor: **BEATRIZ RUIZ VILLAFAN**

2° SUPLENTE: Profesor: **KATYA DAFNE GUADARRAMA OROZCO**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE QUÍMICA

ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. CLAUDIA JAZMIN PEREYRA QUIROZ

SUSTENTANTE:

MARIBEL CALDERON LEON

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por permitirme conocer un poco de su gran creación, por hacerme a su imagen y semejanza, señor te ofrezco este trabajo…

A mi misma por saberme levantar en los momentos difíciles y darme la oportunidad de concluir una etapa de mi vida.

A mi mamá, María León Reyes, por ser mi ejemplo a seguir, por tu apoyo en cada paso, por nunca escatimar en sus esfuerzos y cuidados, por tu confianza, por enseñarme todas las herramientas para salir a delante en la vida. ¡Gracias por tu inmenso amor!

A mi papá, Rafael Zentella Ordoñez, por su apoyo.

A mi hermana, Andrea, por tú gran apoyo, tú confianza, tus consejos, tú ayuda, tú compañía, gracias por estar a mi lado siempre y de manera incondicional, así como de ser mi hermana.

A Nicolás Martínez Velázquez, por impulsarme a salir a delante y ser mejor día a día, por todo tu apoyo incondicional, ¡gracias, muchas gracias! , sabes que eres parte fundamental de mi formación como ser humano.

A mis abuelos, Rufina y Andrés, por su cariño.

También quiero agradecer a Claudia Jazmin Pereyra Quiroz que ha sido una pieza clave en mi carrera, además de mostrarme el verdadero valor de la amistad, estando siempre a mi lado, y de igual manera en los momentos malos y buenos; así como por ser mi guía en esta tesis, no tengo palabras para agradecértelo; ya que ser mi directora de tesis muestra la confianza que tienes en mi, te agradezco tu asesoramiento, tu ayuda y tus observaciones críticas durante la redacción de esta tesis.

A la familia Pereyra Quiroz, por sus consejos, apoyo y ayuda en la realización de este trabajo. ¡Muchas Gracias!

A mis amigos de la facultad, a Jazmín, Ricardo, Itztli, Yanet, Karla Belem, Belen, Oscar, Valeria, Pedro, Erika, Omar gracias por todos los grandes momentos compartidos durante nuestro pasó por la facultad.

A todos mis profesores que a lo largo de mi vida académica me han influido y motivado para alcanzar mis metas.

A la Q.F.B. Adriana Guadalupe Mejía Chávez por su asesoramiento durante el desarrollo de esta tesis.

En general a todos, GRACIAS, MUCHAS GRACIAS…por ser parte de este gran paso en mi vida

ÍNDICE GENERAL

FIGURAS…… 8

TABLAS…… 10

ALGORITMOS…… 10

ABREVIATURAS…… 11

1. RESUMEN…… 13
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO DE *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina…….. 15
3. OBJETIVOS…… 17
4. METODOLOGÍA…….. 17
5. INTRODUCCIÓN……. 18

5.1 *Staphylococcus aureus:* Clasificación taxonómica y generalidades… 19
5.2 Características microscópicas de *Staphylococcus aureus*……. 20
5.3 Características macroscópicas de *Staphylococcus aureus*……..... 20
5.4 Perfil bioquímico asociado a la identificación de *Staphylococcus aureus*……. 22
5.5 Condiciones de crecimiento……. 22
5.6 Factores de virulencia……. 23
5.7 Epidemiología y patología de *Staphylococcus aureus*…….... 25
5.8 Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*……. 28
5.9 Pruebas de laboratorio dirigidas a la búsqueda e identificación de *Staphylococcus aureus*…….. 35
5.10 Tratamiento para *Staphylococcus aureus*…….. 38
5.10.1 Antibióticos β-lactámicos: generalidades, estructura química, clasificación y mecanismo de acción…….. 38
5.11 Generalidades de la resitencia bacteriana a agentes físicos y químicos……. 42

6. RESISTENCIA A METICILINA…….. 46

6.1 Mecanismos generales de resistencia de *Staphylococcus aureus a antibióticos* β-lactámicos……..... 48
6.1.1 Hiperproducción de β-lactamasas o Resistencia Borderline (Borderline Resistant *Staphylococcus aureus*-BORSA)……. 48
6.1.2 Modificación de PBP´s (“penicillin-binding proteins o proteínas fijadoras de penicilinas”)…….. 50
6.1.3 Resistencia intrínseca a meticilina (Vía gen *mecA*)……. 51

7. RESISTENCIA INTRÍNSECA A METICILINA (VÍA GEN *mec*A)…… 52
7.1 Estructura del cassette cromosómico SCC*mec*……..... 53
7.1.1 Complejo *mec*……. 53
7.1.2 Complejo *ccr* (cassette choromosome recombinase)…….. 55
7.1.3 Región *J* (Junkyard)…….. 55
7.1.4 Regiones no *mec* del SCC*mec*……. 56
7.2 Tipos de cassette cromosómico *mec* (SCC*mec*)……. 56
7.3 El origen de SCC*mec*……..... 58
7.4 Distribución clonal de MRSA…….. 59

8. *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA HOSPITALARIO (HA-MRSA "Hospital acquired MRSA")……..... 63

9. *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA COMUNITARIO (CA-MRSA "Community acquired MRSA")……. 66
9.1 Origen de CA-MRSA……. 66
9.2 Epidemiología mundial de MRSA……. 68
9.2.1 En México……. 71
9.3 Aspecto clínico de la enfermedad…….. 73
9.4 Determinantes de virulencia de CA-MRSA……. 74

10. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y DIFERENCIAS ENTRE HA-MRSA Y CA-MRSA…….. 76

11. MÉTODOS DE TIPIFICACIÓN DE MRSA…….. 78
11.1 Fenotípicos para la detección de MRSA……. 78
11.1.1 Difusión en disco (Kirby-Bauer)……. 79
11.1.2 Screening…….. 81
11.1.3 Prueba rápida de aglutinación: detección de PBP2a…….. 81
11.1.4 Medios cromogénicos para la identificación rápida de MRSA……. 81

11.2 Métodos genotípicos para la detección de MRSA……. 83
11.2.1 Técnica de Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)…….. 83
11.2.1.1 Variables que afectan la resolución de PFGE……. 84
11.2.1.2 Ventajas y desventajas de la aplicación de PFGE en la detección de MRSA…….. 84

11.3 Técnica de Multilocus Sequence Typing (MLST)……..... 86
11.3.1 Ventajas y desventajas de MLST……. 88
11.4 Otros métodos de tipificación……. 88
11.5 Factores físicos, químicos y genéticos que influyen en la detección de la resistencia a meticilina en el laboratorio……. 91

12. TRATAMIENTO PARA INFECCIONES CAUSADAS POR MRSA……. 93

13. PREVENCIÓN Y CONTROL DE MRSA……. 100

14. DISEÑOS DE SISTEMAS DE DIAGNOSTICO Y DE VACUNAS PARA MRSA ……... 102
14.1 Dispositivos en estudio para identificar MRSA a través de MEMS (Micro Sistemas Electro Mecánicos)……. 102
14.2 Desarrollo de vacunas……... 104

15. CONCLUSIONES……. 105

16. PERSPECTIVAS……. 107

17. REFERENCIAS……. 109

FIGURAS

Figura 1. Morfología microscópica *Staphylococcus aureus*……. 20
Figura 2. Morfología macroscópica de *Staphylococcus aureus* a) medio S110, b) Agar Sangre, c) Baird Parker……. 21
Figura 3. Estructura de la pared celular de *Staphylococcus aureus*…….. 23
Figura 4. Principales sitios anatómicos de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*…….. 27
Figura 5. Masculino 30 años con cuadro de foliculitis en cuello…….. 29
Figura 6. Niño de 6 años con cuadro de infección en boca por *Staphylococcus aureus.* Impétigo……. 29
Figura 7. Forúnculo superficial en la parte lateral derecha del rostro……. 29
Figura 8. Cuadro clínico de carbunco en cuello……. 30
Figura 9. Infección en uñas causada por *Staphylococcus aureus*……. 30
Figura 10. Absceso mamario unilateral en niño de 6 meses……. 30
Figura 11. Herida quirúrgica infectada por *Staphylococcus aureus*……. 31
Figura 12**.** Estructura química de los β-lactámicos……. 38
Figura 13. Efecto de los antibióticos β-lactámicos en *S. aureus*……. 40
Figura 14. Mecanismos de resistencia bacteriana. a) Expulsión del antibiótico a través de una proteína de membrana también llamadas bombas de reflujo. B) Modificación estructural del sitio blanco de acción……. 44
Figura 15. Evolución de MRSA……. 47
Figura 16. Mecanismo de resistencia a penicilina. a) Regulación a nivel genético para la producción de β-lactamasa en presencia de antibióticos β-lactámicos. b) Estructura del anillo β-lactámico y el producto de la degradación enzimática por acción de β-lactamasas…….. 49
Figura 17. Modificación de PBP´s. Debido a la modificación estructural de las PBP´s los β-lactámicos no pueden unirse a ella, lo que implica la síntesis de la pared celular de forma normal…….. 50

Figura 18. Representación del cromosoma de MRSA, que contiene SCC*mec*, se observan los segmentos representativos: principalmente el gen *mecA* que codifica para PBP2a, la expresión de esta última tiene como consecuencia la síntesis normal de la pared celular, ya que los antibióticos β-lactámicos no se pueden unir a estas proteínas……. 52
Figura 19. Fragmento del complejo mecA. El gen *mecR1* codifica para la proteína MecR1, la cual inactiva a MecI dejando libre el promotor y permitiendo la transcripción de la PBP2a…….…….. 53
Figura 20**.** Descripción de los tipos de SCC*mec*…….. 57
Figura 21. Epidemiología mundial y prevalencia de MRSA en el mundo….. 70
Figura 22. a) Absceso por *S. aureus* sensible a meticilina b) Exacerbación de absceso provocado por MRSA. Nótese las diferencias clínicas significativas en ambos casos……... 74
Figura 23. Detección de resistencia a oxacilina *Staphylococcus aureus* mediante el método de difusión en disco con oxacilina y cefoxitin. Cepa MRSA. Según lo recomendado por CLSI en agar Mueller-Hinton……. 80
Figura 24. Variación del método recomendado por CLSI empleando el medio de cultivo QC ES agar a) medio no inoculado, b) cefoxin y oxacilina susceptible y c) cefoxitin y oxacilina resistente…….. 80
Figura 25. Comparación entre los medios cromogénicos que están disponibles actualmente en el mercado. Desarrollo característico con cepas MRSA……. 82
Figura 26. Perspectiva a futuro de un micro dispositivo, empleado para la detección de MRSA, diseñado para la lectura de 32 muestras, con un electrodo de oro…….. 104

TABLAS

Tabla 1. Perfil bioquímico para la diferenciación de *Staphylococcus aureus* de otras especies…… 22
Tabla 2. Principales factores de virulencia presentes en *Staphylococcus aureus*…… 24
Tabla 3. Muestras involucradas en el diagnóstico de enfermedades estafilocóccicas…… 35
Tabla 4. Principales antibióticos que han generado resistencia en cepas de *Staphylococcus aureus*…… 45
Tabla 5. Principales clases del complejo *mec*…… 54
Tabla 6. Peso molecular de cada tipo de SCC*mec*…… 58
Tabla 7. Distribución de las principales clonas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes…….. 60
Tabla 8. Principales características y diferencias entre las cepas HA-MRSA y CA-MRSA…….. 77
Tabla 9. Corte establecido por CLSI (2010) para determinación de resistencia a oxacilina…… 79
Tabla 10. Características de los métodos de tipificación genotípicos para MRSA…… 89
Tabla 11. Tratamiento y procesos para la infección por MRSA…….. 97

ALGORITMOS

Algoritmo 1. Rutas de diseminación de *S. aureus* que afectan numerosas regiones anatómicas del cuerpo humano…… 26
Algoritmo 2. Procedimiento de laboratorio para determinar si *Staphylococcus aureus* es el agente causal de patologías…… 37
Algoritmo 3**.** Metodología recomendada por el CDC para inferir MRSA…… 91
Algoritmo 4. Esquema general para la elección del tratamiento antibiótico empírico en la infección con probable participación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina…… 93

ABREVIATURAS

ACME	(“arginine catabolism mobile element”). Al cual se le denomina elemento génico móvil para el catabolismo de la arginina.
ATCC	American Type Culture Collection.
CA-MRSA	("community-acquired MRSA"). MRSA adquirido en la comunidad.
CDC	(“Centers for Disease Control and Prevention”). En EUA los Centros de Prevención y Control de Enfermedades.
CLSI	(“Clinical and Laboratory Standards Institute”). Instituto de estándares clínicos y de laboratorios.
CMI	Concentración mínima inhibitoria.
ECN	Estafilococo coagulasa negativo.
ECP	Estafilococo coagulasa positivo.
FDA	(“Food and Drug Administration”). Administración de alimentos y medicamentos.
G.S.	Gelosa sangre.
HA-MRSA	(“Hospital acquired MRSA”). MRSA adquirido en el hospital.
I.V.	Vía intravenosa
LA-MRSA	(“Livestock Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*”). MRSA asociado a la ganaderia.
LCR	Lìquido cefalorraquìdeo.
JAMA	(“Journal of the American Medical Association”). Revista de asociación médica estadounidense.
MLST	Multilocus Sequence Typing.
MRSA	(“Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*”).*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.
MSSA	(“Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus*”). *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina.
MSA	Manitol Sal Agar
ORF	(“Open Reading Frame”). Marco de lectura abierto.
PBP´s	(“Penicillin binding protein”). Proteínas de unión a penicilinas.

PBP2a Proteína alterada de unión a penicilina. (“Penicillin binding protein 2a”).

PCR (“Polymerase Chain Reaction”). Reacción en cadena de la polimerasa.

PFGE (“Pulsed Field Gel Electrophoresis”). Electroforesis en gel de campo pulsado.

PVL Leucocidina de Panton-Valentine.

RHOVE Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica en México.

SNC Sistema Nervioso Central

SPA (*Staphylococcus aureus* Protein A). Proteína A de *Staphylococcus aureus.*

TSST-1 Síndrome del choque tóxico.

SSSS (“Staphylococcal scalden-skin síndrome”). Síndrome de piel escaldada estafilocóccica.

SSTIs (“Skin and Soft Tissue Infections”). Infecciones en piel y tejidos blandos.

SFP (“Staphylococcal Food Poisoning”).Intoxicación estafilocóccica por alimentos.

SCC*mec* Cassette cromosomal estafilocóccico *mec*. (“Staphylococcal chrosome cassette *mec*).

TMP-SMX Trimetoprim/Sulfametoxazol.

1.- RESUMEN

*Staphylococcus aureus e*s conocido como uno de los principales agentes patógenos para los humanos, responsable de una gran cantidad de infecciones en la comunidad y en el hospital, que van desde infecciones en la piel y tejidos blandos hasta enfermedades sistémicas graves. Se caracteriza por poseer particulares factores de virulencia y resistencia a ciertos antibióticos que le permiten colonizar, invadir y diseminarse.

En 1941, el tratamiento de elección para las infecciones estafilocóccicas era la penicilina, sin embargo después de su introducción, se reporto el aislamiento de una cepa resistente por producción de β-lactamasas. En 1961 Jevons, (en Londres) hizo el primer reporte de cepas MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina), destacándolo como importante causa de infección nosocomial en Europa.

Actualmente las infecciones por MRSA que estaban confinadas a nivel hospital (HA-MRSA) se presentan en la comunidad (CA-MRSA).

La importancia clínica del HA-MRSA radica en la elevada frecuencia de brotes epidemiológicos en todo el mundo, siendo un problema de trascendencia económico y social, con altas tasas de morbilidad y mortalidad. Entre los principales factores de riesgo que dan origen a este tipo de infección destacan: el uso inapropiado de antibióticos de amplio espectro, mayor número de pacientes inmuno-comprometidos, utilización de medios invasivos como catéteres y sondas que facilitan la entrada y colonización de cepas de MRSA a la sangre y tejidos.

Las infecciones adquiridas en la comunidad (CA-MRSA) se presentan fuera de los tradicionales factores de riego hospitalario, los síntomas clínicos son principalmente infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía necrotizante y septicemia.

El mecanismo de resistencia de MRSA consiste en la síntesis de una proteína fijadora de penicilina (PBP), denominada PBP2a con baja afinidad para los antibióticos β-lactámicos, esta proteína es codificada por el gen denominado *mecA* y conserva su acción de transpeptidasa en la síntesis de la pared bacteriana aun cuando las otras PBP de *S. aureus* estén inhibidas por los antibióticos β-lactámicos.

La adquisición de esta resistencia se debe principalmente al intercambio horizontal de genes, en este caso el gen *mecA* el cual se localiza en el cassette cromosomal estafilocóccico *mec* (SCC*mec*).

En nuestro país existe un número limitado de estudios sobre las cepas MRSA, al ser un patógeno reemergente es de suma importancia contribuir a la difusión de información que permita controlar la propagación de estas cepas y desarrollar pruebas que puedan ser implementadas en hospitales y clínicas para su oportuna detección.

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO DE *Staphylococcus aureus* RESITENTE A METICILINA

El MRSA se aisló primero en el Reino Unido en 1961, dos años después de la introducción de la meticilina en la práctica clínica. Durante los años siguientes, se extendió a otros países europeos. En la década de 1970, se diseminó en todo el mundo, y actualmente es el principal causante de infecciones nosocomiales, se ha detectado en una gran variedad de lugares (hospitales, centros de atención, clínicas y comunidad), siendo así un problema de salud pública de trascendencia económica y social. Debido a la presencia de altas tasas de morbilidad y mortalidad provocadas por este microorganismo, destaca su importancia clínica y epidemiológica. Estas infecciones para su estudio se han divido en infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en comunidad.[26] Lo anterior, porque en estudios realizados a estas cepas se ha encontrado que presentan determinantes génicas, cuadros clínicos y tratamientos distintos.

Para tener una visión del impacto de estas cepas cabe mencionar que, MRSA causó en 2005 más de 94,000 infecciones potencialmente mortales y casi 19,000 muertes en los Estados Unidos; la mayoría de estas muertes estuvieron vinculadas a entornos médicos. Estas cifras fueron publicadas en la edición del 17 de octubre de 2007 del Journal of the American Medical Association (JAMA), como parte del estudio más completo que se ha hecho hasta la fecha sobre las tendencias de las infecciones invasivas por MRSA.[15,143]

En el resumen estadístico del Healthcare Cost and Utilization Proyecto (HCUP) de la Agencia para la Investigación y Calidad (EE.UU. Departamento de Salud y Servicios Humanos), se afirma que el número de casos de infecciones por MRSA se incrementaron casi 10 veces entre 1995 y 2005. El costo aproximado de la estancia hospitalaria y la duración de la hospitalización por infecciones de MRSA eran US 14 000 y de 10 días, mientras que el costo fue de US 7,600 y de 4,6 días para otras enfermedades.[63]

El costo del tratamiento de las infecciones por MRSA en los EE.UU. en 2004 fue de más de 4 mil millones de dólares que representan una enorme carga económica a las unidades de asistencia sanitaria. Es evidente que la reducción del tiempo de diagnóstico también puede reducir la duración de la estancia del paciente en el hospital y aumentar el ahorro.

La importancia de su estudio en México radica en el hecho de que no se tienen estudios epidemiológicos que muestren cifras concretas del problema actualmente, además de ser un campo de estudio poco explorado.

3. OBJETIVOS

- Recopilar información actualizada para generar una revisión bibliográfica sobre *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, y plantear los aspectos más relevantes sobre la importancia del estudio.
- Generar un documento estructural aplicable a proyectos de investigación, hospitales, centros de salud y a personas interesadas en el tema, con lo cual podrán crearse bases de datos epidemiologicos, que muestren el panorama de impacto de MRSA en México.
- Describir las últimas actualizaciones e innovaciones en el campo de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de MRSA.

4. METODOLOGÍA

Se realizó la búsqueda de publicaciones en bancos virtuales de información, empleándose para la búsqueda palabras clave como: *Staphylococcus aureus*, MRSA, *S. aureus* resistente a meticilina, HA-MRSA, CA-MRSA, por mencionar algunos. Se consultaron a su vez las referencias de los artículos revisados en orden consecutivo.

El criterio de selección de las revisiones se baso inicialmente en la fecha de publicación, tomando en cuenta sobre todo aquellas de los últimos cinco años; además de considerar el factor de impacto (mayor a 2.5 puntos).

También se utilizaron como material de apoyo, tesis doctorales de universidades nacionales e internacionales de prestigio como la Universidad de España (Universidad Complutense de Madrid), y de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se revisaron libros de actas, resúmenes de congresos y manuales de procedimientos normalizados de operación emitidos por instituciones de índole internacional y nacional para la identificación del microorganismo en estudio.

La clasificación y revisión de la información, se realizó considerando los aspectos relevantes de la información de estudio y/o metodología empleada. Las explicaciones emitidas por los autores de acuerdo a sus resultados y perspectivas, se correlacionaron y compararon a fin de emitir un juicio en común.

5. INTRODUCCIÓN

El género *Staphylococcus* contiene más de 32 especies diferentes, clasificadas a partir de la composición de DNA, por su bajo contenido de G+C; muchas de éstas son microbiota de la piel y las membranas mucosas del ser humano; no tienen otros hábitats importantes, excepto cuando están involucrados en infecciones, 6 especies del género *Staphylococcus* tienen importancia clínica, de los cuales 5 están clasificados como estafilococos coagulasa negativos (ECN), y uno como estafilococo coagulasa positivo (ECP).[50]

Estafilococos coagulasa negativo (ECN):

- *S. epidermidis:* representa el principal patógeno potencial, se le reconoce como uno de los agentes etiológicos más destacados dentro del ambiente nosocomial y se le ha aislado con notable regularidad. En cuanto a su participación en enfermedades del sistema cardiovascular se le ha detectado en 74 % a 92 % de las septicemias causadas por ECN dentro de los hospitales, atribuyéndose a su facilidad para colonizar el intestino de los pacientes enfermos, y a su constante relación con catéteres intravenosos utilizados en las quimioterapias. Por otra parte figura entre los principales microorganismos que afectan el SNC. [50,114, 125]
- *S. haemolyticus* y *S. saprophyticus:* ambas especies figuran en segundo término, entre los ECN que se encuentran con mayor frecuencia en las infecciones clínicas. La primera destaca en la endocarditis de válvulas naturales, septicemia, peritonitis, contaminaciones de heridas traumáticas, inclusive algunas afecciones del tracto urinario. [50, 114,125]

  Por su parte a *S. saprophyticus* se le considera el segundo agente causal de las infecciones del tracto urinario en los jóvenes, principalmente en las mujeres sexualmente activas. [50, 114,125.]
- *S. lugdunensis* y *S. schleiferi*: son oportunistas ya que contaminan con suma frecuencia los materiales de implantación, catéteres y sondas. [50,114]

  A S. lugdunensis se le ha comprobado una incidencia considerable en endocarditis de válvulas naturales y prostéticas, septicemia, abscesos cerebrales, osteomielitis, osteoartritis crónica, infecciones de vasos prostéticos, de tejidos profundos. En todos estos casos, un buen número de

pacientes presentan factores predisponentes a la infección, tales como diabetes mellitus, traumatismos por cirugías, cáncer, sida y enfermedades múltiples. [50,114]

S. schleiferi se encuentra con menor frecuencia que el anterior, tanto en el ambiente de hospitales como fuera de ellos, se le ha observado como agente etiológico de empiema cerebral, infecciones de heridas, septicemias con osteítis de columna vertebral y de otras enfermedades asociadas a sondas craneales de desagüe y a catéteres de la vena yugular. [50,114]

- *S. aureus* (clasificado como Estafilococo Coagulasa Positivo, "ECP"). [50]

5.1 *Staphylococcus aureus*: Clasificación taxonómica y generalidades

El volumen 3 de la segunda edición del Manual de bacteriología sistematica de Bergey´s agrupa a *Staphylococcus aureus* dentro de las bacterias Gram-positivas, con DNA de bajo contenido G+C, miembro del Phylum: *Firmicutes,* Clase: *Bacilli*, Orden: *Bacillales*, Familia: *Staphylococacceae*, género: *Staphylococcus,* especie: *aureus.* [10,50]

- *S. aureus* causa enfermedad en sitios donde existe alteración de los mecanismos de defensa del hospedero (ejemplo: piel o mucosas dañadas), aunque también puede fungir como parte de la inmunidad innata. [50,52]
- Es un microorganismo objetable en productos farmacéuticos no estériles.[102]
- Es el patógeno más importante del género. [50,52]
- Es muy resistente a agentes físicos y químicos como: luz, temperaturas extremas, desecación, desinfectantes (cloruro de benzalconio, fenol), altas concentraciones de cloruro de sodio, oxidación por teluritos y a antibióticos. [50,52]

5.2 Características microscópicas de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es un coco Gram-positivo, su diámetro fluctúa entre 0,8 -1,0 micrómetro (ver figura 1), no es móvil, no forma esporas, puede encontrarse solo o en pares y en cadenas cortas o en racimos cuando proviene de muestras biológicas o cultivos sólidos, es anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias[13, 50,125,130]

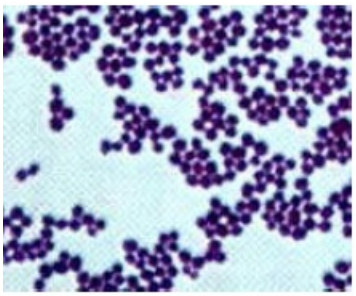


Figura 1. Morfología microscópica de *Staphylococcus aureus*.[13]

5.3 Características macroscópicas de *Staphylococcus aureus*

S. aureus comúnmente forma colonias que oscilan entre 6.0 a 8.0 mm de diámetro, redondas, lisas, elevadas y traslúcidas; de color amarillo cremoso a naranja. Las cepas con cápsulas relativamente grandes, tienen un aspecto húmedo y brillante. [13, 50, 52, 80]

Este microorganismo se reproduce fácilmente en laboratorio previa siembra en caldo o agar nutritivo. Crece en medios químicamente definidos, los cuales contienen glucosa, sales, aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico, en rangos de pH de 4.8 a 9.4 [50, 51]

Su crecimiento en agar sangre es más abundante y hace posible poner de manifiesto hemolisinas estafilocóccicas como la α, β, γ y δ.[50, 51,152]

La incorporación de 6.5 a 8 % de cloruro de sodio a los medios de cultivo permite su desarrollo, a la vez que inhibe el crecimiento de otras bacterias.[50,51,52]

Los medios de cultivo empleados con frecuencia para el desarrollo del género y sus características en ellos son:

a) Gelosa sangre (G.S.): debido a la producción de hemolisinas (ver figura 2) se rodean por halos transparentes. [50,52]

b) Baird Parker (ver figura 2), las colonias suelen rodearse por halos transparentes debido a la elaboración de de lecitinasas, además hace evidente la capacidad de los ECP de reducir el telurito a teluro originando colonias de color negro. Cabe emcionar que el medio contiene cloruro de litio, lo que lo hace selectivo para los microorganismos halófilos. [50,52]

c) Agar S110: la alta concentración de cloruro de sodio (6.5-8%) hace al medio selectivo para los estafilococos, ya que es un microorganismo halófilo, [50,52] las colonias manifiestan un color amarillo dorado (figura 2), al producir un pigmento lipofílico-no hidrosoluble, constituido por derivados de la xantina. [37,50]

d) Manitol Sal Agar (MSA): la alta concentración de cloruro de sodio inhibe el crecimiento de las bacterias que no son halófilas, las colonias se rodean por halos amarillos, debido a que suele ocurrir fermentación del manitol, y el indicador rojo de fenol vira por disminución del pH. [50,52]

e) Voguel Jonson: este medio hace evidente la capacidad de los ECP de reducir el telurito a teluro originando colonias de color negro, el medio contiene manitol y la fermentación de este carbohidrato provoca un vire en el indicador rojo de fenol a amarillo. [50,52]

f) El CHROMagar Staph aureus (Sensibilidad epidemiológica: 96,8%, 20 horas de incubación), las colonias se observan de color rosa- violeta y *S. aureus* ID agar (Sensibilidad epidemiológica: 91,1%, 20 horas de incubación), de color verde. Estos medios verifican la presencia de α-glucosidasa durante el desarrollo (las colonias ECN crecen en color azul, blanco o beige). [5,124,21,165]

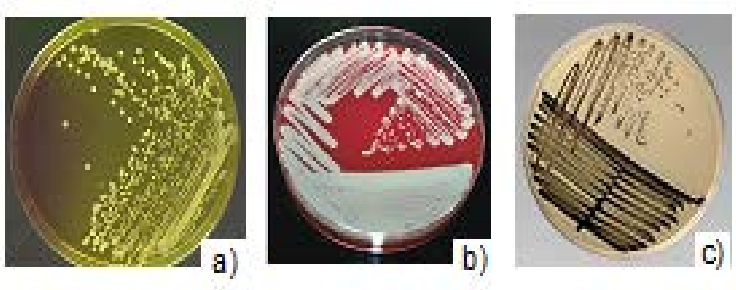


Figura 2. Morfología macroscópica de *Staphylococcus aureus*
a) Medio S110.
b) Agar sangre.
c) Baird Parker

5.4 Perfil bioquímico asociado a la identificación de *Staphylococcus aureus*

Debido a las características metabólicas propias de *S. aureus*, en clínica se emplean pruebas bioquímicas para la diferenciación de la especie entre las que destacan: la prueba de la catalasa, lo que permite su diferenciación con el género *Streptococcus* sp.; coagulasa siendo *S. aureus* el único capaz de producir esta enzima, fermentar lentamente muchos carbohidratos, y presentar actividad proteolítica variable. [13, 50, 52]

Las pruebas complementarias (Ver tabla 1) para la diferenciación de este microorganismo entre las otras especies del género, son:

Tabla 1. Perfil bioquímico para la diferenciación de *Staphylococcus aureus* de otras especies.[50, 107, 140,152]

Prueba	*S. aureus*	*S. epidermidis*	*S. haemolyticus*	*S. saprophyticus*	*S. lugdunensis*	*S. schleiferi*
Coagulasa	+	-	-	-	-	-
Factor aglutinante	+	-	-	-	(+)	+
Termonucleasa	+	-	-	-	-	+
Fosfatasa alcalina	+	+	-	-	-	+
Ureasa	D	+	-	+	D	-
Res. a novobiocina	-	-	-	+	-	-
Sacarosa	+	+	+	+	+	-

d = 11 – 89 % de cepas positivas; () = reacción tardía

5.5 Condiciones de crecimiento

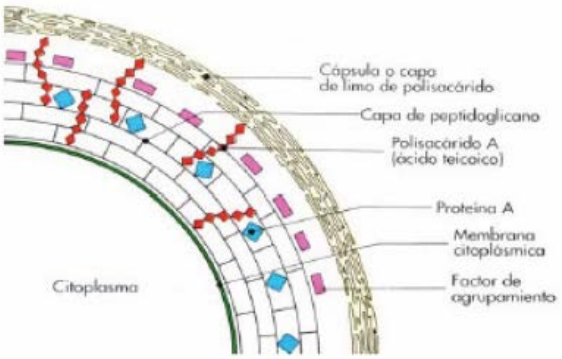
Este microorganismo desarrolla a una temperatura entre 10 a 40ºC, con un crecimiento óptimo a 37º C, es importante precisar que su pigmentación característica se debe a la producción de carotenoides, el cual se produce mejor a temperatura ambiente (20 a 25 º C).[13, 50, 152,40] Se obtiene un desarrollo abundante de 18 a 24 horas.[50, 81,140]

5.6 Factores de virulencia

La patogénesis es un proceso multifactorial que depende del estado inmune del huesped, la naturaleza de la especie o cepa (factores de virulencia) y el número de organismos en la exposición inicial. La patogenicidad es la capacidad de un microorganismo para producir un daño en un huésped, mientras que la virulencia es el grado de patogenicidad de un serotipo, de una cepa o de una clona microbiana en un huésped susceptible.[13,15]

Algunas cepas de *S. aureus* poseen cápsula la cual les protege de la quimiotaxis y fagocitosis facilitando a su vez la adherencia a materiales. Su pared celular (ver figura 3) esta formada principalmente por peptidoglucano, ácido teicoico, proteína A y factor de agrupamiento. El peptidoglucano es importante en la patógenia de la infección, ya que induce la producción de interleucina 1 y anticuerpos opsónicos, además de atraer químicamente leucocitos polimorfonucleares, posee una actividad parecida a endotoxina, además de activar el complemento. Los ácidos teicoicos, polímeros de glicerol o fosfatoribitol (polisacáridos complejos), están unidos al peptidoglucano y a la membrana citoplasmática y son específicos de la especie *S. aureus,* además presenta el ácido teicoico-ribitol con residuos de N-acetilglucosamina (polisacárido A) [9, 15, 50, 57,128]

Figura 3. Estructura de la pared celular de *Staphylococcus aureus*[128]



S. aureus produce una gran variedad de proteínas que contribuyen a su facilidad para colonizar y causar enfermedades en el ser humano. Casi todas las cepas producen un grupo de enzimas y citotoxinas. La tabla 2 muestra los principales factores de virulencia descritos hasta la fecha.[15, 50]

Tabla 2. Principales factores de virulencia presentes en *Staphylococcus aureus* [50]

Estructurales	Enzimas	Toxinas
Peptidoglucano **Proteína A** **Factores de adhesión (Glicocálices y ácidos lipoteicoicos ALT)** **Polisacáridos capsulares** **(en algunas cepas)**	Diseminación Hialuronidasa Colagenasa Fibrinolisina Lipasas Interfieren en la fagocitosis Coagulasa Catalasa DNAsa o nucleasas Fosfatasa Proteasas Inactivan antibióticos β-lactamasas	Hemolisinas α, β,γ y λ Leucocidina de Panton-Valentine (PVL) Enterotoxinas estafilocóccicas Toxina 1 del síndrome del shock tóxico Toxinas exfoliativas (ETA y ETB)

Estos factores participan en la adhesión y captación de nutrientes para el microorganismo y sirven a su vez para evadir la respuesta inmune del huésped. En base a lo anterior se han clasificado en tres categorías:

1. Involucrados en la adherencia a la célula del huésped o matriz extracelular: fibronectina, proteínas de unión a fibrinógeno, colágeno y coagulasa.
2. Involucrados en la evasión de la respuesta inmune: toxinas estafilocócicas, TSST-1, PVL, proteína A, lipasas y polisacáridos capsulares.
3. Involucrados en la invasión y diseminación en los tejidos del huésped: hemolisinas.[50,57]

5.7 Epidemiología y patología de *Staphylococcus aureus*

El principal reservorio de *S. aureus* es el ser humano, encontrándose en portadores sanos en la parte anterior de las narinas, [9, 57,83] entre el 25 y 50 % de estos portadores también lo llevan en manos y piel, la colonización se puede asentar sobre la mucosa nasal, ingle, garganta, orofaringe, epidermis íntegra, úlceras crónicas cutáneas, heridas en fase de cicatrización o en la uretra de portadores de sonda.[7, 9,83]

Algunos estudios han demostrado que las narinas son la zona anatómica en la cual el microorganismo puede aislarse en forma constante; cuando se trata a las narinas con un antimicrobiano tópico para eliminar el estado del portador, en la mayor parte de los casos *S. aureus* también desaparece de otras zonas del cuerpo. [15, 36, 57,77]

En la era moderna, se estima que el 25-35% de portadores sanos llevan a S*. aureus* en la piel o las membranas mucosas [158]. Esto significa que hasta dos millones de personas actualmente en todo el mundo son portadoras de *S. aureus*, y las estimaciones basadas en las bases de datos de Holanda y EUA informan que la prevalencia se encuentra en el rango de 2 a 53 millones de personas que son portadoras de *S. aureus* [143]

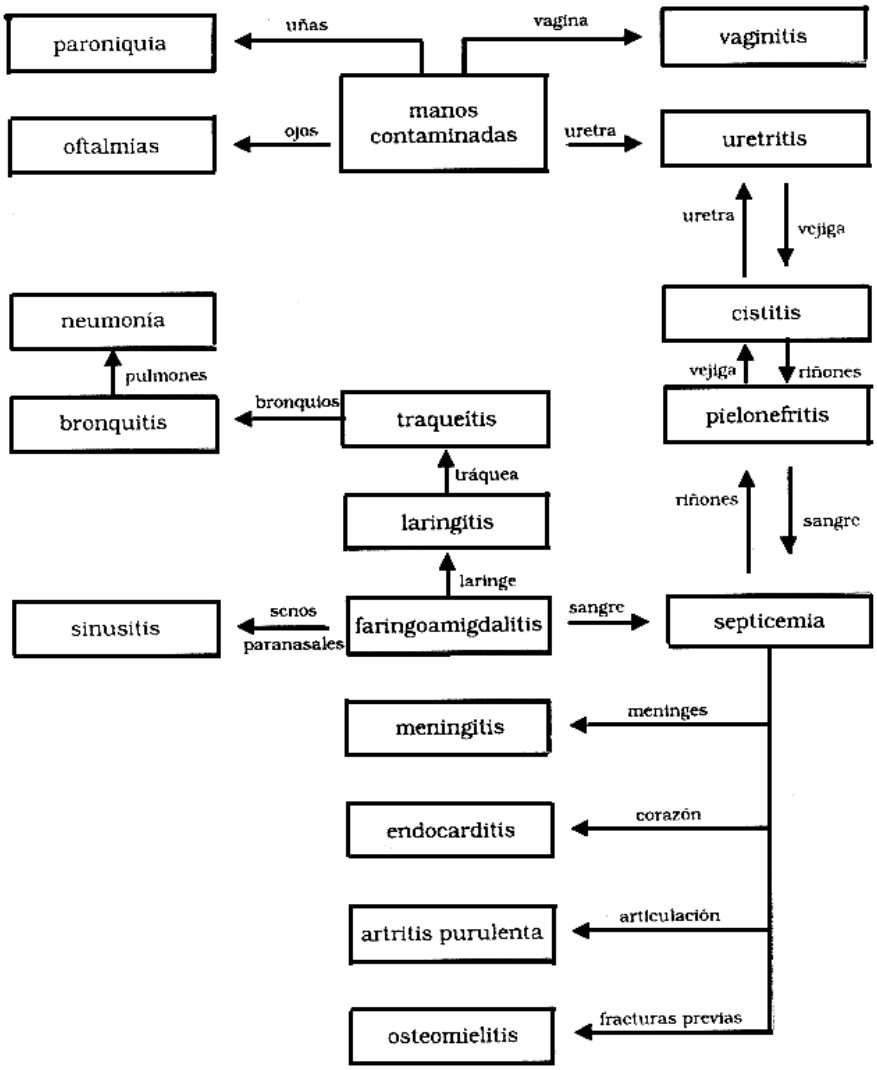
De acuerdo con los resultados publicados en artículos realizados en España, correspondiente al año 2007, *Staphylococcus aureus*, con una prevalencia del 10,6% ocupa el segundo lugar en orden de frecuencia entre los microorganismos causales de infección nosocomial en los hospitales españoles, por detrás de *Escherichia coli* (15,4%) y por delante de *Pseudomonas aeruginosa* (10,3%). Asimismo, el estudio en el que participaron 74 unidades de cuidados intensivos (UCI) distribuidas por toda España, indica que *S. aureus* es el tercer microorganismo más prevalente en infecciones adquiridas.[77, 78, 82,105,

Un portador es un individuo afectado por un patógeno que no muestra signos de una enfermedad clínica. Mucha de las infecciones estafilocóccicas resultan de la transferencia del estafilococo en microbiota del individuo afectado pero asintomático a un individuo susceptible (Ver algoritmo 1), por lo que los portadores son una fuente potencial de infección para otros, siendo importantes críticamente para el brote de enfermedades. [2]

A través del tiempo tres patrones de portadores han sido distinguidos.

a) Persistente: cerca del 20 % de los individuos casi siempre portan un tipo de cepa. Es más frecuente en niños que en adultos, y muchos individuos cambian su variante de portador entre los 10 y 20 años. Tiene un efecto protector sobre la adquisición de otras cepas, al menos durante la hospitalización.
b) Intermitente: cerca del 60 % de los individuos portan cepas que cambian y tienen frecuencia variable.
c) No portadores: cerca del 20 % de los individuos casi nunca portan la cepa.[15, 57]

Algoritmo 1. Rutas de diseminación de *S. aureus* que afectan numerosas regiones anatómicas del cuerpo humano [50]



Staphylococcus aureus es el agente etiológico de diversas patologías, incluyendo infecciones de piel y tejidos blandos, bacteremia, endocarditis, infección del SNC y del tracto genitourinario, además de ser el responsable de infecciones esporádicas, así como de epidemias, que abarcan desde brotes intrafamiliares pequeños hasta brotes nosocomiales grandes, por lo que se le confiere especial énfasis a su estudio.[9,55,114,115]

La piel y las mucosas intactas son las barreras de defensa más importantes contra el establecimiento de la infección estafilocóccica. Asimismo las quemaduras, varicela, infecciones herpéticas, eccema, epidermólisis bulosa, heridas quirúrgicas, entre otras, son enfermedades que el estafilococo aprovecha para su ingreso. En pacientes hospitalizados, las punciones intravenosas y los catéteres son origen de infección estafilocóccica [2, 9,115]. En la figura 4 se muestran los principales sitios anatómicos afectados por infecciones causadas por *Staphylococcus aureus.*

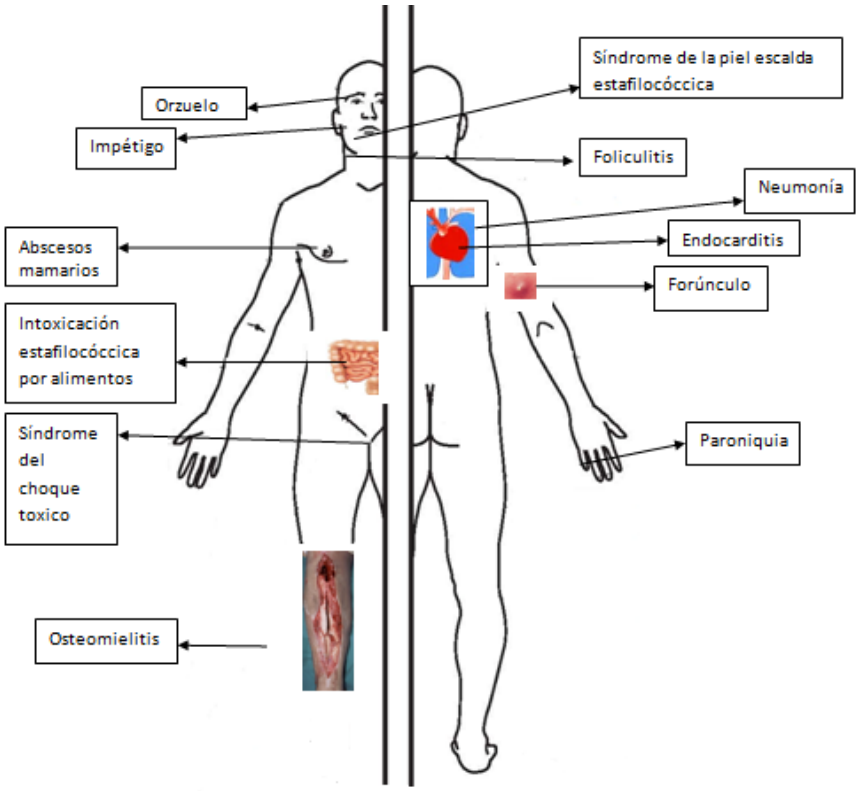


Figura 4. Principales sitios anatómicos de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus.*

5.8 Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*

S. aureus presenta gran variedad de receptores de superficie que le permiten unirse a los tejidos y cuerpos extraños cubiertos con fibronectina, fibrinógeno y colágena, lo que posibilita que un inóculo bajo de microorganismos se adhiera a suturas, prótesis valvulares cardíacas, derivaciones de líquido cefalorraquídeo, prótesis ortopédicas y vasculares, incluso derivaciones arteriovenosas para hemodiálisis.[9, 115]

Una vez que se establece la infección, una respuesta óptima de polimorfonucleares resulta esencial para contener la infección y eliminar a los microorganismos. Cualquier alteración en este mecanismo llevará a la implantación de una afección estafilocóccica.[9, 115]

Hay pruebas epidemiológicas de que las cepas de *S. aureus* en general son de baja infectividad, a menos que las condiciones locales brindan oportunidades especiales para la multiplicación en el cuerpo. Los estafilococos coagulasa positiva pueden causar enfermedad por dos mecanismos:

- ***Invasión directa:*** se produce una reacción inflamatoria aguda, iniciada por los productos microbianos por el daño hístico y actividad leucocitaria. La capacidad patogénica de una cepa de *S. aureus* es un efecto combinado de factores extracelulares y toxinas. La lesión tiende a ser circunscrita, en parte por el depósito de fibrina a través de la acción de la coagulasa estafilocóccica. El microorganismo puede multiplicarse dentro del leucocito y destruirlo, en suma, varios mecanismos incluso la producción de proteína A, sirven para protegerse de la fagocitosis. La α-hemolisina y la reacción de hipersensibilidad retardada a las proteínas estafilocócicas contribuyen a la necrosis en las lesiones. De una lesión local, el estafilococo coagulasa-positivo puede diseminarse por vía hemátogena a sitios distantes, para alcanzar huesos, articulaciones y otras estructuras importantes.
- ***Liberación de toxinas:*** los estafilococos también causan enfermedad a través de toxinas que elaboran, sin que haya infección invasora evidente. Entre las enfermedades estafilocóccicas toxigénicas figuran el síndrome de la piel escaldada, el síndrome del choque tóxico y la intoxicación alimentaria.[9,115]

Staphylococcus aureus es origen de una gran variedad de procesos infecciosos que causa tres síndromes básicos:

a) Infecciones cutáneas o circunscritos

Foliculitis: infección que se desarrolla en los folículos pilosos, glándula sebácea o sudorípara (Ver figura 5). Cuando ocurre en la base de los párpados se llama orzuelo. [39] Cuando avanza el proceso inflamatorio, la piel se vuelve sensible, tersa y brillante. En ocasiones suele ser una complicación de acné vulgar.[9, 29,115]

Figura 5. Masculino 30 años con cuadro de foliculitis en cuello.[162]

Impétigo*:* es una infección superficial que puede afectar a adultos y principalmente a niños pequeños (ver figura 6), se presenta principalmente en la cara y extremidades. Comienza con una pápula eritematosa que puede tener un estadio vesicular o transitorio.[9,29,57, 86, 118,115]

Figura 6. Niño de 6 años con cuadro de infección en boca por *S. aureus.* Impétigo[162].

Forúnculos: es el prototipo y la lesión más común producida por este microorganismo, es un absceso superficial circunscrito (ver figura 7) y de evolución aguda.[9, 57,76, 86,115]

Figura 7. Forúnculo superficial en la parte lateral derecha del rostro. [162]

Carbunco: la infección puede provenir de un forúnculo, que se extiende a tejidos subcutáneos. Son lesiones graves (Ver figura 8) que pueden redundar en invasión al torrente sanguíneo y están vinculados con fiebre y signos de enfermedad sistémica [9, 29, 57, 86, 115,117]

Figura 8. Cuadro clínico de carbunco en cuello. [162]

Paroniquia: es una infección común la cual implica los tejidos blandos alrededor de las uñas (ver figura 9), ya sea de pies o manos. Siendo una causa común para la diseminación a otros sitios del cuerpo humano. [9, 57,115]

Figura 9. Infección en uñas causada por *Staphylococcus aureus.*[115]

Abscesos mamarios*:* es relativamente frecuente en recién nacidos. Suelen ser unilaterales (Ver figura 10) y se observan dentro de las dos primeras semanas de vida. El dato más relevante consiste en eritema intenso e induración de la glándula mamaria afectada.[9,29, 57,115]

Figura 10. Absceso mamario unilateral en niño de 6 meses.[115]

Infecciones en heridas*:* *Staphylococcus aureus* es una causa importante de infecciones en heridas (ver figura 11). El origen puede ser el mismo paciente que es portador.[57] Pueden ocurrir en el paciente después de una intervención quirúrgica o de un traumatismo, al introducirse en la herida los microorganismos que colonizan la piel. Los estafilococos no son generalmente capaces de producir una infección en un individuo inmunocompetente a no ser que haya un cuerpo extraño en la herida. Las heridas quirúrgicas infectadas pueden funcionar como focos de infecciones sistémicas. [29,86,117,125]

Figura 11. Herida quirúrgica infectada por *Staphylococcus aureus.*[125]

b) Infecciones profundas y sistémicas

Bacteremia: La bacteremia deriva de un foco de infección no evidente, durante el curso de una infección primaria de piel, del aparato respiratorio o por otros procedimientos lesivos.[22] Las bacteriemias por *Staphylococcus aureus* en especial los episodios prolongados, se asocian con la diseminación a otras partes del organismo dando origen a endocarditis, osteomielitis y la formación de abscesos metastáticos, particularmente en la piel, los tejidos subcutáneos, los pulmones, los riñones, el hígado y el cerebro.[9,29,86.]

Endocarditis: *S. aureus* es causa de endocarditis en 16 a 45 % de los casos; por lo común, ocurre dentro de los 60 días que siguen a la operación. Los pacientes están gravemente enfermos, están febriles y letárgicos y la enfermedad avanza con rapidez. Son frecuentes los datos de descompensación cardiaca mientras que los cambios clásicos de endocarditis (anemia, esplenomegalia, petequias, hemorragias) pueden notarse al principio de la enfermedad.[136] Presenta una tasa de mortalidad del 50 %, a no ser que

se instituya un tratamiento médico y quirúrgico adecuado de forma inmediata.[115,117,125]

Neumonía: se presenta a cualquier edad, principalmente en la etapa pediátrica. Es un proceso de rápido avance. Tiene dos formas a) neumonía primaria por inoculación directa a través del aparato respiratorio y b) neumonía secundaria, originada por vía hematógena (bacteriemia).[57,115,125]

Osteomielitis: puede resultar de la diseminación hematógena en el hueso tanto en niños como en adultos, o como infección secundaria como consecuencia de un traumatismo, una infección quirúrgica o de la extensión de una infección desde una zona adyacente. *S. aureus* es la principal causa de artritis séptica en niños pequeños y en adultos que reciben inyecciones intraarticulares. La afectación secundaria de múltiples articulaciones indica la diseminación hematógena desde un foco localizado. La infección se demuestra generalmente en las grandes articulaciones (hombro, rodilla, cadera y codo). El pronóstico en niños es excelente, pero en adultos depende de la naturaleza de la enfermedad subyacente, así como la aparición de complicaciones infecciosas secundarias.[7,9,57,125]

Meningitis estafilocóccica: se presenta en pacientes con anormalidades del sistema nervioso central relacionados con traumatismos, cirugía, tumores malignos, e hidrocefalia[57]. *S. aureus* es una de las causas mas frecuentes asociada con derivaciones ventriculoperitoneales; también es uno de los microorganismos asociados con peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria continúa [28] además de ser causante de infecciones del tracto urinario.[9,25,115]

c) Síndrome toxémicos

Síndrome del choque tóxico TSST-1 (“toxic shock síndrome” TSS, siglas en inglés): Es una enfermedad grave causada por *S. aureus* se debe a la toxina 1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1) La mayor parte de estas cepas produce también por lo menos una de las enterotoxinas estafilocóccicas. [50,57] y este puede ser menstrual (por coincidir con el periodo menstrual) y está asociado con el uso de tampones, o bien ser no menstrual en cuyo caso como la celulitis, infecciones posparto, vaginales o como una complicación de los abscesos estafilocóccicos.[15, 86]

Es una enfermedad multisistémica que se inicia con el crecimiento localizado de las cepas de *S. aureus* productoras de la toxina en la vagina o en la herida, seguido de la liberación de la toxina al torrente circulatorio. Las manifestaciones clínicas comienzan de forma brusca y consisten en fiebre alta, hipotensión, exantema eritematoso difuso, descamación de la piel después de 1 a 2 semanas del ataque (antes de este tiempo es fatal) e implicación de tres o más sistemas (gastrointestinal, muscular, renal, hepático, hematológico y nervioso central). [15, 57, 86,117] En adultos puede producir síndrome de dificultad respiratoria, coagulación intravascular y falla renal. [15,86] La muerte en los pacientes con TSST-1 se produce por un choque hipovolémico que lleva a un fallo multiorgánico. La alta tasa inicial de fallecimientos ha disminuido al conocerse mejor la epidemiología y etiología de esta enfermedad.[9, 29, 114,115, 117, 125]

Síndrome de piel escaldada estafilocóccica ("Staphylococcal scalden-skin sindrome", SSSS) o Enfermedad de Ritter: es una enfermedad de la piel causada por las toxinas exfoliativas A y B de *S. aureus*. Es una enfermedad de neonatos y lactantes. El cuadro clínico varía desde ámpulas bien delimitadas hasta una descamación grave que afecta 90 % de la superficie corporal total.[50, 57] Se caracteriza por el inicio brusco de un eritema perioral localizado (enrojecimiento e inflamación alrededor de la boca) que se extiende por todo el cuerpo en los dos días siguientes y poco después se forman grandes ampollas y vesículas cutáneas que se siguen de la descamación del epitelio. El epitelio vuelve a estar intacto en 7-10 días, cuando aparecen los anticuerpos protectores. La tasa de mortalidad es baja, cuando ocurre la muerte es el resultado de una infección bacteriana secundaria.[9,29,50,114,115,117]

Intoxicación estafilocóccica por alimentos ("Staphylococcal food poisoning" SFP): resulta de la ingestión de una o más enterotoxinas preformadas en alimentos contaminados con S. aureus. La ingestión no resulta enterotoxémico al menos que altas dosis sean consumidas.

Los estafilococos ingeridos después del tiempo de incubación, no producen más toxina, por lo que la enfermedad típicamente se resuelve dentro de las 24 a 48 horas del ataque 38, 50, 48,117 Algunas cepas de S. aureus pueden producir también enterocolitis y ocurre fundamentalmente en pacientes que han recibido antibióticos de amplio espectro, que suprimen la microbiota del colon y permiten el crecimiento del microorganismo. [9, 29, 114, 117,125]

5.9 Pruebas de laboratorio dirigidas a la búsqueda e identificación de *Staphylococcus aureus*

El propósito de la microbiología clínica es la colaboración estrecha con miembros del equipo de salud para proporcionar el diagnóstico y manejo óptimo de los pacientes con enfermedades infecciosas, y además de prevenir la diseminación de enfermedades hacia otros individuos. El diagnóstico y tratamiento inicial son por lo general más urgentes en enfermedades infecciosas que en cualquier otro tipo de proceso patológico, ya que tanto la mortalidad como la morbilidad pueden ser reducidas en forma significativa si se inicia tempranamente el tratamiento adecuado. La tabla 3 resume las muestras que se toman, según cada padecimiento para el diagnóstico de enfermedades estafilocóccicas.

Tabla 3. Muestras involucradas en el diagnóstico de enfermedades estafilocóccicas[50].

Padecimientos	Muestras
Piodermitis, faringoamigdalitis, sinusitis, otitis, oftalmías, uretritis, vaginitis, SSSS, infecciones intrahospitalarias	Exudados y secreciones
Endocarditis, septicemia, SST-1	Sangre
Pielonefritis, uretritis, septicemia	Orina
Traqueítis, bronquitis y neumonía	Expectoraciones y aspirado trastraqueal
Osteomelitis	Médula ósea
Artritis	Líquido sinovial
Paroniquea	Fragmentos de uñas
Meningitis	LCR
Intoxicación alimenticia	Alimentos

El transporte y tratamiento óptimo de las diversas muestras mencionadas con anterioridad es determinante para el diagnóstico oportuno, por lo cual es importante tomar en consideración el origen y medio de transporte desde el lugar de la toma hasta el laboratorio.

- Para el transporte del exudado nasal, faríngeo, piel o herida, se emplea un hisopo con el medio de transporte (medio Stuart o solución salina isotónica estéril).
- Las expectoraciones, alimentos, orina, LCR, sangre, fragmentos de uñas, se transportan en un envase estéril. [40]

Estas muestras se pueden conservar durante un tiempo inferior o igual a 24 horas a temperatura ambiente o entre 2-8°C.[40]

Una vez tomada la muestra se realiza un frotis de la misma, y se procede a hacer la tinción de Gram (siempre y cuando se trate de las siguientes muestras: LCR, sangre, médula ósea y líquido sinovial), aunque este paso no siempre se realiza, ya que los cocos Gram-positivos en racimos forman parte de la microbiota normal de la mayoría de las localizaciones de interés para estos cultivos. [2, 40,114,]

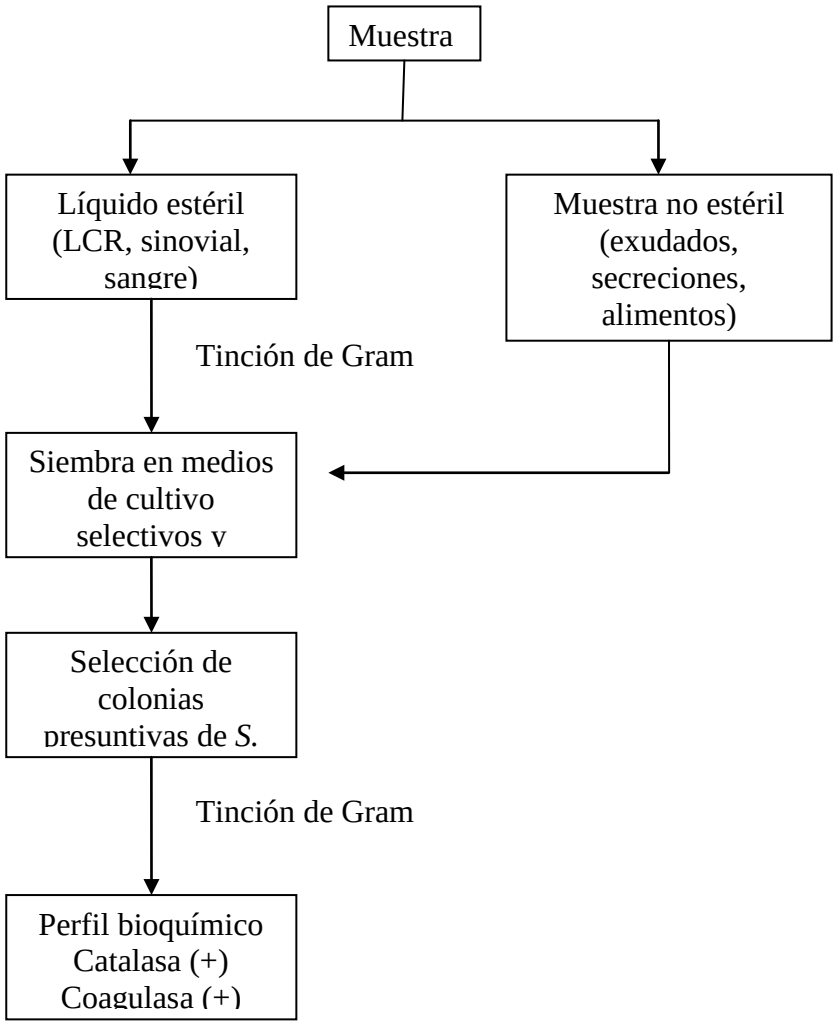
Las muestras no precisan ningún tipo de preparación ni pretratamiento (centrifugación, homogeneización) previo a la inoculación de los medios de cultivo.

Para realizar la siembra se procederá a rotular los medios adecuados para la búsqueda de *Staphylococus sp.* con el número de la muestra, la fecha y el tipo de muestra. Con el hisopo se descargará la muestra en aproximadamente un tercio de cada placa, rotandolo sobre sí, y finalmente se procederá a extender la muestra con un asa estéril para obtener colonias aisladas (las placas se incuban a 37 ^{0}C), para su posterior identificación de la especie por medio de pruebas bioquímicas u otras técnicas. [2, 40,140] (ver algoritmo 2).

Ya que la colonia ha sido aislada del medio y considerada como un posible estafilococo con base a su morfología, Gram, características de crecimiento y prueba de catalasa positiva, el siguiente paso es definir si se trata de *S. aureus*, el cual produce coagulasa (para algunos laboratorios la prueba de la coagulasa es el único criterio de identificación), para llevar a cabo esta prueba, se adicionan asépticamente 0,5 mL de plasma de conejo en un

tubo de ensaye estéril, al que posteriormente le son agregados 0,5 mL de un cultivo líquido y puro de 18-24 h del microorganismo analizado; los componentes se mezclan rotando el tubo y se procede a incubar a 37 °C, la reacción se considerará positiva si ocurre cualquier grado de coagulación visible dentro del tubo; para que esta prueba sea válida se compara con cepas control de *S. aureus* ATCC 6538 (positivo) y *S. epidermidis* ATCC 12228 (negativo). [2,50,114]

Algoritmo 2. Procedimiento de laboratorio para determinar si *Staphylococcus aureus* es el agente causal de patologías.



5.10 Tratamiento para *Staphylococcus aureus*

El impacto de las infecciones por *Staphylococcus aureus* radica en su espectro extraordinariamente amplio, localización y gravedad. [2] Una vez que se tiene la certeza de que el agente causal de las patologías es *S. aureus* se procede a prescribir el tratamiento adecuado, para lo que se emplean diversos antibióticos.

5.10.1 Antibióticos β-lactámicos: generalidades, estructura química, clasificación y mecanismo de acción.

La estructura básica de la mayoría de las penicilinas comerciales consiste en un núcleo formado por tres componentes (ver figura 12): un ciclo de tiazolidina y el anillo β-lactámico formando el ácido 6-aminopenicilánico, estructura que deriva de la condensación de una molécula de valina y de una cisteína para dar lugar al anillo característico, finalmente la cadena lateral en la posición 6, determina en gran medida el espectro antibacteriano y las propiedades farmacológicas de cada penicilina en particular [16,43,108]

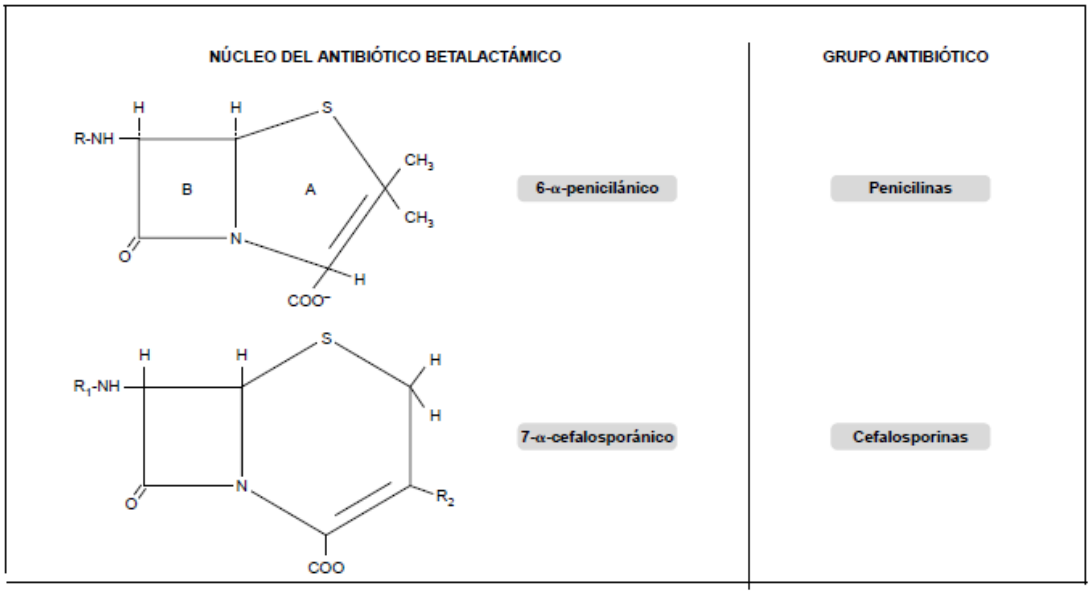


Figura 12. Estructura química de los β-lactámicos [128]

La presencia de un anillo β-lactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, además de utilizar el mismo mecanismo de acción (inhibición de la síntesis de la pared celular formada por peptidoglucanos) de la que se han originado diversos grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las β-lactamasas.[108]

La modificación bioquímica de este compuesto proporciona derivados que tienen una labilidad menor en medio ácido y una mayor absorción en el tracto gastrointestinal, mayor resistencia a las penicilinas o un mayor espectro que incluye bacterias Gram-negativas. Así las penicilinas pueden clasificarse en relación a su espectro de actividad antimicrobiana [2, 70, 125,140]

1. Penicilinas naturales (Penicilina G y Penicilina V): La penicilina G se absorbe de manera incompleta por vía oral, ya que es inactivada por el ácido gástrico, es por eso que se usa por vía intravenosa. La penicilina V es más resistente al ácido gástrico y constituye la forma oral de elección. Son altamente activas contra cocos Gram-positivos sensibles [2,58,70,125]
2. Penicilinas resistentes a penicilinasas (nafcilina, meticilina, oxacilina y dicloxacilina): posee una cadena lateral acíclica que inhibe la acción de las penicilinasas y por consiguiente previene la apertura del anillo β-lactámico. Son muy activas contra *Staphylococcus aureus,* productor de penicilinasas[2,58,70,125]
3. Penicilinas de amplio espectro (ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, mezlocilina, piperacilina) [2,58,70,125]
4. β-lactámico con inhibidor de β-lactamasa (amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, tircacilina/ ácido clavulánico, piperacilina /tazobactam). Son relativamente inactivos por si mismos, pero cuando se les combina con alguna penicilina, son activos para el tratamiento de bacterias productoras de β-lactamasas. Los inhibidores se unen de forma irreversible a las β-lactamasas bacterianas susceptibles, inactivándolas, permitiendo que el antibiótico actué alterando la síntesis de la pared bacteriana. [2,58,70,125] Los inhibidores de las β-lactamasas, se utilizan para incrementar el espectro de las penicilinas. [7,137]
5. El grupo de los β-lactámicos comprende a demás a las cefalosporinas que se clasifican según su generación: las de primera generación tienen una actividad excelente contra Gram-positivos y moderada contra Gram-

negativos; las de segunda generación poseen una actividad un poco mejor contra Gram-negativos y abarcan algunos medicamentos con actividad contra anaerobios; las de tercera generación la tiene contra Gram-positivos y mucho mejor contra enterococos y un subgrupo es activo contra *Pseudomona auruginosa* y las de cuarta generación poseen el espectro antimicrobiano de las de tercera generación pero con mayor estabilidad contra la hidrólisis que induce a las β-lactamasas β-cromosómicas. [2,58,70,125]

Mecanismo de acción: El peptidoglucano está constituido por largas cadenas de glúcidos (-glucano), formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos que se unen entre sí para formar una malla, bien directamente (Gram-negativos) o mediante un pentapéptido de glicina (Gram-positivos). Los β-lactámicos inhiben precisamente esta unión de transpeptidación (Ver figura 13), última etapa de la síntesis de la pared celular, que se logra fuera de la membrana celular [2,58,70,125]

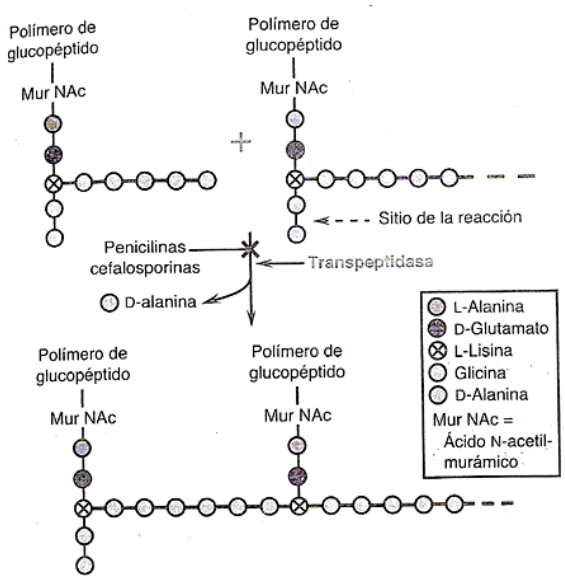


Figura 13. Efecto de los antibióticos β-lactámicos en *S. aureus*. [58]

La pared bacteriana consta de polímeros de glucopéptido enlazados por puentes entre las cadenas laterales de aminoácidos. En *S. aureus*, el puente es $(Gli)_5$-D-Ala entre lisinas. El enlace cruzado es catalizado por una transpeptidasa, que es la enzima que inhiben las penicilinas y cefalosporinas.

De este modo la inhibición de la transpeptidasa hacen que se formen esferoplastos y surja la lisis rápida. [43, 51]

Los componentes del peptidoglucano se sintetizan en el citoplasma y son transportados a través de la membrana citoplasmática al espacio que existe entre esta y la pared celular. A este nivel existen unas proteínas con actividad enzimática que son otros objetivos de las penicilinas (transpeptidasas y carboxipeptidasas), estas enzimas son las encargadas de formar los tetrapéptidos unidos, y fijan las penicilinas y otros β-lactámicos, por lo que se llaman proteínas fijadoras de penicilina (PBP, siglas en inglés de penicillin-binding proteins o PFP por sus siglas en español), la inhibición de las PBP(2) genera lisis mas tardía, mientras que la PBP (3) deforma a las bacterias.[2,16,58,70,125,258] Los anillos β-lactámicos poseen una estructura similar a los dos últimos aminoácidos del pentapéptido (D-alanina-D-alanina) y eso permite una unión covalente en el lugar activo de la transpeptidasa. [43, 51,73.]

Es importante mencionar que los β-lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CIM de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes.[2, 58, 70 ,125]

El efecto bactericida de los β-lactámicos se debe a dos factores:

1.- Al contener las bacterias una pared celular defectuosa y poco rígida el microorganismo se lisa por la entrada de agua que se produce como consecuencia de la alta presión osmótica interna [2,58].

2.-La inactivación de un inhibidor de enzimas autolíticas de la pared bacteriana (autolisinas) que provoca un metabolismo desequilibrado que lleva a la lisis celular. Las autolisinas son enzimas finamente reguladas que en condiciones normales de crecimiento participan en el recambio o renovación de la pared celular y en la separación de las bacterias después de la división celular [2,58,152].

Así mismo las penicilinas se pueden unir a unas o varias PBP por que actúan como análogas del sustrato de la transpeptidación normal. Esto provoca la inactivación en forma irreversible de las PBP debido a que las penicilinas se comportan como agente acilantes que actúan sobre el sitio activo de las enzimas[2, 58,152].

5.11 Generalidades de la resistencia bacteriana a agentes físicos y químicos

S. aureus resiste la luz, temperaturas externas extremas (60 °C por 30 minutos), la desecación (sobreviven varias semanas en polvo, pus desecado, esputo, fómites), la acción de desinfectantes (fenol), altas concentraciones de sal (7 a 10 %), y la oxidación por teluritos.[50, 74]. Además que en la actualidad las cepas de *Staphylococcus aureus* tiene un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes.

Los antimicrobianos en medicina se utilizan con tanta libertad y diferentes situaciones clínicas, no siempre justificadas, que es necesario racionalizar con criterio la anarquía existente.

Un hecho fundamental es el abuso que se hace de los antimicrobianos, sobre todo en procesos que no tiene una base infecciosa. Lo anterior ha propiciado alteración en el equilibrio de la microbiota, aparición de cepas resistentes, selección de clonas bacterianas que emergen como "nuevos patógenos", muchos de los cuales fueron con anterioridad considerados como parte de la microbiota y que en la actualidad representan el mayor problema clínico [16], tal es el caso de *Staphylococcus aureus.*

Los principales antibióticos a los que se les ha encontrado resistencia en cepas de *S. aureus* son*:* Penicilina, β-lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos y linconsamidas, estreptograminas, tetreciclinas, rifampicina, ácido fusídico, quinolinas, mupirocina, glicopéptidos, oxazolidinonas, cloranfenicol, etc.[15]

Particularmente su resistencia a la penicilina suele depender de su capacidad para producir β-lactamasas, propiedad transmitida por conjugación o transducción implicando la presencia de plásmidos de resistencia. [50]

En un proceso infectivo normal resultan determinantes la cantidad de bacterias participantes, el tiempo de generación bacteriana y la velocidad intrínseca de mutación. Se dice que las bacterias tienen una "resistencia intrínseca" a un antibiótico cuando sus características normales las vuelven inmunes al mecanismo de efecto del antibiótico. Por el contrario, las bacterias pueden adquirir resistencia a un antibiótico, adoptando una nueva característica a través de la mutación de genes o de la transferencia de material genético entre las bacterias.

Cuando una mutación confiere resistencia al antibiótico, solo las células mutantes sobreviven y se convierten en la variante dominante de la población infectiva. [50,135]

Un agente bacteriano puede adquirir resistencia a los antibióticos experimentando mutaciones puntuales en su DNA cromosómico y, más frecuentemente, fungiendo como receptor de plásmidos R (resistencia). En cualquier forma, sus nuevas secuencias nucleotídicas le aportan la capacidad de inactivar antibióticos, a través de uno o más de los siguientes procesos:

- ***Expulsión del antibiótico***: para que los antibióticos puedan manifestar su efecto antibacteriano en lapsos razonables, es necesario que alcancen concentraciones suficientes en sus respectivos sitios de acción. Por ejemplo, las bacterias Gram-positivas que han adquirido resistencia a las tetraciclinas suelen sobreproducir proteínas de membrana (42 kDa), que funcionan como bombas de reflujo del antibiótico (ver figura 14 a); donde éste es expulsado a velocidades mayores que las relacionadas con su previa difusión hacia el interior; por lo que, no alcanzan proporciones intra-microbianas que afecten significativamente la bacteria.[50]
- ***Inactivación por modificación del fármaco:*** el prototipo de este mecanismo alude a la escisión hidrolítica del anillo β-lactámico de las penicilinas y cefalosporinas, vía la acción de β-lactamasas bacterianas. El anillo lactámico de 4 miembros representa la parte activa de la molécula y su modificación reditúa en una estructura abierta (ácido peniciloico) que no es reconocida por sus receptores. Los aminoglucósidos pueden ser inactivados por al menos 3 clases de enzimas, las cuales agregan diferentes sustituyentes a la molécula original, redituando en estructuras incapaces de reconocer su sitio de acción.[50]
- ***Modificación estructural del "blanco de acción":*** un ejemplo típico de esta estrategia implica a ciertas especies resistentes a eritromicina, las cuales monometilan o dimetilan un residuo especifico de adenina, dicha modificación es catalizada por la enzima Erm, una metil transferasa que disminuye la afinidad de macrólidos y estreptograminas por el RNA.[51] (Ver figura 14b)

- ***Tolerancia:*** implica inhibición del crecimiento que puede atribuirse a falta de activación de las enzimas autolíticas en la pared celular.[57]

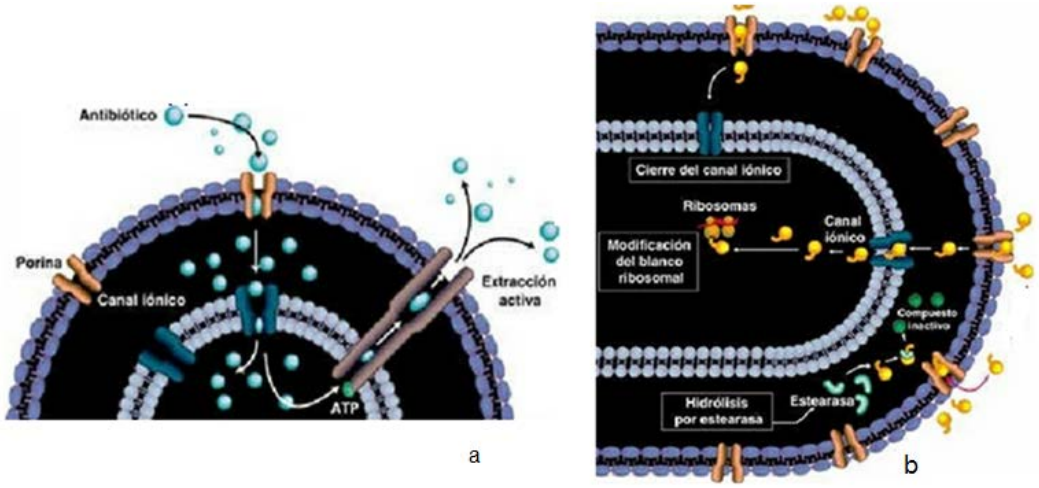


Figura 14. Mecanismos de resistencia bacteriana. a) Expulsión del antibiótico a través de una proteína de membrana también llamadas bombas de reflujo. B) Modificación estructural del sitio blanco de acción.[170]

En la actualidad las cepas de *S. aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes.

La tabla 4 resume los principales antibióticos que han generado resistencia en cepas de *Staphylococcus aureus* así como el gen asociado, mecanismo de resistencia general y localización.

Tabla 4. Principales antibióticos que han generado resistencia en cepas de *Staphylococcus aureus* [15,128]

Antibiótico	Genes de resistencia	Producto del gen	Mecanismo de resistencia	Localización
Penicilina	*BlaZ*	β-lactamasa	Hidrólisis enzimática del núcleo β-lactámico	Plásmidos; Tn*552*
β-láctamicos	*Meca*	PBP2a	Afinidad reducida al antibiótico	Cromosoma SSCmec; Tn*4291*
Aminoglucósidos	*aacA-aphD*	Acetiltransferasa, Fosfotransferasa	Modificación por acetilación o fosforilación	Cromosoma; plásmidos; Tn*4001*, Tn*5404*, Tn*5405*
Macrólidos,lincosamidas	*ermA, ermB, ermC*	Metilasa	Metilación del rRNA 23S	Plásmidos; Tn*554*
Macrólidos, estreptograminas	*msrA, vha* *vat, vatB,*	Acarreadores ABC, Acetiltransferasa	Bomba de expulsión. Modificación por acetilación	Plásmidos
Tetraciclinas	*tetK, tetL, tetM*	Sistemas clase K, L y M	Bombas de expulsión Protección ribosomal	Plásmidos, Tn*916*
Rifampicina	*Rif*	RNA polimerasa	Mutación en la subunidad β de la RNA polimerasa	Cromosoma
Ácido fusídico	*fusA, fusB*	Factor de elongación G	Alteración del factor de elongación G	Plásmidos
Quinolonas	*par* *gyrA* o *gyrB*	Componente ParC dela topoisomerasa IV Componentes GyrA o GyrB de la girasa	Mutación en la subunidad A de la girasa y topoisomerasa IV	Cromosoma
Trimetoprim-Sulfametoxazol	*dfrA* *sula*	Dehidrofolato reductasa (DHFR) Dehidropteroato sintasa	Afinidad reducida de la DHFR. Sobreproducción de ácido *p*-aminobenzoico	Cromosoma Cromosoma, Tn*4003*
Glicopéptidos	*Van*	Peptidoglicano alterado D-Ala-D-Lac	Se atrapa la vancomicina en la pared celular. Síntesis de un dipéptido que reduce la afinidad de la vancomicina	Cromosoma; Plásmidos; Tn*1546*
Oxazolidinonas	*Rn*	rRNA 23S	Mutación en el dominio V del rRNA 23S, interfiere con la unión ribosomal	Cromosoma
Cloramfenicol	*Cat*	rRNA 50S	Modificación por acetiltransferasa	Plásmidos
Fosfomicina	*fosB*	Glutatión-S-Transferasa	Modificación en la síntesis de N-acetil murámico.	Plásmidos

6. RESISTENCIA A METICILINA

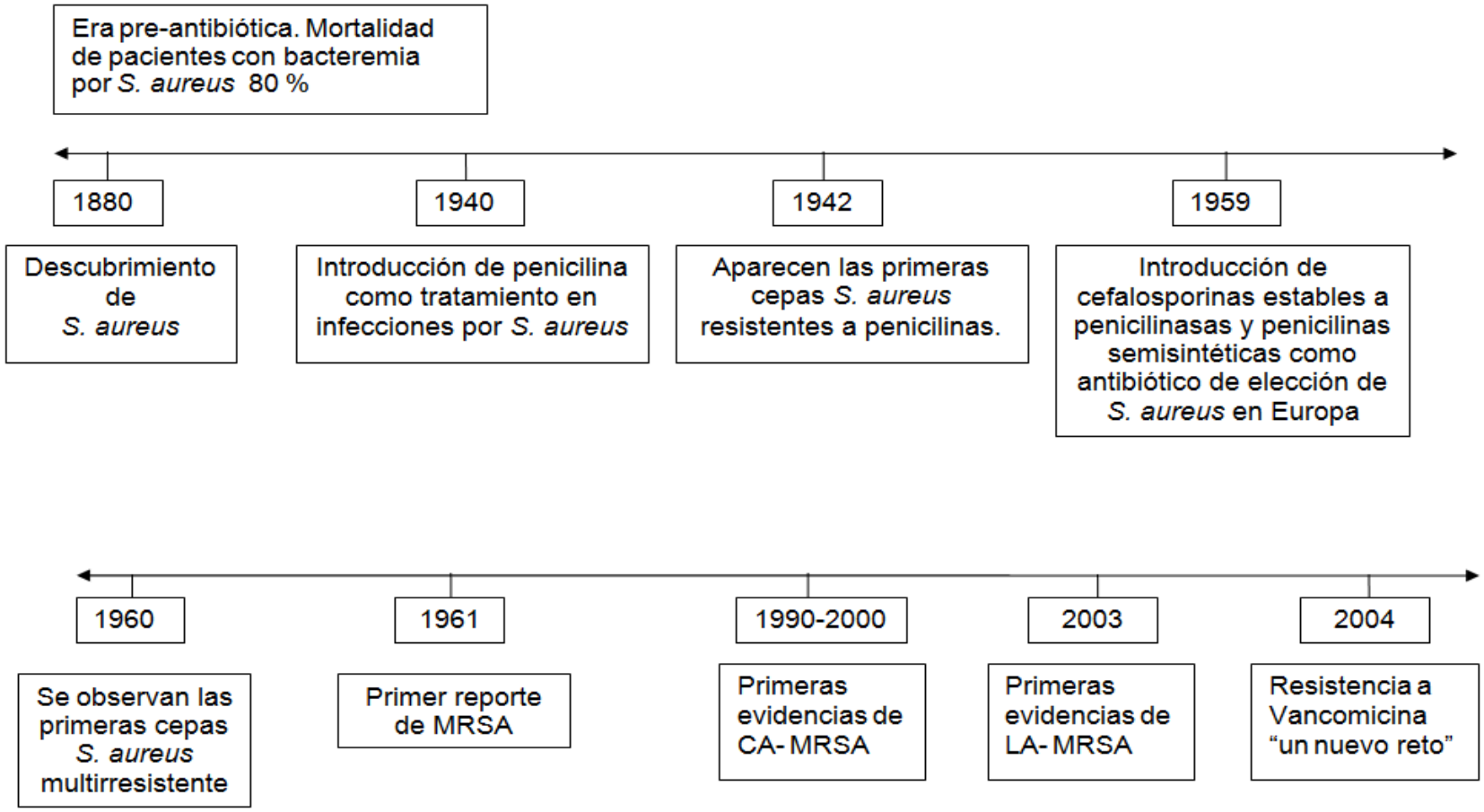
En 1928, Fleming encontró que el hongo *Penicillum* producía una sustancia que denomino Penicilina, la cual inhibía el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

La penicilina fue aislada del *Penicillum notatum* por Fleming, en 1929, este aislamiento fortuito proporcionó frutos hasta los trabajos de Florey en 1941, e hizo posible la producción comercial de penicilina G.[16,43,55,83,108] La administración de penicilina se inicio con la administración a un paciente con sepsis estafilocóccica en 1941[108] En 1940, se describió una enzima en *Escherichia coli* que eracapaz de hidrolizar el anillo β-lactámico de la penicilina, esta enzimase llama " β-lactamasa". Después, en 1944, la producción de β-lactamasas se describió en *S. aureus*. Y en 1959 apareció la meticilina, esto en repuesta a la resistencia a penicilina por la acción de las β-lactamasas, posteriormente, en 1961 Jevons en Londres hizo el primer reporte de MRSA, es decir, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina o por sus siglas en inglés Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*.[58,70,83] (ver figura 15)

A pesar de que no se dispone de ningún β-lactámico realmente nuevo desde hace más de dos décadas, el aumento incesante de las resistencias y los avances en el conocimiento de sus mecanismos moleculares han condicionado que exista una gran cantidad de información, además de deber su amplio uso a la baja toxicidad para seres humanos.[58, 108,125]

Figura 15. Evolución de *MRSA*

La resistencia a los medicamentos de *Staphylococcus aureus* se desarrollo rápidamente después de su introducción para uso clínico; 90 a 95% de las actuales cepas *de S. aureus* son resistentes a la penicilina, y aproximadamente 60 a 70% de las cepas son resistentes a la meticilina. [83]



El MRSA es considerado un problema de salud pública debido a las El MRSA es considerado un problema de salud pública debido a las implicaciones que en los últimos años ha tenido. Este microorganismo es uno de los principales causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias. Es el agente etiológico de diversas patologías que se exacerban como consecuencia de la resistencia. Por lo que es indispensable el estudio de los mecanismos de resistencia de *S. aureus* a los antibióticos β-lactámicos, con el objetivo de encontrar alternativas en el tratamiento de estas patologías. [58, 108,123, 125,]

6.1 Mecanismos de resistencia de *Staphylococcus aureus* a antibióticos β-lactámicos

Se han descrito tres mecanismos que explican la resistencia de *S. aureus* a los antibióticos β- lactámicos: hiperproducción de β-lactamasa, modificación de las PBPs y resistencia intrínseca a meticilina (siendo este el más estudiado) [55,128]

6.1.1 Hiperproducción de β-lactamasas o Resistencia Borderline (Borderline Resistant *Staphylococcus aureus*- BORSA)

Fue descrita inicialmente por McDougal, su mecanismo es una hiperproducción de β-**l**actamasa estafilocóccica, mediada por plásmidos. Estas cepas producen altas cantidades de enzima, lo que hace que la oxacilina o meticilina (que fueron desarrolladas para resistir la acción hidrolítica de la penicilinasa), sean lentamente degradadas presentando una resistencia límite a oxacilina con CIM de 1-2 µg/mL y meticilina con CIM 2-4 µg/mL. Esta resistencia se encuentra avalada por la ausencia de PBP 2a en su pared celular y por la observación de que la asociación con ácido clavulánico o trimetoprim/sulfametoxazol (sulbactam) disminuye las CIM de oxacilina y meticilina en varias veces.

Las cepas hiperproductoras de β-lactamasas poseen un plásmido común de β-lactamasa de 17,2 Kb que codifica a la β-lactamasa estafilocóccica. Se cree que la acción de resistencia no es solo debida a una hiperproducción, sino también a una nueva β-lactamasa cuyo gen no se ha identificado aún.[55, 82, 128,151]

El mecanismo común que interviene en la resistencia a la penicilina (Ver figura 16a) es mediada por *blaz*, que es el gen que codifica para las β-lactamasas. Esta es una enzima extracelular sintetizada por los estafilococos cuando son expuestos a los antibióticos β-lactámicos, que se encarga de hidrolizar el anillo de los antibióticos β-lactámicos, causando la inactivación de los mismos.

La regulación a nivel genético sucede de la siguiente forma, la proteína (Blai) se une a la región promotora del DNA, por lo tanto hay una represión de la transcripción de ambos genes *blaz* y *blaR1- blai* (I). En ausencia de penicilina, las β-lactamasas se expresan en niveles bajos. II. BlaR1 se autoestimula por activación autocatalítica. III-IV. Activación directa o indirecta de BlaR1, (a través de una segunda proteína, BlaR2), hace que se unan fragmentos de inactivos de proteína (BlaR1) a Blai lo que la inactiva, y permite la transcripción de ambos genes *blaz* y *blaR1- blai*. V-VII. Las β-lactamasas, son las enzimas extracelulares codificadas por *blaz* (V), que hidrolizan el anillo β-lactámico de la penicilina (VI), de tal modo que lo inactivan (VII) [55]. (ver figura 16b)

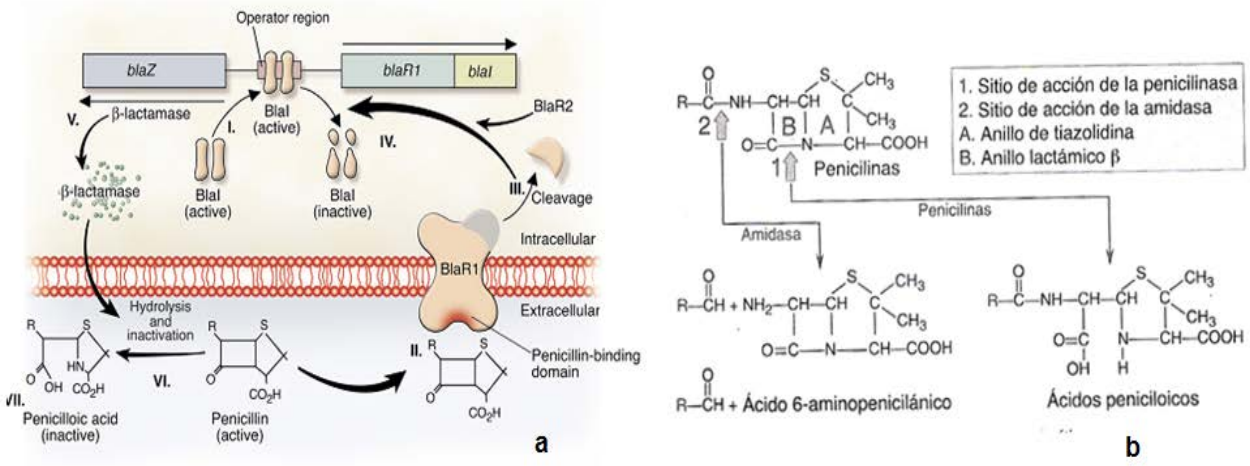


Figura 16. Mecanismo de resistencia a penicilina. a) Regulación a nivel genético para la producción de β-lactamasa en presencia de antibióticos β-lactámicos. b) Estructura del anillo β-lactámico y el producto de la degradación enzimática por acción de β-lactamasas.[45, 58]

6.1.2 Modificación de PBP´s ("penicillin-binding proteins o proteínas fijadoras de penicilinas")

Corresponde a una modificación mínima de las PBPs 1, 2 y 4 de peso molecular normal pero con baja afinidad por antibióticos β-lactámicos (Ver figura 17). Al igual que el mecanismo anterior, la resistencia observada es límite[55]. Se adquieren por recombinación homóloga entre los genes de PBP`s en diferentes especies bacterianas, en el caso específico de *S. aureus* también se puede dar por la adquisición de una PBP con un peso molecular mayor, adquirida a través de un transposon de un microorganismo desconocido. [55,123]

Todas las bacterias poseen varias proteínas de este tipo, específicamente *S. aureus* tiene cuatro PBP`s, la afinidad de las PBP`s por los antibióticos β-lactámicos varía, aunque al final la interacciones se tornan covalentes. La función de estas proteínas en las bacterias es conservar la forma del microorganismo y la formación de la membrana plasmática en la fase de reproducción.[55, 58,123]

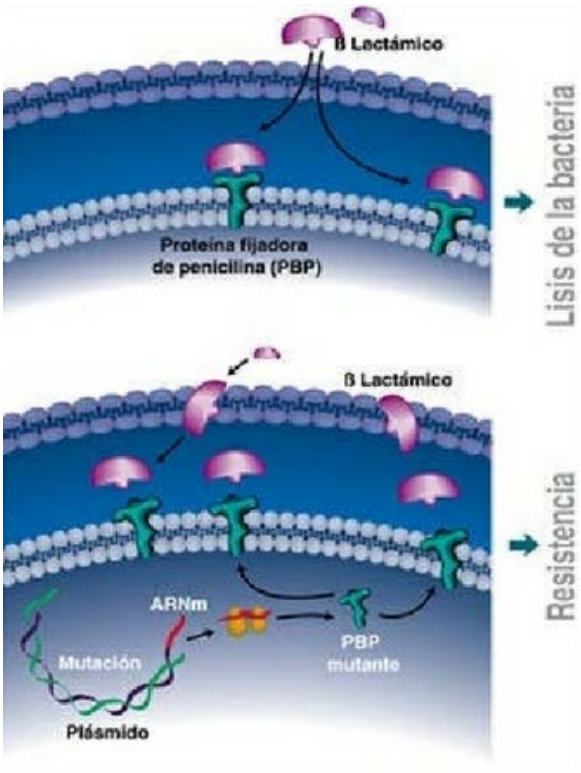


Figura 17. Modificación de PBP´s. Debido a la modificación estructural de las PBP´s los β-lactámicos no pueden unirse a ella, lo que implica la síntesis de la pared celular de forma normal.[170]

6.1.3 Resistencia intrínseca a meticilina (vía gen *mecA*)

Este tipo de resistencia se debe a la incorporación en el DNA bacteriano de un gen, el *mecA* (30 a 50 kb), este gen se encuentra en un elemento génico móvil conocido como el casete cromosómico ("Staphylococcal chromosome cassette *mec*", *SCCmec*), que se inserta al final del extremo 3´ de un marco abierto de lectura (ORF), denominado *orfX*, en un sitio específico del cromosoma bacteriano ($attB_{SCC}$), cerca del origen de replicación de *S. aureus*. Esta característica es de gran relevancia porque le permite replicarse en forma temprana y transcribir los genes de resistencia importados.[3, 45, 55]

7. RESISTENCIA INTRINSECA A METICILINA (VÍA GEN *mecA*)

La resistencia a meticilina esta dada en la mayor parte de los casos (90 %) por el gen *mecA*, que codifica para la proteína PBP(2a), la cual tiene baja afinidad por los antibióticos β-lactámicos.[31, 45, 123] (Ver figura 18).

El gen *mecA* es parte del cassette cromosómico denominado SCC*mec*.[148]

SCC*mec* no contiene genes de virulencia, se le conoce como una isla de resistencia a antibióticos (aparte de conferir resistencia a β-lactámicos, contiene genes de resistencia adicionales como resultado de la integración de plásmidos y transposones, lo que le confiere resistencia a eritromicina, espectinimicina, tetraciclina, kanamicina y otros). [15]

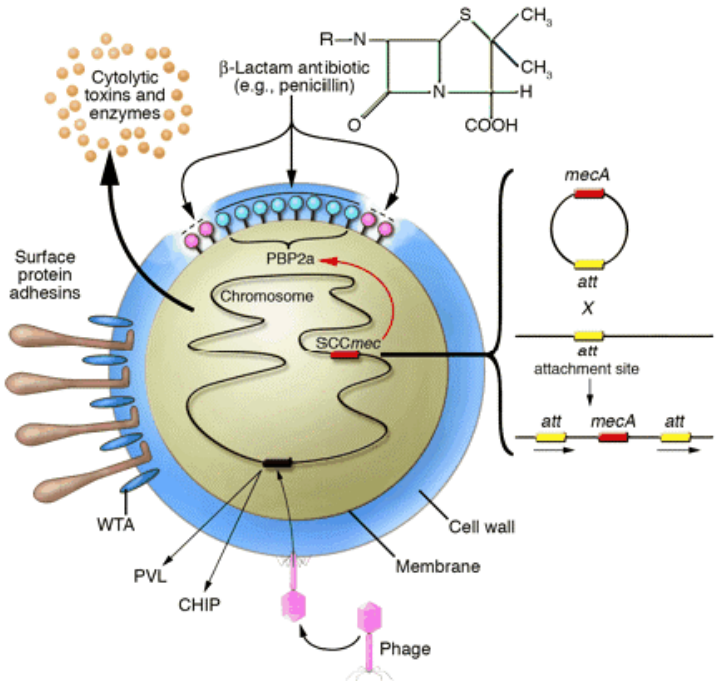


Figura 18. Representación del cromosoma de MRSA, que contiene SCC*mec*, se observan los segmentos representativos: principalmente el gen *mecA* que codifica para PBP2a, la expresión de esta última tiene como consecuencia la síntesis normal de la pared celular, ya que los antibióticos β-lactámicos no se pueden unir a estas proteínas.[128]

7.1 Estructura del cassette cromosómico *SCCmec*

El SCC*mec* tiene tres componentes génicos esenciales: el complejo del gen *mec*, el complejo de los genes *ccr* (que codifica para recombinasas) y una región conocida como *J* ("junkyard", conformada por elementos cuya constitución puede variar), sin ser todos ellos fundamentales.[15, 24, 82, 123,148]

7.1.1 Complejo *mec*

La clase original (la clase A) contiene dos genes intactos *mecI y mecRI* (Ver figura 19). Cuando estos genes reguladores están intactos y son completamente funcionales parece que confieren una mayor represión en la expresión de PBP2a (reprimen la transcripción de *mecA*). El gen *mecI* codifica para una proteína represora de la transcripción: MecI. El gen *mecR1* codifica una proteína de transducción de señal promotora MecR1. La proteína MecI y MecRI regulan la transcripción inducible de *mecA* de la siguiente manera: MecR1 registra la presencia de antibióticos β-lactámicos con su dominio extracelular de unión a penicilina y activa su dominio citoplásmatico en forma de proteasa, por rompimiento autocatalítico. Esta proteasa rompe la proteína represora MecI que se encuentra unida al sitio del promotor del gen *mecA*, liberando la represión de la transcripción, por lo que se lleva a cabo la expresión del gen *mecA* produciéndose la proteína PBP´2a. [3,15, 36,45, 59, 132.] PBP´2a es una transpeptidasa que cataliza la formación de puentes cruzados de peptidoglucano de la pared celular bacteriana. [15]

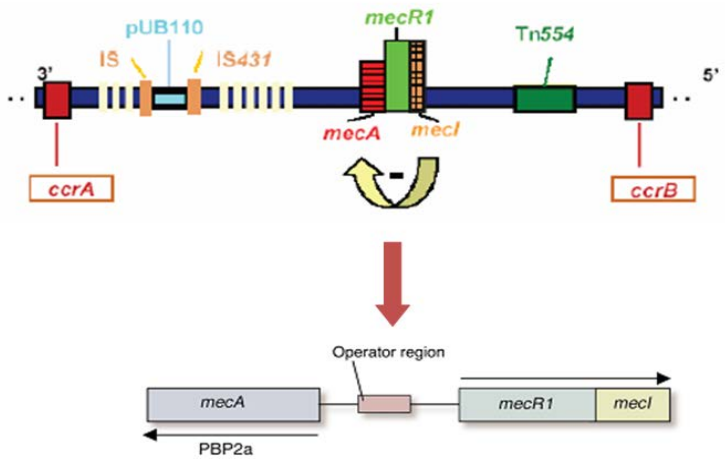


Figura 19. Fragmento del complejo *mecA*. El gen *mecR1* codifica para la proteína MecR1, la cual inactiva a MecI, dejando libre el promotor y permitiendo la transcripción de la PBP2a.[45]

Con base en su estructura se han identíficado cuatro clases de complejo *mec* (ver tabla 5). Las clases A y B son las más comunes en *S. aureus* y la C en *S. haemolyticus*, sin embargo se detectó un nuevo tipo de cassette SCC*mec* en *S. aureus* que presento la clase C. La clase D se ha detectado solo en *S. hominis* [36, 132.] Actualmente se menciona una nueva clase E que sigue en discusión, ya que experimentalmente se ha observado que la diferencia con la clase D es solo una deleción, por lo cual podría ser solo una variante.

Tabla 5. Principales clases del complejo *mec*[138]

Clase	***Estructura***	***SCCmec***	***Especie***
A	*mecI-mecR1-mecA-IS431*	*II, III*	*S. aureus*
B	*IS1272-DmecR1-mecA-IS431*	*I, IV, VI*	*S. aureus*
C	*IS431-DmecR1-mecA-IS431*	*V, VII*	*S. aureus*
D	*DmecR1-mecA-IS431*	-	*S. hominis*
E	*DmecR1-mecA-IS431*[a]	-	*S. aureus*

[a] 976 pb en la deleción de *mecR1*, en comparación con la clase D del complejo mec

El gen *mecA* posee varias características importantes a destacar:

1 Se adquiere de manera horizontal [55,83,138]

2 Su longitud es de 2.1 Kb [83, 138,]

3 Codifica para una proteína alterada de unión a la penicilina (PBP2a, por las siglas en ingles de Penicillin binding protein 2a), esta proteína se caracteriza por su baja afinidad para los antibióticos β-lactámicos y por tener solo un dominio transpeptidasa, por lo que necesita apoyarse en la actividad de transglicosilación de la proteína normal (PBP2) para la formación de peptidoglucano de la pared celular y la división celular cuando las enzimas habituales son inhibidas por los antibióticos β-lactámicos .[55, 83, 138]

4 La proteína PBP2a presenta una migración electroforética entre PBP2 y PBP3, tiene un tamaño molecular de 78 KDa y se caracteriza por presentar muy baja afinidad por meticilina y todos los β-lactámicos.[55,82]

5 Experimentalmente se ha visto que cepas sensibles a meticilina carecen de PBP2a.[55,82]

6 El gen *mecA* esta altamente conservado entre las distintas especies del genero *Staphylococcus* [55] (Ver tabla 5) lo que hace posible su clasificación.

7 La región *mec* es inestable, se demostró que la pérdida fenotípica de resistencia a meticilina bajo condiciones de laboratorio como estrés fisiológico, presencia de agentes mutagénicos o subcultivos repetidos a 37^0C, es debida a la deleción de varios fragmentos de DNA del gen que porta la resistencia (gen *mec* o regiones vecinas).[55]

7.1.2 Complejo *ccr* (cassette chromosome recombinase)

El complejo *ccr* está compuesto por genes que codifican para recombinasas sitio-específicas responsables de la movilización del SCC*mec*, ellas median su integración del elemento SCC*mec* dentro del cromosoma y su incisión exacta y por lo tanto son responsables de su movilidad, hasta la fecha se han reportado cinco tipos de *ccr,* cuatro de ellos son alotipos denominados del 1 al 4, que comparten aproximadamente el 80 % de la identidad y que presentan los genes ccrA y *ccrB*, el quinto tipo recientemente descrito, denominado *ccr5* o *ccrC*, presenta el gen *ccrC* y no se encuentra relacionado con los genes *ccrA* y *ccrB*. [15, 36, 45,132] Se designa *ccrA1 ccrB1* (SCC*mec* tipo I), *ccrA2 ccrB2* (SCC*mec* tipo II y IV), *ccrB3 ccrA3* (SCC*mec* tipo III), *ccrA4 ccrB4* (SCC*mec* tipo VI) y la *ccrC* (SCC*mec* tipo V y VII). Los tipos SCC*mec* están determinados por el tipo de complejo y los genes *ccr*. [138] Este complejo se encuentra ubicado adyacentemente a ORF´s. [15, 36, 132]

7.1.3 Región *J* (Junkyard)

El resto del casete cromosómico contiene secuencias de la región *J*, que comprenden tres fragmentos denominados *J1, J2 y J*3, puede contener plásmidos o transposones portadores de genes de resistencia a antibióticos β-lactámicos y a metales pesados. Aunque los fragmentos *J* no son específicos de cada tipo de SCC*mec*, se ha observado que en *S. aureus*, hay diversas variantes de SCC*mec* en las cuales difiere la región *J*.[95,138]

7.1.4 Regiones no mec del SCC*mec*

Se ha reportado que el SCC*mec* no está restringido a la movilidad del gen *mecA*, el posee elementos adicionales, denominados no *mec*, que contribuyen a la supervivencia y al potencial patogénico de *S. aureus*. Entre los elementos no *mec* se encuentran secuencias que codifican para la resistencia a metales pesados como el mercurio (*pI258*), la resistencia a la tetraciclina es codificada por *pT181, Tn554* contiene el gen *erm A*, que codifica para la resistencia constitutiva e inducible a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLS), además tienes genes que codifican para la resistencia a cadmio, al ácido fusídico, y secuencias para la biosíntesis capsular (*SCCcap1*), para la protección del DNA por sistemas de modificación-restricción (*SCCC1*) y para el catabolismo de arginina (ACME, por las siglas en ingles arginine catabolic mobile element). PUB110 que codifica la resistencia a trobamicina/bleomicina. La secuencia de inserción IS431 ha sido frecuentemente asociado con genes que codifican para la resistencia a diversos antibióticos y al mercurio, cadmio y tetraciclina. La mayoría de estos elementos han sido reportados en *Staphylococcus* coagulasa-negativa lo que sugiere nuevamente, su transferencia de esta especie a *S. aureus*. [15, 36,45,132,138]

7.2 Tipos de casete cromosómico *mec (SCCmec)*

El elemento SCC*mec* se clasifica en base a los polimorfismos genéticos en los complejos del gen *mec* y en el tipo de complejo *ccr* que ellos poseen y son clasificado en subtipos de acuerdo a las diferencias en su región *J* del DNA, existen cuatro clases principalmente del gen *mec* (A,B,C y D) y cuatro alotipos del complejo *ccr* (1,2,3 y 4) [7]. Hay diferentes combinaciones de las clases del complejo *mec* y de los alotipos del complejo *ccr* los cuales generan varios tipos del casete *SCCmec*. Las variaciones en la región *J* (aun teniendo la misma combinación de los complejos *mec* y *ccr*), definen los subtipos o variantes. [138]

En la actualidad se han descrito 7 tipos de SCC*mec* designados de I al VII (Ver figura 20), sus tamaños varían de 20.9 Kb a 66.9 Kb (Ver tabla 6). Los tipos I, II, III, y VI se han asociado frecuentemente a infecciones nosocomiales, en contraste los tipos IV, V, y VII se han encontrado en cepas de MRSA adquirido en la comunidad.[15, 45, 132,138]

Recientemente se describió una variante del SCC*mec*, similar al tipo IV, pero portadora de un nuevo alotipo, el *ccrAB4,* que fue denominado tipo VI.[132]

El SCC*mec* tipo IV es el más variable hasta el momento se han descrito 8 subtipos que comprenden del IVa al IVh, el SCC*mec* tipo II contiene 5 subtipos, del IIa al IIe. Los tipos II y III se caracterizan por contener muchos determinantes de resistencia a antibióticos no β-lactámico y por su mayor tamaño, el II de 53 kb y el III de 66,9 kb. Los tipos I, IV y V solo contienen genes para recombinasas, genes estructurales y reguladores de la resistencia a meticilina, carecen de elementos transponibles y de genes que codifiquen para la resistencia a antibióticos no β-lactámicos, tienen un menor tamaño. El I es de 34,3 Kb, el IV es de 20,9 a 24,3 Kb y el V de 28 Kb, lo cual parece conferirles una ventaja evolutiva al facilitar su transferencia horizontal entre diferentes especies. El tipo V se diferencia de los otros por contener un grupo de genes foráneos que codifica para un sistema de restricción-modificación que parece estar involucrado en la estabilidad del elemento en el cromosoma. En la década de los años 70´s, el elemento IV se asoció con *S. epidermidis*, sin embargo, solo a partir de los 90´s se reportó su asociación frecuente con *S. aureus*, lo que sugirió un evento de transferencia horizontal de *mecA* entre dos especies de estafilococos diferentes, una patógena y otra comensal. En diversos estudios se han encontrado que los tipos II y IV se encuentran circulando en México. [14,77,82]

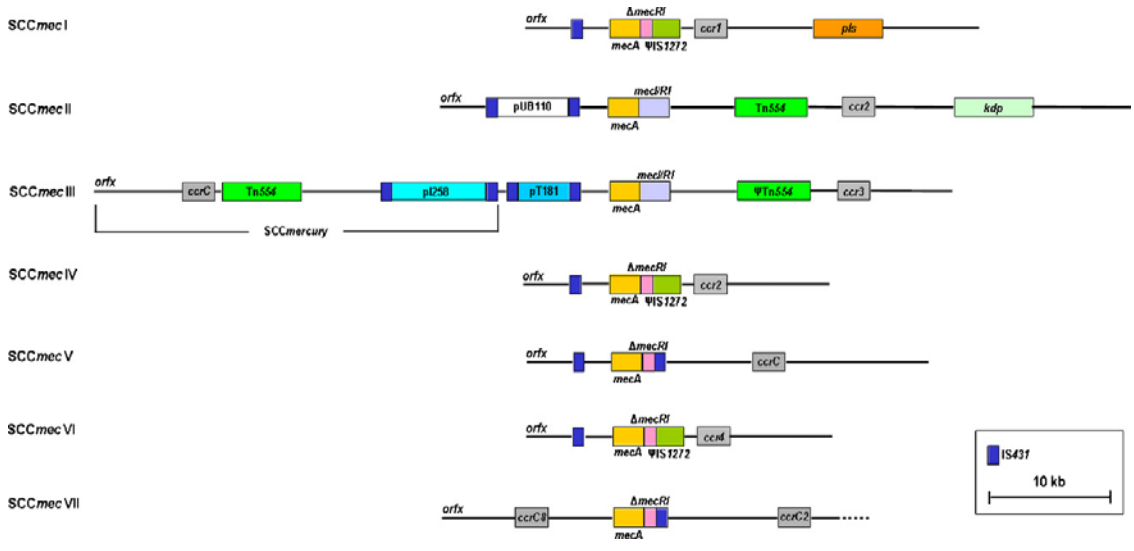


Figura 20. Descripción de los tipos de SCC*mec*. [138]

Tabla 6. Peso molecular de cada tipo de SCCmec.

TIPO SCC*mec*	Peso molecular
SCC*mec* I	34,3 kb
SCC*mec* II	53,0 kb
SCC*mec* III	66,9 Kb
SCC*mec* IV	20,9 hasta 24,3 kb
SCC*mec* V	28 kb
SCC*mec* VI	20,9 kb
SCC*mec* VII	35,9 kb

7.3 El Origen de SCC*mec*

Su origen y mecanismo de transferencia se desconocen, sin embargo, está demostrado que la transferencia ocurre de manera horizontal entre especies de estafilococos [3,82]. Dada la complejidad de los mecanismos de resistencia, se ha considerado poco probable que haya surgido por la presión selectiva de la penicilina, cuando se inicio su uso intensivo como medida profiláctica en veterinaria, luego de su introducción para uso en humanos. En este contexto se presenta el *Staphylococcus sciuri*, un colonizador frecuente de animales domésticos, como una de las especies implicadas, en él se identifico el gen *mecA* homólogo, con un alto porcentaje de similitud (87.8%) con el de *S. aureus*. Estas cepas de *S. sciuri* eran susceptibles a la meticilina, pero en presencia de *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina estas cepas se hicieron resistentes a la meticilina, debido a la mayor velocidad de transcripción del homólogo *mecA*, siendo clasificados ahora como MRSA.[55, 82]

Otros autores afirman que como todos los MRSA son descendencias clonales de las cepas ancestrales que adquirieron el gen *mec*, desconociéndose su forma de adquisición, probablemente fue por transposición a partir de ECN o como consecuencia de un evento de recombinación en que se fusionan alrededor de 300 pb de un gen de β-lactamasa estafilocóccicas y parte de un gen que codifica para la PBP de un organismo desconocido, tal vez *E. coli*.[21] La presencia de la secuencia de inserción IS_{1272}, característica de *S. haemolyticus*, en los tipos SCCmec I y IV, sugiere que esta secuencia fue

transferida de esta especie a *S. aureus*. Existe evidencia de que la historia evolutiva del *SCCmec* es independiente a la del gen *mecA*. [36, 82, 152,153]

Esto lo demuestra el hecho de que el SCC*mec* puede existir en forma independiente del gen *mecA*, y que este último puede existir en ausencia de los elementos que componen el SCC*mec*, como ocurre en especies de ECN.[36,82]

7.4 Distribución clonal de MRSA

En la actualidad, la tipificación molecular juega un papel importante en el diagnóstico y manejo de infecciones estafilocóccicas; aportando nuevos datos que han dado origen a la epidemiología molecular. [15,153]

Existen diversos métodos de tipificación: serotipificación, electroforesis por multilocus enzimático, polimorfismos de fragmentos largos de restricción, ribotipificación, polimorfismos del gen *mecA*, electroforesis de campos pulsados y tipificación por secuencia de multilocus (MLTS), pero hasta el momento ninguno de estos métodos ha sido adoptado como estándar internacional.[153]

Algunas cepas analizadas de MRSA en años recientes, que circulan en diferentes áreas geográficas del mundo y de diferentes periodos tienen una estructura clonal conservada. Éstas se conocen como clonas MRSA pandémicas, dos esfuerzos independientes se han descrito recientemente para establecer las relaciones epidemiológicas. [15, 152,153]

1. El primer proyecto realizado por una red de colaboración con el Centro de Epidemiología Molecular (CEM/NET), en el cual se incluyeron aislamientos de Europa, América Latina, EUA, Taiwán, China y los primeros aislamientos de MRSA recuperados en Dinamarca e Inglaterra, los cuales sumaron mas de 3000 cepas de MRSA para su tipificación molecular, dieron como resultado la identificación de cinco clonas pandémicas, las cuales se muestran en la tabla 7.[15,153]

La primera cepa de MRSA (NCTC10442) que se aisló en el Reino Unido en 1960 albergaba SCCmec tipo I. Este clon de MRSA ahora se conoce como el clon arcaico y lo distribuyó todo el mundo en la década de 1960. [138,83] La clona Ibérica se descubrió en España en 1989 y posteriormente se reporto en Portugal, Italia, Reino Unido, Alemania, Bélgica, Suiza, Francia, Polonia, República Checa y EUA. La clona Húngara se encontró por primera vez en hospitales de Hungría en 1997 y después se localizo en Tailandia, Taiwán y China. La clona Nueva York/Japón se determinó como una clona dominante en

hospitales de Nueva York en 1998 y posteriormente en Japón. La clona pediátrica se identificó en 1992 en un hospital pediátrico de Portugal y después se ha localizado en Polonia, EUA, Argentina, Colombia y Brasil. La clona Brasileña descrita en un principio en Brasil en 1995, se ha diseminado en Portugal, Argentina, Uruguay, Chile y República Checa.[36,82,152,153]

El estudio de la determinación de clonas en América Latina encontró que la clona Brasileña es la que predomina y persiste en Argentina (86%), Uruguay (100%) y Chile (56%); también se observó la presencia de la clona M presente en México, dicha clona M, fue detectada en 1997, y logró desplazar completamente en el 2002 a la cepa Nueva York/Japón, que se introdujo en los hospitales en 2001. [82, 152,153]

La diseminación de las clonas MRSA en amplias zonas geográficas refleja su amplia habilidad para causar infecciones, persistir y diseminarse de una región a otra, más aún a diferentes continentes.[15,82]

La conclusión global de estos estudios fue que MRSA tienen una estructura clonal conservada en comparación con *S. aureus* sensibles a meticilina, y que un número reducido de clonas cuenta con la capacidad de diseminación global.[152, 153]

Tabla 7. Distribución de las principales clonas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes [152]

Clona	***País o Ciudad***	***Año de descripción***
Clona Ibérica	España, Portugal, Italia, Reino Unido, Alemania, Bélgica, Francia, República Checa y EUA.	1989
Clona Brasileña	Brasil, Portugal, Argentina, Uruguay, Chile y República Checa.	1995
Clona Pediátrica	Portugal, Polonia, EUA y Argentina	1992
Clona Húngara	Hungría, Taiwán y China.	1997
Clona Nueva York/Japón	Nueva York, Nueva Jersey, Pensilvania, Connecticut, EUA, Tokio, Japón y México.	1998

2. El segundo análisis se baso en el análisis por MLST de clonas de MRSA y la creación de una base de datos central en el sitio www.mlst.net, del cual se desprende la nomenclatura utilizada recientemente.[143,153]

Las conclusiones que se desprendieron del estudio anterior son las siguientes:

a) Los genes que se encuentran en todas las cepas, son genes esenciales y altamente conservados (> 97 %).

b) Dentro de esta secuencia de genes, se encuentran los genes variables (CV), los cuales son más de 700 y su patrón de distribución define los linajes de *Staphylococcus aureus*.

Los linajes se definen con una combinación única de CV, y son la base de la MLST, ya que esta técnica implica la secuenciación de siete genes constitutivos y la asignación de secuencias tipo ST (combinaciones alélicas), agrupando los polimorfismos y cada grupo se define como complejos clónales (CC).

La mayoría de los CV tiene funciones conocidas, como codificar para proteínas de superficie, que se sabe que interactúan con los genes esenciales así como con sus reguladores.[143,153]

c) Existe un tercer grupo de genes denominados MGEs, que son grandes piezas de ADN que codifican para la movilización, transferencia y recombinación.

MGEs se puede definir como fragmentos de ADN que puede mediar su propia transferencia a las células del nuevo huésped, así como su propia replicación, bien de forma autónoma o mediante la integración en un anfitrión de nuevas moléculas de ADN. MGEs está compuesto por: Islas de patogenicidad, plásmidos,transposones,y cassette cromosómico *mec* (SCC*mec*); y, los genes de leucocidina Panton-Valentine (PVL), y muchos factores determinantes de la resistencia transmitida por plásmidos y transposones.[143,153]

El transporte de MGEs en una cepa de *S. aureus* tiene la capacidad de alterar el éxito y el potencial patogénico y la resistencia de esta cepa, así como también existen pruebas de la pérdida de la transferencia y la frecuencia y/o la adquisición de MGEs entre cepas. También hay evidencia de que algunos MGEs se distribuyen dentro de ciertos linajes con mayor frecuencia que otros,

lo que sugiere la presencia de algunas barreras para la transferencia horizontal de genes del MGEs.[143]

La transferencia horizontal de los genes entre linajes está restringida por la función de los genes *hsdS.* Las cepas con genes *hsdS* diferentes modifican y digieren el DNA, el resultado es que cada linaje reconoce el ADN de otras cepas como extraño, dando lugar a la evolución independiente de cada linaje. Los linajes principales se pueden identificar por sus variantes génicas del gen *hsdS.*[143]

8. Staphylococcus aureus RESISTENTE A METICILINA HOSPITALARIO (HA-MRSA "Hospital acquired MRSA")

El primer mecanismo de resistencia de *S. aureus* data de los años 40´s del siglo XX, cuando se introdujo la penicilina como antibiótico para tratar las infecciones por este patógeno. Desde entonces reemergieron rápidamente cepas resistentes productoras de penicilinasas. Luego en los años 50´s se dispuso de los primeros β-lactámicos estables a la acción de las penicilinasas, tales como las cefalosporinas de primera generación y la meticilina semisintética, sin embargo poco tiempo después aparecieron cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina, conocidas como MRSA por sus siglas en ingles "*Methicillyn resistant S. aureus*", observadas por primera vez en Inglaterra en 1961, en aislamientos nosocomiales. Desde entonces, las cepas de MRSA se han diseminado gradualmente a todo el mundo, y se les encuentra principalmente en las instituciones de atención especializada[15, 26].

En las primeras décadas a partir de su aparición, estas cepas se asociaron al ambiente hospitalario por lo que se les conoció como HA-MRSA (por sus siglas en ingles de Hospital acquired MRSA).[143]

Las infecciones nosocomiales se definen como aquellas infecciones que no estaban presentes, ni en periodos de incubación, al momento en que el paciente ingreso al hospital, el CDC (Centers for Disease Control and Prevention) define como infección nosocomial el simple hecho de que éste se aísle de un paciente tras 48 h de estancia hospitalaria siempre que no presente signos de infección por ese microorganismo al ingreso.[15]

Se ha asociado él HA-MRSA a varios factores de riesgo entre los que destacan hospitalización reciente y permanencia en unidades de cuidados intensivos, el uso de antibiótico de amplio espectro, un mayor número de pacientes inmunocomprometidos en los hospitales y una mayor utilización de medios invasivos, como catéteres y sondas, que facilitan la entrada y colonización de cepas de MRSA a la sangre y tejidos, con el agravante de que los trabajadores de salud y los pacientes colonizados por MRSA pueden convertirse en nuevos focos de infección. Además de deteriorar la salud de los individuos, las infecciones de HA-MRSA generan una gran carga para las instituciones de salud, por su fuerte asociación con las altas tasas de

mortalidad y morbilidad y por el incremento en los costos de la estancia hospitalaria, por lo que se han establecido políticas de rutina sobre la vigilancia de enfermedades estafilocóccicas adquiridas en hospitales. Ya que *S. aureus* es la principal causa de infecciones adquiridas después de una operación y la segunda causa más frecuente de neumonía nosocomial y bacteremia. [15,26].

Las cepas de MRSA ingresan a los hospitales a través de pacientes, visitantes o trabajadores de asistencia, el cruzamiento de infecciones de paciente a paciente, o de personal de hospital y de pacientes, presenta un peligro constante. Históricamente *S. aureus* ha sido ejemplo de un microorganismo implicado en la infección cruzada y ahora es uno de los patógenos más importantes y diseminados dentro del hospital. El personal del hospital o pacientes colonizados han sido identificados frecuentemente como la fuente de brotes, sin embargo, otros datos muestran que muchas infecciones por *S. aureus* tienen su origen en la flora endógena en los pacientes. Hasta ahora la HA-MRSA es reconocida como endémica en los hospitales.[26] Siendo la principal causa de osteomielitis, endocarditis invasora, artritis séptica y septicemia.[15, 26]

En México se tiene reportado un promedio del 10 al 15 %. El impacto más importante de este problema es la mortalidad, la cual se estima en promedio de 5%. Por ejemplo, se estima que en México, de los 6 600 000 pacientes que recibieron atención médica hospitalaria, entre 600 000 y 750 000 presentaron infección nosocomial y de éstos murieron entre 30 000 y 45 000 por esta causa. El área hospitalaria con mayor frecuencia de infecciones nosocomiales es la Unidad de Terapia Intensiva.

En México se cuenta con la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE), la cual reportó que en el periodo de 1998-2003, *S. aureus* ocupó el tercer lugar en morbilidad y cuarto lugar en mortalidad. En un estudio realizado en hospitales pediátricos, se encontró que *S. aureus* ocupa el cuarto lugar de microorganismos causantes de infecciones nosocomiales. Diversos estudios de vigilancia de las infecciones nosocomiales en México indican que del 8.3 al 36% de estas infecciones se debe a *S. aureus*. [153]

La incidencia de infecciones nosocomiales oscila entre 3.8 y 26.1 casos por cada 100 egresos; la mortalidad asociada con infecciones intrahospitalarias en promedio es 5% y para el 2001 ocupó la séptima causa de muerte. Los

recursos para el control de las infecciones por MRSA siguen siendo limitados y los MRSA son una de las principales causas de infección nosocomial en nuestro país, sin embargo, la magnitud del problema no se entiende completamente, ya que los datos tienden a provenir de grandes hospitales, mientras que gran parte de la población es atendida en centros comunitarios de salud que no cuentan con amplias instalaciones para realizar vigilancia microbiológica. En México los estudios demuestran un aumento en la prevalencia de los MRSA durante los últimos años, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el 2004 reportó una prevalencia de MRSA del 52%, la Asociación Panamericana de Enfermedades Infecciosas para 2006 reportó una tasa de MRSA de 32% y datos más recientes del 2008 mostraron una prevalencia del 48% de MRSA.[163]

9. *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA COMUNITARIO (CA-MRSA, “community-acquired MRSA”)

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (MRSA) es una causa importante de infecciones nosocomiales en todo el mundo. Sin embargo, la epidemiología del MRSA está cambiando ya no se limita a los pacientes hospitalizados o personas con factores de riesgo predisponentes. Los brotes de MRSA adquiridos en la comunidad (CA-MRSA; "community-acquired MRSA") se han reportado en todo el mundo. La adquisición de estas cepas se realiza fuera de los tradicionales factores de riesgo de las cepas MRSA hospitalarias, son susceptibles a pocos antibióticos y presentan la inclusión de factores de virulencia específicos. [53,138,143]

Para clasificar una cepa de *S. aureus* como CA-MRSA se debe cumplir con la condición de que sea una cepa aislada en la comunidad en pacientes que no tienen los factores de riesgo de una infección nosocomial, estos factores son: hospitalizaciones frecuentes y recientes, vivir por largos periodos en salas de cuidados especiales, estar expuestos a medios invasivos como sondas o catéteres, haber tenido cirugías recientes o diálisis , emplear drogas intravenosas o una prolongada exposición a los antibióticos[15,67,105,]

9.1 Origen de CA-MRSA

El origen de las cepas CA-MRSA todavía está sujeto a debate. Una posibilidad es que sean descendientes silvestres de cepas hospitalarias, por medio de una transformación vertical. En un estudio se observó varias similitudes entre la CA-MRSA y HA-MRSA, y planteó la posibilidad de que algunas cepas CA-MRSA se originaron en hospitales. Ha sido demostrado recientemente que una clona de CA-MRSA y HA-MRSA tienen un ancestro común. [138]

En contraste, existen estudios que demuestran que CA-MRSA se originó a través de la adquisición de SCC*mec* tipo IV por MSSA. Hay estudios que apoyan esta teoría en Japón. Consisten en la observación de cepas PVL-positivas de MSSA que estaban presentes en la comunidad japonesa en 1960, y adquirieron el SCC*mec* tipo IV para convertirse en la clona PVL –positiva, MRSA-ST30-IV.[138]

Otros autores apoyan esta teoría de que el MRSA nace de la asociación de dos genotipos: el genotipo resistente de un *Staphylococcus epidermidis* y el de un *Staphylococcus aureus* meticilina sensible más virulento, lo cual se sustenta en el hecho de que secuencias dentro de la región "upstream" de los genes *ccr* del elemento SCC*mec* IV fueron encontrados en aislamientos de *S. epidermidis* en 1970, y que raramente se describieron en *S. aureus* antes de 1990, surgiendo un intercambio horizontal entre especies de estafilococos. La transferencia horizontal es posible gracias a los genes *ccr*, estos se encuentran en SCC*mec* y codifican proteínas que catalizan la escisión precisa y la integración sitio específica del gen *mec* en el cromosoma de *S. aureus*. Se piensa que esta transferencia ocurre poco, por lo que las cepas CA-MRSA son consecuencia de alguno de estos eventos de transferencia del gen *mec*, de un donador a un receptor susceptible. Con respecto al gen PVL puede ser que se haya adquirido a través del fago OSLT. De igual manera los cassettes cromosomales SCC*mec* IV y V, poseen un tamaño pequeño y contienen elementos génicos móviles, esto puede tener como consecuencia que se muevan rápidamente entre los diversos ambientes genéticos de las cepas de *S. aureus* sensibles a meticilina que circulan en la comunidad, aumentando la probabilidad de tener nuevas cepas CA-MRSA[15,143].

Se sabe que *S. aureus* incluyendo el MRSA puede colonizar al individuo por periodos muy largos sin ser detectados y presentarse la infección tiempo después, este hecho es el que dificulta determinar el origen real de las cepas que causan infección en la comunidad. La dificultad para definir el origen de las cepas ha generado un auge en el desarrollo de estudios moleculares, que han contribuido entre otras cosas, a distinguir entre las cepas realmente adquiridas en la comunidad y aquellas de origen nosocomial. Inicialmente las cepas de HA-MRSA exhibieron una expansión clonal, por más de un decenio un solo clon fue el responsable de las epidemias de HA-MRSA en los diversos hospitales, pero en los años subsiguientes empezaron a surgir y a extenderse por todo el mundo nuevas clonas. En la actualidad existen gran cantidad de clonas pandémicas de HA-MRSA que muestra grandes diferencias genéticas: así se ha demostrado por métodos genéticos como la secuenciación de múltiples locus (*Multilocus sequence typing-MLST*), que portan diferente tipos de SCC*mec*. Este comportamiento contrasta con la evolución de las cepas de

CA-MRSA, que en su origen mostraron una mayor diversidad genética pero en la actualidad solo unas pocas clonas son responsables de las epidemias de CA-MRSA en el ámbito mundial. Tal vez la característica más notable del genotipo CA-MRSA es su éxito evolutivo, lo que resulta en su rápida aparición de clonas en todo el mundo.[143]

9.2 Epidemiología mundial de MRSA

La tasa de mortalidad asociada con infecciones invasivas por MRSA se estima en aproximadamente 20% [59,108], pero esta cifra varia considerablemente entre los estudios de diferentes países, ya que no pueden ser comparados debido a las diferencias respecto a los diseños de estudio como en la población. [77, 90, 105,143.]

Estudios realizados en España (ver figura 21), llevados a cabo por el mismo equipo de investigadores en los años 1986, 1991, 1994, 1996, 2002 y 2006 puso de manifiesto el progresivo incremento de la prevalencia de MRSA que, en las sucesivas revisiones pasó de un 1,5%, a un 11,2, 16,6, 17,9, 31,2 y 29,2% respectivamente. Asimismo, un estudio de cepas procedentes de infecciones observadas entre 1993 y 2003 en 296 hospitales mostró un incremento de la resistencia desde el 22 % en 1993 al 41% en el 2003.[78] Finalmente se concluyó que en Europa, la prevalencia reportada oscila entre 25 y 50%.[44, 78, 149]

Las tasas más altas que se han reportado de MRSA (> 50%) se registran en el Norte y el Sur de América, República de Malta, Asia, y en el Este de Asia, especialmente en Sri Lanka (86,5%), Corea del Sur (77,6%), Vietnam (74,1%), Taiwán (65,0%), Tailandia (57,0%) y Hong Kong (56,8%). Las tasas intermedias (25-50%) son reportadas en China, Australia, África y algunos países europeos, por ejemplo, Portugal (49%), Grecia (40%), Italia (37%), Rumanía (34%) e India (22,6%). Otros países europeos tienen en general las tasas de prevalencia baja por ejemplo: los Países Bajos y Escandinavia [62, 88, 111, 141,143]

La prevalencia de HA-MRSA se ha reducido en los últimos años en algunos países europeos, por ejemplo: en Austria, Francia, Irlanda, Reino Unido y Grecia. En otros países europeos la prevalencia se ha mantenido bastante estable.[44] Las clonas más frecuentes de MRSA analizadas en todos

los continentes entre 1961 y 2008 fueron CC5, CC8, CC22, CC30 y CC45 .[31] Esta nueva nomenclatura basada en la técnica MLST.

A nivel mundial, algunas clonas de HA-MRSA se han difundido a nivel internacional.

Análisis de SNP del CC5 (ST5) demostraron que esta clona parece haber evolucionado muchas veces, en muchos países, mediante la adquisición del cassette SCC*mec* CC5 (ST5), aunque esto no puede ser cierto para todos los HA-MRSA.[88, 143]

En cambio, las primeras cepas de CA-MRSA fueron reportadas en la década de 1980, en adelante los brotes se han documentado en poblaciones de la comunidad por separado, como los nativos americanos, los soldados, los homosexuales, los presos, niños en guardería, y los atletas. Aunque las razones para el surgimiento de MRSA en estos grupos no está claro, existen factores en común como son: la falta de higiene, los factores socioeconómicos, y el amplio uso de antibióticos previos. Las tasas de prevalencia son altas en EE.UU., Australia, América del Sur, Japón y el sur de Europa, mientras que son bajas en los países escandinavos, Países Bajos y Suiza.[62, 90, 93, 111, 122,143]

Sólo unas pocas clonas de CA-MRSA se han diseminado a través del mundo. Se han identificado dos clonas principales, la USA300 y la USA400. La clona USA300 se ha localizado en jugadores de fútbol y presos, mientras que la cepa USA400 se ha encontrado en varias poblaciones étnicas.[101]

La clona USA300 ha causado brotes epidémicos de infecciones de la piel y tejidos blandos en individuos sanos en 21 estados de EUA, Canadá y Europa. Se cuenta ya con la secuencia completa de su genoma. Además del gen PVL y del SCC*mec* IV, cuenta con un nuevo elemento genético móvil que codifica una vía para la desaminación de la arginina, que se le denomina elemento genético móvil para el catabolismo de la arginina ("arginine catabolism mobile element", ACME), y puede contribuir al crecimiento y supervivencia de la clona USA300. Este elemento se encuentra normalmente en *S. epidermis*, por lo que se sugiere una transferencia a partir de estos estafilococos a la clona USA300.[101, 132]

En un estudio realizado en EUA se determinó que la clona más común de CA-MRSA fue la USA 300 (97%) en una población de 11 hospitales, esta clona corresponde al CC8-ST8, SCCmec tipo IV, PVL; es una cepa sensibles a

la rifampicina, trimetoprim / sulfametoxazol (SXT), clindamicina y tetraciclinas, este fenotipo es el principal responsable de la SSTIS, aunque también puede causar graves infecciones como la neumonía necrotizante.[105, 143]

En otro estudio, se observó que la colonización de CA-MRSA aumentó de 8,0% en 2001-2002 al 17,2% en 2003-2004 en la población de los EE.UU.[111, 143]

En comparación con los EE.UU., las infecciones de CA-MRSA se han mantenido poco frecuentes en Europa Occidental y ST80 no se ha extendido a América del Norte. Las razones aún se desconocen.[62, 101,111]

En Asia oriental, la proporción de CA-MRSA se encuentra en el rango <5% (Tailandia y la India) a > 30% (Vietnam, Filipinas, Taiwán y Sri Lanka).[122,143]

La cepa USA300 se ha extendido de forma esporádica a través del Atlántico a Europa en los últimos años.[93, 143]

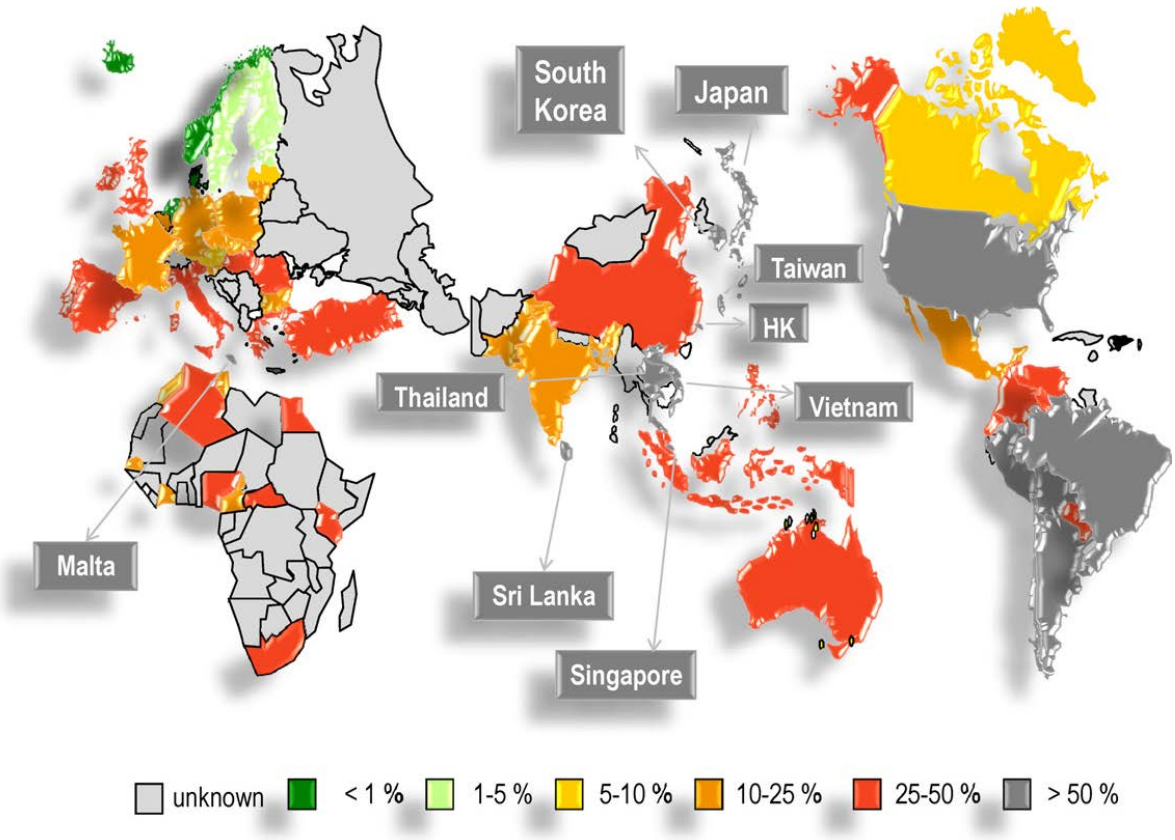


Figura 21. Epidemiología mundial y prevalencia de MRSA en el mundo.[143]

9.2.1 En México

En México existen estudios escasos de epidemiología de MRSA, el único lugar donde se llevan acabo estas investigaciones es en el Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas. Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México, el cual esta a cargo de la Dra. María E. Velázquez-Meza.[164]

Hay un primer informe de la clona de CA-MRSA (USA300) en este hospital que afecto a tres niños de edades de ente 1-7 años.

El primer niño de 1.4 años en noviembre del 2007, con antecedentes de retinoblastoma en el ojo izquierdo, cuando se inició en la quimioterapia. En febrero de 2008, regresó al hospital con fiebre de una duración de 2 semanas y los otros dos niños, previamente sanos, de 3 y 7 años de edad, llegaron al hospital con abscesos con reacciones locales severas, desde donde se aisló MRSA. Después del drenaje, ambos fueron tratados con clindamicina.

Otros dos pacientes fueron adultos previamente sanos, una mujer de 24 años de edad y un hombre de 23 años de edad, con abscesos que requirieron ingreso hospitalario. El drenaje de las lesiones y el cultivo de las muestras dieron como resultado MRSA, los pacientes fueron tratados con linezolid. Todos los pacientes fueron dados de alta después del tratamiento clínico, y no se informó de una recaída.[155]

Artículos anteriores solo muestran la presencia de una clona denominada clona M en nuestro país, secuencia de tipo 30 [ST30] estafilococos cassette cromosómico *mec* [SCC *mec*] tipo IV, que estuvo presente en un hospital pediátrico de la Ciudad de México. Curiosamente, aunque el clon M representaba a todos los aislados de MRSA entre 1997 y 2000 en el hospital pediátrico no ha sido reportado en otros países de América Latina hasta el momento, solo hay reportes de esta clona en hospitales de Grecia. La clona M (por su origen México) mostro un patrón limitado de resistencia (resistencia a β-lactámicos y gentamicina), esta clona evoluciono a la clona C que es resistente a múltiples fármacos (β-lactámicos, gentamicina, ciprofloxacina, clindamicina y eritromicina). Ambas clonas tiene similitudes con las clonas Pediátricas y de New York y Japón, la hipótesis que se plantea es que se traslado de EUA a México.[153, 154,155]

Y de acuerdo con diversos estudios realizados en los años 1980, 1990 y 2000, la prevalencia de MRSA en los hospitales mexicanos se estima que varían de 7 a 30%. [112]

En México no se tiene un registro del número de infecciones graves, ni del desenlace de las infecciones por MRSA tanto hospitalario como comunitario. Los reportes de infecciones por CA-MRSA en niños se limitan a series de casos o estudios en portadores. Velázquez y sus colaboradores investigaron la presencia de portadores de MRSA en guarderías del norte y sur de México, en 10 % encontraron colonización de *S. aureus* y en 0.93% de MRSA en el año 2003. La resistencia a la eritromicina, la clindamicina, el trimetropim/sulfametoxazol, la gentamicina y la ciprofloxaciona fue de 72, 32, 22,18 y 4.5 % respectivamente. Las 22 cepas de MRSA fueron separadas en seis clonas mediante electroforesis en gel por campos pulsados, uno de los perfiles presento similitud con la clona USA 100, esto refleja la capacidad de diseminación, gracias a la migración de poblaciones de este tipo de microorganismos.

En México la información sobre la magnitud del problema se ha centrado en reportes hospitalarios de tercer nivel. La frecuencia de MRSA en estos es elevada aproximadamente 50-85%. [112]

9.3 Aspecto clínico de la enfermedad

Los síntomas de las infecciones causadas por CA-MRSA son similares a las provocadas por MSSA pero claramente distinta de la causada por HA-MRSA.

HA-MRSA frecuentemente causa bacteriemia e infecciones en las vías respiratorias, mientras que el CA-MRSA ha sido predominantemente aislado de infecciones de piel y tejidos blandos (SSTIS), específicamente los forúnculos, ántrax, abscesos y celulitis, son las manifestaciones clínicas más frecuentes. Las lesiones de MRSA (forunculosis y forúnculos) a menudo se confunden con picaduras de araña por los pacientes y los médicos. La gravedad de las SSTIS varía de leve a profundo (Ver figura 22), en ocasiones se requerirá ingreso hospitalario para la incisión quirúrgica, drenaje y antibióticos por vía parenteral. Los informes anecdóticos sugieren que las infecciones recurrentes de la piel por MRSA y la agrupación de las infecciones dentro de un hogar son relativamente comunes.[1, 110,143]

Además CA-MRSA causa linfadenitis cervical, otitis externa, otitis media con otorrea, o mastoiditis aguda y absceso retrofaríngeo, los abscesos retrofaríngeos se puede extender hacia abajo en el mediastino y se asocia con la trombosis venosa yugular, similar al síndrome de Lemierre, se ha reportado un número creciente de pacientes con infecciones periorbitaria y orbitaria, así como otras infecciones relacionadas con las estructuras del ojo, y también puede causar neumonía necrotizante y empiema, sepsis grave, infecciones musculo esqueléticas como piomiositis y osteomielitis, fascitis necrotizante, púrpura fulminante, y las infecciones diseminadas con émbolos sépticos.[122,143]

Estudios indican que las cepas CA-MRSA han adquirido dos propiedades importantes. Primero tienen la habilidad para colonizar eficientemente. Segundo, poseen una variedad de factores de virulencia que son necesarios para causar una serie de enfermedades, desde una simple forunculosis hasta abscesos profundos, osteomielitis, neumonía necronizante y sepsis, con peligro de muerte. Esta combinación de factores demuestra la profunda adaptabilidad de *S. aureus*.[110, 122,143]

Figura 22. a) Absceso por *S. aureus* sensible a meticilina b) Exacerbación de absceso provocado por MRSA. Nótese las diferencias clínicas significativas en ambos casos.

9. 4 Determinantes de virulencia de CA-MRSA

Las cepas de CA-MRSA a diferencia de las cepas HA-MRSA poseen numerosos factores de virulencia:

1. **Toxina *Panton-Valentine* (PVL):** la presencia de PVL se ha asociado con agravamiento de la enfermedad en adultos jóvenes y niños, las infecciones en la piel y los tejidos blandos evolucionan para dar lugar a la aparición de osteomielitis crónica y neumonía necrosante. La leucocidina bicompuesta responsable de destruir leucocitos y producir necrosis tisular: la codifican dos genes (*lukS-PV* y *lukF-PV*), que residen en un profago.[56,82, 92,132,159]

   La toxina se describió por primera vez en la década de 1930, es una exotoxina que es letal para los leucocitos, además de que es capaz de hacer que el tejido se necrose y destrucción de los leucocitos mediante la formación de poros en la membrana celular. El locus PVL es considerado como un marcador genético estable de las cepas de CA-MRSA y explica la alta frecuencia de lesiones en la piel y la aparición primaria de la neumonía necrotizante y fascitis necrotizante.[82, 132]

   Los síntomas clínicos se caracterizan por su gravedad y la presencia de necrosis, abscesos y destrucción de los tejidos, sus síntomas son, inflamación local y general, las lesiones siempre son dolorosas y reacciones generales como fiebre y astenia son frecuentes, incluso cuando la infección es localizada.

Las úlceras son a menudo múltiples, que pueden ocurrir a través de la auto-inoculación. Abscesos profundos pueden ser localizados en el tejido subcutáneo, músculo o en diversos órganos como los riñones, los pulmones o los huesos [56,159].

2. **α-hemolisina**: Existen hemolisinas, alfa, gama, beta y delta. Son productos extracelulares que afectan a eritrocitos. La α-hemolisina es la principal hemolisina de cepas de origen humano que daña a las plaquetas, participa en la activación de la vía autofágica, es la citotoxina mas examinada de *S. aureus,* es tóxica para un amplio rango de células de mamíferos, es particularmente activa contra eritrocitos, es dermonecrótica por inoculación subcutánea y es letal para los animales cuando se les inyecta por vía intravenosa.

   La α-hemolisina es considerada como un prototipo de las citotoxinas formadoras de poros y es citolítica para un gran número de células, entre las que se encuentran los monocitos, los linfocitos, eritrocitos, plaquetas, células endoteliales y células de cultivo. Es secretada por *S. aureus* y se integra en las regiones hidrófobicas de la membrana de la célula del hospedero, estableciendo heptámeros cilíndricos con la formación de poros de 1 a 2 nm, capaces de lisar las células eucariontes, el poro resultante permite el flujo de K^+ y otras pequeñas moléculas y la afluencia de Na^+, Ca^+ y pequeñas moléculas de bajo peso molecular, lo que hace que se lisen los eritrocitos [80,82]

3. **Proteína soluble en fenol (PSM):** Existen 4 subtipos de esta proteína, con actividad contra los neutrófilos. La expresión de PSM se eleva en la mayoría de las cepas CA-MRSA. En la mutante con deleción de la PSM se observa una virulencia atenuada. [80,82]

4. **ACME que se le denomina elemento genético móvil para el catabolismo de la arginina ("arginine catabolism mobile element", ACME) [67]:** En un estudio reciente, se construyó mutantes de ACME en un aislamiento clínico de USA300 para demostrar el papel de este elemento, en un modelo de conejo, y se observó que la supresión de ACME atenuó significativamente la patogenicidad de la cepa USA300. Estos datos apoyan la hipótesis ACME que aumenta el crecimiento y la supervivencia de la USA300. [80,101,138]

10. PRINCIPALES CARACTERISTICAS Y DIFERENCIAS ENTRE LAS CEPAS DE HA-MRSA y CA-MRSA

Desde el punto de vista microbiológico las cepas CA-MRSA son genéticamente diferentes a las cepas HA-MRSA (Ver tabla 8) destacándose por los siguientes aspectos:

1. Existe una exotoxina, la leucocidina de Panton-Valentine que habitualmente poseen las cepas CA-MRSA y esta asociada con procesos inflamatorios severos en piel y partes blandas, así como la neumonía necronizante.
2. CA-MRSA posee mayor rapidez de división celular y una alta de capacidad de diseminación.
3. Los genes de resistencia a meticilina se encuentran en una región de reciente identificación (SCC*mec* IV o V) distinta a la que poseen los MRSA hospitalarios clásicos, tienen los genes de resistencia a antibióticos adicionales que son típicos de las cepas HA-MRSA. Debido a esto solo son susceptibles a los antibióticos β-lactámicos y ocasionalmente a la eritromicina, se piensa que el origen de estas cepas no lo constituye la diseminación desde el hospital hacia la comunidad, sino que este nuevo agente nace de la asociación de dos genotipos: el genotipo resistente de un *S. epidermidis* y el genotipo de un *S. aureus meticilina* sensible más virulento[15, 69, 132,158]

Tabla 8. Principales características y diferencias entre las cepas HA-MRSA y CA-MRSA[15]

Cepas MRSA hospitalarias (HA-MRSA)	**Cepas MRSA adquiridas en la comunidad (CA-MRSA)**
Resistente a múltiples antibióticos	Resistente por lo general solo a los β-lactámicos y ocasionalmente a eritromicina
Contienen SCC*mec* tipos I,II,III y VI	Contienen los SCC*mec* tipos IV, V y VII
Presentan una gran cantidad de toxinas , excepto la toxina Leucocidina Panton-Valentine (solo la presenta menos del 5% de las cepas)	Presentan solo unas pocas toxinas, pero la toxina Leucocidina Panton-Valentine esta en el 100 % de las cepas, por lo que se usa como un marcador.
Producen gran cantidad de procesos infecciosos	Producen por lo general infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía necronizante y septicemia.
Cepas aisladas en pacientes con factores de riesgo nosocomiales	Cepas aisladas en la comunidad en pacientes que no tienen factores de riesgo de una infección nosocomial.
Cinco clonas pandémicas: ibérica, brasileña, Húngara, Nueva York/Japón y Pediátrica.	Dos clonas principales: USA 300 y USA 400
La edad media de infección es en adultos	La edad media de infección es en jóvenes y niños
Patógeno oportunista	Causa infecciones en personas sanas
Dentro del ámbito hospitalario	Se presenta fuera del ámbito hospitalario (en la comunidad)

11. MÉTODOS DE TIPIFICACIÓN DE MRSA

Una vez que se tiene la certeza de que *S. aureus* es el agente causal de las patologías (ver capitulo 5.9) , por medio de tinción de Gram, cultivo en medios selectivos y diferenciales, asi como pruebas bioquímicas, se procede a relizar la tipificación de MRSA, la cual puede hacerse por métodos fenotípicos y genotípicos. Los primeros han sido útiles pero algunos pueden presentar desventajas debido a las limitaciones de su poder discriminatorio, ejemplos de estos son: difusión en disco por el método de Kirby-Bauer empleando cefoxitin y oxacilina, prueba de screening, detección específica de inmunoagentes con blanco en la PBP2a (aglutinación en látex), por mencionar los recomendados por la CLSI. [4, 82, 123,152]

Los métodos genotípicos que se han empleado recientemente, en estudios de epidemiología molecular de MRSA, han permitido entender mejor las relaciones evolutivas de estas clonas, esto con base en el secuenciamiento del genoma de *S. aureus*, el cual fue realizado por primera vez en 2001, y las clonas que han sido parcialmente secuenciadas se encuentran en GenBank.[82] Entre los más empleados para la tipificación de MRSA se encuentran: electroforesis de campo pulsado (PFGE, por sus siglas en ingles Pulsed field gel electrophoresis) empleando la enzima SmaI, las técnicas basadas en PCR y las basadas en el secuenciamiento de DNA, como la MLTS.[123, 143,152]

11.1 Fenotípicos para la detección de MRSA

Una vez identificado a *S. aureus* como responsable del cuadro clínico es necesario determinar la susceptibilidad a un perfil de antibióticos. Muchos laboratorios de microbiología utilizan sistemas automatizados o comerciales para el estudio de la sensibilidad a antibióticos en *S. aureus*. La mayoría de estos sistemas utilizan sólo oxacilina para la detección de MRSA, sólo los sistemas Vitek 2 (BioMérieux) y Phoenix (BD) han incluido cefoxitina con este propósito. Para el estudio de la sensibilidad a oxacilina en *S. aureus* en general, los sistemas que contienen oxacilina ofrecen buenos niveles de sensibilidad y especificidad, sin embargo, en cepas con una expresión heterogénea de la resistencia (*mecA* positivas) la capacidad de estos sistemas puede verse disminuida. Por tanto, se debería contemplar la necesidad de confirmar la resistencia o sensibilidad obtenida por estos sistemas en

determinadas circunstancias como por ejemplo ante aislamientos importantes (obtenidos de hemocultivos, líquidos estériles), sospecha de fallo terapéutico o cuando se aíslan cepas con resistencias asociadas a otros grupos de antibióticos. Una forma de confirmación recomendable sería el uso de un disco de cefoxitina o alguno de los métodos rápidos que se exponen a continuación, los cuales son recomendados ampliamente por la CLSI.[5, 128]

11.1.1 Difusión en disco (Kirby-Bauer)

Para determinar la resistencia a meticilina mediante el método de difusión en disco (ver figura 23 y 24), es importante emplear sensidiscos de oxacilina (1 µg) y para la confirmación de la misma se utiliza el disco de cefoxitina (30 µg) recomendado por la CLSI. La cefoxitina es un potente inductor de la producción de PBP2a, ello hace que sea más rápida que la propia oxacilina en la detección de la resistencia, a la vez que la lectura de su halo de inhibición es más visible. No se han observado diferencias en relación a variaciones en el inóculo (1.5 x 10^8 UFC / mL), temperatura de incubación o medio de cultivo, lo cual es de gran utilidad en la detección de cepas de MRSA con expresión heterogénea de la resistencia a meticilina. La presencia de un halo de inhibición en oxacilina menor o igual a 13 mm indica resistencia a oxacilina la confirmación de la resistencia a oxacilina mediada por el gen *mec A* se realiza a través del disco de cefoxitina presentando un halo menor o igual a 21 mm en *S.aureus* e interpretándose que la cepa en estudio es un MRSA (CLSI, 2010).[26, 27,103, 128]

Tabla 9. Corte establecido por CLSI (2010) para determinación de resistencia a oxacilina

Grupo	Disco (contenido)	Diámetro del halo en mm		
A	Oxacilina (1 µg)	≥ 13	11-12	≤ 10
Control Positivo	ATCC 43300 (Oxacilina 1 µg)	0-20		
Control Negativo	ATCC 25923 (Oxacilina 1 µg)	30-35		
Marcador de resistencia a oxacilina Cefoxitin (30 µg)				
Control	ATCC 43300 (mecA positivo)	≤ 21		
Control	ATCC 25923 (mec A negativo)	23-29		

Entre las ventajas que presenta esta técnica se encuentran: a) el disco de cefoxitin sirve de marcador de susceptibilidad a oxacilina, sus halos de inhibición se relacionan con la presencia o ausencia del gen *mecA* mejor que con otros métodos, no está influenciado decisivamente por variaciones de inóculo, temperatura o medios de cultivo utilizados y sus resultados no parecen estar afectados, en la misma extensión que los discos de oxacilina, por la hiperproducción de penicilinasa (mecanismo de BORSA), que da lugar a pequeños halos de inhibición.[68]

Figura 23. Detección de resistencia a oxacilina *S. aureus* mediante el método de difusión en disco con oxacilina y cefoxitin. Cepa MRSA. Según lo recomendado con CLSI en agar Mueller-Hinton. [27, 40,78]

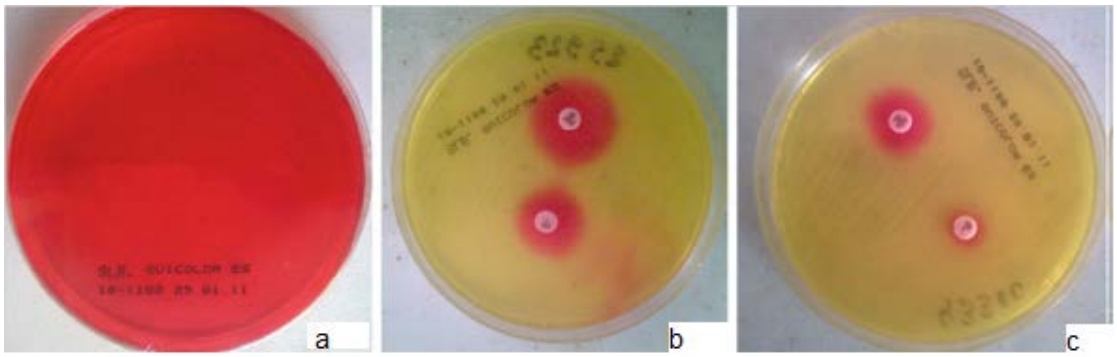


Figura 24. Variación del método recomendado por CLSI empleando el medio de cultivo QC ES agar a) medio no inoculado, b) cefoxitin y oxacilina susceptible y c) cefoxitin y oxacilina resistente. [6]

11.1.2 Screening

La prueba de detección “screening” para oxacilina en agar es útil para confirmar resultados de este compuesto que resultan equivocados con otros métodos.

El agar empleado es Mueller-Hinton suplementado con 4 % de NaCl y 6µg/mL del antimicrobiano oxacilina. Debe ser inoculado utilizando el método de suspensión directa de colonias que alcance 1.5 x 10^8 UFC / mL (0,5 del estándar de McFarland). El cultivo debe ser incubado por 24 horas. La aparición de > 1 colonia o película de crecimiento (incluyendo una ligera película) indica resistencia a oxacilina. El control de calidad se realiza utilizando *S. aureus* ATCC 29213 (susceptible) y *S. aureus* ATCC 43300 (resistente). Aunque esta prueba es conocida como detección “screening” los resultados pueden ser considerados definitivos para evaluar la resistencia a oxacilina en *S. aureus.*[27, 76]

11.1.3 Prueba rápida de aglutinación: detección de PBP2a

Las cepas de MRSA también se pueden reconocer más rápidamente mediante la aglutinación con látex para detectar la presencia de la PBP2a. Ésta es una prueba que no precisa de un equipo especial y que puede facilitar una respuesta rápida, siendo así un buen "informe preliminar" de un estudio de sensibilidad más completo que incluya, por ejemplo, la sensibilidad a cefoxitin [94, 27,128]

Tanto la confirmación de la resistencia a meticilina mediante PCR del gen *mecA* como mediante la detección de la PBP2a requieren de una identificación previa del microorganismo a nivel de especie (*S. aureus*).[6, 128] Aunque este método no esta recomendado por la CLSI, pero si autorizado por la FDA es una nueva metodología que se basa en una reacción de aglutinación, por medio de anticuerpos monoclonales que detectan la presencia de PBP2a. Algunos estudios informan que la sensibilidad de la prueba se encuentra entre el 93 al 97%.[99, 166]

11.1.4 Medios cromogénicos para identificación rápida de MRSA

El diagnóstico de laboratorio rápido es fundamental para el tratamiento, gestión y prevención de cepas MRSA. Comercialmente la introducción de

medios cromogénicos como herramienta de apoyo en la detección de cepas MRSA en los laboratorios clínicos ha facilitado el diagnóstico.

Los medios cromogénicos para MRSA (ver figura 25), pueden definirse como medios de cultivo diferenciales a los cuales se les incorpora un sustrato cromogénico específico de una enzima de *S. aureus*, para su identificación. Actualmente existen cinco medios cromogénicos en el mercado que permiten la identificación de cepas MRSA: Brilliance agar MRSA (Oxoid), chromID (biomerieux), MRSASelect (Bio-Rad), CHROMagar (CHROMagar Microbiology), y BBL CHROMagar-(BD Diagnostics).[5]

En un estudio en el que se compararon estos cinco medios en relación a su especificidad y sensibilidad se encontró que la especificidad para cada medio es de: BBL CHROMagar-(99%), seguido por MRSASelect (98%), CHROMagar (97%), chromID (89%), y Brilliance MRSA agar (86%), con la confianza de que todos los medios detectan cepas MRSA. En conclusión, BBL CHROMagar-y CHROMagar dio el mejor resultado en general para la detección de MRSA, independientemente de la concentración de la muestra, el investigador, o período de incubación.[5, 21, 124,165]

Figura 25. Comparación entre los medios cromogénicos que están disponibles actualmente en el mercado. Desarrollo característico con cepas MRSA.[165]

Sin embargo es necesaria la confirmación de las presuntivas colonias de MRSA, para lo cual se emplean técnicas moleculares, las cuales se exponen a continuación.

11.2 Métodos genotípicos para la detección de MRSA

11.2.1 Técnica de Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Es un método genotípico que ha emergido como estándar de oro de tipificación molecular para la epidemiología de MRSA. PFGE es una variación de la electroforesis clásica que permite separar y analizar fragmentos de DNA muy grandes de tamaño superior a los 2 x 10^{6} pb (2 Mb). Inicialmente esta técnica estuvo restringida a estudios locales y de corto plazo, debido a la falta de reproducibilidad entre laboratorios, sin embargo gracias a la estandarización de la metodología para hacer la electroforesis y al esquema de interpretación de los patrones producidos, se pudieron adelantar estudios multicéntricos que han sido de gran utilidad para determinar las relaciones genéticas de las cepas de MRSA; en la actualidad se cuenta con un software que permite comparar los perfiles obtenidos en la PFGE e identificar a que linaje de MRSA pertenece.[9,99]

El principio de la PFGE es el uso de un dispositivo de electroforesis especializado para separar elementos cromosómicos producidos por la digestión enzimática del DNA del cromosoma bacteriano intacto.[11]

El método consiste en obtener un paquete de alta concentración celular e incluirlas en bloques de agarosa, las células se añaden a este medio todavía líquido y se dejan gelificar en moldes adecuados.[127]

En el interior del bloque de agarosa se procede a la lisis de las células (*in situ*) y a su tratamiento con proteasa para liberar al DNA de la proteína que lo acompaña. A continuación el DNA se digiere mediante endonucleasas de restricción. Se seleccionan enzimas que tengan pocos sitios de restricción en el DNA genómico de forma que se produzcan 10 a 20 fragmentos de un tamaño de 10 a 1.000 kb.

El bloque de agarosa que contiene los fragmentos de DNA cromosomal, es introducido en un pozo de gel de agarosa y directamente se procede al desarrollo de la electroforesis. Debido al gran tamaño de los fragmentos de DNA producidos, existe una gran probabilidad de que se formen estructuras de horquilla y “se enganchen” en la retícula del soporte por lo que para salir de esa situación necesita reorientarse. La PFGE incorpora un campo periódico en la dirección del campo eléctrico entre dos o más ángulos preestablecidos a través del gel de agarosa lo que se denomina pulso. Esto facilita mucho la reorientación de los fragmentos de DNA y permite su separación. Se suele

utilizar geles de concentraciones semejantes a las usadas en la electroforesis normal, aunque se emplean agarosas especialmente puras. Se requiere mantener muy constante la temperatura, para lo que se usan distintos sistemas de control y de refrigeración.[127]

Los patrones de restricción de DNA de los aislamientos son entonces comparados con otro para determinar su relación.[123, 152]

11.2.1.1 Variables que afectan la resolución del PFGE

Los resultados de las técnicas de PFGE son muy sensibles a variaciones en prácticamente todos los parámetros electroforéticos. Las condiciones para obtener la mejor resolución de PFGE están en función del rango del tamaño de las moléculas a separar y de la enzima de restricción seleccionada, pero también intervienen variables técnicas, como: duración y alternancia de los pulsos, voltaje, temperatura y amortiguador de electroforesis y ángulo de reorientación. [127,152]

11.2.1.2 Ventajas y desventajas de la aplicación de PFGE en MRSA

La PFGE es un método que ha comprobado ser muy acertado para la investigación de brotes nosocomiales y también ha sido usado para identificar clonas de MRSA que tienen la particularidad de causar brotes mayores y extenderse nacional e internacionalmente (clonas pandémicas de MRSA).

Este método cumple con la mayoría de los criterios de Maslow, para un buen sistema de tipificación (produce resultados interpretables con claridad con la mayoría de las cepas a probar), reproducibilidad (capacidad del método para obtener reiteradas veces el mismo resultado del perfil de tipificación con la misma cepa bacteriana) y altamente discriminatorio (produce resultados que permiten la diferenciación clara de dos cepas no relacionadas de la misma especie bacteriana), de manera que esto ha sido comprobado en exámenes microepidemiológicos (local o a corto término) y macroepidemiológicos (nacional, continental o a largo término).[65,127]

La PFGE es también sensible, ya que detecta pequeñas variaciones que se acumulan rápidamente en el genoma bacteriano. Así es muy poco probable por ejemplo, que dos pacientes sean infectados al azar por dos cepas que muestran el mismo tipo molecular, por lo que este método marca, con escaso margen de error, la existencia de una conexión epidemiológica entre ambos casos. La PFGE también puede usarse para determinar si una infección es

reincidene en el mismo paciente lo cual intuye que se debe a que el tratamiento original fue insuficiente, quizás como el resultado del desarrollo de resistencia a antimicrobianos durante el tratamiento, o se debe a la adquisición de una segunda cepa, más resistente de la misma especie. En cualquier caso, esta aplicación de la PFGE muestra que el método no solo es útil para investigar brotes o diseminación de cepas que involucran a varios pacientes, sino también ofrece la oportunidad de investigar características de las reinfecciones, fallas de tratamientos y de las infecciones mixtas que involucran más de un cepa de la misma especie. Por estas razones la PFGE tiene amplia aceptación entre los microbiólogos, el personal de control de infecciones y los especialistas en enfermedades infecciosas, como herramienta de laboratorio fundamental para la epidemiología, sin embargo, esa misma capacidad de detectar fácilmente una rápida acumulación de pequeñas variaciones puede ser una gran desventaja para trazar la dispersión de líneas clonales, ya que se puede perder la capacidad de analizar el origen común de esas variantes. [65,127]

La PFGE es un método técnicamente demandante y de trabajo intensivo. Una principal desventaja es la interpretación subjetiva, pues esta basado en la generación de patrones de bandas de DNA en geles de agarosa y la comparación de las imágenes de estos. Así pues, la comparación de resultados entre laboratorios es difícil y depende de una estricta adherencia a protocolos estandarizados y criterios de interpretación, por lo que suele existir alto grado de confusión respecto a los llamados clones pandémicos de MRSA. En un esfuerzo para hacer de la PFGE un método de tipificación accesible y más fácil de entender, el uso de métodos estadísticos y la habilidad para digitalizar, guardar imágenes y comparar patrones usando programas de software correspondiente ha hecho que este método tenga mayor uso. Tales métodos pueden ser apropiados para largas colecciones de aislamientos estudiados en laboratorios de referencia, pero factiblemente ninguno de ellos es necesario para los laboratorios que serán confrontados primeramente con brotes a corto término. Aún así sigue siendo un problema entre laboratorios y la información basada en imágenes resulta en un trabajo arduo para organizar la rápida búsqueda y la recuperación por computadora.[65, 127]

Algunos autores han discutido que la estabilidad de marcadores puede ser insuficiente para la confiable aplicación de PFGE a largo término o en estudios macroepidemiológicos.

Se ha utilizado ampliamente la estrategia de tipificar el MRSA combinando la PFGE con otros métodos como son: el polimorfismo del gen *mec* y de los patrones de inserción del transposon *T455.*[152]

11.3 Técnica de Multilocus sequence typing (MLST)

Debido a la mayor disponibilidad y accesibilidad de la secuenciación del DNA, los métodos de tipificación basados en este principio, se han convertido en los más empleados, dado que han incrementado la reproducibilidad entre los laboratorios, así como la rapidez para obtener los resultados. Uno de ellos es la tipificación de secuencias multilocus que está basada en la amplificación y secuenciación de fragmentos internos de siete genes esenciales (housekeeping), los cuales deberán estar repartidos a lo largo del cromosoma bacteriano, y no deberán estar co-relacionados con el gen *mecA*, su principal ventaja frente a la PFGE es que al utilizar secuencias, no da lugar a las ambigüedades que se puedan presentar con la PFGE. Además esta es una técnica muy estandarizada y cuenta con un sitio web que contiene información de más de 1500 aislamientos de humanos y animales, provenientes de 40 países, lo que permite comparar las secuencias obtenidas con las reportadas en la base de datos para obtener el perfil alélico. Aunque la MLST brinda información acerca del linaje de las cepas, lo cual es importante para entender la epidemiología de MRSA, esta técnica no es apropiada para investigar brotes en el ámbito clínico.[41]

El MLST mide directamente las variaciones de las secuencias de ADN en un conjunto de genes y caracteriza a las cepas por sus perfiles alélicos únicos. El principio es simple: la técnica consiste en realizar una PCR seguida de la secuenciación del ADN . Diferencias entre las cepas de nucleótidos se puede comprobar en un número variable de genes en función del grado de discriminación que se desee.[150]

El protocolo de trabajo de MLST se refiere a: 1) la recolección de datos, 2) análisis de datos y 3) análisis de la secuencia multilocus. En la primera sección, la identificación definitiva de la variación se obtiene mediante la determinación de la secuencia de nucleótidos de fragmentos de genes. En el

análisis de los datos de todas las secuencias únicas se asignan números de alelo y se combinan en un perfil alélico y le asigna un tipo de secuencia (ST). Si los nuevos alelos se encuentran, se almacenan en la base de datos después de la verificación. En la sección final del MLST la relación de los aislados se hizo mediante la comparación de perfiles alélicos. Los investigadores realizan estudios epidemiológicos y filogenéticos mediante la comparación de los alelos de diferentes complejos clónales. Un enorme conjunto de datos se produce durante el proceso de secuenciación e identificación de técnicas bioinformáticas que se utilizan para organizar, administrar, analizar y combinar todos los datos biológicos.

Para encontrar el equilibrio entre el poder de identificación aceptable, tiempo y costo para la tipificación de cepas, de siete a ocho genes se utilizan comúnmente en los laboratorios.

Citando a *Staphylococcus aureus* , los siete genes que se utilizan en la tipificación son la carbamato cinasa *(arco*), deshidrogenasa shikimato (*aroE*), cinasa de glicerol (*glpF*), guanilato cinasa (*gmk*), fosfato acetiltransferasa (*pta*), isomerasa trifosfato (*tpi*) y la acetil coenzima A acetiltransferasa (*yqiL*) según lo especificado por el MLST sitio web. No es raro utilizar un máximo de diez genes.[41, 127, 150]

Para cada uno de estos genes, las diferentes secuencias se asignan como alelos y los alelos en los loci proporcionan un perfil alélico. Una serie de perfiles pueden ser el marcador de identificación para la tipificación de la cepa. Las secuencias que difieren incluso con un solo nucleótido se asignan como alelos diferentes y sin ponderación se debe considerar el número de nucleótidos diferentes entre los alelos, ya que no es posible distinguir si las diferencias en varios sitios de nucleótidos son el resultado de mutaciones puntuales múltiples o un solo intercambio de recombinación. El gran número de alelos posibles en cada uno de los lugares ofrece la capacidad de distinguir miles de millones de diferentes perfiles alélicos, y una cepa con el alelo más común en cada lugar sólo se espera que ocurra por casualidad, aproximadamente una vez cada 10.000 aislamientos. A pesar de que MLST proporciona alta capacidad de discriminación, la acumulación de cambios de nucleótidos en los genes es un proceso relativamente lento y el perfil alélico de

un aislamiento bacteriano es lo suficientemente estable en el tiempo para fungir como el método ideal para la epidemiología global.[150]

11.3.1 Ventajas y desventajas de MLST

La MLST es clara y estandarizada. Los materiales necesarios para la determinación de ST se pueden intercambiar entre los laboratorios. Se puede acceder por vía electrónica a primers, secuencias y protocolos. Es reproducible.El MLST es automático, combina los avances en la secuenciación de alto rendimiento y la bioinformática, con las técnicas de genética de la población establecida. La MLST ofrece buen poder discriminatorio para diferenciar los aislamientos.

La mayoría de las bases de datos MLST están alojados en dos servidores web actualmente se encuentra en el Imperial College de Londres (mlst.net) y en la Universidad de Oxford (pubmlst.org). Una de sus principales limitaciones es su costo.[41, 123]

11.4 Otros métodos de tipificación

Otro método ampliamente utilizado es la tipificación de la proteína A, la cual se denomina Staphylococcus protein A (SPA), involucra la tipificación y secuenciamiento de la región polimórfica X, una secuencia corta repetida del gen de la proteína A.

La diversidad del gen *spa,* consiste principalmente en un número de repeticiones de 24 pb de longitud, donde se determinan mutaciones puntuales, así como deleciones. La tipificación de *spa* puede ser utilizado para estudiar tanto la evolución molecular así como los brotes hospitalarios de MRSA, algunas otras ventajas de la técnica *spa* es el costo y el tiempo, en comparación con MLST; para las secuencia obtenidas por spa existe una base de datos (SeqNet.org (www.seqnet.org)), donde se puede comparar la secuencia obtenida.

También se han desarrollado PCR en tiempo real, con primers dirigidos a los genes de las recombinasa (*ccr*), la desventaja de esta estrategia consiste en que solo identifica 4 tipos de cassette y no identifica al tipo V. Por lo que se ha desarrollado una PCR múltiple, basada solo en las variaciones de la secuencia del complejo *mecA*, sin tener en cuenta el complejo *ccr*. El ensayo determina los tipos de SSC*mec* al identificar 8 locus situados corriente arriba y corriente abajo del gen *mecA*, principalmente en la región *J*. Este método

permitió la discriminación rápida de los tipos estructurales del elemento *mec* , sin embargo tiene la limitación de que no detecta todo los tipos y subtipos descritos de cassette SCC*mec*, como son el tipo V y los subtipos IVa, b, c y d. Después otros investigadores describieron una PCR múltiple que detecta los tipos I al V y varios subtipos, y se han diseñado hasta estrategias basadas en seis PCR múltiples. [112]

Tabla 10. Características de los métodos de tipificación genotípicos para MRSA[143]

Método	Blancos genéticos	Características
Detección de la secuencia *spa*	Secuencia del polimorfismo de la región variable x del gen *spa* de *Staphylococcus aureus.*	Ventajas: rápido, una nomenclatura estandarizada. Desventajas: errores de clasificación en un pequeño numero de linajes.
MLST (Multilocus sequence typing)	Genes variables (*cv*), y sus polimorfismos.	Ventajas: nomenclatura estandarizada Desventajas: alto costo
Tipificación del CSS*mec*	MGEs	Ventajas: nomenclatura estandarizada. Desventajas: alto costo, no hay un protocolo estandarizado.
PFGE	Restricción polimórfica del cromosoma completo.	Ventajas: alto poder discriminatorio. Desventajas: técnica difícil y lenta

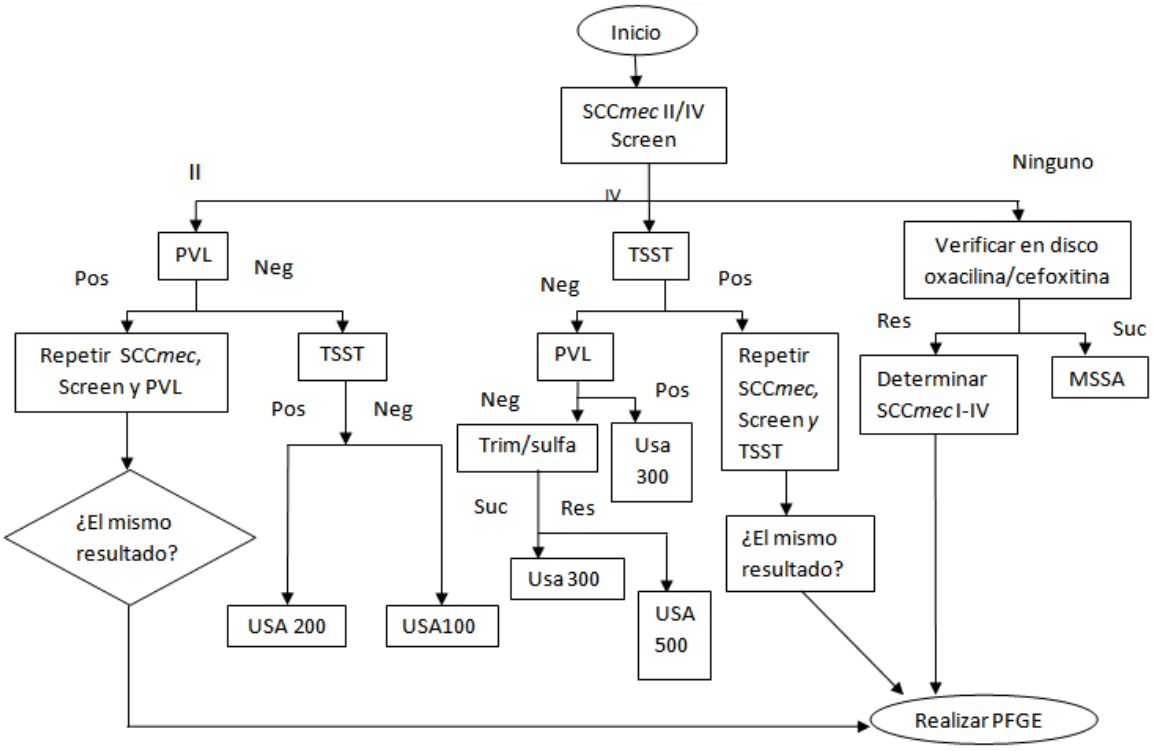
La elección del método más adecuado de tipificación para MRSA depende de las necesidades y del tipo de pregunta que se desee responder. El método óptimo debe mostrar una capacidad de discriminación y de reproducibilidad y ser fácil de usar, rápido, accesible, de costo razonable y de fácil interpretación.

La estrategia recomendada para optimizar el proceso de tipificación, lograr una mayor discriminación de las cepas y obtener información relevante que permita establecer medidas preventivas y de control consiste en emplear inicialmente la PFGE y luego en los elementos que muestra clonalidad, hacer el análisis de las cepas por SCC*mec* o MLST. Se podría emplear la tipificación spa en lugar de PFGE sino existieran limitaciones por los costos de la secuenciación. La tipificación spa provee datos concordantes con los obtenidos por MLST o PFGE, sin embargo su uso no obvia la necesidad de efectuar la tipificación del SCC*mec* para determinar la clonalidad del aislamiento.

Existe el uso de algoritmos de PFG inferidos (programa de infecciones emergentes/ comunidad activa bacteriana (ABC) proyecto de vigilancia de MRSA invasivo.[19]

En el 2008 (ver algoritmo 3) el centro de enfermedad control y prevención de enfermedades en EUA (CDC`s) en la división de prevención, desarrollo un algoritmo de PFGE para inferir cepas de MRSA, el algoritmo se basa en características microbiológicas aisladas durante un periodo de tres años de vigilancia, estas características son: a) el tipo del cromosoma cassette de estafilococos (SCC*mec*), b) la presencia de los genes de la toxina leucocidina Panton-Valentine (PVL), c) la toxina del choque toxico (TSST) y d) los resultados de susceptibilidad antimicrobiana. Todos los aislamientos deben someterse a estas pruebas para obtener un patrón de PGFE a inferir.[19]

Algoritmo 3. Metodología recomendada por el CDC para inferir MRSA.[19] Traducido al español.



11.5 Factores físicos, químicos y genéticos que influyen en la detección de la resistencia a meticilina en el laboratorio.

La detección de la resistencia en el laboratorio sigue siendo problemática, por lo que deben manejarse con precaución los factores físicos y químicos que influyen.

Las condiciones ideales que permiten en el laboratorio la detección de cepas resistentes a oxacilina son: pH neutro, medio, temperatura de incubación menor a 35 ^{0}C, periodos de incubación adecuados (24-48 h) e inóculos de acuerdo a la escala de 0,5 Mc Farland, sin embargo hay estudios donde se demuestran que la variante más importante es el suplemento de NaCl 4 % al medio de cultivo. Otro método empleado para la detección de MRSA es la difusión en disco, para lo cual se emplean discos de oxacilina de 1µg y cefoxitin 30 µg.

Los sistemas automatizados tienen una excelente especifidad pero baja sensibilidad, los resultados deberán verificarse con un test como agar screen antes de informar como cepa susceptible.

Cabe mencionar que los métodos genotípicos actualmente revelan resultados más confiables en comparación con los fenotípicos, sin embargo, durante la identificación de cepas MRSA se presentan algunas interferencias que están ampliamente relacionadas con la deriva génica de las mismas cepas, sobresaliendo los siguientes:

Factor *fem*: (factor esencial para la resistencia a meticilina) o factor *aux* (auxiliar). Son genes cromosomales distintos del *mec,* necesarios para la completa expresión de resistencia, presentes en cepas sensibles y resistentes. Destaca *fem* A, B, C, D, E y F mapeados en diferentes sitios. Mutantes *fem* alteran la composición del peptidoglucano, excepto *fem*E cuya función es desconocida.

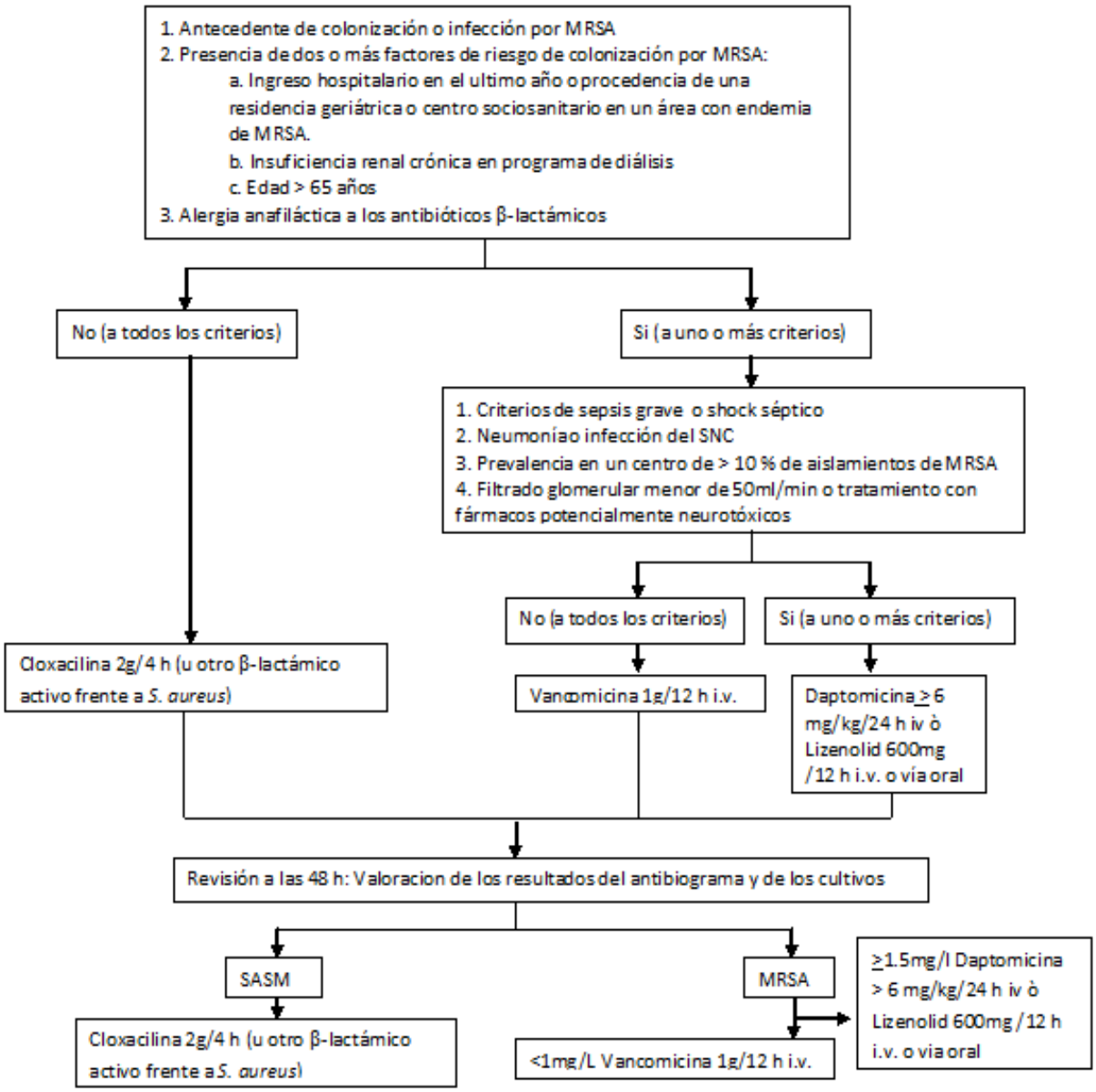
Otros locus cromosomales: modifica una proteína hidrófoba de 38 kDa de función desconocida, cuya activación hace que una cepa de resistencia homogénea produzca un *pattern* heterogéneo de resistencia a meticilina con aumento en la tasa de autolisis. Los locus *agr* (gen accesorio regulador) y *sar* (regulador accesorio estafilocóccico) están involucrados en controlar la expresión de numerosos factores de virulencia estafilocóccicos y exoproteína.

Se ha sugerido la presencia de un factor adicional, producto de un gen regulador, que actuaria regulando la expresión fenotípica de la resistencia, al que inicialmente denominaron factor X, en aquellas cepas en que la expresión de la resistencia es condicionada por temperatura alta. El elemento sensible a esta no sería en realidad la PBP 2a sino el factor X cuya acción seria controlar su traducción, transcripción o posiblemente interviniendo en la regulación de la actividad autolítica y en la síntesis de la pared celular de cepas de MRSA. [152]

12. TRATAMIENTO PARA INFECCIONES CAUSADAS POR MRSA

Debido a la gravedad y cuadro clínico característico de MRSA el primer paso es prescribir un tratamiento empírico, el cual en muchos casos no es el indicado y la probabilidad de desarrollar resistencia bacteriana y/o mortalidad del paciente es alta, sin embargo, el siguiente algoritmo es representativo de las acciones a tomar ante la sospecha de MRSA desarrollado en España, en base a las observaciones y ha sido de gran utilidad para prevenir la muerte del paciente.[78, 159]

Algoritmo 4. Esquema general para la elección del tratamiento antibiótico empírico en la infección con probable participación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina [78].



La modalidad de tratamiento primario de los abscesos de piel y tejidos blandos es la incisión y drenaje. Un estudio demostró que las lesiones menores de 5 cm de diámetro, los resultados son favorables a la incisión y el drenaje.[69]

Una vez identificado el agente causal como MRSA ya sea comunitario u hospitalario a través de pruebas fenotípicas y/o genotípicas se procede al tratamiento de elección (ver tabla 11), el cual puede ser divido de acuerdo al tipo y gravedad de la infección del que se trate.

1. Infecciones en la piel y en tejidos blandos no complicadas

En los casos en que la infección por CA-MRSA no requiera hospitalización, se recomienda por vía oral antibióticos como TMP-SMX, la doxiciclina, tetraciclinas (doxiciclina o minociclina), lizenol o clindamicina. La combinación de TMP-SMX y rifampicina también ha sido recomendada.

Los pacientes tratados en forma ambulatoria deben estar claramente instruidos para que informen inmediatamente si desarrolla síntomas sistémicos, síntomas locales o si sus síntomas no mejoran en 48 horas.[69, 159]

2. Infecciones en tejidos blandos y en la piel severas

La gravedad de la SSTIS relacionadas con la PVL puede deberse a la extensión local, localizaciones metastásicas, o asociación con shock séptico o síndrome tóxico. Graves extensiones locales llevan a la necrosis del tejido subcutáneo, cutáneo profundo y son clínicamente indistinguibles de la necrosis causada por estreptococo, y si se debe a una bacteria o a varias. Por lo que es recomendable por vía intravenosa la vancomicina; oral o i.v Linezolid; i.v., daptomicina; i.v. telavancina o i.v. clindamicina. Por lo tanto, considerando el riesgo de resistencia inducible y la necesidad de la actividad bactericida, se recomienda una combinación de clindamicina y β-lactámicos por MSSA o vancomicina por MRSA. También es recomendable la intervención quirúrgica[61,159]

En los pacientes con celulitis por sospecha de CA-MRSA, pero en quienes la infección por *Streptococcus pyogenes* no se puede descartar, algunos expertos no recomiendan el tratamiento empírico con TMP-SMX o doxiciclina en monoterapia debido a la resistencia reportados por estreptococos a estos antibióticos. Algunos investigadores sugieren una combinación de clindamicina, ya sea con TMP-SMX o tetraciclina. La clindamicina ha sido utilizada con éxito

para tratar una variedad de infecciones de CA-MRSA, incluyendo infecciones de tejidos blandos, neumonía e infecciones del aparato locomotor.

Para los pacientes con infecciones invasivas que pueden haber sido causadas por CA-MRSA, se prescribe vancomicina, teicoplanina, la tigeciclina, linezolid.[61, 69,153]

3. Infecciones complicadas en la piel y en tejidos blandos.

Las complicaciones más comunes de SSTIS son abscesos profundos relacionados con la trombosis venosa profunda, que son causadas por cepas PVL positivas. El manejo de estas complicaciones depende del número, tamaño y localización de los abscesos. Como en cualquier purulenta recolección, los antibióticos solos son a menudo insuficientes y, por tanto, drenaje quirúrgico es la opción terapéutica primaria. En los casos de múltiples abscesos, que no son accesibles quirúrgicamente y que están progresando a pesar de los antibióticos apropiados, dos casos publicados reportan una notable mejora después del tratamiento de IgIV pentavalente, ya que se ha demostrado in vitro que los efectos de la PVL puede neutralizarse con los anticuerpos específicos que contienen los preparados de inmunoglobulinas para administración iv.[78] Los antibióticos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) son TMP-SMX o doxaciclina.[69,112]

4. Infecciones óseas y articulares

En el 71% de los casos se requiere cirugía adicional después del procedimiento inicial (drenaje para la artritis o la punción de la osteomielitis). Los antibióticos de elección son: clindamicina o linezolid, ya que ambos medicamentos están aprobados y tienen propiedades antitoxina. Debido a que la clindamicina es sólo bacteriostático, hay algunas limitaciones para su uso por sí solo, recomendamos la combinación de clindamicina con vancomicina en casos de MRSA, como tratamiento alternativo para el tratamiento existe una combinación de TMP / SMX y rifampicina o vancomicina y rifampicina. [61, 69, 112]

5. Neumonía necrotizante

La neumonía estafilocóccica necrotizante es de lejos el más grave presentación de las infecciones asociadas a PVL y por lo tanto requiere manejo especial (prescripción de vancomicina y otros). Aunque la letalidad ha disminuido desde la descripción inicial en 2002, la mortalidad general sigue siendo alta y la supervivencia media es de sólo 4 días.[69]

Por desgracia, el drenaje quirúrgico de las lesiones infectadas puede no ser posible durante las primeras etapas de la neumonía necrotizante. En mayoría de los casos hay necrosis global en el epitelio bronquial y alveolar, si el paciente sobrevive, se requiere de apoyo respiratorio.[69]

La neumonía necronizante también puede deberse a otras bacterias como *Streptococcus pyogenes* o *Streptococcus pneumoniae*, por lo que una cefalosporina de tercera generación debe ser añadida al tratamiento.[61, 69,159]

6. Bacteremia

La bacteremia por *S. aureus* muestra una elevada tendencia a originar metástasis, probablemente porque el microorganismo dispone de varias proteínas de superficie que facilitan su adherencia a componentes de la matriz extracelular (colágeno, fibrinógeno, fibrina). Los lugares más frecuentes de metástasis son huesos, articulaciones, discos intervertebrales, espacio epidural, riñones y válvulas cardíacas, entre otras localizaciones. La existencia de metástasis condiciona la duración del tratamiento, sin embargo, las metástasis pueden pasar desapercibidas durante los primeros días o semanas y manifestarse un mes después del episodio de bacteriemia.[61, 78,112]

Una cuestión que ha suscitado cierta controversia en el manejo del paciente con bacteremia estafilocóccica, primaria u originada en un catéter, es la necesidad de descartar la existencia de endocarditis infecciosa (EI) mediante la práctica de un ecocardiograma transesofágico. El tiempo que tarda el hemocultivo en dar un resultado positivo puede orientar sobre el foco de origen de la bacteriemia producida por *S. aureus*. Si el paciente no ha recibido tratamiento antibiótico y el hemocultivo se extrae por punción venosa, un tiempo de crecimiento inferior a 14 h sugiere la existencia de un foco endovascular.[61]

El tratamiento antibiótico de la bacteremia por MRSA con foco en un catéter venoso puede hacerse con un glucopéptido o con daptomicina (si la CMI de vancomicina es >1,5 mg/L). Si la evolución clínica es favorable y los hemocultivos presentan resultados negativos, a partir del 5-7 día de administración iv del antibiótico, el tratamiento puede completarse por vía oral con linezolid. Otras posibilidades son las asociaciones de rifampicina con cotrimoxazol, clindamicina, doxiciclina o ácido fusídico, según la sensibilidad de la cepa. Como se comentará más adelante, el catéter debe retirarse. [112]

En el caso de *S. aureus*, la bacteremia que persiste al tercer día de tratamiento antibiótico apropiado puede deberse a: a) no haber retirado el catéter infectado; b) colonización/infección del catéter que se colocó en sustitución del que causó la infección. La probabilidad de infección del nuevo catéter es mayor si éste se coloca antes de retirar el catéter infectado, o antes de administrar la primera dosis de antibiótico, o si el antibiótico administrado no es activo frente a MRSA; c) presencia de un foco endovascular (endocarditis, trombosis venosa infectada, infección de un marcapasos, infección de un injerto vascular o de una fístula de diálisis); d) existencia de un foco metastático profundo. La metástasis séptica (artritis, osteomielitis, absceso visceral) puede ser consecuencia de la bacteremia más que su causa, y el hecho de encontrarla no debe hacer abandonar la búsqueda de un foco endovascular.[112]

Tabla 11. Tratamiento y procesos para la infección por MRSA[158]

Tipo de infección	Drenaje quirúrgico	Análisis microbiológico	Antibióticos	Antibióticos antitoxinas	Ig (iv)
Infecciones en la piel y tejidos blandos no complicadas	Si	No	No	No	No
Infecciones moderadas (abscesos diámetro > 5 cm, celulitis, profundas infecciones)	Si	Si, cuando se presenta resistencia antimicrobiana	MRSA: Linezolid vancomicina, teavancin, daptomicina	No	No
Infecciones severas o complicadas (necrosis cutáneas, necrosis subcutánea profunda, abscesos profundos, trombosis y shock séptico)	Si	Si, cuando se presenta resistencia antimicrobiana y cuando PVL es positiva	MRSA: Linezolid, vancomicina,telavancin, daptomicina	Si, clindamicina, linezolid, rifampicina	Si, en caso de tratamiento fallido

Tipo de infección	Drenaje quirúrgico	Análisis microbiológico	Antibióticos	Antibióticos antitoxinas	Ig (iv)
Infecciones de huesos y articulaciones	Si	Si, cuando se presenta resistencia antimicrobiana y cuando PVL es positiva	MRSA: vancomicina, daptomicina y TMX/SMX	Si, clindamicina, linezolid	No
Neumonía necrotizante	No	Si, cuando se presenta resistencia antimicrobiana y cuando PVL es positiva	MRSA: vancomicina y linezolid	Si, clindamicina, linezolid y rifampicina	Si, en caso de leucopenia y hemorragia pulmonar

Cabe recordar que *S. aureus* coloniza la mucosa nasal de la mayoría de pacientes infectados y eventualmente puede causar infección recurrente. Cuando la cepa colonizante es resistente a meticilina, el riesgo de infección es significativamente superior al observado en portadores de cepas sensibles a meticilina. En un estudio, cerca del 30 % de pacientes con colonización nasal por MRSA desarrollaron infección en el curso de los 18 meses siguientes a su detección.[39]

La mayoría de antibióticos administrados por vía sistémica, excepto linezolid y rifampicina, no disminuyen la tasa de colonización nasal. El empleo de quinolonas se ha asociado con un aumento del riesgo de colonización por MRSA. El tratamiento de los pacientes con infección por MRSA incluye la aplicación tópica, en ambas fosas nasales, de mupirocina al 2% cada 8 h durante 5-7 días y, si es posible, el empleo de clorhexidina en spray para aplicación oral y/o en solución jabonosa para el baño diario, también se ha planteado la descolonización nasal de MRSA por medio de láser, la combinación la luz de 408 y 880 nm con irradición de 20 J/cm^2 reduce la colonización de *S. aureus* en un 72%. Muchos fotosensibilizadores, como el azul de metileno, toluidina azul, verde de indocianina, y otros, se puede aplicar sobre el tejido, para un mejor resultado.[161]

En pacientes con intubación traqueal o sonda nasogástrica no se recomienda la descolonización con mupirocina porque en estas circunstancias es poco efectiva y puede inducir la aparición de resistencia. Algunos datos recientes sugieren que las cepas de MRSA de procedencia comunitaria, productoras de leucocidina de PVL, se hallan en las fosas nasales con menor frecuencia de lo esperado.[61, 78,112, 159, 161]

13. PREVENCIÒN Y CONTROL DE MRSA

La MRSA se considera actualmente como una pandemia, con la difusión de clonas de HA-MRSA a partir de la década de 1960, de las clonas de CA-MRSA en la década de 1990, así como los clones de LA-MRSA en la década del 2000, por lo que es importante tomar medidas de control de diseminación de MRSA.[26]

Para evitar la diseminación de MRSA, la CDC en el año 2007 publicó las siguientes recomendaciones: [26]

1. Mantenga las manos limpias y láveselas cuidadosamente con agua y jabón o con un desinfectante para manos a base de alcohol, especialmente después de cambiar los vendajes o tocarse la herida infectada.
2. Si tiene raspaduras, cortes, o heridas que tengan secreciones o pus manténgalos limpios y cubiertos con un vendaje hasta que cicatricen**.** Siga las instrucciones del proveedor de atención médica para cuidar de forma adecuada la herida. El pus proveniente de heridas infectadas puede contener MRSA, por lo cual mantener cubierta la infección ayudará a evitar la propagación de la infección a otras personas.
3. Evite el contacto con las heridas o vendajes de otras personas.
4. Evite compartir artículos de uso personal como toallas o cuchillas de afeitar, ropa o uniformes que puedan haber estado en contacto con el vendaje o la herida infectada. Lave las sábanas, toallas y ropa sucias con agua y detergente. Seque la ropa en una secadora, en vez de secarla al aire libre.
5. Hable con su médico**.** Infórmele a sus proveedores de atención médica que usted tiene o ha tenido una infección de la piel por estafilococo o por MRSA.

Con el objeto de disminuir la transmisión en el ámbito hospitalario, los pacientes de alto riesgo, y el personal que labora en el hospital con frecuencia se les realizan estudios por la posibilidad de una colonización. Aquellos pacientes con pruebas positivas a *S. aureus* son sometidos a medidas de precaución, los portadores sanos deben de aplicarse antisépticos tópicos en

sitio nasal o perinal. Además de que los trabajadores de la salud deben someterse a políticas de control de infecciones mediante el uso de guantes y el lavado de manos antes y después del contacto con el paciente.[26, 71,94]

En los hospitales las áreas de mayor infección son: los cuneros, unidades de cuidados intensivos, quirófanos, salas de quimioterapia, aunque son empleados en esta área los aerosoles (glicoles) y la radiación ultravioleta del aire estos tienen poco efecto.

Es importante la limpieza periódica de las superficies que se tocan, el cuidado de heridas y la mejora en la higiene, dado que se ha demostrado que la supervivencia de cepas de *S. aureus* pueden persistir entre siete días y siete meses en las superficies, la supervivencia puede ser limitada cuando no hay materia orgánica en el suelo o pus, que proteja a las bacterias de la desecación.[26,94]

Las personas con infecciones activas deben ser restringidas a ciertas actividades como deportes o cualquier otra que implique contacto físico. Las autoridades locales de salud deben estar informadas de los presuntos brotes y casos adicionales relacionados también deben recibir un tratamiento adecuado. La educación del paciente sobre la naturaleza de la enfermedad, su propagación, y la posibilidad de recurrencia es muy importante. Proporcionar profilaxis antibiótica a los miembros de la familia no es recomendable actualmente.[26, 71,94]

14. DISEÑOS DE SISTEMAS DE DIAGNOSTICO Y DE VACUNAS PARA MRSA

14.1 Dispositivos en estudio para identificar MRSA a través MEMS (Micro Sistemas Electro Mecánicos)

El diseño y la fabricación de nuevos sistemas de diagnóstico requieren de la colaboración multidisciplinaria. Es verdad que en un futuro próximo, MEMS (Micro Sistemas Electro Mecánicos) y otros métodos de detección basados en la nanotecnología van a tomar el lugar de los métodos actuales de diagnóstico clínico.

Desde principios de 1990, sea desarrollado con éxito el sistema de micro análisis total (TAS o el laboratorio-en-un-chip) en campos que van desde la salud hasta la bioseguridad, por medio de microfluidos y MEMS.

Los sistemas de laboratorio en chip tienen la capacidad de integrar los procesos de los laboratorios. Las ventajas que ofrece esta tecnología son: su fácil y práctico transporte, alta sensibilidad, bajo costo y que requieren pequeños volúmenes de muestras. Con estas ventajas, hay un mayor interés en el desarrollo de nuevos métodos para la detección de virus y bacterias, principalmente se enfocan al control de las enfermedades infecciosas, ya que existe un aumento importante en el número de patógenos con resistencia a los antibióticos. Una de las amenazas más importantes de las infecciones nosocomiales en muchas partes del mundo, incluyendo Europa, África del Norte, EE.UU., es la diseminación de cepas MRSA.

En los laboratorios clínicos, se emplean los métodos convencionales basados la siembra del microorganismo debido a su facilidad de uso y bajo costo, sin embargo, ellos consumen mucho tiempo ya que es necesario un periodo de incubación de por lo menos 24-72 h para asegurar la resistencia a la meticilina. Por lo tanto, el uso de métodos moleculares es un estándar de oro para el diagnóstico no sólo por su alta sensibilidad, sino también por su rapidez, como por ejemplo la PCR, sin embargo, estos ensayos requieren un equipo costoso y personal capacitado.

A fin de superar todos los inconvenientes anteriormente mencionados, se encuentra en estudio el desarrollo de biosensores basados en MEMS para formar un sistema de laboratorio-en-un-chip. Gracias a esta novedosa

tecnología, es posible fabricar pozos, reactores, canales, y los electrodos en la escala micro para llevar a cabo las operaciones biológicas como cultivos en crecimiento, amplificación de ácidos nucleicos, y la detección de analitos biológicos. Se han fabricado superficies especiales (Monocapas auto-ensambladas) para la adsorción de muestras biológicas y las respuestas se pueden convertir en energía mecánica, señales ópticas, o por vía electrónica utilizando marcadores de detección que amplificará la señal. Esta tecnología se basa en la detección de cuatro puntos y sus combinaciones (óptica, mecánica, magnética, y la electroquímica).

Hay cinco diferentes analitos biológicos estudiados por los investigadores para detectar MRSA mediante el uso de dispositivos MEMS basados en: olor, características de la célula, gen que codifica para algunas toxinas y el gen mecA.

Las nuevas tecnologías basadas en lo anteriormente descrito son:

1.- Olor: en la detección de compuestos orgánicos volátiles (olor) producido por MRSA, *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (MSSA), y *S. aureus*, una nariz electrónica que consiste en dos partes: Un sistema de detección y un sistema de análisis. La detección esta basada en la disminución de la conductancia entre los sensores de carbono, lo que aumenta la resistencia total, debido a la expansión del carbono contenido en las superficies cuando el olor se inhala en el dispositivo.

2.- Características celulares: el principio de detección se basa en el confinamiento de una sola célula, con un colorante fluorescente, y los antibióticos. El aumento de la fluorescencia relacionado con la intensidad en estos tapones presenta la resistencia de las bacterias al antibiótico. El tiempo para alcanzar el resultado es directamente proporcional al tamaño de los tapones e independiente a partir de la concentración inicial de la muestra y se tarda aproximadamente 2 h. El límite de detección es de aproximadamente 10^5 UFC / mL.

3.- Detección de genes que codifican para toxinas y mecA: para la detección de los genes, es necesario, realizar la lisis celular, el aislamiento del DNA y por último la amplificación del gen (PCR tiempo real).[63]

Actualmente esta tecnología sigue en estudio pero se pretende que en un futuro no lejano, este dispositivo que conjunta la colaboración

multidisciplinarias, este disponible para posteriores estudios y sirva como una herramienta de diagnóstico confiable. Si lo anterior es posible, el desarrolló de la tecnología y su incursión en la medicina daría un salto sorprendente en la evolución, además de disminuir los costos, y la mortalidad por las cepas MRSA.

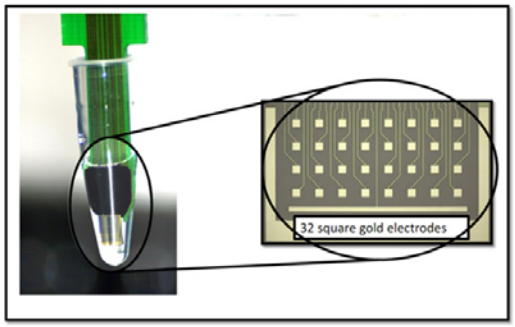


Figura 26. Perspectiva de un micro dispositivo, empleado para la detección de MRSA, diseñado para la lectura de 32 muestras, con un electrodo de oro.[63]

14.2 Desarrollo de vacunas

El desarrollo de la vacuna contra *S. aureus* puede proporcionar una alternativa para la prevención de la infección por MRSA. Los desafíos del desarrollo de estos agentes son la identificación apropiada de dianas antigénicas para la vacuna y definiendo apropiados efectores inmunes contra la infección por MRSA.

Las dianas antigénicas actuales más eficaces se cree que son los polisacáridos de superficie, polisacáridos capsulares especialmente. De los 12 serotipos capsulares identificados hasta la fecha, el tipo 5 y 8 son predominantes y se expresa en la inmensa mayoría de las cepas aisladas de *S. aureus*.

Se han hecho esfuerzos para conjugar estos dos tipos de polisacáridos capsulares y unirlos covalentemente con la exoproteína de *Pseudomonas aeruginosa* (rEPA). Los estudios de fase clínica han demostrado que es segura e inmunogénica en voluntarios sanos y confiere estadísticamente inmunidad protectora significativa a la infección sistémica en pacientes.

Otros objetivos antigénicos son:

1. El polisacárido, poli-N-acetil glucosamina, que está asociado con un número de importantes propiedades biológicas y patológicas de *S. aureus* y otras cepas de estafilococos importantes.
2. Factores de virulencia, como la superficie de adhesinas y las toxinas asociadas con el shock séptico o tóxico.[168]

15. CONCLUSIONES

En México no se tienen datos epidemiológicos certeros que representen un panorama general de la problemática de MRSA, lo que es preocupante, debido a que los países vecinos tienen reportada una epidemiología de más del 50 % de casos de MRSA y por la migración existente de las personas de un país a otro. Resulta conveniente profundizar en su estudio e informar de los alcances tanto al personal de salud como a la población. Esta revisión bibliográfica, puede servir como un documento base, para implementar medidas de prevención y control de la diseminación del MRSA en hospitales y en la comunidad, tomando en cuenta las recomendaciones de instituciones reconocidas a nivel mundial, y las investigaciones en países que han tenido brotes epidemiológicos importantes.

Lo que ha contribuido a la falta de estadísticas epidemiológicas sobre el MRSA en nuestro país, es la ausencia de centros de investigación dedicados al tema a nivel hospital y comunidad, así como la falta de equipos y personal capacitado en los sistemas de salud. En el caso particular del Químico Farmacéutico Biólogo, sobresale el rol que representa para la detección oportuna de microorganismos con susceptibilidad a antibióticos, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, y a su ves participar de manera activa con otros profesionales de la salud en estudios de investigación.

Una problemática aún mayor, es la falta de una visión global que puede influir en el desarrollo de las nuevas tecnologías que contribuyan a disminuir la morbi-mortalidad a causa de este patógeno reemergente, mediante dispositivos que identifiquen al microorganismo en un tiempo menor a bajo costo que con los métodos convencionales.

Debido a la complejidad para discernir entre el origen de las cepas CA-MRSA, HA-MRSA y a su vez la diferencia entre las características de las mismas, es necesario emplear técnicas de análisis molecular, dentro de los cuales la MLTS es el método de elección dado que su estandarización y fácil acceso a la base de datos permite que sea el método mayoritariamente empleado con respecto al PFGE, sin embargo cabe señalar que antes del empleo de cualquier método genotípico, es necesario la confirmación por medio de la tinción de Gram, el cultivo en medios selectivos y diferenciales así como

pruebas bioquímicas que se trata de *S. aureus* ya que antes se hablo de los métodos fenotípicos.

Independientemente del protocolo a seguir, es labor del laboratorio de microbiología establecer técnicas estandarizadas y eficaces para la detección oportuna de MRSA, contribuyendo así al control y si es posible su erradicación a tiempo para evitar que se convierta en un amenaza para la comunidad.

16. PERSPECTIVAS

El MRSA se ha extendido mundialmente debido al uso masivo e inapropiado de antibióticos, no solo en la salud humana, sino también en la salud animal, por lo que en este trabajo se establecen las siguientes propuestas para la prevención y control de MRSA:

Acciones prioritarias que deben implementar las autoridades sanitarias:

- Solo se deben administrar a los animales antibióticos no utilizados en medicina humana y, únicamente para acciones terapéuticas. Es primordial reservar para los humanos las clases de antibióticos mas importantes, esto con el objetivo de controlar cepas de MRSA en animales, las cuales ya fueron reportadas (LA-MRSA).
- Reglamentar la venta de antibióticos destinados a la medicina humana y prohibir su venta sin prescripción médica en México, comprometiendo a todas las áreas de salud.
- Proponer a la Secretaría de Salud una carta del buen uso de los antibióticos, la cual deberán firmar las instituciones como los profesionales que se encuentran involucrados en el área de salud, comprometiéndose a cumplirla.

Acciones prioritarias a nivel de los involucrados en la sanidad humana:

- Implementar una supervisión estandarizada de la resistencia y utilización de los antibióticos, seguir la emergencia y propagación de nuevas cepas que presenten resistencia, o cepas reemergentes.
- Incluir una solida formación en el personal de salud, sobre la resistencia bacteriana y el uso razonado de los antibióticos.
- Capacitar al personal de salud, sobre el cuadro clínico, patologías, prevención y control de MRSA, para la adecuada prescripción, dispensación, y uso de antibióticos, así como para reportar casos de MRSA y contribuir a la realización de estudios epidemiológicos en México.
- En el caso de los laboratorios de análisis clínicos, proponer la realización de pruebas de susceptibilidad a antibióticos específicos, con el objeto de ayudar al médico a una mejor prescripción del antibiótico y prevenir resistencia a ellos; además de contribuir a los estudios epidemiológicos.

Es importante recordar que actualmente en los laboratorios de México no se hacen pruebas para la determinación de MRSA, los resultados presentados se limitan al reporte de *S. aureus* como microbiota normal, en caso de estar presente.

Acciones prioritarias a nivel de población:

- Desarrollar campañas informativas destinadas al público, que muestren la necesidad de limitar el uso de antibióticos únicamente a las indicaciones necesarias.
- Enseñar las medidas de higiene fundamentales, como lavarse las manos, para evitar infecciones.
- Realizar campañas informativas para la población sobre MRSA, con el objetivo de que los casos sean reportados y se genere una visión confiable de la problemática en México.

Acciones prioritarias a nivel sector:

- Desarrollar pruebas de diagnóstico rápido.
- Estimular la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos.

Desarrollar más grupos de investigación en la línea de MRSA, y proveer a los laboratorios el equipo necesario para su estudio.

17. REFERENCIAS

1. Larre A., Querejeta M., Laporte M., Tula N., Agorio C. Piodermitis a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente comunitario en el Servicio de Dermatología del Hospital de Clínicas de Uruguay. Med Cutan Iber Lat Am. 2008; 36(3):120-124.
2. Pumarola A., Rodríguez A. Microbiología y Parasitología médica. 2a ed. Barcelona: Salvat. 1995.
3. Vázquez A., Milton L., Garcia R. Asociación de genes implicados en la codificación de proteína de unión a penicilina 2a (pbp2a) con la expresión fenotípica de resistencia a la meticilina en cepas de *Staphylococcus* spp. Cuadernos. 2008; 53(1):31-37.
4. Acosta-Pérez G., Rodríguez-Abrego G., Longoria-Revilla E., Castro-Mussot ME. Evaluación de cuatro métodos para la detección de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente de muestras clínicas en un hospital regional.scielosp. 2012; 54:1-6.
5. Afaf R., Abeer E., Afaf M. Evaluation of CHROMagar and PSatorex Test in Identification of *Staphylococcus aureus.* Egyptian Journal of Medical Laboratory Sciences. 2009; 18(2):53-60.
6. Ahmet C., Tuba Y.Rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates; evaluation of colorimetric Quicolor ES agar and determination of breakpoint inhibition zone diameters of cefoxitin.World J Microbiol Biotechnol. 2011; 27:1901–1904.
7. Anderson D., Kaye K., Chen L., Schmader K., Choi Y.,Sloane R., Sexton R. Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study. PLoS ONE. 2009; 4(12):1-8.
8. Ariza J. Taller de Infección Nosocomial. III Reunión Informativa SOGAMI. Hospital Universitario de Bellvitge. 2005.
9. Forbes A. B., Sahm F. D., Weissfeld A. Diagnóstico microbiológico. 12 a ed., Editorial Médica Panamericana. 2009.
10. Bergey´s Manual of systematic bacterology. 2a ed. New York. Sringer. 2001.

11. Borraz, C. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en hospitales españoles. (Tesis Doctoral). Facultad de medicina, Universidad de Barcelona. Barcelona, España. 2006.
12. Breurec S., Zriouil S.B., Fall C., Boisier P., Brisse S., Djibo S., et al. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in five major African towns: emergence and spread of atypical clones. Clin Microbiol Infect. 2011; 17:160–165.
13. Brooks G. F., J. S. Butel, S.A. Moise. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 18ª ed. Traducida de la 25ª edición en inglés. México: El Manual Moderno. 2011.
14. Burton, D. C., Edwards J. R., Horan C. T., Jernigan J. A., Fridkin S. K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* central Line–Associated Bloodstream Infections in US Intensive Care Units, 1997-2007.JAMA. 2009; 301 (7) :727-736.
15. Bustos-Martínez, J.A., Hamdan-Partida A., Gutiérrez- Cárdenas M.. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev. Biomedic. 2006; 17:287-305.
16. Calderón Jaimes, Ernesto. Aplicación Clínica de Antibióticos y Quimioterapicos. 7a ed. México: Dr. Ernesto Calderón Jaimes editores. 2007. Pp. 7-9, 20-27, 33
17. Castro-Orozco Raimundo, Villafane-Ferrer Lucy M., Álvarez-Rivera Eduviges, Martínez De Arco Melina, Rambaut-Donado, C. L., Vitola-Heins G. V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children attending school in Cartagena, Colombia. Rev. Salud Pública. 2010; 12 (3):454-463.
18. Campanile F, Bongiorno D, Borbone S, Stefani S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* evolution: the multiple facets of an old pathogen. Eur Infect Dis. 2010; 4:70–6.
19. CDC`s. Use of an Inferred PFGE Algorithm, Emerging Infection Program/Active Bacterial core (ABCs) Surveillance Invasive MRSA Project. 2009.
20. Centers for Disease Control and Prevention. [CDC en línea] [Fecha de acceso 7 de enero 2012] disponible en: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa.html

21. Cerlana P, A. Corso, et.al., XVII Latino-American Congress & X Argentina Congress of Microbiology. San Martin General Cultural Center. Buenos Aires. Argentina. 2004.
22. Chambers H.F., DeLeo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol. 2009; 7:629–41.
23. Chen H, Liu Y, Jiang X, Chen M, Wang H. Rapid change of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in a Chinese tertiary care hospital over a 15 year period. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54:1842–7.
24. Chikara Kaito, Yuki Saito, Gentaro Nagano, Mariko Ikuo, Yosuke Omae, Yuichi Hanada, et. al. Transcription and Translation Products of the Cytolysin Gene psm-mec on the Mobile Genetic Element SCC*mec* Regulate *Staphylococcus aureus* Virulence. PLoS Pathogens. 2011; 7: 1-18.
25. Christopher H. G., Marianne S. M. Review: *Staphylococcus aureus* and MRSA in cystic fibrosis.Journal of Cystic Fibrosis. 2011;10: 298–306
26. Chuanxin Yu, Junsong Sun.Genomic Analysis of Gene Expression of *Staphylococcus aureus*. Methods in Molecular Biology: MRSA Protocols. Humana Press Inc., Totowa, NJ.pp.169-178
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twentieth Informational Supplement. 2010; 30 (1):60-70.
28. Cockfield J.D., Pathak S., Edgeworth J.D., Lindsay JA. Rapid determination of hospital-acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. J Med Microbiol. 2007; 56:614–9.
29. Cruz Sánchez A.Prevalencia de la infección de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alumnos de la UNAM. (Tesis de Licenciatura). 2007.
30. David M.Z., Daum R.S. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin Microbiol Rev. 2010; 23:616–87.
31. D'Souza N., Rodrigues C., Mehta A. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with emergence of epidemic clones of sequence type (ST) 22 and ST 772 in Mumbai, India. J Clin Microbiol. 2010; 48:1806–11.

32. Frank D. N, Feazel L.M., Bessesen M.T., Price C.S., Janoff E.N. et al. The Human Nasal Microbiota and *Staphylococcus aureus* Carriage. Plos one. May 2010; 5(5).
33. De Kraker M.E., Wolkewitz M., Davey P.G., Grundmann H.; BURDEN Study Group. Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55:1598–605.
34. DeLeo F.R., Otto M., Kreiswirth B.N., Chambers H.F. Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet. 2010; 375:1557–68.
35. DeLeo F.R, Chambers H.F. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. J Clin Invest. 2009;119: 2464–74.
36. Deurenberg. R. H., Vink C., Kalenic S., Friedrich W. A., Bruggeman C. A., Stobberingh E. E. The molecular evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin. Microbiol Infect. 2007; 13:222-235.
37. DIBICO S.A. DE C.V. MEXICO, D.F. [en línea] [Fecha de acceso 25 de enero 2012] Disponible en: http://www.dibico.com/fichast/1066.pdf
38. Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000;13:16-34.
39. Elizabeth A. G., Julia A. S. The skin microbiome. Nature Reviews Microbiology. 2011; 9:244-253.
40. Eliecer Cano M., Dominguez Ma. Á., Ezpeleta Baquedano C., Martínez M. L., Padilla Ortega B., Ramírez de Arellano E. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2007.
41. Enright M. C., Day N. P. J., Davies C. E., Peacock S. J., Spratt B.G. Multilocus Sequence Typing for Characterizacion of Methicillin- Resistant and Methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000; 38:1008-1015.
42. Ellington M.J., Perry C., Ganner M., Warner M., McCormick Smith I., Hill R.L., et al. Clinical and molecular epidemiology of ciprofloxacin-susceptible

MRSA encoding PVL in England and Wales. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009; 28:1113–21.

43. Espinosa López, Fdo. Terapéutica en enfermedades infecciosas.Tomo IV. México: Corporativo Intermedia. 2007. Pp. 539-560, 577-605
44. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, Sweden: ECDC; 2010.
45. Flanklin D. Lowy.Antimicrobial resistance: the example of *S. aureus*. The Journal of Clinical Investigation. 2003; 111(9):1265-1273.
46. Firth N., Skurray R.A.Genetics: accessory elements and genetic exchange. 2nd ed. Washington, Press. 2006: 413–26.
47. Friedrich A.W., Daniels-Haardt I., Köck R., Verhoeven F., Mellmann A., Harmsen D., et al. EUREGIO MRSA-net Twente/Münsterland—a Dutch–German cross-border network for the prevention and control of infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Euro Surveill. 2008; 13(35):18695.
48. Fumihiko Takeuchi, Tadashi Baba. Comparative Analysis of MRSA. Methods in Molecular Biology: MRSA Protocols: Y. Ji © Humana Press Inc., Totowa, NJ.
49. García-Álvarez L., Holden M.T., Lindsay H., Webb C.R., Brown D.F., Curran M.D. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2011; 11:595–603.
50. Garza Velasco, Raúl. Bacterias Patógenas Parte III. México: UNAM, Facultad de Química. 2007. Pp. 5-25
51. Garza Velasco, Raúl. Bacterias Patógenas Parte IV. México: UNAM, Facultad de Química. 2007. Pp. 57-71, 91-95
52. Garza Velasco, Raúl. Manual de Bacteriología. México: UNAM, Facultad de Química. 2007.
53. Geng W, Yang Y, Wu D, Huang G, Wang C, Deng L, *et al*. Molecular characteristics of community-acquired, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. FEMS Immuno Med Microbiol. 2010;58:356–62.

54. Ghaznavi-Rad E., Nor Shamsudin M., Sekawi Z., Khoon L.Y., Aziz M.N., Hamat R. A., et al. Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia. J Clin Microbiol. 2010;48: 867–72.
55. Gil. D. M. Mónica.*Staphylococcus aureus:* Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect. (2000). 17(2):145-152
56. Gillet Y., Vanhems P., Lina G., Bes M., Vandenesch F., Floret D., et al. Factors pre-dicting mortality in necrotizing community-acquired pneumonia caused by Staphylococcus aureus containing Panton–Valentine leukocidin. Clin Infect Dis. 2007;45:315–21
57. González Saldaña, Napoleón. Infectología Clínica Pediátrica. 7ª ed. México: McGraw-Hill; 2004. Pp. 424-438, 1142.
58. Goodman y Gilman´s. Las bases Farmacológicas de la terapéutica. Mc Graw-Hill Interamericana. 11ª edición. 2007 PP. 1127-1151.
59. Gorwitz RJ. *Journal of Infectious Diseases*. 2008; 197:1226-34.
60. Gray R. R., Tatem A. J., Johnson J. A., Alekseyenko A.V., Pybus O. G., Suchard M. A., *et al*. Testing spatiotemporal hypothesis of bacterial evolution using methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST239 genome-wide data within a Bayesian framework. Mol Biol Evol. 2011;28:1593–603
61. Anstead M. G., Quinones-Nazario G. Treatment of Infections Caused by Resistant *Staphylococcus aureus*. Methods in Molecular Biology: MRSA Protocols. Humana Press Inc., Totowa, NJ. Pp227-259
62. Grundmann H., Aanensen D. M., Van den Wijngaard C. C., Spratt B.G., Harmsen D., Friedrich A. W. Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis. PLoS Med. 2010; 7.
63. Hatice Ceylan Koydemira, Haluk Kulah, Canan Özgen, Alpaslan Alp, Gülşen Hasçelik .MEMS biosensors for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Biosensors and Bioelectronics.2011;29:1– 12.
64. Harris S. R., Feil E. J., Holden M. T., Quail M. A., Nickerson E. K., Chantratita N., et al. Evolution of MRSA during hospital transmission and intercontinental spread. Science. 2010; 327:469–74.

65. Hallin, M., Deplano A., Denis O., De Mendoca R., De Ryck R., Stuelens M.J. Validation of Pulsed-Field Gel electrophoresis and spa Typing for Long-Term, Nationwide Epidemiological Surveillance Studies of Staphylococcus aureus Infections. J Clin Microbiol. 2007 ; 45: 127-133.
66. Hernández, Cesia. Actualización en *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. [en línea] [Fecha de acceso 22/02/2012] disponible en: http://www.revistadelmicrobiologo.org
67. Hersh A. L., Chambers H. F., Maselli J. H. National trends in ambulatory visits and antibiotic prescribing for skin and soft-tissue infections. Arch Intern Med. 2008; 168:1585-91.
68. Hidron A. L., Edwards J.R., Patel J.Infect Control Hosp Epidemiol. 2008; 29:996-1011.
69. Huang H., Flynn N.M., Kin J.H., Monchaud C., Moirita M., Cohen S.H. Comparison of Community- Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Hospital-Associated MSRA Infections in Sacramento, California. Journal of Clinical Microbiology. 2006; 44 (7):2423-2427.
70. I. Bado N., Cordierio García, V., Robino L., Seijia V., Vignoli R., Principales grupos de antibióticos. Temas de Bacteriología y Virología Médica. Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR. 2008.pp. 727-752
71. Ian M. Gould. Antibiotics, skin and soft tissue infection and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: cause and effect. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009; 34 (S1): S8–S11.
72. Ian M. Gould. Management of serious meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: what are the limits? International Journal of Antimicrobial Agents. 2011; 37: 202–209.
73. Instituto Nacional de la Salud. MedlinePlus. Información de salud para usted. [en línea] [Fecha de acceso 08/01/2012] disponible en: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/007261.htm
74. Martínez J. A, Sánchez F. Mecanismos de acción de los antibióticos. JANO. 2007; 1(660):28-34.
75. Camarena J., Sánchez J., Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* Resistente a meticilina. Control de Calidad. Valencia. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset.

76. Cavalieri, Stephen J. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiano. Washington, D.C: American Society for Microbiology. 2009.
77. Kluytmans J., A van Belkum, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical microbiology. Rev. 1997, 10(3):505.
78. Mensa J., BarberánJ. Guía de tratamiento de la infección producida por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Revista Española Quimioterapia. (2008); 21(4):234-258.
79. Jansen van Rensburg MJ, Eliya Madikane V, Whitelaw A, Chachage M, Haffejee S, Gay Elisha B. The dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone from hospitals in Cape Town has an unusual genotype: ST612. Clin Microbiol Infect. 2011; 17:785–92.
80. Jarraud S., Mougel C., Thioulouse J., Lina Gerard, Meugnier Hélène, Forey Françoise, Nesme Xavier, Etienne Jerome, Vandenesch François.Relationships between *Staphylococcus aureus* Genetic Background, Virulence Factors, agr Groups (Alleles) and Human Disease. Infection and Inmunity. 2002; 70 (2): 631-641.
81. Javier Murillas. Curso de antimicrobianos 2008. Implicaciones Pronosticas. [diapositivas] Hospital Son Dureta. Medicina Interna. 2008..Disponible en:http://www.elcomprimido.com/FARHSD/CursoAntimicrobianos2008/Murillas_ImplicacionesPronosticas_13_03_2008.ppt.Fecha de consulta: 15/05/2012.
82. Jiménez Quinceno, Judith. Margarita, Correa Ochoa. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. IATREIA. 2009; 22(2):147-158.
83. JiYeon Kim, M.D., M.P.H. Understanding the Evolution of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus.* Clinical Microbiology Newsletter. 2009; *31:3.*
84. K. Becker1 · C. Sunderkötter2. Hautinfektionen durch MRSA. Hautarzt Springer-Verla. 2012; 63:371–380.
85. Katja Lucke, Michael Hombach. Rapid Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Diverse Clinical Specimens by the BD GeneOhm MRSA Assay and Comparison with Culture. Journal of clinical microbiology. 2010; 48(3): 981–984.

86. Klein E. M.A., Smiith L. D., Laxminarayan R., Emerging Infectious Diseases.Medscape edu.2007; 13:1840-6.
87. Klevens R.M., Edwards J.R., Tenover F.C., McDonald L.C., Horan T., Gaynes R., et al. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992–2003. Clin Infect Dis. 2006; 42:389–91.
88. Klevens R.M., Morrison M.A., Nadle J., Petit S., Gershman K., Ray S., et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. JAMA. 2007; 298:1763–71.
89. Koneman. Diagnostico Microbiológico. Texto y Atlas 5 Ed. México: Médica Panamericana, 2005. pp. 532-535.
90. Köck R., Becker K., Cookson B., Van Gemert-Pijnen J.E., Harbarth S., Kluytmans J., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. Euro Surveill. 2010; 15: 19688.
91. Köck R., Brakensiek L., Mellmann A., Kipp F., Henderikx M., Harmsen D., et al. Cross-border comparison of the admission prevalence and clonal structure of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect. 2009; 71:320–6.
92. Labandeira-Rey M., Couzon F., Boisset S., Brown E.L., Bes M, Benito Y., et al. *Staphylococcus aureus* Panton–Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. Science. 2007;315:1130–3.
93. Larsen A., Stegger M., Goering R., Sorum M., Skov R. Emergence and dissemination of the methicillin resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone in Denmark (2000–2005). Euro Surveill. 2007;12(2).
94. Liangsu Wang, John F. Barrett. Control and Prevention of MRSA Infections. Methods in Molecular Biology: MRSA Protocols. Y. Ji Humana Press Inc., Totowa, NJ. pp.209-225
95. Lindsay JA. Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. Int J Med Microbiol. 2010; 300:98–103.
96. Lindsay JA., Moore CE., Day NP., Peacock SJ., Witney AA., Stabler RA, et al. Microar-rays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has a unique combination of surface-associated and regulatory genes. J Bacteriol. 2006; 188:669–76.

97. Lippincott, Williams. Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. NewYork. 2000. pp. 532.
98. Liu C., Graber C.J., Karr M., Diep B.A., Basuino L., Schwartz B.S., et al. A population-based study of the incidence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in San Francisco, 2004–2005. Clin Infect Dis. 2008; 46:1637–46.
99. Loui. L. Evaluation of Three Rapid Methods for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. J.Clin. Microbiol.2000; 38:2170-2173.
100. Navarro-Navarro M., Moreno-Ibarra G. M., Castillón-Campaña L. G., Sánchez-Maríñez R. I., Rodríguez-Pesqueira F. E., Sánchez-Padilla A. Baja Prevalencia de *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina en Cepas Aisladas en el Laboratorio Clínico del Hospital Infantil del Estado de Sonora. Bol. Clin. Hosp. Infant. Edo. Son. 2008; 25(1):3-7.
101. Neeltje Carpai. Genetic Variation in Spatio-Temporal Confined USA300 Community-Associated MRSA Isolates: A Shift from Clonal Dispersion to Genetic Evolution?. Plos One. February 2011; 6 (I2):e16419.
102. NOM-089-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación del contenido microbiano en productos de belleza. Cuenta total de: Mesofílicos aerobios, *Staphylococcus aureus*, Salmonella sp.
103. Nodarse Hernández Rafael. Detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante disco de cefoxitina. Revista Cubana de Medicina Militar. 2009; 38(3-4)30-39.
104. Nübel U., Roumagnac P., Feldkamp M., Song J.H., Ko K.S., Huang Y.C. Frequent emergence and limited geographic dispersal of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Proc Natl Acad Sci USA. 2008; 105:14130-14135.
105. Guzmán-Blanco M. Epidemiology of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. International Journal of Antimicrobial Agents.2009; 34: 304–308.
106. McCarthy A.J., Lindsay J.A. Genetic variation in *Staphylococcus aureus* surface and immune evasion genes is lineage associated: implications for vaccine design and hostpathogen interactions. BMC Microbiol. 2010; 10:173.

107. MacFanddi. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica.3era edición, Editorial Panamericana.2006.pp.511-513, 244-248

108. Mar Marín y Francesc Gudiol. Antibióticos betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002; 21(1):42-55.

109. Maree C.L., Daum R.S., Boyle-Vavra S., Matayoshi K., Miller L.G. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing healthcare-associated infections. Emerg Infect Dis 2007;13:236–42.

110. Matteo Bassetti. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice?. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009; 34 (S1): S15–S19.

111. Mejía C., Zurita J., Guzmán-Blanco M. Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. Braz J Infect Dis. 2010; 14(Suppl. 2):S79–86.

112. Miranda Novales Maria Guadalupe. Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* en México. Biol Med Hosp Infant Mex. 2011; 68 (4): 262-270.

113. Monecke S., Coombs G,. Shore A.C., Coleman D.C., Akpaka P., Borg M, et al. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS One. 2011;6: e17936.

114. Molina José Ma. Eugenia, Manjarrez Jorge Tay.Microbiología (bacteriología y virología). Méndez Editores. México DF. 2010; pp.155-160.

115. Molina López José, Manjarrez Zalva. Microbiología, Bacteriología y Virologia. Mendez Editores.Mexico DF.2010. Pp 153-160.

116. Moodley A., Oosthuysen W.F., Dusé A.G., Marais E.; South African MRSA Surveillance Group. Molecular characterization of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in South Africa. J Clin Microbiol. 2010;48:4608.

117. Moran G.J., Krishnadasan A., Gorwitz R.J., Fosheim G.E., McDougal L.K., Carey R.B., et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. N Engl J Med. 2006; 355:666–74.

118. Murray, P. R. Microbiología Médica. 4 Ed. Elsevier. España. Pp 182-185, 188-189, 198-209.

119. Otter J.A., French G.L. Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains as a cause of healthcare-associated infection. J Hosp Infect 2011; 79:189–93.

120. Palombarani S., Gardella N., Tuduri A., Figueroa S., Sly G., Corazza R., Gutkind G., Almuzara M., Mollerach M. Infecciones adquiridas en la comunidad por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital de agudos. Revista Argentina de Microbiología.2007; 39:151-155.

121. Pallin D.J., Egan D.J., Pelletier A.J., Espinola J.A., Hooper D.C., Camargo C.A. Increased US emergency department visits for skin and soft tissue infections, and changes in antibiotic choices, during the emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Ann Emerg Med 2008; 51:291–8.

122. Paganini Hugo M., Della L. P., Muller O. B. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquiridas en la comunidad en niños antes sanos y en niños relacionados al hospital en la Argentina..Rev. Chil. Infec. 2009; 26 (5):406-412.

123. Palavecino Elizabeth. Clinical, Epidemiological, and Laboratory Aspects of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infections. Methods in Molecular Biology: MRSA Protocols. Y. Ji. Humana Press Inc., Totowa, NJ. Pp.1-19.

124. Pao-Kuei Hsiao, Wan-Ting Chen. Performance of CHROMagar Staph aureus and CHROMagar MRSA for Detection of Airborne Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus*. Aerosol Science and Technology. 2012; 46:297–308.

125. Patrick R., Murray,Ken S., Rosenthal. Microbiología Médica. 4taedicion. Elservier. 2002. Pp.183-185.

126. Patricia Saltigeral Simental. Guía de antimicrobianos. 8ª ed. México: Nieto. 2008. Pp. 91, 115-116, 101,145.

127. Perera, J., Tormo A., Garcia J.L. Ingenieria Genética. Preparación, análisis manipulación y clonaje de DNA. Volumen I. Ed. Síntesis. Madrid, España. 2002. pp. 57-70.

128. Pereyra Q. Claudia Jazmin. Tesis de licenciatura. Frecuencia e importancia de las colonización en fosas nasales por *Staphylococcus aureus* en pacientes y personal del salud del Instituto Nacional de

Cardiología “Ignacio Chávez” (INCICh) en el periodo comprendido de Septiembre 2008 a septiembre 2010. UNAM. México DF.2011.

129. Prescott, Lansing. Microbiologic. 5ª Ed. México: McGraw-Hill. 2009.

130. Ryan Kenneth J., Ray Jorge. Microbiología médica: Introducción a las enfermedades infecciosas.4taedición. McGraw-Hill. México D.F.2005. pp.286-296.

131. Rodríguez, Carlos. Omar, Vesga. *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. Biomédica.2005; 25:575-87.

132. Rodríguez-Baño Jesús, Alvaro Pascual. Microorganismos multirresistentes, ¿adquisición nosocomial o comunitaria? Enferm Infecc Microbiol Clin. 2004. 22(9):505-6.

133. Rodríguez Carranza, Rodolfo. Vademecum académico de medicamentos. 5 Ed. México: McGraw-Hill; 2009.

134. Rodríguez-Noriega E., Seas C., Guzmán-Blanco M., Mejía C., Álvarez C., Bavestrello L., et al. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America. Int J Infect Dis 2010; 14:e560–6.

135. Rosenblatt-Farrell, Noah. El paisaje de la resistencia a los antibióticos. Salud Pública México. 2009; 51(5):435-444.

136. Klevens RM., Edwards JR., McDonald LC.,Tenover FC., Horan T., Gaynes R. Changes. Cambios en la epidemiologia de *Staphylococcus aureus* resitente a meticilina en unidades de cuidados intensivos del periodo de 1992-2003. Clínica Enfermedades Infecciosas.2006; 42(3): 389-91.

137. Rubin, R.J., Harrington C. A., Poon A., Dietrich K., Greene JA., Moiduiddin. El impacto económico de la infección por *Staphylococcus aureus* en hospitales de la Ciudad de Nueva York.Emerging. Inf. Dis; 5, 1999.

138. Ruud H. Deurenberg, Ellen E. Stobberingh. The evolution of *Staphylococcus* aureus. Infection, Genetics and Evolution.2008; 8:747–763.

139. Sam IC, Kahar-Bador M, Chan YF, Loong SK, Mohd Nor Ghazali F. Multisensitive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Malaysia. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008;62:437–9

140. Sidney M. Finegold, Ellen Jo. Baron. Diagnóstico Médico. (1996).7 a Ed. Editorial Panamericana.pp. 339

141. Song JH, Hsueh PR, Chung DR, Ko KS, Kang CI, Peck KR, et al. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study. J Antimicrob Chemother 2011; 66:1061–9.

142. Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus:* related infections and antibiotic resistance. Int J Infect Dis. 2010; 14(Suppl. 4):S19

143. Stefania Stefani.Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. Int J Antimicrob Agents. 2012.

144. Stenhem M, Ortqvist A, Ringberg H, Larsson L, Olsson Liljequist B, Haeggman S, et al. Imported methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Sweden. Emerg Infect Dis. 2010; 16:189–96.

145. Stephen P. Hawser. Rising incidence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin and susceptibility to antibiotics: a global analysis 2004–2009. International Journal of Antimicrobial Agents. 2011; 37:219–224.

146. Sung JM, Lloyd DH, Lindsay JA. *Staphylococcus aureus* host specificity: compar-ative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. Microbiology.2008; 154:1949–59.

147. Tenover FC, McAllister S, Fosheim G, McDougal LK, Carey RB, Limbago B, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from nasal cultures col-lected from individuals in the United States in 2001 to 2004. J Clin Microbiol 2008; 46:2837–41.

148. Teruyo Ito, Kyoko Kuwahara, et al., Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) Analysis of MRSA. Methods in Molecular Biology: MRSA Protocols.Y. Ji © Humana Press Inc., Totowa, NJ. Pp 87-102.

149. Van Cleef BA, Monnet DL, Voss A, Krziwanek K, Allerberger F, Struelens M, et al. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans, Europe. Emerg Infect Dis 2011; 17: 502–5.

150. Vázquez, J. A., y S. Berron. Multilocus sequence typing: el marcador molecular de la era de Interner. Enferm Infecc Microbiol clin. 2004; 22:113-120.

151. Vásquez Michel Aneth, Giovanni García Radai. Asociación de los genes implicados en la codificación de proteína de unión a la penicilina 2a (pbp2a) con la expresión fenotípica de resistencia a la meticilina en cepas de *Staphylococcus* spp*.* Cuadernos. 2008;53 (1): 31-37.

152. Vega Ramírez Jésus.Identificacion de los genes *agr, mecA*, y PVL en *Staphylococcus aureus* de aislamientos de portadores asintomáticos y de infecciones nosocomiales. Tesis de licenciatura*.* México, UNAM. 2008.

153. Velázquez Meza ME. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. Salud Pública. 2005; 47:381-387. URL disponible en http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000532, 13 de Abril del 2012.

154. Velázquez Meza ME. Molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in a tertiary care hospital in Mexico city. Instituto de Salud Pública, Cuernavaca Morelos, México.

155. María E. Velázquez-Meza, Jacobo Ayala Gaytán. Primer Informe de la Comunidad Associated resistente a la meticilina *Staphylococcus aureus* (USA300) en México. J Clin Microbiol. 2011; 49(8):3099-100.

156. W. Robert Bailey, Elvyn G.Scott. Diagnóstico microbiológico. Editorial Panamericana 7ta edición, 1991.pp 15, 339-340.

157. Waldron DE, Lindsay JA. Sau1: a novel lineage-specific type I restriction-modification system that blocks horizontal gene transfer into *Staphylococcus aureus* and between S. aureus isolates of different lineages. J Bacteriol 2006; 188:5578–85.

158. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, Van Leeuwen W, Van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis 2005; 5:751–62.

159. Y. Gillet. Pragmatic management of Panton–Valentine leukocidin-associated staphylococcal diseases. International Journal of Antimicrobial Agents .2011; 38:457– 464.

160. Y. Ktayama, T. ITO. Hiramatsu K. A new Class of Genetic Element, Staphylococcus Cassette Chromosome mec, Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000; 44(6):1549-1555.

161. Yosef P., Krespi MD. Laser-assisted nasal decolonization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. American Journal of Otolaryngology–Head and Neck Medicine and Surgery. ultimate guide to get rid of MRSA and *Staphylococcus* infections.2012: 82

162. Hubert Walinski. The ultimate Guide to get rid of MRSA and Staph Infections. Investigador del laboratorio de medicina y patología. pp. 82

163. Ortiz Gil Miguel Angel. Detección de clonas de MRSA en el hospital regional de alta especialidad de Veracruz. Intraforo 2010. Foro Veracruzano Internacional de investigación en salud 2010.

164. Salud pública. Fecha de consulta 9/06/2012 URL: https://siid.insp.mx/www/estudios_inv_v3.asp?id=94

165. Surbhi Malhotra-Kuma. Evaluation of Chromogenic media for detection of MRSA. Journal of clinical microbiology Apr. 2010; 48(4): 40-46.

166. R. Solaga.Detección de meticilino-resistencia en *S. aureus*. Comparación de métodos convencionales y aglutinación con MRSA-Scree látex. Revista Argentina de microbiología. 2004; 36: 36-40.

167. Malachowa N, DeLeo FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. Cell Mol Life Sci. 2010; 67: 3057–71.

168. Universidad de Rochester Medical Center (Fecha de consulta 8/05/2012). El descubrimiento de la ruta para la Vacuna contra el MRSA. Universidad de Rocher medical center. URL: http://www.eurekalert.org/pub_releases/2011-01/uorm-rum011111.php

169. Clasificación de los medios de cultivo (fecha de consulta 01/06/2012) URL: http://perso.wanadoo.es/sergioram1/medios_de_cultivo.htm

170. Resistencia a antibióticos. (Fecha de consulta: 01/06/2012) URL: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/antibioticos/antibioticos.html