



Infectio

Asociación Colombiana de Infectología

www.elsevier.es/infectio



ORIGINAL

Caracterización del gen *mecA* de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aislados de tres grupos poblacionales de la ciudad de Medellín

Marcela Sanchez^a, Orville Hernández^{a,b,*}, Luz Astrid Velasquez^a, Dora Rivas^c, Alejandra Marín^c, Leonel Andrés González^d y Clara Duque^a

^a Grupo de Investigación en Biociencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Antioquia, Colombia

^b Unidad de Biología Celular y Molecular, Corporación Para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, Colombia

^c Especialización en Microbiología, Clínica Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Hospital General de Medellín, Colombia

^d Dinámica IPS, laboratorio de biología molecular y citometría, Medellín, Colombia

Recibido el 21 de febrero de 2013; aceptado el 6 de septiembre de 2013

PALABRAS CLAVE

S. aureus;
Resistencia a la
meticilina;
Gen *MecA*;
SSC *mec*;
Reacción en cadena de
la polimerasa;
Infecciones asociadas a
la atención en salud

Resumen

Introducción: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) es responsable de infecciones intrahospitalarias, las que constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad en nuestro medio, por lo cual la rápida identificación y tipificación molecular de la resistencia como el complejo SSCmec es esencial para entender la epidemiología de la infección.

Objetivo: Caracterizar fenotípicamente la resistencia a meticilina y genotípicamente el casete cromosomal SSCmec en cepas de *S. aureus* aislados de individuos de la ciudad de Medellín mediante PCR múltiple.

Materiales y métodos: A 41 aislamientos (hospitalarios y de la comunidad) de *S. aureus* se les estableció la resistencia a cefoxitin mediante la técnica de Kirby-Bauer y la concentración inhibitoria mínima para oxacilina. Mediante PCR convencional se les confirmó la presencia del gen *mecA*. Para la tipificación del complejo SSCmec se utilizó PCR múltiple para amplificar 6 loci diferentes de este gen.

Resultados: A todos los aislamientos se les confirmó resistencia a meticilina y la presencia del gen *mecA*, de los cuales 17 fueron clasificados como SSC *mec* I, 1 como SSC *mec* II, 21 como SSC *mec*IV; dos aislamientos no fue posible clasificarlos.

Conclusiones: Con el uso de esta técnica clasificamos el 95% de los aislamientos del estudio, encontrando una mayor prevalencia de los SSCmec I y IV. La implementación de esta técnica permite una fácil caracterización de los aislamientos SARM y un apropiado manejo de la información de los integrantes de los comités de infecciones hospitalarias, lo cual podría impactar positivamente en el tratamiento a los pacientes y el control de enfermedades infecciosas intrahospitalarias.

© 2013 ACIN. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: orvillehr@hotmail.com (O. Hernández)

KEYWORDS:

S. aureus;
Methicillin resistance;
MecA Gen;
SSC mec;
Multiple polymerase
chain reaction;
Health care associated
infections

Characterization of *mecA* gene of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from three population groups in Medellín

ABSTRACT

Introduction: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is involved in nosocomial infections, representing an important cause of morbidity and mortality. The rapid identification and molecular classification of resistance, such as the SSCmec complex, is essential to understanding the epidemiology of infection.

Objective: To phenotypically characterize methicillin resistance and to genotype the SSCmec complex in *S. aureus* isolates collected from a cohort of patients from Medellín, Colombia.

Materials and Methods: Cefoxitin resistance was evaluated in 41 *S. aureus* isolates, using the Kirby-Bauer method and determining the minimal bactericidal concentration of oxacillin. To confirm the presence of the *mecA* gene, conventional PCR was performed. The classification of the SSCmec complex was carried out by multiple PCR, amplifying 6 different loci in this gene.

Results: Methicillin resistance and the presence of the *mecA* gene were confirmed in all isolates. A total of 17 were classified as SSCmec I, one as SSCmec II, and 21 SSCmec IV (only two isolates were not classified).

Conclusions: Using this method, it was possible to classify 95% of the studied isolates, with a higher prevalence of SSCmec I and IV. The implementation of this technique allows the characterization of MRSA isolates and an appropriate management of the information by the members of the Hospital Infection Committee. Altogether, this method may have a positive impact on the treatment of patients with MRSA infections.

© 2013 ACIN. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Las enfermedades infecciosas constituyen una causa muy importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, por lo que se espera que el tratamiento adecuado en el momento oportuno para dichas entidades genere un impacto positivo en la salud pública de la mayoría de los países¹, especialmente en países subdesarrollados como Colombia. Sin embargo, el tratamiento convencional puede no ser el adecuado cuando se deben combatir microorganismos que han desarrollado mecanismos de resistencia a los antibióticos de primera línea de elección^{2,3}. Este ha sido un problema que se ha incrementado en los últimos años, afectando de forma negativa el tratamiento de los pacientes, aumentando los costos hospitalarios y los esfuerzos invertidos para lograr la remisión de los pacientes infectados^{2,4}.

Staphylococcus aureus es un patógeno oportunista responsable de una gran cantidad de infecciones tanto en humanos como en animales^{5,6}. Los seres humanos son un reservorio natural de este microorganismo y, aunque la colonización asintomática es más común que la infección⁷, este microorganismo puede encontrarse, causando desde infecciones menores en la piel hasta infecciones en heridas quirúrgicas, neumonía y otro tipo de infecciones que pueden comprometer la vida del paciente⁸.

En 1960 se reportó por primera vez en Europa una cepa de *S. aureus* resistente a la metilicina (SARM); posteriormente en Estados Unidos, en 1968, se reportó una cepa con iguales características^{9,10}. SARM es una causa importante de infecciones asociadas al cuidado de la salud en todo el mundo; sin embargo, desde su primer aislamiento¹¹ se ha observado un incremento en la prevalencia de estas cepas en la comuni-

dad, lo cual facilita la transmisión endémica y zoonótica de estas cepas^{9,12}. Actualmente la resistencia a la metilicina es un hallazgo frecuente y representa un problema importante de salud pública a nivel mundial^{5,8-10,13,14}.

El gen *MecA*, responsable de la resistencia a la metilicina en *S. aureus*, no es endógeno y se encuentra integrado al cromosoma bacteriano, pudiendo ser detectado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{15,16}. El producto de expresión de este gen es una proteína de unión a la penicilina de 78 kDa, con baja afinidad por los antibióticos beta-lactámicos, llamada PBP2^{*} o PBP2a^{7,10,17}. Este gen se encuentra dentro de un elemento cromosomal móvil heterogéneo conocido como "*Staphylococcal cassette chromosome mec*" (SSCmec)^{17,18}. Los aislamientos que poseen este elemento genético presentan una disminución en la afinidad a metilicina, lo cual genera la resistencia bacteriana⁷, por lo cual han sido utilizados en diversos estudios para caracterizar la resistencia a B-lactámicos^{7,17}.

Este elemento genético también ha sido encontrado en otras especies de *Staphylococcus* y se cree que las especies coagulasa negativas constituyen un reservorio para la adquisición de SSCmec¹⁹. Diferentes tipos de SSCmec han sido reconocidos y mediante el uso de técnicas de tipificación molecular se ha logrado su caracterización, lo cual ha facilitado los análisis epidemiológicos de la distribución de *S. aureus* resistente a metilicina²⁰.

Empleando técnicas moleculares para la identificación del gen *mecA*, se ha reportado en muchos países la presencia de diferentes aislamientos SARM, tipificando el casete cromosomal SSCmec con fines epidemiológicos. En un estudio realizado entre 2006 y 2008 en 32 hospitales en Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, Reyes et al. obtuvieron 1.570

aislamientos de *S. aureus*, de los cuales 651 (41%) fueron SARM, siendo más predominante el SSCmec IV²¹. En Colombia, Alvarez et al. (2006) reportaron 2 casos de pacientes infectados con *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), al cual se le demostró mediante la técnica de PCR la presencia del gen mecA²². En otro estudio realizado en 5 hospitales de Bogotá (Colombia), Alvarez et al. demostraron que, de 250 aislamientos SARM causantes de infecciones asociadas al cuidado de la salud, el 10,4% eran adquiridos en la comunidad (CA-SARM)²³.

Los aislamientos SARM han sido también aislados de niños; Escobar et al. reportaron la presencia de un nuevo clon de SARM (tipo t1635 ACME-negativo) genéticamente no relacionado con el clon USA300, el cual fue asociado a infecciones en niños en Colombia²⁴. En otro estudio, Jiménez et al. obtuvieron 60 aislamientos SARM y SASM de pacientes pediátricos entre 0 y 14 años; identificaron genes que codifican factores de virulencia y tipificaron el SSCmec de los aislamientos SARM, en los cuales encontraron SSCmec tipo IVc en el 60% del paciente, tipo I en el 30%, tipo IVa en el 7% y tipo V en el 3% de los pacientes²⁵.

En un estudio realizado por Jiménez et al., en Medellín (Colombia), de 538 aislamientos SARM, 306 (58,7%) fueron clasificados como SSCmec tipo IV, seguido por 174 SSCmec tipo I (33,4%), adicionalmente demostraron un incremento en la prevalencia del SSCmec tipo IVc del 50,0% al 68,2% entre 2008 y 2010, lo cual demuestra que este tipo de SSCmec es predominante en los hospitales de Medellín²⁶.

En este trabajo se clasificaron 39 de 41 aislamientos SARM procedentes de 3 diferentes grupos poblacionales de la ciudad de Medellín, utilizando una PCR múltiple para realizar la tipificación del complejo SSCmec, método eficiente y de fácil utilización para la identificación del tipo estructural de los elementos mec en aislamientos SARM.

Materiales y métodos

Tipo de estudio, población y muestra

Este fue un estudio de tipo descriptivo prospectivo; en el cual se evaluaron 41 aislamientos de SARM procedentes de pacientes de tres diferentes grupos poblacionales de la ciudad de Medellín en el año 2010. Tres aislamientos fueron obtenidos de pacientes ambulatorios VIH positivo, 4 aislamientos de individuos de la población general; para ambos grupos los aislamientos fueron obtenidos de portadores nasales y 34 aislamientos obtenidos de pacientes hospitalizados en el Hospital General de Medellín. Los aislamientos fueron obtenidos de diferentes muestras clínicas, así: secreciones el 50%, sangre el 25%, orina el 8%, líquido peritoneal 6%, hueso 6%, herida quirúrgica 5%.

Criterios de inclusión: aislamientos de SARM confirmados procedentes de tres grupos poblacionales; pacientes ambulatorios VIH positivo, individuos de la población general y pacientes hospitalizados en el Hospital General de Medellín recuperados en el 2010. Cada aislamiento corresponde a un paciente diferente

Criterios de exclusión: aislamientos de SASM procedentes de tres grupos poblacionales; pacientes ambulatorios VIH positivo, individuos de la población general y pacientes hospitalizados en el Hospital General de Medellín recuperados en el 2010.

Recolección de las muestras y aislamiento de cepas bacterianas

Todos los pacientes aceptaron participar del estudio y diligenciaron un formato único de información. Las muestras obtenidas de los pacientes fueron transportadas en el medio Stuart y posteriormente cultivadas en agar sangre de carnero y en agar cromogénico Chromid MRSA de BioMérieux con una siembra por agotamiento, en una atmósfera de 5 al 10% de CO₂ a 37°C, durante 24 a 48 horas; las colonias compatibles con cocos Gram positivos se confirmaron mediante coloración de GRAM, prueba de la catalasa y prueba de la coagulasa. Adicionalmente se utilizó el método comercial semi-automatizado API Staph de BioMérieux, para clasificarlo como *S. aureus*. Todos los aislamientos se conservaron en caldo BHI glicerol al 30% en ultra congelación.

Determinación del patrón de susceptibilidad

A las colonias aisladas de *S. aureus* se les realizó antibiogramas por la técnica de Kirby-Bauer, en agar Mueller-Hinton utilizando los sensibilizadores gentamicina, clindamicina, eritromicina, trimetoprim-sulfametoxazol, cefoxitin y tetraciclina. Adicionalmente se realizó el test de difusión en disco (D test) para detectar resistencia inducible a clindamicina.

En las pruebas de sensibilidad realizadas a los aislamientos procedentes de pacientes VIH y los de población general se observó una sensibilidad para eritromicina y tetraciclina del 66,6% y de 100% para gentamicina y clindamicina. En los aislamientos correspondientes a pacientes hospitalizados el perfil de sensibilidad fue: clindamicina 67% y 100% para gentamicina, eritromicina, trimetoprim-sulfamida y ciprofloxacina. Los halos de inhibición se midieron a las 24 horas de incubación, siguiendo las normas estandarizadas por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)²⁷. En los aislamientos resistentes a cefoxitin, se determinó la concentración inhibitoria mínima para oxacilina confirmando la resistencia a meticilina en todas las cepas, la metodología empleada fue la del Sistema VITEK® 2 compac bioMérieux. Como control interno para la validación de las pruebas de identificación y de sensibilidad antimicrobiana se utilizaron cepas de referencia ATCC (American Type Culture) de *S. aureus* resistente a meticilina (ATCC 43300) y sensible a meticilina (ATCC 29213).

Obtención de ADN bacteriano e identificación de la presencia del gen mecA

Los aislamientos identificados como *S. aureus* resistentes a meticilina se les sometió a un protocolo de extracción de ADN genómico utilizando el juego de reactivos comercial de Promega Wizard® Genomic DNA Purification Kit (cat A1120) siguiendo las instrucciones del fabricante (<http://www.promega.com/tbs/tm050/tm050.pdf>).

A partir del ADN bacteriano obtenido por el método previamente descrito, se amplificó mediante PCR convencional un fragmento correspondiente al gen mecA, utilizando los iniciadores reportados por Jaffe et al. (2000)²⁸. Como controles positivos se utilizaron secuencias 16S rRNA específico de *Staphylococcus* y 16S rRNA de bacterias²⁸. La secuencia de los iniciadores y el tamaño fragmento que se obtuvo se especifican en la tabla 1.

Tabla 1 Iniciadores utilizados para la amplificación del gen *MecA* y controles 16S rRNA y descripción del tamaño del amplicón obtenido

Gen	Secuencia de la pareja de iniciadores	Amplicón
<i>MecA</i>	5' catttgagtctgcactacc 3' 5' gcaatacaatcgacatacattaatag 3'	967
16S rRNA <i>Staphylococcus</i>	5' gttattaggaagaacatattgtg 3' 5' ccaccttctccggtttgtcacc 3'	750
16S rRNA bacteriano	5' gcggatcctgactgcagtgccagcagccggtaa 3' 5' gcggatcgcggccggactaccagggtatctaat 3'	292

Las condiciones de PCR utilizadas en este estudio fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, 35 ciclos de 95°C durante 1 minuto, 57°C por 1 minuto y 70°C por 45 segundos; y una elongación final de 10 minutos a 70°C. La reacción se realizó en un volumen 50 µl así: Buffer de reacción 1X, MgCl₂ 2,5 uM, dNTP's 200 uM, cada iniciador a concentración final entre 200 nM y 800 nM como fue reportado por Oliveira y Lencastre (2002)²⁰, 1,5 U de polimerasa (Biolasa BIOTAQ™ PCR Kit), 33 µl de H₂O y 100 ng de ADN templado en las muestras obtenidas como se describió previamente.

Reacción en cadena de la polimerasa múltiple para la clasificación del tipo de SSCmec

La PCR múltiple para la tipificación del complejo SSCmec incluyó la amplificación de 6 loci diferentes (A hasta F) descritos por Oliveira y Lencastre (2002)²⁰. Se incluyó un control positivo con el gen *mecA*. La relación de cada locus con el tipo de SSCmec, los iniciadores utilizados y el tamaño del amplicón están descritos en la tabla 2.

Para evaluar la especificidad, cada iniciador fue analizado individualmente a temperaturas desde 50°C hasta 60°C. Para la PCR múltiple se utilizaron las condiciones descritas por Oliveira y Lencastre (2002)²⁰. La PCR fue desarrollada en My Cycler™ Thermal cycler (Biorad) utilizando los siguientes parámetros: denaturación inicial a 94°C por 4 minutos,

seguido de 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 54°C por 30 segundos y 72°C por 1 minuto, posteriormente se realizó una extensión final a 72°C durante 5 minutos. Para el análisis de la amplificación, se realizó una electroforesis en un gel de agarosa al 2% en buffer TBE a 110 voltios utilizando 10 µl de los productos de PCR. El gel fue coloreado con bromuro de etidio revelando los productos de amplificación.

Consideraciones éticas

El estudio tuvo la aprobación del Comité de investigaciones de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, teniendo en cuenta las consideraciones que garantizaron el cumplimiento de los lineamientos éticos del estudio y la obtención del consentimiento informado de los pacientes.

Resultados

Resistencia a metilina e identificación del gen *MecA* en cepas SARM

A todos los aislamientos se les confirmó resistencia a metilina mediante los métodos microbiológicos descritos previamente; adicionalmente se les detectó la presencia

Tabla 2 Relación de cada locus con el tipo de SSCmec (especificidad), los iniciadores utilizados y el tamaño del amplicón

Locus	Iniciadores	Secuencia	Amplicón	Especificidad
A	CIF F2 CIF R2	5' ttcgagttgctgatgaagaagg 3' 5' atttaccacaaggactaccagc 3'	495	I
B	KDP F1 KDP R1	5' aatcatctgccattggtgatgc 3' 5' cgaatgaagtgaagaagtgg 3'	284	II
C	MECI P2 MECI P3	5' atcaagacttgcattcagcc 3' 5' gcggttcaattcacttgtc 3'	209	II, III
D	DCS F2 DCS R1	5' catctatgatagcttggtc 3' 5' ctaaatcatagccatgaccg 3'	342	I, II, IV
E	RIF4 F3 RIF4 R9	5' gtgattgtcgagatgtgg 3' 5' cgctttatctgtatctatcgc 3'	243	III
F	RIF5 F10 RIF5 R13	5' ttcttaagtacacgctgaatcg 3' 5' gtcacagtaattccatcaatgc 3'	414	III

Tabla modificada de Oliveira y Lencastre (2002)²⁰

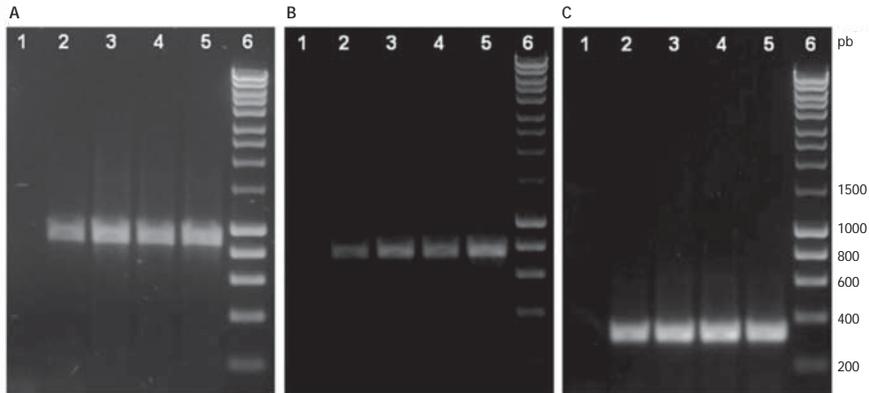


Figura 1 Amplificación mediante PCR. (A) gen Mec A. (B) 16S RNAr Staphylococcus. (C) 16S RNAr bacteriano. Carril 1: control negativo. Carril 2: control positivo. Carriles 3, 4 y 5 aislamientos de *S. aureus* con el gen MecA y carril 6: marcador de peso molecular.

del gen *mecA* mediante la técnica de PCR descrita, lo cual correlaciona los hallazgos microbiológicos y las pruebas de resistencia con esta prueba molecular. La amplificación de los genes 16s confirmaron la identidad (género y especie) de los microorganismos (fig. 1).

Caracterización del SSCmec de los aislamientos SARM

Utilizando una estrategia de PCR múltiple, caracterizamos 39 de un grupo de 41 aislamientos SARM, de los cuales 17 (41,5%) fueron clasificados como SSCmec I, 1 (2,5%) como SSCmec II, 21 (51%) como SSC mecIV, y dos aislamientos no fue posible clasificarlos (fig. 2).

Discusión

La tipificación molecular del gen SSCmec es una de las herramientas moleculares más importantes para explorar la epidemiología y evolución de los aislamientos SARM; adicionalmente podrían ser una herramienta importante para la rápida detección de la resistencia a meticilina^{5,29}. El conocimiento acerca de la naturaleza y diseminación global de los aislamientos SARM es necesario para la implementación de estrategias de control de la propagación de estas cepas entre el ambiente comunitario e intrahospitalario⁹. La tipificación del tipo de SSCmec utilizando PCR múltiple ha sido ampliamente utilizada en varios trabajos con fines investigativos, en los cuales demuestran una asociación epidemiológica entre los aislamientos obtenidos en cada estudio^{20,30-33}.

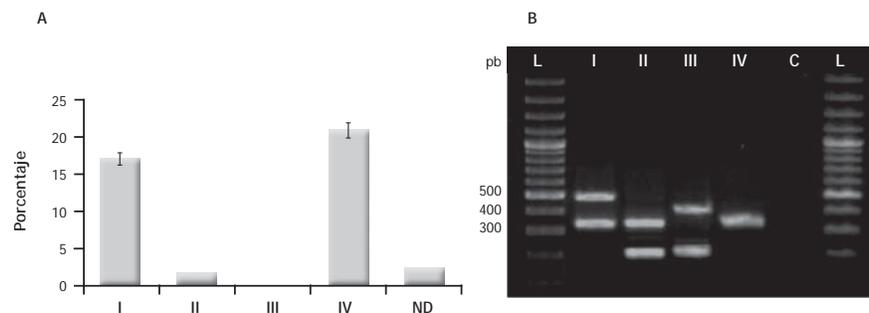


Figura 2 Clasificación de los SSCmec en la población estudiada. (A) Distribución de los SSCmec. (B) Patrones de electroforesis de los grupos de SSCmec evaluados. L (marcador de peso molecular). (C) Control negativo. ND: no disponible.

Varias estrategias de tipificación del gen SSCmec no basadas en PCR convencional han sido reportadas. En 2004 François et al. utilizaron una PCR en tiempo real y sondas TaqMan para evaluar la expresión de las regiones ccrB de los tipos I y IV del gen SSCmec³⁴. Recientemente, ha sido descrito el uso de análisis de microarreglos para la identificación de los tipos I y IV del gen SSCmec³², sin embargo ambos métodos se basan en la evaluación de tipos específicos ignorando el complejo SSCmec, lo que resulta en una subclasificación de los aislamientos. Adicionalmente, se han descrito tipificaciones y clasificación de este complejo basadas en secuenciamiento del ADN³⁵⁻³⁷ al igual que el análisis de polimorfismo de nucleótido simple³⁸; sin embargo, esos métodos no son apropiados para una rápida identificación, además de ser muy laboriosos y de alto costo.

Para tipificar nuestros aislamientos, se ha utilizado el método de PCR múltiple publicado por el grupo de Lencastre en 2002²⁰, el cual permitió una rápida y fácil clasificación de los tipos SSCmec de los aislamientos SARM de nuestro estudio. Con esta estrategia se logró clasificar el tipo de SSCmec con una reproducibilidad del 100% en 39 aislamientos previamente obtenidos y clasificados como SARM, en los cuales el SSCmec tipo IV fue el más prevalente; este resultado está de acuerdo con los trabajos realizados por Jiménez et al. en Medellín, en el cual en la población pediátrica el 60% de los aislamientos fue clasificado como SSCmec tipo IV²⁵; en otro estudio realizado por el mismo grupo el 58,7% fue clasificado con el mismo tipo de SSCmec²⁶, lo cual demuestra que este tipo de SSCmec es predominante en los hospitales de Medellín. Sin embargo este tipo de SSCmec parece ser el más predominante a nivel internacional, puesto que Reyes et al. reportaron que SSCmec tipo IV fue el más predominante en 32 hospitales de Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela²¹.

A dos aislamientos no se les logró identificar el tipo de SSCmec, y debido a la reciente aparición de nuevos tipos de SSCmec (REF), es posible que estos dos aislamientos pertenezcan a un tipo de SSCmec diferente a los que pueden ser clasificados con el método utilizado, por lo tanto, deben ser desarrollados y aplicados sistemas de clasificación más robustos con alto poder de discriminación, los cuales permitirán un mejor entendimiento de la epidemiología y mecanismos de transmisión, tanto a nivel de la comunidad como en infecciones asociadas al cuidado de la salud a nivel intrahospitalario de unos aislamientos tan importantes como las cepas SARM.

La PCR múltiple utilizada en este estudio tiene un gran potencial para ser utilizada en laboratorios clínicos de microbiología, gracias a su fácil implementación. Esta técnica aplicada a los aislamientos SARM permite una fácil caracterización y facilita el manejo de la información epidemiológica para analistas, investigadores y personal de salud integrantes de los comités de infecciones de los diferentes hospitales y clínicas de nuestra ciudad. La clasificación de las cepas SARM según su tipo de SSCmec genera valiosa información acerca de su origen clonal, relaciones evolutivas, dinámica de transmisión de los aislamientos de microorganismos portadores de un casete específico, con lo cual se puede evaluar el comportamiento epidemiológico de un determinado aislamiento y su capacidad de propagación entre los diferentes servicios hospitalarios y la comunidad.

Finalmente, es importante resaltar que la toma de decisiones acertadas, con base en la información generada por los métodos utilizados en el área de la epidemiología molecular, produce un impacto positivo en los tratamientos de los pacientes y en el control de las enfermedades infecciosas hospitalarias. Lo cual se verá reflejado en la evolución clínica de los individuos afectados, en la disminución de la ocurrencia de eventos adversos de tipo infeccioso y la disminución de los gastos hospitalarios relacionados con largos tiempos de hospitalización y costosos tratamientos antibióticos.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el instituto de investigaciones de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia por la financiación de este proyecto.

Bibliografía

1. Revere D, Nelson K, Thiede H, Duchin J, Stergachis A, Baseman J. Public health emergency preparedness and response communications with health care providers: A literature review. BMC Public Health. 2011;11:337.
2. Larkin EA, Carman RJ, Krakauer T, Stiles BG. *Staphylococcus aureus*: the toxic presence of a pathogen extraordinaire. Curr Med Chem. 2009;16:4003-19.
3. Luo R, Cannon L, Hernandez J, Plovoso MJ, Zurakowski R. Controlling the evolution of resistance. J Process Control. 2011;21:367-78.
4. Castillo-Salgado C. Trends and directions of global public health surveillance. Epidemiol Rev. 2010;32:93-109.
5. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol. 2008;8:747-63.
6. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med. 1998;339:520-32.
7. Haque N, Bari MS, Bilkis L, Haque S, Sultana S. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – an overview. Mymensingh Med J. 2011;20:159-64.
8. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Curr Mol Med. 2009;9:100-15.
9. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2008;46 Suppl 5:S344-9.
10. Justos JA, Gutierrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed. 2006;17:287-305.
11. Jevons MP, Coe AW, Parker MT. Methicillin resistance in staphylococci. Lancet. 1963;1:904-7.
12. Morgan M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? J Antimicrob Chemother. 2008;62:1181-7.
13. Bartels MD, Nanuashvili A, Boye K, Rohde SM, Jashashvili N, Faria NA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals in Tbilisi, the Republic of Georgia, are variants of the Brazilian clone. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2008;27:757-60.

14. Echevarria Zarate J. Estafilococo meticilinorresistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Med Hered.* 2003;14:195-9.
15. Cortes JA, Gomez CA, Cuervo SI, Leal AL. [Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Bogota, Colombia: Public Health Implications]. *Rev Salud Publica (Bogota).* 2007;9:448-54.
16. Eady EA, Cove JH. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*-an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2003;16:103-24.
17. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:1549-55.
18. Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire mec DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1449-58.
19. Katayama Y, Takeuchi F, Ito T, Ma XX, Ui-Mizutani Y, Kobayashi I, et al. Identification in methicillin-susceptible *Staphylococcus hominis* of an active primordial mobile genetic element for the staphylococcal cassette chromosome mec of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 2003;185:2711-22.
20. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:2155-61.
21. Reyes J, Rincon S, Diaz L, Panesso D, Contreras G.A, Zurita J, et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1861-7.
22. Alvarez CA, Barrientes OJ, Leal AL, Contreras GA, Barrero L, Rincon S, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:2000-1.
23. Alvarez CA, Yomayusa N, Leal AL, Moreno J, Mendez-Alvarez S, Ibanez M, et al. Nosocomial infections caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Colombia. *Am J Infect Control.* 2010;38:315-8.
24. Escobar JA, Marquez-Ortiz RA, Alvarez-Olmos MI, Leal AL, Castro BE, Vanegas N. Detection of a new community-genotype methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone that is unrelated with USA300 clone causing pediatric infections in Colombia. *J Clin Microbiol* 2013;51:661-4.
25. Jiménez J, Ocampo A, Vanegas J, Rodríguez E, Garcés C, Patiño L, et al. Characterization of virulence genes in methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a paediatric population in a university hospital of Medellín, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106:980-5.
26. Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodríguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. CC8 MRSA strains harboring SSCmec type IVc are predominant in Colombian hospitals. *PLoS One.* 2012;7:e38576. doi:10.1371/journal.pone.0038576. Epub 2012 Jun 20.
27. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth Informational Supplement 2010.
28. Jaffe RI, Lane JD, Albury SV, Niemeyer DM. Rapid extraction from and direct identification in clinical samples of methicillin-resistant staphylococci using the PCR. *J Clin Microbiol.* 2000;38:3407-12.
29. Faria NA, Carrico JA, Oliveira DC, Ramirez M, de Lencastre H. Analysis of typing methods for epidemiological surveillance of both methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 2008;46:136-44.
30. Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Moller JA, Westh H. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SSCmec types I-V. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:725-7.
31. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:264-74.
32. Kurt K, Alderborn A, Nilsson M, Strommenger B, Witte W, Nubel U. Multiplexed genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates by use of padlock probes and tag microarrays. *J Clin Microbiol.* 2009;47:577-85.
33. Milheirico C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:3374-7.
34. Francois P, Renzi G, Pittet D, Bento M, Lew D, Harbarth S, et al. A novel multiplex real-time PCR assay for rapid typing of major staphylococcal cassette chromosome mec elements. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3309-12.
35. Lina G, Durand G, Berchich C, Short B, Meugnier H, Vandenesch F, et al. Staphylococcal cassette chromosome evolution in *Staphylococcus aureus* inferred from ccr gene complex sequence typing analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12:1175-84.
36. Oliveira DC, Milheirico C, de Lencastre H. Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome mec, SSCmec type VI. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:3457-9.
37. Oliveira DC, Santos M, Milheirico C, Carrico JA, Vinga S, Oliveira AL, et al. CcrB typing tool: an online resource for staphylococci ccrB sequence typing. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:959-60.
38. Stephens AJ, Huygens F, Inman-Bamber J, Price EP, Nimmo GR, Schooneveldt J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotyping using a small set of polymorphisms. *J Med Microbiol.* 2006;55(Pt 1):43-51.