

Capítulo 1

Caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de superficies del ambiente hospitalario de la red pública y privada en la ciudad de Cali

Mónica Cabrera Tello
Universidad Santiago de Cali, Colombia

Mónica Chávez Vivas
Universidad Santiago de Cali, Colombia

Caracterización fenotípica y molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de superficies del ambiente hospitalario de la red pública y privada en la ciudad de Cali

Mónica Cabrera Tello
Universidad Santiago de Cali, Colombia

Mónica Chávez Vivas
Universidad Santiago de Cali, Colombia

1.1 Introducción

Las infecciones intrahospitalarias han generado problemas de salud pública debido principalmente a patógenos resistentes a los antibióticos, que ocasionan el aumento en las tasas de mortalidad, así como el aumento en el periodo de estancia hospitalarias con un elevado costo económico (Fabro-Peray et al., 2007) (Chen, Chou, & Chou, 2005; Wakefield, Helms, Massanari, Mori, & Pfaller, 1988). La diseminación de los microorganismos en el ambiente hospitalario, a menudo se origina con la transferencia de patógenos a través de las manos de los profesionales de la salud y de distintos artículos inani-

mados del ambiente hospitalario, convirtiéndose en potenciales reservorios y vehículos de transmisión de infecciones entre los pacientes (Hayden, Blom, Lyle, Moore, & Weinstein, 2008; Huang, Datta, & Platt, 2006) (De Oliveira & Damasceno, 2010; Martínez, Ruthazer, Hansjosten, Barefoot, & Snyderman, 2003). Estudios en diversos hospitales han demostrado que los pacientes admitidos en habitaciones donde habían sido tratados otros pacientes con enfermedades bacterianas, resultaron estar colonizados por el mismo microorganismo (Hayden et al., 2008; Huang et al., 2006). Otro aspecto importante que favorece la permanencia de patógenos en ambientes hospitalarios, entre los que se destaca *Staphylococcus aureus*, es la gran versatilidad que estos presentan en adquirir diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos (Lemmen, Häfner, Zolldann, Stanzel, & Lütticken, 2004). *S. aureus* causa infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario (Naimi et al., 2003). Esta bacteria es el agente causal de diferentes patologías como infecciones superficiales de la piel, endocarditis, septicemia, y enfermedades mediadas por toxinas, que a menudo son difíciles de tratar (Wakefield et al., 1988). El interés actual del estudio de este patógeno es debido a su elevada frecuencia entre brotes de infección nosocomial registrada en varios países y la multiresistencia a los antibióticos, donde se destacan las cepas con resistencia a la meticilina (SARM o también comúnmente conocido por sus siglas en inglés como MRSA) (Cortes, Gómez, Cuervo, Lucía Leal, & GREBO, 2007). De hecho, esta bacteria está incluida dentro del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y especies de *Enterobacter*), también conocido como “super-bugs” o super-bacterias, que agrupan los agentes causales más frecuentes entre infecciones nosocomiales multidrogo-resistentes a nivel mundial (Santajit & Indrawattana, 2016).

Está bien establecido que la adquisición de patógenos nosocomiales depende de una compleja interacción del huésped, el patógeno y el medio ambiente (Hayden et al., 2008). El patrón analizado a partir de los resultados de la prueba de susceptibilidad a los antibióticos constituye una herramienta fenotípica que permite evaluar las bacterias que están generando un brote epidémico (Olarte et al., 2010). Estos estudios se complementan con la evaluación de la clonalidad de estos microorganismos a través del análisis de marcadores moleculares específicos. En *S. aureus* se vienen empleando diversas metodologías de genotipificación, como electroforesis de campos pulsados, análisis de múltiples locus (siglas en inglés MLST: *multilocus sequence typing*), así como el análisis del operón regulatorio accesorio (*agr*). Este operón regula la expresión de los factores de virulencia de *S. aureus*, estimulando la producción de exoenzimas como lipasas, proteasas y lipasas, de acuerdo a la densidad celular por un proceso llamado *quorum sensing* (Blanc et al., 1996; Cheung, Wang, Khan, Sturdevant, & Otto, 2011). Sin embargo, es necesario aclarar que el rol de *agr* ha sido descrito en cepas de laboratorio y se desconoce su rol específico en aislados clínicos. El polimorfismo del locus *agr*, se ha empleado para determinar la variabilidad de la bacteria y su origen, definiendo a la fecha cuatro grupos (I a IV). Estudios previos han permitido establecer que los aislados pertenecientes al *agr* del grupo III se relacionan con infecciones asociadas a la comunidad con mayor frecuencia (Stegger et al., 2014; Zhao et al., 2012), mientras que el *agr* del grupo II se detecta predominantemente en cepas aisladas a nivel intrahospitalario (Manago et al., 2006; Sakoulas et al., 2002).

SARM adquirida en comunidad fue reportada por primera vez en Colombia, en pacientes con infecciones en tejidos en el año 2006 (Alvarez et al., 2006). Posterior a este reporte, diferentes estudios se han realizado en pacientes y portadores asintomáticos con cepas de *S. aureus* (incluidos SARM) de origen no-

socomial y de la comunidad. Es así como se realizó el reporte de una población de SARM de origen nosocomial en pacientes pediátricos de Bucaramanga, donde el 72% de las cepas pertenecían al grupo *agr* I y el 11% pertenecían al *agr* del grupo II (Machuca, Sosa, & González, 2013). En Bogotá, se realizó la descripción fenotípica y molecular de aislados de *S. aureus* obtenidos de pacientes de la unidad de cuidados intensivos, encontrando cepas de origen nosocomial solo en el 16% de los aislados SARM (Olarte et al., 2010). Recientemente en Cali, se detectaron nueve cepas de SARM entre 63 aislados de *S. aureus* como colonizadores de la fosa nasal de estudiantes de medicina, distribuidos casi de manera equitativa entre los grupos *agr* I y II (44,6% y 55,6% respectivamente) (Collazos Marín, Estupiñan Arciniegas, & Chavez Vivas, 2015). Sin embargo, el conocimiento de las cepas circulantes de *S. aureus* y específicamente SARM presentes en objetos inanimados en ambientes hospitalarios del país ha sido pobremente descrito. El conocimiento de las características moleculares de los aislados de *S. aureus* presentes en el ambiente hospitalario es entonces una prioridad para la salud pública de nuestra región, debido a que es preciso conocer las características biológicas que han permitido el establecimiento de estas cepas y definir si su origen corresponde a cepas comúnmente encontradas en el ambiente comunitario o nosocomial (Acuña et al., 2015; Hardy, Kim, Ciccarelli, Hayman, & Wiecha, 2013; Naimi et al., 2003). El objetivo del presente estudio fue establecer las variantes fenotípicas y moleculares de *S. aureus* que se aislaron en diversos ambientes hospitalarios del nivel 2 de la red pública y privada de la ciudad de Santiago de Cali.

1.2 Materiales y métodos

Esta investigación se basó en un estudio descriptivo de prevalencia de *S. aureus* realizado en dos instituciones de nivel 2 de Cali, Colombia en diferentes periodos de tiempo. El primer escenario es una institución que presta sus servicios principalmente a la red subsidiada (pública) (estudio 1, año 2012), mientras el segundo escenario corresponde a una clínica que presta sus servicios mayoritariamente a la red contributiva (privada) (estudio 2, año 2015). En el estudio 1, se muestrearon 52 áreas de las superficies de dos salas intrahospitalarias: 14 muestras de sala de recuperación y 38 de la unidad de cuidados intermedios (UCINT). Las muestras se obtuvieron frotando con hisopos estériles las superficies de las barandas de las camas, perillas de los baños, mesón de enfermería, fonendoscopios, soporte de líquidos endovenosos, biombo de unidad de cuidados intermedios, aire acondicionado de UCINT, monitor de signos vitales y carro de medicamentos.

En el estudio 2, se tomaron, similarmente con hisopos estériles, un total de 100 muestras en cuatro áreas correspondientes todas al servicio de cirugía: pasillos, salas de espera, recuperación y quirófanos. Las muestras se recolectaron de superficies de diversos objetos tales como: computadores, muebles, mesas, tensiómetros, atriles, monitor de signos vitales, carro de medicamentos, pulsioxímetro y camillas. En ambos escenarios, las muestras se transportaron en medio de transporte Stuart (oxid) y fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la Universidad Santiago de Cali para ser procesadas.

1.3 Aislados bacterianos y condiciones de cultivo

Los aislados bacterianos se obtuvieron por cultivo de las muestras en agar salino manitol rojo de fenol y agar nutritivo, incubadas por 24-48 horas a 37°C. La identificación de *S. aureus* se efectuó microscópicamente, observando cocos Gram positivos en racimos y mediante pruebas bioquímicas como la fermentación del manitol, prueba de coagulasa y DNAsa.

1.4 Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

La prueba de susceptibilidad a los antibióticos se desarrolló empleando el método de difusión en disco en placas de agar Mueller Hinton (Scharlau Chemie), con la calibración del inóculo basado en el estándar Mc-Farland, de acuerdo con los parámetros establecidos por la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005).

Los antibióticos incluidos en la prueba de susceptibilidad, estaban contenidos en los sensidiscos (OXOID) y correspondían a oxacilina (OXA, 1 µg), cefoxitina (FOX, 30 µg), cefalexina (CS, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), ciprofloxacina (CIP, 5 µg), eritromicina (E, 15 µg), clindamicina (CC, 2 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (TMP/SUL 1,25/23,75 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), cloranfenicol (CL, 30 µg), vancomicina (VA, 30 µg), imipenem (IMP, 10 µg), y penicilina (PEN, 10U) (27). El análisis de susceptibilidad se realizó con la cepa ATCCC 25923 de *S. aureus* para verificar la acción de los sensidiscos.

La resistencia a la meticilina en los aislados de *S. aureus*, se basó en la evaluación de sensibilidad con dos antibióticos: oxacilina, penicilina y cefoxitina para el estudio 1 y oxacilina y cefoxitina para el estudio 2. La información de los resultados de susceptibilidad antimicrobiana se clasificó como sensible o

resistente, de acuerdo con los halos de inhibición establecidos por el instituto de estándares clínicos y de laboratorio (Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI). Adicionalmente, se definieron los antibiotipos 1 a 5, dependiendo del número de antibióticos a los cuales presentara resistencia, agrupando en el antibiotipo 1 aquellos aislados que fueran susceptibles a todos los antibióticos evaluados. En los antibiotipos 2, 3 y 4 se agruparon los aislados que presentaran resistencia a 1, 2 o 3 antibióticos respectivamente. Finalmente, en el antibiotipo 5 se incluyeron los aislados que presentaron resistencia a 4 o más antibióticos.

1.6 Técnicas genético-moleculares

Para la extracción del ADN bacteriano, se realizaron cultivos en 1,5mL de medio Luria-Bertani (LB) que se dejaron en incubación durante toda la noche. Posterior a esta incubación, el sedimento de células fue sometido a un tratamiento con buffer de extracción que contenía 10 mg/ml de lisozima y 1 mg/ml proteinasa K.

Para determinar la variabilidad y el origen de los aislados de *S. aureus* obtenidos en ambos escenarios, se empleó el análisis del polimorfismo del gen regulador accesorio (*agr*), mediante la amplificación con los cebadores pan-forward *agr* 5'-GTCA-CAAGTACTATAAGCTGCGAT-3', reverse, *agr*I 5'-GTAT-TACTAATTGAAAAGTGCCATAGC-3' para amplificar una región de 440pb, reverse, *agr*II 5'-GTATTACTAATTGAAAAGTGCCATAGC-3' para amplificar una región de 572pb, reverse *agr*III 5'-CTGTTGAAAAGTCAACTAAAAGCTC-3' de una región de 406 pb y reverse *agr* IV 5'-CGATAATGCCG-TAATACCCG-3' de una región de 588 pb16.

La PCR consistió en un ciclo de desnaturalización a 94°C por 5 minutos, seguido de treinta ciclos compuestos de un minuto a

94°C de desnaturalización, un minuto a 54°C de alineamiento y un minuto a 72°C de extensión. Finalmente se añadió un ciclo de extensión a 72°C por 10 minutos.

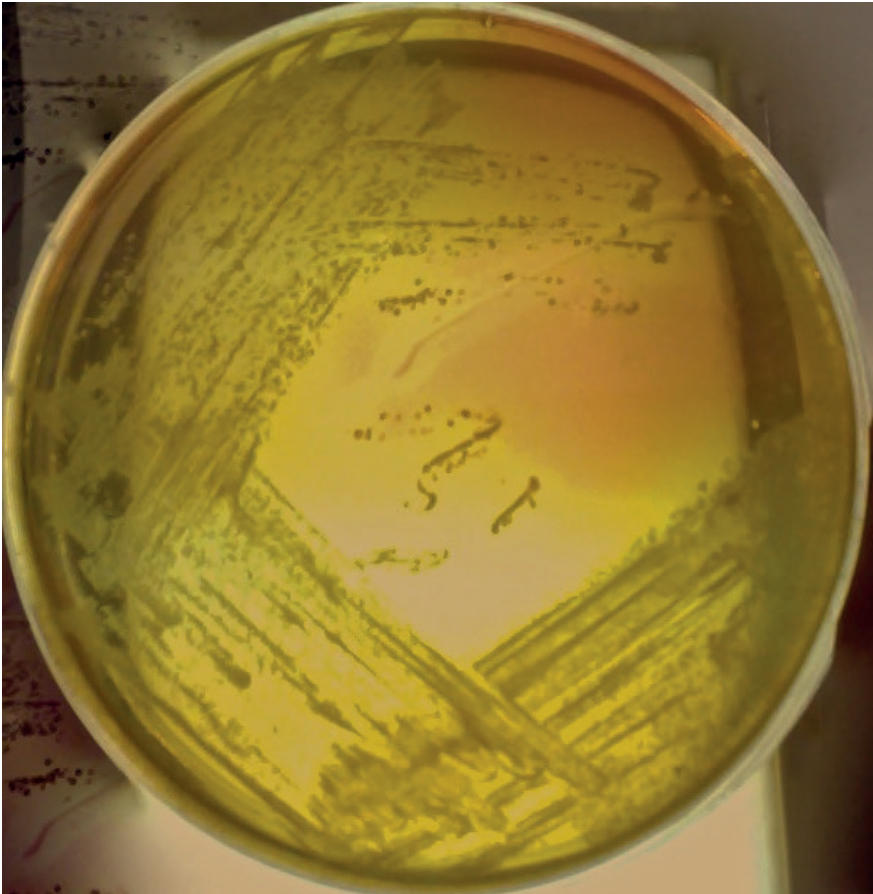
Adicionalmente, para el estudio 2 se logró realizar la confirmación de los aislamientos MRSA mediante la detección del gen *mecA* por PCR, empleando los primers MR1, 5' (478)-GTG-GAATTGGCCAATACAGG-(497) 3' y MR2, 5' (1816)-TGA-GTTCTGCAGTACCGGAT-(1797) 3' para amplificar una banda 1334 pb del gen *mecA* de acuerdo a las condiciones establecidas por Tokue Y, *et al* (Tokue, Shoji, Satoh, Watanaabe, & Motomiya, 1992). Se emplearon las cepas de *S. aureus* ATCC® 43300 y ATCC® 25923 como controles positivo y negativo, respectivamente. Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 30 ciclos de desnaturalización, 30 segundos a 94°C, alineamiento 30 segundos a 55°C; extensión del primer 2 minutos a 72°C. Todas las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 50 µl y se llevaron a cabo en un termociclador GeneAmp PCR system 2400 (Perkin-Elmer Instruments®, Norwalk, Conn).

1.7 Resultados

1.7.1 Aislamiento de *S. aureus*

En el estudio 1, 22 de las 52 muestras evaluadas (42%) presentaron crecimiento microbiano. El 59% de los cultivos positivos (13/22) fueron bacterias del género *Staphylococcus spp* y 10 de estas pertenecían a la especie *S. aureus*. El 41% restante (9/22) correspondió a bacterias Gram negativas y levaduras que no fueron incluidas en estudios posteriores. Los cultivos positivos para *S. aureus* resultaron del monitor de la cama y el fonendoscopio de la sala de recuperación y ocho de la UCINT, distribui-

das así: barandas de cama (2), el monitor de cama (2), el mesón del carro de medicamentos (1), la perilla puerta de baño (1), perilla puerta para el ingreso a la sala (1), y biombo de la cama (1). El crecimiento en agar salino manitol y la coloración Gram de uno de los aislados se muestra en la Figura 1.



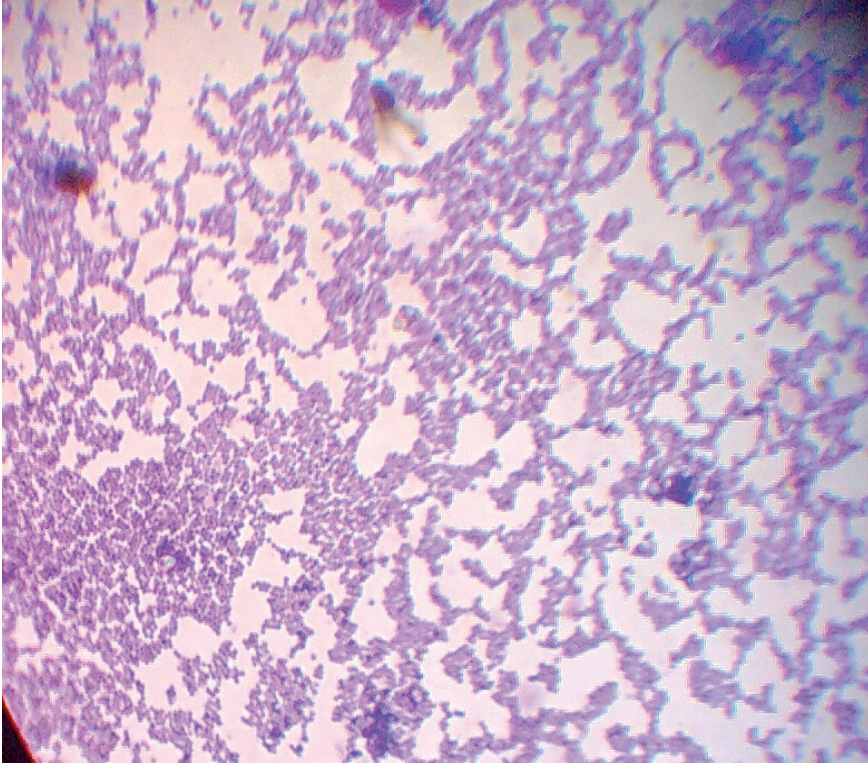


Figura 1. Crecimiento en agar salino manitol y coloración Gram de uno de los aislamientos de S. aureus.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

En el estudio 2, 32 de las 100 muestras evaluadas presentaron crecimiento microbiano (32%), todas ellas pertenecientes al género *Staphylococcus spp.* El 43,8% de los cultivos positivos (14/32) fue *Staphylococcus coagulasa* negativa y el 53,2% (18/32) fue *S. aureus*. Los aislamientos de *S. aureus* estaban distribuidos así: sala de espera (5), quirófanos (11), y pasillo (2). Los aislamientos identificados en los quirófanos correspondieron a cinco de seis quirófanos muestreados.

1.7.2 Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

El análisis de susceptibilidad de antibióticos realizado a los aislados de *S.aureus* de los estudios 1 y 2 se describen en las tablas 1 y 2 respectivamente. En el estudio 1, la mayoría de los aislados se distribuyeron con un perfil pan-sensible a los antibióticos evaluados (30%) y con resistencia a un solo antibiótico (30%), representando los antibiotipos 1 y 2, respectivamente (Tabla 1). El 50% de los aislados fueron resistentes a penicilina (SARM), 30% a tetraciclina y 20% a eritromicina. Solo uno de los aislados presentó un antibiotipo 5, que se encontró en el mesón del carro de medicamentos de la UCINT (Figura 2, Tabla 1). En este estudio, todos los aislados resistentes a penicilina fueron susceptibles a oxacilina *in vitro*. Sin embargo, según el último instructivo estándar de laboratorios CLSI, este resultado debe ser interpretado con cuidado ya que la utilidad de la oxacilina en estos aislados *in vivo* es cuestionable. En el estudio 2, contrario a lo encontrado en el estudio 1, solo uno de los aislados de *S. aureus* fue pan-susceptible (antibiotipo 1); este aislado fue encontrado en la mesa de la sala espera (Figura 3, Tabla 1). Adicionalmente, el 50% de los aislados presentaron resistencia a oxacilina, cefoxitina o a ambos (SARM), el 30% a tetraciclina y el 20% a eritromicina. Es importante señalar que el 72% de los aislados de *S. aureus* presentó un alto grado de multiresistencia perteneciendo al antibiotipo 5 (Tabla 2).

Tabla 1. Antibiotipos de Staphylococcus aureus de acuerdo a los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos del estudio 1.

Lugar	O X A	P E N	G E N	C I P	F O X	C L I	V A N	T E T	E R I	C H L	S X T	Antibiotipo
UCINT monitor cama 4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1
UCINT mesón carro medicamentos	S	R	S	I	R	I	R	R	R	S	S	5
UCINT baño posterior	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	3
UCINT biombo cama 2	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	3
UCINT cama 4	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	4
Monitor1 sala recuperación	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	2
UCINT monitor2	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	2
Sala Recuperación fonendoscopio	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1
UCINT puerta	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1
UCINT baranda carro medicamentos	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	2

OXA: oxacilina, PEN: penicilina, GEN: gentamicina, CIP: ciprofloxacina, FOX: cefoxitina, CLI: clindamicina, VA: vancomicina, TET: tetraciclina, ERI: eritromicina, CHL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol. R: resistente, I: intermedio, S: sensible.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Tabla 2. Antibiotipos de Staphylococcus aureus de acuerdo a los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos del estudio 2.

Código	OXA	FOX	AMP	TYC	CH L	CL I	GEN	SXT	ER I	VA N	Antibiograma	<i>mecA</i>
SE Mouse teclado	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	5	
SE Mueble	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q4 PC Maquina	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	5	
SE Mesa II	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	5	
SE Monitor	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	2	
Q3 Baranda	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	4	
Q1 BL	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	4	
Q5 BL	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q3 P02	R	S	R	S	S	R	S	S	R	R	5	+
P Mouse	S	R		S	S	S	S	S	S	S	3	+
SE Mesa	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	
Q3 Tensiómetro	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	5	+
Q6 Teclado	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q5 PC	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	5	
Q6 AMBU	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
PA Mesa	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	5	
Q1 Silla microscopio	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+
Q4 Bandeja Instrumentos	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	+

SE: Sala de espera, Q: quirófano, PC: maquina carro de paro, BL: bolsa LEV, P: pasillo, PA: mesa para anestesia, OXA: oxacilina, PEN: penicilina, GEN: gentamicina, CIP: ciprofloxacina, FOX: cefoxitina, CLI: clindamicina, VA: vancomicina, TET: tetraciclina, ERI: eritromicina, CHL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol. R: resistente, I: intermedio, S: sensible. AMBU: instrumento de ventilación manual.

Fuente: Elaboración propia, 2016

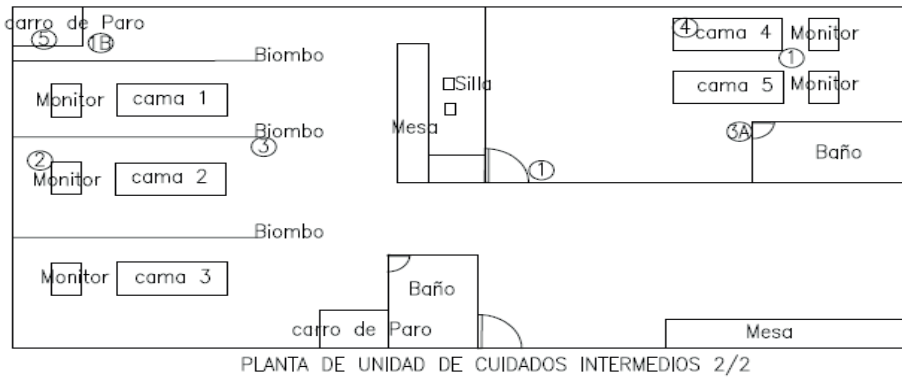
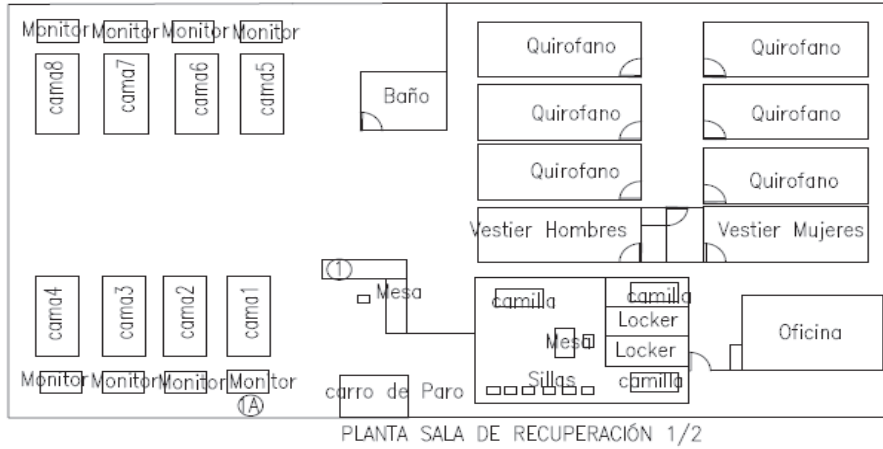


Figura 2. Plano que describe la ubicación de los nueve antibiogramas de los aislados de *Staphylococcus aureus* en la Sala de Recuperación y UCINT (estudio 1).

Fuente: Elaboración propia, 2016

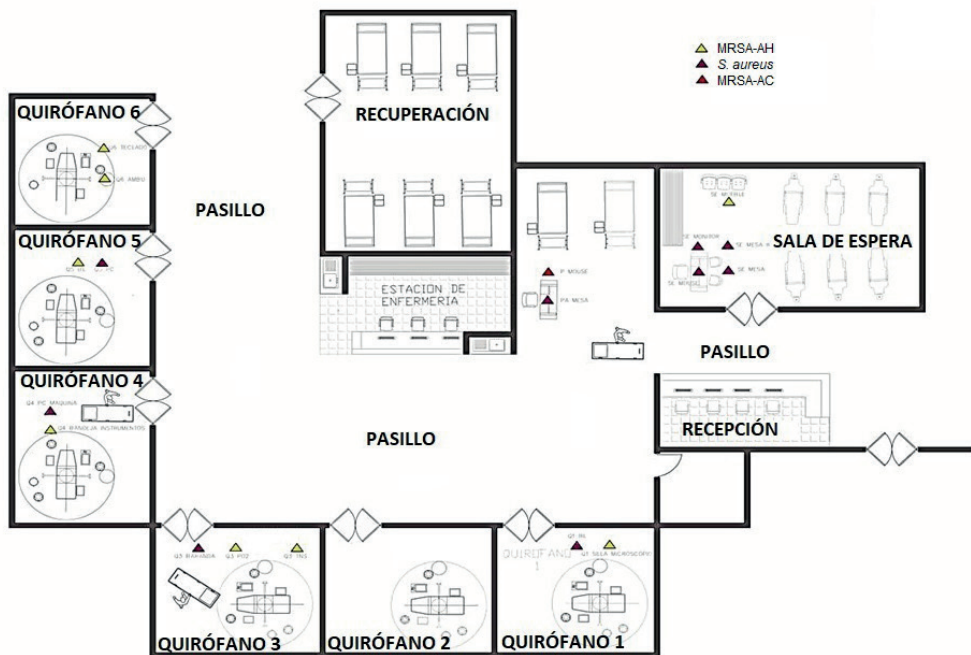


Figura 3. Plano que describe la ubicación de los aislados de *Staphylococcus aureus* en quirófanos y pasillo (estudio 2).

Fuente: Elaboración propia, 2016

1.7.3 Resultados moleculares

En el estudio 1, la amplificación por PCR resultó ser positiva en los diez aislados de *S. aureus* para el gen *agr* tipo III y negativa para los tipos I, II y IV.

En el estudio 2, 8 de los 9 aislados SARM presentaron amplificación de *agr* II y un aislado para *agr* III. Adicionalmente, en este estudio específicamente se confirmó la resistencia a la meticilina (resistencia a oxacilina, ceftoxitina o ambas) de los aislados ya que todos presentaron amplificación del gen *mecA*.

1.8 Discusión y conclusiones

Las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, son un problema de salud pública a nivel mundial desde que se dejaron de asociar únicamente con el ambiente hospitalario, y se empezaron a detectar en casos de origen en la comunidad (pacientes sin antecedentes de hospitalización), cuyos mecanismos de aparición siguen siendo motivo de controversia. En este trabajo, se realizó una comparación de dos estudios independientes cuyo objetivo principal fue la caracterización fenotípica y molecular de aislados de *S. aureus* en diferentes superficies de ambientes hospitalarios de dos instituciones de segundo nivel de Santiago de Cali, al que acuden pacientes de bajos ingresos principalmente (hospital de la red pública, estudio 1) y pacientes de ingresos medios (estudio 2).

Interesantemente, se encontró una distribución muy similar de los aislados de *S. aureus* en el estudio 1 (18%, que correspondía a 18 de las 100 de las superficies muestreadas) comparado con el estudio 2 (19,2%, que correspondía a 10 de las 52 superficies muestreadas). De la misma manera, en ambas instituciones públicas y privada, el porcentaje de SARM identificado entre los cultivos positivos para *S. aureus* fue del 50%, con una distribución similar en la resistencia a la tetraciclina y la eritromicina (30% y 20% respectivamente en ambos estudios). Una característica diferencial de las cepas de *S. aureus* de los estudios 1 y 2 es que en el estudio 1 se encontraron más aislados con perfiles pan-susceptibles o de resistencia a un solo antibiótico, cuando en el estudio 2, solo se encontró un aislado pan-susceptible y uno con el antibiotipo 2. Es importante señalar que la mayoría (72%) de aislados de *S. aureus* del estudio 2 presentaba un perfil de multirresistencia (antibiotipo 5), mientras en el estudio 1, solo se encontró un aislado con el antibiotipo 5, encontrado en el mesón del carro de medicamentos de la UCINT.

Continuando con el análisis de la resistencia a antibióticos del estudio 1, se encontró que cinco aislados fueron resistentes a penicilina, por lo cual podrían ser considerados MRSA. Sin embargo todos ellos fueron sensibles a oxacilina y cuatro sensibles a cefoxitina. Debido a lo anterior, es importante resaltar el comportamiento tan variable del método Kirby-Bauer en la detección de cepas de SARM y la necesidad de confirmar los resultados con pruebas moleculares, como la detección del gen *mecA*. En el estudio 2, se identificaron nueve cepas de SARM por su resistencia a oxacilina y/o cefoxitina, que pudieron ser confirmados por la amplificación del gen *mecA* (Tabla 2). Estas cepas SARM del estudio 2 fueron encontradas en diferentes superficies de quirófanos y salas de espera. En ambos estudios, los aislamientos encontrados suponen una gran amenaza para la salud pública; debido a los perfiles de resistencia permiten suponer los factores de virulencia que poseen y el riesgo latente de convertirse en la cepa de *S. aureus* más común en los aislamientos de la comunidad como ya ha sido previamente determinado en otros estudios en Colombia, especialmente en Bogotá (Cortés et al 2007; Alvarez et al 2006; Buitrago et al 2008). Este hecho implica un gran costo epidemiológico y, por supuesto económico, además del impacto sobre el uso de antibióticos en pacientes ambulatorios. A pesar de que en el estudio 1, solo un aislado resultó multirresistente (antibiotipo 5), cabe destacar el riesgo que representa la detección de esta bacteria en el carro de medicamentos que suele ser transportado por varias áreas de la institución, lo cual impone un factor de riesgo para la distribución de este microorganismo.

En la genotipificación, todos los aislados de *S. aureus* del estudio 1 amplificaron para el grupo III de *agr*, permitiendo asociar estos aislados con la comunidad. Este hallazgo se relaciona con que la mayoría presenta un perfil de alta susceptibilidad a antibióticos (60% correspondían a los antibiogramas 1 y 2). Por otro lado, la presencia de dos aislados con

antibiotipos 4 y 5 con perfil de resistencia simultánea a tres y hasta cinco antibióticos, representa una alta preocupación por la presencia de cepas de *S. aureus* con capacidad de incrementar las tasas de morbilidad, infecciones complicadas y altos costos en el tratamiento de infecciones fácilmente adquiridas en comunidad. En el estudio 2, ocho de los nueve SARM, amplificaron para el grupo de II de *agr*, asociándose a origen intrahospitalario, y efectivamente estos mismos aislados fueron los que presentaron un antibiotipo 5, conforme a lo reportado previamente respecto a la multirresistencia de *S. aureus* nosocomial (Chen et al., 2005; Wakefield et al., 1988). Es importante señalar, que trabajos previos han demostrado que los genes *agr* estarían controlando factores de virulencia secretados entre los que probablemente estarían los factores que intervienen en la formación de la biopelícula cuando el *S. aureus* se encuentra en la superficie del ambiente hospitalario (Sakoulas et al 2002). Esta genotipificación, nos haría suponer, que la asociación entre los aislados del grupo *agr* II y su resistencia simultánea a varios antibióticos puede asociarse a la capacidad de formación de biopelículas (o *biofilms*) que les confiere ventajas de resistencia ante desinfectantes, estrés medioambiental y por antibióticos; promoviendo así la supervivencia de la bacteria y facilitando su posterior dispersión.

Referencias

- Acuña, M., Benadof, D., Jadue, C., Hormazábal, J. C., Alarcón, P., Contreras, J., Araya, P. (2015). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad (SARM-AC): comunicación de los primeros cuatro casos pediátricos descritos en Hospital de Niños Roberto del Río. *Revista chilena de infectología*, 32, 350-356.
- Alvarez, C. A., Barrientes, O. J., Leal, A. L., Contreras, G. A., Barrero, L., Rincón, S., Arias, C. A. (2006). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. *Emerg Infect Dis*, 12(12), 2000-2001. doi:10.3201/eid1212.060814
- Blanc, D. S., Petignat, C., Moreillon, P., Wenger, A., Bille, J., & Francioli, P. (1996). Quantitative antibiogram as a typing method for the prospective epidemiological surveillance and control of MRSA: comparison with molecular typing. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(10), 654-659.
- Chen, Y. Y., Chou, Y. C., & Chou, P. (2005). Impact of nosocomial infection on cost of illness and length of stay in intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 26(3), 281-287. doi:10.1086/502540
- Cheung, G. Y., Wang, R., Khan, B. A., Sturdevant, D. E., & Otto, M. (2011). Role of the accessory gene regulator agr in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Infect Immun*, 79(5), 1927-1935. doi:10.1128/IAI.00046-11
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2005). Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Collazos Marín, L. F., Estupiñan Arciniegas, G., & Chavez Vivas, M. (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates That Colonize Medical Students in a Hospital of the City of Cali, Colombia. *Int J Microbiol*, 2015, 358489. doi:10.1155/2015/358489
- Cortes, J. A., Gómez, C. A., Cuervo, S. I., Lucía Leal, A., & GREBO. (2007). Implicaciones en Salud Pública de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente Adquirido en la Comunidad en Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 9, 448-454.
- De Oliveira, A. C., & Damasceno, Q. S. (2010). [Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria: a review]. *Rev Esc Enferm USP*, 44(4), 1118-1123.
- Fabbro-Peray, P., Sotto, A., Defez, C., Cazaban, M., Molinari, L., Pinède, M., Daures, J. P. (2007). Mortality attributable to nosocomial infection: a cohort of patients with and without nosocomial infection in a French university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 28(3), 265-272. doi:10.1086/512626
- Hardy, O. T., Kim, A., Ciccarelli, C., Hayman, L. L., & Wiecha, J. (2013). Increased Toll-like receptor (TLR) mRNA expression in monocytes is a feature of metabolic syndrome in adolescents. *Pediatr Obes*, 8(1), e19-23. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00098.x
- Hayden, M. K., Blom, D. W., Lyle, E. A., Moore, C. G., & Weinstein, R. A. (2008). Risk of hand or glove contamination after contact with patients colonized with vancomycin-resistant enterococcus or the colonized patients' environment. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 29(2), 149-154. doi:10.1086/524331

- Huang, S. S., Datta, R., & Platt, R. (2006). Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. *Arch Intern Med*, 166(18), 1945-1951. doi:10.1001/archinte.166.18.1945
- Lemmen, S. W., Häfner, H., Zolldann, D., Stanzel, S., & Lütticken, R. (2004). Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *J Hosp Infect*, 56(3), 191-197. doi:10.1016/j.jhin.2003.12.004
- Machuca, M. A., Sosa, L. M., & González, C. I. (2013). Molecular typing and virulence characteristic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from pediatric patients in Bucaramanga, Colombia. *PLoS One*, 8(8), e73434. doi:10.1371/journal.pone.0073434
- Manago, K., Nishi, J., Wakimoto, N., Miyanohara, H., Sarantuya, J., Tokuda, K., Kawano, Y. (2006). Biopelícula formation by and accessory gene regulator typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains recovered from patients with nosocomial infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27(2), 188-190. doi:10.1086/500620
- Martínez, J. A., Ruthazer, R., Hansjosten, K., Barefoot, L., & Snyderman, D. R. (2003). Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant enterococci in patients treated in a medical intensive care unit. *Arch Intern Med*, 163(16), 1905-1912. doi:10.1001/archinte.163.16.1905
- Naimi, T. S., LeDell, K. H., Como-Sabetti, K., Borchardt, S. M., Boxrud, D. J., Etienne, J., Lynfield, R. (2003). Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*, 290(22), 2976-2984. doi:10.1001/jama.290.22.2976

- Olarte, N. M., Valderrama, I. A., Reyes, K. R., Garzón, M. I., Escobar, J. A., Castro, B. E., & Vanegas, N. (2010). Colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en una unidad de cuidados intensivos de adultos de un hospital colombiano: caracterización fenotípica y molecular con detección de un clon de circulación en la comunidad. *Biomédica*, 30, 353-361.
- Sakoulas, G., Eliopoulos, G. M., Moellering, R. C., Wennersten, C., Venkataraman, L., Novick, R. P., & Gold, H. S. (2002). Accessory gene regulator (agr) locus in geographically diverse *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother*, 46(5), 1492-1502.
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int*, 2016, 2475067. doi:10.1155/2016/2475067
- Stegger, M., Wirth, T., Andersen, P. S., Skov, R. L., De Grassi, A., Simões, P. M., Laurent, F. (2014). Origin and evolution of European community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *MBio*, 5(5), e01044-01014. doi:10.1128/mBio.01044-14
- Tokue, Y., Shoji, S., Satoh, K., Watanabe, A., & Motomiya, M. (1992). Comparison of a polymerase chain reaction assay and a conventional microbiologic method for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 36(1), 6-9.
- Wakefield, D. S., Helms, C. M., Massanari, R. M., Mori, M., & Pfaller, M. (1988). Cost of nosocomial infection: relative contributions of laboratory, antibiotic, and per diem costs in serious *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control*, 16(5), 185-192.

Zhao, C., Liu, Y., Zhao, M., Yu, Y., Chen, H., Sun, Q., Wang, H. (2012). Characterization of community acquired *Staphylococcus aureus* associated with skin and soft tissue infection in Beijing: high prevalence of PVL+ ST398. *PLoS One*, 7(6), e38577. doi:10.1371/journal.pone.0038577

