

Artículo original

Detección del gen *mecA* en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre

Elsa Salazar de Vegas^{a,d,*}, Ángel Tiappa^a, Juleanny Marval^a, Leidy Gámez^a, Dulce Trujillo^a, Militza Guzmán^{b,d}, Diorelis González^{a,c,d}, Luzmila Albarado^{a,d}, Yasmina Araque^{a,d}, Dianny Martínez^{a,c,d}

^aLaboratorio de Bacteriología Clínica. ^bLaboratorio de Bacteriología Molecular. Departamento de Bioanálisis. Núcleo de Sucre. Universidad de Oriente. ^cLaboratorio de Bacteriología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. ^dGrupo de Investigación de la Epidemiología de Cocos Grampositivos (GIECOGRAP). Consejo de Investigación. Universidad de Oriente. Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

Recibido 2 de marzo de 2017; aceptado 12 de septiembre de 2017

Resumen: Los porcentajes de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SAMR) son altos al compararlos con los meticilino sensibles (SAMS), tanto en pacientes hospitalizados como comunitarios. Con el propósito de detectar el gen *mecA* se estudiaron 46 cepas, aisladas de muestras clínicas de pacientes atendidos en los diferentes servicios médicos del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Según las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, 38 (82,6%) estaban clasificadas como SAMR y 8 (17,4%) como SAMS. Se determinaron la concentración inhibitoria mínima (CIM) a oxacilina y presencia de la proteína fijadora de la penicilina modificada (PBP2a) y la detección del gen *mecA*, mediante la reacción en cadena de la polimerasa. El 93,5% de las cepas resultó PBP2a positivo, en el 100% se detectó el gen *mecA* y la CMI50 de oxacilina fue de 32 µg/mL. Se recomienda la implementación de la detección del gen *mecA*, tanto en cepas de SAMR como SAMS en los laboratorios de microbiología, con lo cual se evitarían resultados errados y, en consecuencia, tratamientos inadecuados en los pacientes.

Palabras clave: *mecA*, *Staphylococcus aureus*, meticilino resistente, PBP2a.

Detection of the *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients attended at the Autonomous Service Hospital “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Sucre State

Abstract: The percentages of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are high when compared with methicillin-sensitive (SAMS), both in hospitalized and community patients. With the purpose of detecting the *mecA* gene, 46 strains were studied, isolated from clinical samples of patients treated in the different medical services of the Autonomous University Hospital Service “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, Sucre State. According to the antimicrobial susceptibility tests, 38 (82.6%) were classified as MRSA and 8 (17.4%) as SAMS. The minimum inhibitory concentration (MIC) to oxacillin and the presence of the modified penicillin binding protein (PBP2a) and the detection of the *mecA* gene were determined by the polymerase chain reaction. The 93.5% of the strains were PBP2a positive, in 100% the *mecA* gene was detected and the MIC50 of oxacillin was 32 µg/mL. The implementation in microbiology laboratories of the detection of the *mecA* gene is recommended, both in strains of SAMR and SAMS, which should avoid erroneous results and, consequently, inadequate treatments in patients.

Keywords: *mecA*, methicillin resistant, *Staphylococcus aureus*, PBP2a.

* Correspondencia:
E-mail: elsazul2003@cantv.net

Introducción

Desde su aparición, en Inglaterra (1961), la incidencia

de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR) ha ido en constante aumento, convirtiéndose en uno de los patógenos prevalentes en infecciones que ocurren

clásicamente en individuos con factores asociados a los servicios de salud como: cirugía previa, hospitalización, cateterismo endovenoso, diálisis, entre otros [1,2]. Desde los años 90 empezaron a describirse infecciones por SAMR en grupos de personas no relacionadas a los factores antes mencionados, reconociéndose como infecciones causadas por SAMR asociados a la comunidad (IAC) para diferenciarlo de las infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS). Estas primeras observaciones fueron realizadas en grupos de niños, en homosexuales, equipos de jugadores, internos de cárceles, entre otros. La presencia de esta infección se volvió más frecuente en algunos países desarrollados [3].

Las cepas de SAMR fueron identificadas cuando se introdujeron las primeras isoxazolilpenicilinas (meticilinas) en la práctica clínica. Esta resistencia fue denominada “intrínseca”, ya que no se debía a la destrucción del antimicrobiano por la β -lactamasa [4]. Los estudios moleculares determinaron que dicha resistencia es debida a la presencia del gen *mecA*, de aproximadamente 2 kb, que se localiza en el cassette cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*, por sus siglas en inglés), el cual es un elemento genético móvil que corresponde a un fragmento de ADN de 21 a 67 kb, integrado en un sitio específico del cromosoma de *S. aureus* [5,6]. La transcripción del gen *mecA* genera la proteína fijadora de penicilina 2 modificada (PBP2a), la cual tiene actividad transpeptidasa, pero con baja afinidad por los β -lactámicos, por esta razón, las cepas de SAMR son resistentes a todo ese importante grupo de agentes antimicrobianos [7].

La identificación errónea de cepas de SAMR puede traer consecuencias graves en un centro hospitalario, ya que puede provocar fallas de tratamiento; un resultado de falsa resistencia implica un alto costo para el mismo, generado por el uso innecesario de glicopéptidos, que trae como consecuencia riesgo de selección de resistencia [8]. Teniendo en consideración el papel patógeno de *S. aureus* en las IAAS y las IAC, la importancia del manejo adecuado de los aislados de SAMR y los escasos reportes de este tipo de resistencia en el hospital de la localidad [9], se propuso, investigar la presencia del gen *mecA* en cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), Cumaná, estado Sucre.

Materiales y métodos

Aislados bacterianos: Se analizaron 46 aislados de *S. aureus*, obtenidos entre junio y diciembre del 2008, a partir de muestras, de diversa naturaleza, en pacientes con diagnóstico de infección, atendidos en el SAHUAPA, Cumaná, estado Sucre. Este trabajo contó con la aprobación de la dirección del hospital para la utilización de las muestras clínicas. De estos aislados, 38 estaban clasificados como SAMR y 8 como SAMS, según los resultados de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana (método de difusión en agar) realizada en el momento en que fueron

identificados. Los aislados fueron preservados a -20 °C en caldo infusión cerebro corazón con 50% de glicerol, en el Laboratorio de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, hasta el momento de su uso.

Cultivo, aislamiento e identificación de *S. aureus*: Para la clasificación de los pacientes como IAAS o IAC, se tomó en cuenta la información clínico-epidemiológica documentada en el momento de la recolección de la muestra y archivada en el laboratorio. Se consideró como IAAS aquella que se manifestó luego de las 72 h de ingresado el paciente al centro hospitalario, mientras el mismo recibía tratamiento para alguna condición médica o quirúrgica y en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del ingreso a la institución. En el caso de las IAC, se tomó en cuenta que el paciente hubiese sido atendido en las consultas y/o en la emergencia del SAHUAPA, y no tuviera antecedentes de consumo de agentes antimicrobianos ni hospitalización, al menos 3 meses previos a dicha consulta, o ninguna de las condiciones anteriormente descritas para las IAAS.

Con el objeto de probar la viabilidad y pureza de los aislados, cada uno se colocó en caldo infusión cerebro corazón (BHI, Himedia®), luego se sembraron en agar sangre (OXOID®) y agar manitol salado (Himedia®). Las placas fueron incubadas a 37 °C en aerobiosis durante 24 h. La confirmación de la identificación del microorganismo se realizó mediante las siguientes características fenotípicas: morfología de las colonias, morfología celular, fermentación del manitol, producción de catalasa, coagulasa libre y ADNasa, según lo descrito por Koneman y col. [10]

Susceptibilidad antimicrobiana: Se determinó mediante la prueba de difusión en agar, siguiendo las recomendaciones descritas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios, del inglés: *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [11]. Entre los agentes antimicrobianos utilizados se incluyeron: 1 μ g de oxacilina (OX), 10 μ g de penicilina (P), 10 μ g de ampicilina (AM), 30 μ g de cefoxitin (FOX), 10/10 μ g de ampicilina-sulbactam (SAM) (Laboratorios Britania S.A). Se utilizaron los puntos de corte recomendados para *Staphylococcus* spp. por el CLSI [11]. La cepa utilizada como control fue *S. aureus* ATCC® 25923.

Producción de β -lactamasa: Fue determinada con la lectura del halo de inhibición de discos de SAM (10/10 μ g) comparado, a su vez, con los discos de P (10 μ g) y AM (10 μ g). Una cepa se consideró productora de β -lactamasa cuando los discos de AM y P tuvieron halos de inhibición que indicaban resistencia, pero el disco de SAM era sensible, según los puntos de corte recomendados por el CLSI [11].

Concentración inhibitoria mínima (CIM) a OX: Se efectuó utilizando el método de dilución en agar, y se interpretó de acuerdo a los criterios del CLSI [11]. Para ello, se prepararon

placas de agar Müeller-Hinton (Oxoid®), suplementado con 4% de NaCl a diferentes concentraciones de OX (0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64 y 128 µg/mL⁻¹), las cuales fueron inoculadas con 2 µL del cultivo diluido (1:10) de cada cepa en estudio, a partir de una suspensión bacteriana con concentración similar al patrón 0,5 en la escala de McFarland (1,5x10⁸ UFC mL⁻¹); posteriormente, fueron incubadas por 24 h a 35 °C.

Determinación de la PBP2a: Se detectó empleando la prueba comercial Penicillin Binding Protein (PBP2⁺) Látex Agglutination Test (OXOID®), siguiendo las indicaciones del fabricante [12].

Extracción de ADN: La extracción de ADN se realizó por el método de ebullición, según Lévesque *et al.* [13] con modificaciones. Un mL de caldo BHI con crecimiento bacteriano de 24 h de incubación, se agregó en un tubo Eppendorf estéril y se procedió a centrifugar a 10.000 g por 3 min, se descartó el sobrenadante, luego se lavó con 1 mL de solución salina fisiológica estéril, se centrifugó a 8.000 g y se descartó el sobrenadante; se le agregó al sedimento 150 µL de agua destilada estéril y se sometió a ebullición por 20 min. A continuación se centrifugó a 10.000 g por 5 min y el sobrenadante se pasó a un tubo Eppendorf estéril, al cual se le agregaron 150 µL de etanol absoluto, se centrifugó a 12.000 g por 10 min y se descartó el sobrenadante. El tubo Eppendorf se dejó a temperatura ambiente hasta que secase y luego, se hidrató agregándole 50 µL de agua ultra pura estéril, utilizándose 5 µL de éste como ADN molde para la reacción de PCR.

Determinación del gen *mecA*: Se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), siguiendo los protocolos previamente descritos por Castellano y col. [14]. Para cada muestra se prepararon 25 µL de la mezcla de reacción para la amplificación, con las siguientes condiciones: 12,5 µL de mezcla Master MIX 2X (Promega®); 2,0 µL de los oligonucleótidos específicos en cada caso, para obtener una concentración final de 1 µMol.l⁻¹; 5 µL de ADN y 3,5 µL de agua ultra pura estéril. Los oligonucleótidos que se utilizaron, corresponden a una región altamente conservada del gen *mecA* de 310 bp: *mecA*-Plus: 5'-TGG CTA TCG TGT CAC AAT CG-3' (Eurogentec®) y *mecA*-Minus: 5'-CTG GAA CTT GTT GAG CAG AG-3' (Eurogentec®). Se utilizó como control interno de amplificación un par de oligonucleótidos que flanquean el gen ribosomal 16S: 16S Plus: 5-AGGAGGTGATCCAACCGCA-3' (Eurogentec®) y 16S Minus: 5-AACTGGAAGAAGGTGGGGAT-3' (Eurogentec®). La amplificación se realizó en un termociclador TECHNE TC-312 de acuerdo al siguiente protocolo: desnaturalización a 94 °C por 5 min, seguido de 30 ciclos a 94 °C por 30 seg, 52 °C por 30 seg y 72 °C por 30 seg, con una extensión final a 72 °C por 5 min. Los productos amplificados por PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y teñidos con bromuro de etidio para su posterior visualización con luz ultravioleta

y documentación fotográfica. La corrida electroforética se realizó a 100 voltios por 30 min.

Control de calidad: Una cepa de *S. aureus* ATCC 25923 se utilizó para el control de calidad de los medios de cultivo y como control negativo del gen *mecA*. La cepa de *S. aureus* meticilino resistente ATCC 43300, fue incluida como control positivo para la detección de la PBP2a y del gen *mecA*. Todas las cepas utilizadas como control fueron suministradas por el Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR), Caracas-Venezuela.

Análisis de resultados: se realizó mediante la obtención de los porcentajes de frecuencia de las variables estudiadas utilizando el programa estadístico SPSS versión 11.5

Resultados

De las 46 cepas de *S. aureus* incluidas en el presente estudio, 28 (60,9%) provenían de pacientes con diagnóstico de IAAS y 18 (39,1%) de IAC. Los aislados de *S. aureus* se obtuvieron, principalmente, a partir de infecciones de piel y tejidos blandos (58,7%), seguido de bacteriemia (23,9%), contaminación de catéteres (6,6%), osteomielitis (4,3%), artritis séptica aguda (4,3%) y sinusitis (2,3%).

Todas las cepas de *S. aureus* crecieron a una CIM igual o superior a 4 µg/mL de OX, la CMI50 fue de 32 µg/mL. El 76,1% de las cepas mostraron ser productoras de β-lactamasa, tipo penicilinas. De las 28 cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes con IAAS, 3 no aglutinaron para la detección de PBP2a y fueron productoras de β-lactamasa, mientras que, en el caso de las 18 cepas aisladas de pacientes

Tabla 1. Resistencia a meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de pacientes atendidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá". Cumaná, estado Sucre. Junio-diciembre de 2008.

Tipo de infección en los pacientes	Cepas N° (%)	OXACILINA Puntos de corte (µg/mL)		PBP2a		Gen <i>mecA</i>	
		(≤ 2 ^a)	(≥ 4 ^b)	(+)	(-)	(+)	(-)
IAAS	28 (60,9)	0	28	25	3	28	0
IAC	18 (39,1)	0	18	18	0	18	0

IAAS: Infecciones asociadas a la atención de salud; IAC: Infecciones asociadas a la comunidad; N°: número de cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes; PBP2a: proteína ligadora de penicilina alterada. Según el CLSI (2015): a: sensible; b: resistente; (+): positivo; (-): negativo.

con IAC, todas resultaron positivas (Tabla 1).

En la figura 1 se muestra la amplificación del gen ribosomal 16S (A) y *mecA* (B). Todas las cepas de *S. aureus* portaron dichos genes.

En cuanto al tipo de muestra clínica, se observó que SAMR abunda en las infecciones de piel y tejidos blandos (27/58,7%), tanto en pacientes hospitalizados como en los no hospitalizados, de los cuales, 15 (53,6%) aislados se recuperaron de infecciones de piel y partes blandas

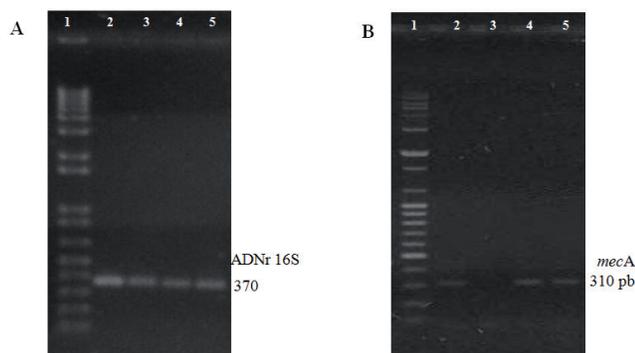


Figura 1. Producto de la amplificación de la subunidad 16S del ADNr (A) y gen *mecA* (B). (A) Línea 1: marcador de peso molecular 100pb, Invitrogen®. 2: ADNr 16S (*S. aureus* ATCC 43300); 3: ADNr 16S (*S. aureus* ATCC 25923); 4: ADNr 16S (*S. aureus* cepa 4616), 5: ADNr 16S (*S. aureus* cepa 8015). (B). Línea 1: marcador de peso molecular 100pb, Invitrogen. 2: *mecA* control + (*S. aureus* ATCC 43300); 3: *mecA* control - (*S. aureus* ATCC 25923); 4: *mecA* (*S. aureus* cepa 4616), 5: *mecA* (*S. aureus* cepa 8015).

de pacientes hospitalizados con diagnóstico de IAAS y 12 (66,7%) de dichas infecciones de pacientes no hospitalizados con diagnóstico de IAC; mientras que todos los casos de bacteriemia (11/23,9%) provenían de pacientes hospitalizados, con diagnóstico de IAAS.

Discusión

S. aureus ha persistido como un patógeno cada vez más importante, debido al arsenal de factores de virulencia que presenta, sumado a su gran capacidad para generar resistencia a los agentes antimicrobianos [15,16]. SAMR, ya sea adquirido en la comunidad o en el ambiente hospitalario, es uno de los principales microorganismos de importancia clínica en el hombre, por su distribución mundial y porque su impacto en las tasas de morbilidad y mortalidad es considerablemente alto [16-19].

De acuerdo a los resultados obtenidos, el aislamiento de SAMR a partir de muestras clínicas de pacientes con IAAS resultó superior (60,9%) al de pacientes con IAC (39,1%). Estos resultados difieren de los obtenidos por Guzmán y Lozada [8], en un estudio realizado en pacientes hospitalizados y atendidos en la emergencia del mismo hospital, quienes reportaron un 45,5% y 16,7% de aislados de SAMR a partir de pacientes con IAAS y IAC, respectivamente, con lo que se demostró que SAMR se aísla tanto de pacientes hospitalizados como de pacientes con IAC, lo cual es preocupante, dada la facilidad con que se puede transmitir esta bacteria entre las personas.

Se comprobó, a través de la CIM, que el 100% de las cepas de *S. aureus* eran resistentes a OX; sin embargo, en tres de ellas no se evidenció la presencia de la PBP2a por el método de aglutinación. Louie *et al* reportaron resultados óptimos con el uso de este método [20], mientras que en otro estudio, los resultados fueron discordantes [4]. Los métodos fenotípicos utilizados para la detección de la meticilino resistencia requieren de la expresión de la PBP2a y el problema radica en la característica de *Staphylococcus* de presentar cepas heterogéneas respecto a la resistencia a

la meticilina; por otra parte, dicha expresión puede estar influenciada por las condiciones de cultivo como el pH, la temperatura de incubación y la concentración del inóculo bacteriano y de cloruro de sodio [7,21,22]. Varios autores han señalado que algunas cepas meticilino resistentes no expresan la proteína PBP2a sin previa estimulación (cepas Eagle type) [22-24] y el resultado será reportado como falso negativo, por lo que es necesario contar con métodos confirmatorios como la detección del gen *mecA*, la cual es considerada como método de referencia [4,25].

En relación a la detección del gen *mecA* en los aislados de *S. aureus*, los resultados obtenidos en este estudio difieren de los publicados por Castellano y col. [14], quienes encontraron 17,48% de cepas SAMR en un estudio realizado en el Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, las cuales resultaron positivas para detección de la PBP2a y el gen *mecA*.

Al comparar los hallazgos de la CIM y la PBP2a con los resultados de PCR obtenidos en el presente estudio, se observó que los mismos se correlacionaron en un 93,5%. Tal discrepancia se debió a que se obtuvieron tres cepas resistentes a betaláctamicos (P, FOX y OXA: 4 µg/mL), productoras de β-lactamasa, según la disociación de los discos de SAM y AM, con PBP2a negativo, pero positivas para el gen *mecA*. Los resultados del antibiograma y PBP2a demostraron un fenotipo correspondiente a cepas hiperproductoras de β-lactamasa, por lo que, para efectos de este estudio, si no se hubiese detectado el gen *mecA* en ellas, se hubiesen clasificado como posibles portadoras de resistencia límite o “borderline” a oxacilina (BORSA). Al respecto, Vásquez y col. [4] y Castellano y col. [14], también reportaron cepas de *S. aureus* resistentes a OX, con PBP2a negativo.

La falta de expresión de la PBP2a en tres de las cepas portadoras del gen *mecA*, pudiera deberse a la acción del gen *mecI*. Según Petinaki *et al.* [26], la expresión del gen *mecA* es regulada por proteínas codificadas por el sistema inductor/represor *blaR1/blaI* asociado a la penicilinasas y por los genes *mecR1* y *mecI*. Específicamente, el gen *mecR1* codifica para una proteína inactivadora del gen *mecI*, mientras que *mecI* codifica para una proteína represora del gen *mecA*; cuando *mecI* se encuentra activado, una cepa que alberga en su cromosoma el gen *mecA*, fenotípicamente se observa sensible a los β-lactámicos.

La implementación de la detección oportuna del gen *mecA* en el SAHUAPA favorecería el tratamiento adecuado de los pacientes con infecciones por SAMR, a la par que se evitaría la presión selectiva de este tipo de microorganismo al utilizar β-lactámicos, como consecuencia de un reporte de aislamiento de SAMS errado. El control de infecciones por SAMR es importante para evitar la propagación de este tipo de cepas; en cuanto a las estrategias a aplicar, tanto en hospitales como en la comunidad, deben estar dirigidas a la detección oportuna de estos microorganismos, el tratamiento adecuado de las infecciones y la optimización de las medidas básicas de higiene.

Conclusión

Los resultados del presente estudio permiten concluir que, tanto las cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes con IAAS como con IAC atendidos en el SAHUAPA y clasificadas previamente como SAMR o SAMS, según el antibiograma, son portadoras del gen *mecA*, por lo tanto, son resistentes a todos los β -lactámicos. Asimismo, alerta sobre los posibles falsos negativos que se pueden reportar, cuando no se implementan técnicas moleculares para la detección de dicho gen.

Agradecimiento

Este trabajo fue financiado parcialmente por el proyecto de investigación aprobado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (N° CI 02-040102-1854-13).

A las empresas privadas: Aluminios PIPO C.A., Toyota Prosperi y Centro de Especialidades Carúpano, a través de la Corporación Parque Tecnológico de Oriente UDO, que con sus aportes hicieron posible el desarrollo de esta investigación, la cual forma parte del proyecto LOCTI (Ley Orgánica de Ciencia, Tecnología e Innovación) intitulado: "Epidemiología de cepas bacterianas, aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios que acuden al hospital "Antonio Patricio de Alcalá". Cumaná, estado Sucre".

Referencias

- Palombarani S, Gardella N, Tuduri A, Figueroa S, Sly G, Corazza R y col. Infecciones adquiridas en la comunidad por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina en un hospital de agudos. Rev Argent Microbiol. 2007; 39:151-5.
- Teglia O, Gregorini E, Notario R, Fay F, Casellas JM, Casellas JM. *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente, emergente de la comunidad. Rev Med Rosario. 2007; 73:76-81.
- Boubaker K, Diebold P, Blanc D, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G, Trillet N. Panton-Valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. Emerg Infect Dis. 2004; 10:121-4.
- Vásquez A, García G, Lobo M. Asociación de los genes implicados en la codificación de la proteína de unión a la penicilina 2a (PBP2a) con la expresión fenotípica de resistencia a la meticilina en cepas de *Staphylococcus* spp. Rev Cuadernos. 2008; 53:31-7.
- Medina G, Otth C, Araya P, Hormazabal J, Fernández J, Maldonado A y col. Asociación entre los criterios de clasificación genotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina que se obtuvo mediante electroforesis en geles de campos pulsantes y mediante la reacción en cadena de la polimerasa de regiones hiper variables del gen *mecA*. Enferm Infecc Microbiol Clín. 2009; 27:213-8.
- Ardura M. *Staphylococcus aureus*: vieja bacteria con nuevos trucos. Rev Chil Infectol. 2009; 26:401-2.
- Chambers H. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 1997; 10:781-91.
- Guzmán M, Lozada R. Detección de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente aislados de pacientes con infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad. Rev Soc Ven Microbiol. 2007; 27:45-9.
- Acuña S, Sánchez E, Abadía L. Tipificación de la meticilino resistencia en cepas de *Staphylococcus* spp. Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", Cumaná, estado Sucre, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2014; 34:4-9.
- Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, editores. Diagnóstico Microbiológico. 6ta edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, S.A; 2008.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplement. M100-S25. Wayne PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- Chapin K, Musgnug M. Evaluation of penicillin binding protein 2a latex agglutination assay for identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from blood cultures. J Clin Microbiol. 2004; 42:1283-4.
- Lévesque C, Piché L, Larose C, Roy P. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39:185-91.
- Castellano M, Perozo A, Vivas R. Detección fenotípica y molecular de resistencia a meticilina en *S. aureus*. Kasmera. 2008; 36:28-38.
- Tamariz J, Agapito J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M y col. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina adquiridos en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. Rev Med Hered. 2010; 21:4-10.
- Dorante V, Hurtado E, Bastidas B, Méndez MV. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en pacientes que asisten al laboratorio de microbiología del hospital "Los Samanes" estado Aragua. Odous Científica. 2013; 14:29-36.
- Vandenesch F, Naimi T, Enright M, Lina G, Nimmo G, Heffernan H *et al.* Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine Leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis. 2003; 9:978-84.
- De Colsa A. *Staphylococcus aureus*: de la genómica a la clínica. Rev Enf Infec Pediatr. 2011; 24:91-4.
- Bermejo V, Spadaccini L, Elbert G, Duarte A, Erbin M, Cahn P. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en infecciones de piel y partes blandas en pacientes ambulatorios. Medicina (Buenos Aires). 2012; 72:283-6.
- Louie L, Matsumura S, Choi E, Louie M, Simor E. Evaluation of three rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin

- Microbiol. 2000; 38: 2170-3.
21. Castellano M, Perozo A. Mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en *Staphylococcus aureus*. Kasma. 2010; 38:18-35.
 22. Gámez L. Resistencia antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* aislados de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Tesis de Pregrado. Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Venezuela; 2010.
 23. Kondo N, Kuwahara-Arai K, Kuroda-Murakami H, Tateda-Suzuki E, Hiramatsu K. Eagle-type methicillin resistance: new phenotype of high methicillin resistance under *mec* regulator gene control. Antimicrob Agents Chemother; 2001; 45: 815-24.
 24. Rodríguez J, Cisneros J, Moreno I, Salas J, Pascual A y Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas. "Documento de consenso sobre el manejo clínico de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en adultos". 2007. Disponible en: <http://www.saei.org/biblioteca/descarga/id/28>. Acceso: 02/09/2016.
 25. Mimica M, Berezin E, Carvalho R, Mimica I, Mimica L, Sádafi M *et al.* Detection of methicillin resistance in de *Staphylococcus aureus* isolate from pediatric patients: is the cefoxitin disk diffusion test accurate enough? Braz J Infect Dis. 2007; 11:415-7.
 26. Petinaki E, Arvaniti A, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Detection of *mecA*, *mecR1* and *mecI* genes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci by combined polymerase chain reactions. J Antimicrob Chemother. 2001; 47: 297-304.