

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR de *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE A METICILINA EN COMUNIDAD EN ENSENADA,
BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

TESIS

PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

GUSTAVO ARYAM NUÑO TORRES

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

JUNIO DEL 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

MAESTRIA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR y BIOTECNOLOGÍA

**EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE A METICILINA EN LA COMUNIDAD EN ENSENADA,
BAJA CALIFORNIA**

T E S I S

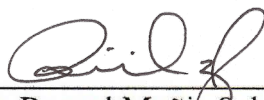
PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

GUSTAVO ARYAM NUÑO TORRES

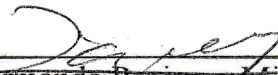
Aprobado por:



Dra. Raquel Muñoz Salazar
Directora de tesis



M.C. Nydia A. Castillo Martínez
Sinoda



Dr. José Armando Paniagua Michel
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por contar con su apoyo durante todo este tiempo y estar conmigo apasar de los sucesos que se presentaron en este trayecto de nuestra vida.

A mi directora de tesis Dra. Raquel Muñiz Salazar por el conocimiento y su dedicación, durante mi formación e impulsarme a continuar con el arduo trabajo de la investigación.

A mis sinodales Dr. Jesús Córdova Guerrero, Dr. José Alfredo Fausto, Dr. José A. Paniagua Michel y M.C Nydia A. Castillo Martínez por su apoyo, conocimiento, así como, brindar de su valioso tiempo a la revisión de este trabajo.

Al Laboratorio de Epidemiología y Ecología Molecular de la Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California Unidad Valle Dorado, por abrirme las puertas de sus instalaciones durante el análisis de las muestras.

Al personal que conforma el laboratorio de Epidemiología y Ecología Molecular, por su apoyo y por hacer de mi estancia en el laboratorio un rato agradable y a pesar las largas jornadas de trabajo durante el procesamiento de muestras. A Marco Núñez por su ayuda en la colecta de muestras y en el cultivo microbiológico.

Al IMSS y Centros de Salud por la colaboración, al permitir la colecta de muestras de los pacientes dentro de la institución, así mismo, a los pacientes por brindar su tiempo con la toma de la información epidemiológica y muestra.

A CONACYT por otorgarme la beca No. de apoyo 339965 que me permitió dedicar tiempo completo al desarrollo de este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Marinas, por permitirme ser parte del posgrado y por contribuir en mi formación académica.

RESUMEN

En México se han reportado cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina afectando a la población principalmente en los hospitales, sin embargo se han reportado estas cepas resistentes en la población extra hospitalaria. El objetivo de este estudio fue determinar la epidemiología molecular de aislados clínicos de *S. aureus* *meticilino resistentes* obtenidos de la comunidad de Ensenada, Baja California. La población estudiada se encontraba formada por 65.7% de mujeres y el resto hombres. El rango de edades estuvo comprendido entre 1 y 80 años, siendo el promedio 30 años (± 17.6). Solo el 31% (n = 210) de la población presentó enfermedades asociadas, de las cuales el 9% correspondió a diabetes mellitus tipo 2, así como fue el mayormente representado y de menor manera con el 4% enfermedades respiratorias (Fig. 4). El 67% de las personas presentaron algún tipo de sintomatología nasal, faríngea, así como otras alteraciones o la combinación de las estas, el resto no presentó ningún síntoma. En total obtuvieron 215 muestras clínicas de hisopado nasal correspondientes a los 215 individuos. En total 52 aislados (24.7%) fueron confirmados como *S. aureus* mediante pruebas microbiológicas y bioquímicas de catalasa, coagulasa. El 36.5% de los aislados clínicos positivos a *S. aureus* amplificaron el gen *mecA*, indicando que solo estos son *S. aureus* *meticilino resistentes*. Estos aislados SARM fueron caracterizados molecularmente por el *SCCmec* el 68.4% correspondió a *SCCmecI* y el resto al *SCCmecIV* y de acuerdo con la alineación de estas secuencias y las de referencia AB033763.2 y AB063172.1 del GenBank. El análisis de asociación entre los aislados identificados como *S. aureus* y SAMR con las características clínicas y sociodemográficas fue significativo ($p < 0.05$) con respecto al área de colecta para CS89 CMSQ. La edad fue otro factor sociodemográfico significativo ($p < 0.05$) donde el 4% de la población se

encontraba entre los 1 a 9 años, el 3% entre los 10 a 19 y de igual manera entre 20 a 59 años con respecto a ser portadoras de *S. aureus*, sin embargo no significativo entre estas edades para SARM. Las técnicas moleculares utilizadas para el diagnóstico y monitoreo del progreso de la infección en centros de salud determinan el origen genético de la cepa y la resistencia a fármacos, es importante, para establecer estrategias de prevención y tratamiento eficientes.

INDICE

RESUMEN	I
INDICE DE TABLAS	VI
INDICE DE FIGURAS	VI
GLOSARIO.....	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	4
2.2 FACTORES DE PATOGENIA	4
2.3 CUADROS CLÍNICOS	8
2.4 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.....	10
2.5 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTE A METICILINA	11
2.6 ESTRUCTURA DEL CASSETTE CROMOSÓMICO ESTAFILOCÓCICO (<i>SCCMEC</i>)	12
2.7 EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTE A METICILINA.....	15
3. HIPÓTESIS.....	19
4. OBJETIVOS	20
4.1 GENERAL	20
4.2 ESPECÍFICOS	20
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
5.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO	21
5.2 OBTENCIÓN DE MUESTRAS.....	24

5.3 CULTIVO MICROBIOLÓGICO	24
5.4 PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE <i>S. AUREUS</i>	24
5.4.1 PRUEBA DE LA CATALASA	24
5.4.2 PRUEBA DE LA COAGULASA	25
5.5 ANÁLISIS MOLECULAR	25
5.5.1 EXTRACCIÓN DE ADN	25
5.5.2 AMPLIFICACIÓN DEL OPERÓN <i>MECA</i>	26
5.5.3 AMPLIFICACIÓN DEL <i>SCCMEC</i>	27
5.5.4 SECUENCIACIÓN DE LOS PRODUCTOS AMPLIFICADOS	28
5.5.4 ANÁLISIS DE SECUENCIAS	29
5.5.4 ANÁLISIS RELACIÓN GENÉTICA	29
5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
6. RESULTADOS	30
6.1 ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO	30
6.1.1 VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS	30
6.1.2 EDAD Y SEXO	31
6.1.3 VARIABLES CLÍNICAS	32
6.1.4 VARIABLES SOCIALES	37
6.2 IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE LOS AISLADOS CLÍNICOS DE <i>S. AUREUS</i>	40
6.3 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LA RESISTENCIA A METICILINA	41
6.4 ANÁLISIS RELACIÓN GENÉTICA DE ACUERDO AL TIPO <i>SCCMEC</i>	41
6.5 ANÁLISIS EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR	43
6.5.1 ANÁLISIS SOCIODEMOGRÁFICO	43
6.6 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS CON LA PRESENCIA DE <i>S. AUREUS</i> Y SARM EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	50
6.7 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES SOCIALES CON LA PRESENCIA DE <i>S. AUREUS</i> Y SARM EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	52

7.0 DISCUSIÓN	55
8.0 CONCLUSIÓN	62
LITERATURA CITADA.....	63
ANEXO 1.....	72
CONSENTIMIENTO INFORMADO	72
ANEXO 2.....	73
ENCUESTA EPIDEMIOLOGÍCA	73
ANEXO 2.....	74
ENCUESTA EPIDEMIOLOGÍCA	74

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Determinantes de patogenicidad pared celular	15
Tabla II. Determinantes de patogenicidad enzimas y toxinas	17
Tabla III. Clases del gen <i>mecA</i> presentes en el cassette cromosomico	22
Tabla IV. Clases del gen <i>ccr</i> presentes en el cassette cromosomico	23
Tabla V: Estructura de los tipos de <i>SCCmec</i>	24
Tabla VI: Unidades de Salud pública que permitieron el acceso a sus instalaciones para la colecta de muestras	31
Tabla VII: Cebadores utilizados para amplificación del <i>SCCmec</i> de <i>S. aureus</i>	37
Tabla VIII: Características de la población de acuerdo al sexo y edad	41
Tabla IX: Variables clínicas consideradas en la población de estudio	42
Tabla X: Variables sociales consideradas en la población de estudio	43
Tabla XI: Factores asociados a ser portador de <i>S. aureus</i> y SARM en la población de estudio por razón de momios	54
Tabla XII: Factores Sociodemograficos con el ser portador de <i>S. aureus</i> y SARM en la población de estudio por razón de momios	55
Tabla XIII: Factores Sociodemografico con el ser portador de <i>S. aureus</i> y SARM en la población de estudio por razón de momios	56

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Habitación de <i>Staphylococcus aureus</i> en el humano.....	16
Figura 2: Mapa con los sitios de colecta de las muestras clínicas obtenidas	33
Figura 3: Distribución de la población de acuerdo a los sitios de colecta	40
Figura 4: Enfermedades asociados que se presentaron en la población de estudio.....	43
Figura 5: Sintomatología que se reportó que presentó la población de estudio	44
Figura 6: Síntomas en la nariz que reportaron tener la población de estudio.....	45
Figura 7: Síntomas en la faríngeo que reportaron tener la población de estudio	46
Figura 8: Lugar de contacto con persona enferma o con síntomas de resfriado por la población de estudio	48
Figura 9: Mascotas reportadas por la población de estudio con la que tuvieron contacto ..	49
Figura 10: Diagrama de flujo de la identificación de <i>S. aureus</i> en la población de estudio por las diferentes pruebas realizadas	50
Figura 11: Árbol de relación genética de las muestras clínicas obtenidas por la identificación del <i>SCCmec</i> en la población de estudio	52
Figura 12: Distribución de la población identificada como <i>S. aureus</i> de acuerdo a los sitios de colecta	58
Figura 13: Enfermedades asociados que se presentaron en la población de estudio identificada como <i>S. aureus</i>	59
Figura 14: Sintomatología que se reportó que presentó la población de estudio identificada como <i>S. aureus</i>	60
Figura 15: Síntomas en la nariz que reportaron tener la población de estudio identificada como <i>S. aureus</i>	61
Figura 16: Síntomas en la faríngeo que reportaron tener la población de estudio identificada como <i>S. aureus</i>	62
Figura 17: Lugar de contacto con persona enferma o con síntomas de resfriado por la población de estudio identificada como <i>S. aureus</i>	63
Figura 18: Mascotas con la que tuvieron contacto reportadas por la población de estudio identificada como <i>S. aureus</i>	64
Figura 19: Distribución de la población de acuerdo a los sitios de colecta identificada como SARM	65

Figura 20: Enfermedades asociados que se presentaron en la población de estudio identificada como SARM	66
Figura 21: Sintomatología que se reportó que presentó la población de estudio identificada como SARM	67
Figura 22: Síntomas en la nariz que reportaron tener la población de estudio identificada como SARM	68
Figura 23: Síntomas en la faríngeo que reportaron tener la población de estudio identificada como SARM	69
Figura 24: Lugar de contacto con persona enferma o con síntomas de resfriado por la población de estudio identificada como SARM	70
Figura 25: Mascotas reportadas por la población de estudio con la que tuvieron contacto identificada como SARM	71

GLOSARIO

Alotipos: Variaciones en la secuencia de aminoácidos, que forman parte de un gen.

Brote: Ocurrencia de dos o más casos asociados epidemiológicamente entre sí. La existencia de un caso único bajo vigilancia especial en un área donde no existía el padecimiento se considera también como brote

Brote epidemiológico de infección nosocomial: Ocurrencia de dos o más casos de infección adquirida por el paciente o por el personal de salud en la unidad hospitalaria representando una incidencia mayor de la esperada y en los que existe asociación epidemiológica. En hospitales donde la ocurrencia de determinados padecimientos sea nula, la presencia de un solo caso se definirá como brote epidemiológico de infección nosocomial, ejemplo: meningitis por meningococo.

Caso de infección nosocomial: Condición localizada o generalizada resultante de la reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o su toxina, que no estaba presente o en periodo de incubación en el momento del ingreso del paciente al hospital y que puede manifestarse incluso después de su egreso.

Caso descartado de infección nosocomial: Caso que no cumple con los criterios de infección nosocomial porque se demuestra que la infección se adquirió fuera de la unidad de atención médica o en el que hay evidencia suficiente para definir al evento infeccioso como inherente al padecimiento de base.

Catalasa: Es una enzima antioxidante que transforma por catálisis la disminución del peróxido de hidrógeno, en oxígeno y agua.

Clon: Organismos que es la copia genética exacta de otro organismo.

Coagulasa: Enzima que provoca la coagulación de la sangre, al transformar el fibrinógeno sanguíneo en fibrina.

Emergencia epidemiológica: Evento de nueva aparición o reaparición, cuya presencia pone en riesgo la salud de la población, y que por su magnitud requiere de acciones inmediatas

Isla genómica: Es una parte de un genoma de la que se tienen evidencias de haber sido originada por transferencia horizontal de genes. Puede codificar para diferentes funciones, estar involucrada en simbiosis o patogénesis, y puede ayudar en la adaptación de un organismo.

Islas patogénicas: Son segmentos de ADN bacteriano que portan uno o más genes de virulencia, los cuales han sido adquiridos en bloque de una fuente externa

Morbilidad: Cantidad de personas o individuos considerados enfermos o víctimas de una enfermedad en un espacio y tiempo determinados.

Mortalidad: Se refiere a las defunciones (muertes o fallecimiento) como un componente del crecimiento de la población. Fenómeno demográfico de la muerte que acontece a un Nivel Colectivo en una comunidad o región.

Prevalencia: Es la proporción de individuos de una población que presentan un determinado trastorno en un momento dado.

1. INTRODUCCIÓN

Un problema relevante de importancia clínica, epidemiológica, económica y social, son las infecciones causadas por la bacteria patógena *Staphylococcus aureus* en el humano. Esta bacteria forma parte de la microbiota natural del hospedero, cuyo hábitat primario es la piel y las fosas nasales. Presenta factores patogénicos que le permiten causar diversos cuadros clínicos que afectan a la población. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), *S. aureus* es de importancia porque genera tasas de mortalidad entre 25 y 70% y morbilidad entre 25 y 80% lo que genera repercusiones en el sector salud a nivel mundial (Guzmán, 2010).

En el complejo desafío de *S. aureus* hay que considerar que este patógeno ha adquirido resistencia a fármacos principalmente de tipo beta-lactámicos como (penicilina, cefalosporinas, meticilina entre otros), esta resistencia es conocida por sus siglas en inglés MRSA (Methicillin Resistant *S. aureus*) o en español SARM (*S. aureus* Resistente a la Meticilina), esto es porque este fármaco se utilizaba de forma cotidiana para el tratamiento causado por las infecciones *S. aureus* en las personas (Guzmán, 2010). Es de mencionar que *S. aureus* fue considerado hasta la década de los 1990 como exclusivo del ámbito hospitalario conocidas como SARM-AH, sin embargo a partir de esa década se reportó por primera vez en la comunidad, cepas que adquirieron gran interés de investigación epidemiológica nombrándolas como *S. aureus* resistente a meticilina adquirido en comunidad por sus siglas SARM-AC. Estudios que los casos de infección causados por estas cepas SARM en la comunidad han aumentado. En Estados Unidos (EU) estas cepas se describen que causan el 70% en infecciones que se presentan en la piel y tejidos blandos (Tong et. al., 2008), además la CDC reporta que más de 94.000 personas desarrollan

infección SARM-AC grave y cerca de 19.000 murieron a causa de la infección (Kuehnert et. al., 2006).

En México los reportes de estas cepas SARM-AC son escasos se encuentran descritas que afecta entre el 5 y 10% de la población, sin embargo depende de la región en la que se realiza el estudio.

La importancia de estudiar estas cepas SARM de acuerdo con la OMS radica en que estas cepas aparte de generar infecciones, mortalidad y morbilidad en la población, representan un gasto adicional por el consumo de fármacos, así como el adquirir una nueva línea de fármacos para el tratamiento de las infecciones que se generan en la población (Lozano, 2014).

En México se ha reportado que el costo promedio por episodio de infección nosocomial (IN) es de \$8,990.00 dólares. Otros estudios en México han estimado que el costo promedio de atención de un caso de IN es de aproximadamente \$4,200 dólares. En 2009, a través de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica, se registraron 37,258 casos de IN. Esto implicaría que se gastaron alrededor de 160 millones de dólares en ese año (Arreguín et. al., 2012).

En la actualidad las técnicas moleculares son utilizadas en los centros de salud e investigación, en el diagnóstico y monitoreo del progreso de la infección por cepas SARM, porque permiten determinar el origen genético de la cepa y la resistencia a fármacos, con la finalidad mejorar el control de este patógeno en la población (Gómez, 2012). De acuerdo con el análisis molecular la resistencia de estas cepas, se presenta principalmente por la adquisición de elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones y secuencias de inserción. El elemento central de la resistencia es la adquisición del gen *mecA*, este se

encuentra combinado con un elemento genético móvil, denominado cassette cromosómico estafilocócico *mec* o *SCCmec* por sus siglas en inglés (*Staphylococcal cassette chromosome mec*). El gen *mecA* codifica para una proteína de unión a la penicilina (PBP), llamado PBP2a, la cual presenta baja afinidad para la meticilina y todos los antibióticos betas lactámicos, el *SCCmec* permite que la resistencia sea transferida entre las cepas sensibles por diferentes mecanismos, esto implica la limitación de las opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones por *S. aureus* (Parra, 2009).

Como consecuencia los estudios de epidemiología molecular basados en el análisis del *SCCmec*, han mostrado ser eficientes al diferenciar las cepas SARM causantes de infección dentro de los hospitales y en comunidad, así mismo diferenciar la resistencia a los antibióticos que generan estas cepas. Por tal motivo se propuso el siguiente trabajo con el objetivo de determinar la epidemiología molecular de aislados clínicos de *S. aureus* obtenidos de la comunidad de Ensenada, Baja California, durante el periodo abril a junio del 2014.

2. ANTECEDENTES

2.1 Características generales

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva, inmóvil, aerobia y anaerobia facultativa no forma esporas y generalmente no están capsuladas. Se observa en forma de racimos de uva, al realizar la tinción de Gram. En medio de cultivo agar sangre las colonias se diferencian por presentar una coloración dorada, sin embargo, no siempre toman dicha coloración. Para poder realizar la diferenciación del resto de las especies del género *Staphylococcus*, se utilizan diversas técnicas de cultivo y pruebas bioquímicas como, el crecimiento a altas concentraciones de cloruro de sodio (NaCl), la fermentación del manitol y la coagulación del suero sanguíneo de humano (Cervantes-García et. al., 2014, Diez de Medina, 2000).

La especie *S. aureus* se considera el más patógeno de este género, por contener diferentes factores patogénicos que le permiten llegar a producir una infección en las personas (Hernández Betancourt et. al., 2005, Iowa State University, 2011).

2.2 Factores de patogenia

Dentro de los factores de patogenia se describen los mecanismos que componen la pared celular de *S. aureus* (Tabla I), estos permiten hacer de esta bacteria un patógeno oportunista, que coloniza diferentes partes del cuerpo en el humano (Fig.1), sin embargo, las fosas nasales son su verdadero nicho ecológico (Cimera et. al., 2010).

Tabla I. Determinantes de patogenicidad pared celular de *Staphylococcus aureus*.

Componente	Función
Peptidoglicano	Activación del complemento
Ácidos teicoicos	Antifagocitaria
Proteína A	Antifagocitaria
Adhesinas	Adherencia a células (hospedero)
Cápsula mucoide y microcápsulas	Adherencia y antifagocitaria

Tomado de Fueyo (2005).

La colonización permite que *S. aureus* se transmita por el contacto directo o indirecto entre personas, incluso por objetos inanimados contaminados por esta bacteria, si la transmisión ocurre de forma exitosa, esta bacteria se multiplica hasta colonizar al nuevo hospedero, convirtiéndolo en portador. Toda la población se encuentra expuesta de ser portadora de *S. aureus* desde niños recién nacidos hasta adultos mayores de 70 años. Aproximadamente el 20% de la población está colonizada de manera permanente, a este grupo se les denomina portadores persistentes, así mismo, 60% puede estar colonizada de manera intermitente, y aproximadamente el 20% no ha estado nunca colonizada. Estudios en México hacen mención que 12% de las personas son portadores nasales de *S. aureus* (Aguadero, 2014, Barrios, 2012, Gómez, 2012)

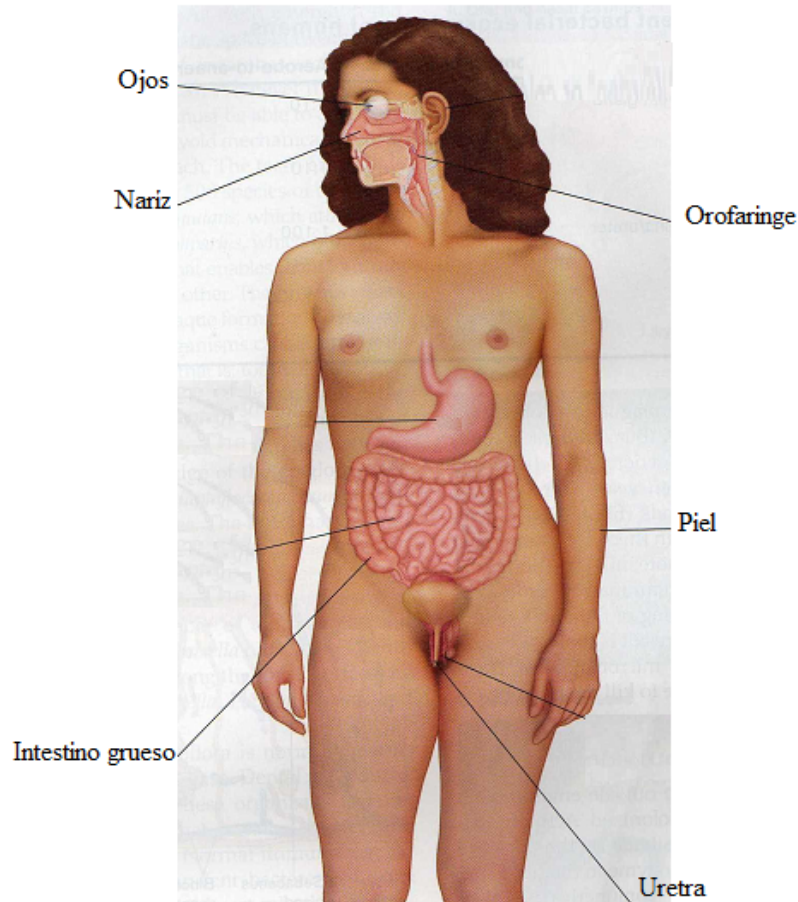


Figura 1: Habitad de *Staphylococcus aureus* en el cuerpo humano.
Tomado y modificado de Slonczewski Joan (2009).

El patógeno *S. aureus* afecta principalmente a personas inmunodeficientes que padecen cáncer, SIDA, diabetes, quemaduras u otros trastornos debilitantes (alteraciones cardiovasculares o granulocíticas), así como a los enfermos sometidos a regímenes terapéuticos que abaten la inmunidad celular (tales como las basados en cortico esteroides) y a quienes se les han instalado sondas, catéteres venosos o urinarios, tubos endotraqueales, prótesis valvulares o articulares. Estos factores permite que *S. aureus* penetre al organismo y no sea detectado por el sistema inmunológico, al involucrarse los componentes de la pared celular que le brindan una protección ante esta respuesta del hospedero,

posteriormente degrade los tejidos por la producción de enzimas y toxinas (Tabla II) que le facilitan nutrientes a *S. aureus* para su crecimiento e invasión hacia el hospedero, hasta producir el foco de infección (Castañón-Sánchez, 2012)

Tabla II. Determinantes de patogenicidad enzimas y toxinas producidas por *Staphylococcus aureus*.

Enzimas	Función
Coagulasa	Formación de coágulos
Estafiloquinasas	Destrucción de coágulos
Hialuronidasa	Invasión hística
Catalasa	Supervivencia fagocitosis
Lipasas	Invasión colonización
Termonucleasas	Hidrolisis
Toxinas	
Hemolisinas	Rotura de membranas celulares
Leucocidinas	Alteración de la permeabilidad celular
Exfoliativas	Epidermólisis
TSST-1	Shock toxico
Enterotoxinas	Intoxicación

Tomado de Fueyo (2005)

Los factores patogénicos involucrados producen las alteraciones en zonas cercanas o distantes del foco de infección, lo que provoca una variedad de síntomas y diversos cuadros clínicos o infecciones.

2.3 Cuadros clínicos

Entre las infecciones que *S. aureus* produce están aquellas en las que el mecanismo patogénico fundamental es la toxina, como son los casos de intoxicación alimentaria, síndrome de la piel escaldada, síndrome del shock toxico. Otras son consideradas piogénicas, por ejemplo, las infecciones de la piel, partes blandas, foliculitis, forúnculos e impétigo. Las infecciones de mayor trascendencia son las de tipo invasivo, por ejemplo, osteoarticulares, endocarditis y bacteriemia, también se pueden generar infecciones en el tracto respiratorio y urinario. Esta clase de enfermedades representa todo una problemática para las instituciones de salud, ya que su afectación abarca a una importante proporción de personas y llega a ocasionar la muerte de quienes resultan más vulnerables (Garza-Velasco et. al., 2013)

Las infecciones por *S. aureus* son un problema relevante de salud pública de gran trascendencia económica y social, así como importancia clínica y epidemiológica debido a que presentan tasas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. El impacto de la mortalidad en México se estimó que en 1996 entre 6,600,000 y 250,000 personas presentaron infección nosocomial y de estos murieron entre 30,000 y 45,000 por causa de estas cepas *S. aureus* (Ponce de León et. al., 1999). Un hospital pediátrico de tercer nivel reportó un amplio predominio de *S. aureus* en las bacteriemias nosocomiales. En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición “Salvador Zubirán” se encontró que *S. aureus* es el segundo microorganismo aislado en infecciones de heridas quirúrgicas y también es responsable de bacteriemias. En un estudio realizado en hospitales pediátricos, se encontró que *S. aureus* ocupa el cuarto lugar de microorganismos causantes de infecciones nosocomiales (Díaz-Ramos, 2006, Ponce de León et. al., 1999). En México se

cuenta con la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE), la cual reportó que en el periodo de 1998-2003, *S. aureus* ocupó el tercer lugar en morbilidad y cuarto lugar en mortalidad (Díaz-Ramos, 2006). Diversos estudios de vigilancia de las infecciones nosocomiales en México indican que del 8.3 al 36% de estas infecciones se debe a *S. aureus* (Velázquez-Meza, 2005). Los estafilococos se han reconocido como un grave problema en los hospitales y se han establecido políticas de rutina sobre la vigilancia de enfermedades estafilocócicas adquiridas en los hospitales. *S. aureus* representan el 21% de las 4 millones de infecciones nosocomiales y representan un gasto elevado (Arreguín et. al., 2012).

Para tratar a las personas con infecciones estafilocócicas, la aplicación de antibióticos es vital y los más utilizados son los de tipo betas lactámicos, tales como las penicilinas, cefalosporinas entre otros. El mecanismo de acción de estos fármacos, se presenta sobre la capa del peptidoglicano de la pared celular bacteriana, inhibiendo la última etapa de su síntesis e induciendo su destrucción, por la acción de inhibir a una proteína ligadora de penicilina que participa en el mantenimiento de la pared celular. En el complejo desafío de las tasas de mortalidad y morbilidad por las infecciones de este patógeno *S. aureus*, un factor determinante que hay que considerar es la combinación de la adquisición de resistencia a fármacos, la cual a evolucionando al entrar en contacto con el entorno y las personas (Barragán, 2010, Mensa et. al., 2013).

Históricamente *S. aureus* fue el primer microorganismo en poner de manifiesto la resistencia a los antibióticos. El primer reporte fue a penicilina y se publicó sólo cerca de un año después de iniciada la aplicación de este antimicrobiano para tratar infecciones en humanos. A partir de ese entonces, *S. aureus* ha seguido adquiriendo

resistencia a una mayor cantidad de agentes terapéuticos. La resistencia a los antibióticos prolonga la duración de las enfermedades y aumenta el riesgo de muerte, la resistencia también aumenta el costo de la atención sanitaria, pues alarga las estancias en el hospital y requiere más cuidados intensivos (Jevons, 1961,OMS, 2014).

2.4 Resistencia antimicrobiana.

La constante lucha contra los padecimientos ocasionados por *S. aureus* persevera en la actualidad, ocasionada por las cepas resistentes que reciben el nombre de MRSA por sus siglas en inglés (Methicillin Resistant *S. aureus*), en español SARM (*S. aureus* resistente a meticilina). Históricamente estas cepas resistentes hasta la década de los noventa se reportaban en solamente dentro del ámbito hospitalario denominadas SARM-AH, a partir del nuevo milenio se comenzaron a realizar reportes de estas cepas en personas de comunidad que no tenían ningún factor asociado con adquisición hospitalario cepas que denominaron SARM-AC.

De acuerdo con la Organización mundial de la Salud (OMS) las personas infectadas por estas cepas SARM tienen una probabilidad del 64% en morir mayor que las infectadas por cepas sensibles a meticilina, para comprender porque se genera este patrón, es necesario primero entender que implica esta resistencia. Las cepas SARM producen altas concentraciones de β -lactamasas, enzimas que inactivan a la mayor parte de los antibióticos clasificados como β -lactámicos, también resultan resistentes a antibióticos clasificados como penicilinas no degradables por β -lactamasas como oxacilina, meticilina y cloxacilin. La resistencia a los antibióticos mencionados anteriormente se genera cuando estos son inhibidos, por la capacidad que tienen estas cepas SARM de producir una diferente proteína

de unión a penicilina (PBP), denominada PBP2a, la cual no pierde su función catalítica en presencia de los mencionados antibióticos, ya que ninguno de ellos la reconoce como su “blanco” de acción, permitiendo que *S. aureus* continúe con su función, sobreviva y de igual forma continúe con la infección. El análisis molecular describe que la síntesis de la PBP2a se encuentra codificada en el gen *mecA* y cataliza la reacción de transpeptidación que sustenta la rigidez de la pared celular, aun en presencia de los β -lactámicos comunes o de los no degradables por β -lactamasas, ya que ninguno de ellos la reconoce el sitio de acción (Garza-Velasco et. al., 2013, Martínez, 2010, OMS, 2014, Skrupky et. al., 2009)

2.5 Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

El gen *mecA* está regulado por dos genes, el *mecI* que codifica la proteína que recibe la transcripción del gen *mecA*, el *mecRI* que actúa como regulador de señal de la transducción, el proceso se lleva a cabo cuando el anillo beta lactámico del antibiótico se une a la proteína que codifica el gen *mecI*, permitiendo quedar libre el operador *mecA* produciendo la PLP2a. Como se mencionó anteriormente, la pared celular de *S. aureus* se mantiene en la resistencia antimicrobiana al impedir que el antimicrobiano actúe ante estas proteínas. El análisis molecular ha mostrado que este gen *mecA* se encuentra incorporado dentro de un elemento genético denominado cassette cromosómico estafilococo (*SCCmec*) en el genoma de *S. aureus*. Por su estructura molecular y función el *SCCmec* puede ser considerado como una isla genómica, inicialmente descrita como isla de patogenicidad, y que en años recientes ha sido objeto de gran atención (De Colsa, 2011).

2.6 Estructura del Cassette cromosómico estafilocócico (*SCCmec*)

El elemento genético *SCCmec* se integra en un lugar específico del cromosoma de *S. aureus*, localizado después de su marco abierto de lectura u (ORF por su nombre en inglés, Open Reading Frame). El *SCCmec* se encuentra conformado por el gen *mecA* y sus reguladores que codifica la PBP2a, además, el gen *ccr* que codifican para recombinasas, estos dos brindan la estructura principal de este *SCCmec*. Sin embargo se han reportado que estos dos genes pueden presentar alotipos, para el gen *mecA* se han descrito seis (Tabla III) y para el gen *ccr* ocho alotipos (Tabla IV) (Xue et. al., 2009).

Tabla III. Clases del gen *mecA* que forma el *SCCmec* de *Staphylococcus aureus*.

Gen <i>mec</i>	Estructura
A	IS431- <i>mecA</i> - <i>mecR1</i> - <i>mecI</i>
B	IS431- <i>mecA</i> - Δ <i>mecR1</i> -IS1272
C1	IS431- <i>mecA</i> - Δ <i>mecR1</i> -IS431
C2	IS431- <i>mecA</i> - Δ <i>mecR1</i> -IS431
D	IS431- <i>mecA</i> - Δ <i>mecR1</i>
E	blaZ- <i>mecA</i> LGA251- <i>mecR1</i> LGA251- <i>mecI</i> LGA251

Tomado de http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html.

Por la variabilidad de estos genes y que son lo que brindan la estructura principal del *SCCmec* se han descrito distintos tipos de *SCCmec*. Hasta el momento se conocen 11 tipos de *SCCmec* (Tabla VI) basados en la configuración de los genes *ccr* y *mec*.

Tabla IV. Clases del gen *ccr* que conforma el *SCCmec* de *Staphylococcus aureus*.

Gen <i>ccr</i>	Estructura
Tipo 1	A1B1
Tipo 2	A2B2
Tipo 3	A3B3
Tipo 4	A4B4
Tipo 5	C1
Tipo 6	A5B3
Tipo 7	A1B6
Tipo 8	A1B3

Tomado de http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html

La importancia de la caracterización molecular por medio del *SCCmec*, utilizando la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR), radica en que las variantes del *SCCmec*, presentan resistencia a uno o múltiples fármacos, es decir, los *SCCmec* tipos I, IV y V solo presentan resistencia a meticilina, caso contrario para los *SCCmec* tipos II y III presentan resistencia a múltiples antimicrobianos, lo que limita las opciones terapéuticas para el tratamiento de las diferentes complicaciones que produce *S. aureus* (Lozano, 2014).

Tabla V: Estructura de los tipos de *SCCmec* de formados por los genes *mec* y *ccr*.

Tipos <i>SCCmec</i>	Gen <i>ccr</i>	Gen <i>mec</i>
I	1 (A1B1)	B
II	2 (A2b2)	A
III	3 (A3B3)	A
IV	2 (A2B2)	B
V	5 (C1)	C2
VI	4 (A4BA)	B
VII	45 (C1)	C1
VIII	4 (A4BA)	A
IX	1 (A1B1)	C2
X	7 (A1B6)	C1
XI	8 (A1B3)	E

Tomado de http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html

Otro punto importante es que el *SCCmec* permite diferenciar entre las cepas que tienen origen hospitalario y de comunidad, es decir, los *SCCmec* I, II, y III su origen fue hospitalario y se caracteriza por que afectan comúnmente a las personas dentro de los hospitales, los *SCCmec* IV y V su origen fue en comunidad y se caracteriza por que afecta a las personas que no tienen ningún factor asociado al entorno hospitalario (Parra, 2009).

Con la finalidad de mejorar el control y comprender este patógeno *S. aureus* en la población, diversos estudios han empleado el análisis del *SCCmec*, para el diagnóstico y monitoreo, porque permiten determinar el origen genético de la cepa, la resistencia a fármacos, así como la diferenciación de las cepas SARM-AC y SARM-AH, en

consecuencia determinar las cepas que se encuentran o que pueden llegar a producir una infección en las personas que se encuentran en la población (Gómez, 2012).

2.7 Epidemiología molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

En el mundo las cifras de infección por SARM varían según los reportes de diferentes estudios. De acuerdo con la OMS entre el 2010 y 2013 en algunas zonas de la Región Africana hasta un 80% de las infecciones son por SARM, en algunos entornos de la región Americana hasta un 90% de las infecciones son producidas por SARM, en el Mediterráneo Oriental las infecciones por cepas SARM alcanzan el 50%, en algunos entornos de Europa hasta un 60% de las infecciones son por cepas SARM, en las zonas de la Región Asia Sudoriental más de un 25% de las infecciones son producidas por SARM, en algunas zonas de la región Pacífico Occidental hasta un 80% de las infecciones son por SARM, lo cual significa que el tratamiento con los antibióticos habituales no funciona (OMS, 2014).

Una investigación nacional realizada en E.U., reportó un aumento significativo en la prevalencia de cepas SARM del 12% en el 2004 al 31% en el 2006 y un ligero descenso con 27% en el 2008 respectivamente en el número de casos, tanto pacientes hospitalizados como pacientes externos fueron afectados. El análisis molecular de las cepas SARM de este estudio reflejó que durante ese periodo el *SCCmecIV* presentó un aumento del 12% en el 2004, al 38% en el 2006 y descendió ligeramente con 35% en el 2008, de igual forma sucedió para el *SCCmecII* con un aumento del 27% en el 2004, al 31% durante el 2006 que disminuyó para el 2008 con el 26% de los casos reportados, además no pudieron ser caracterizados el 44%, el 20% y el 31% de los casos respectivamente durante los años que

se efectuó el estudio (O'Hara et. al., 2012). Nuevamente otro análisis nacional en E. U. A. durante el 2010, se describió un aumento en la prevalencia de las infecciones por SARM del 40% hasta el 70% en algunas zonas de la región, afectando a niños y adultos que se encontraban hospitalizados con alguna infección o enfermedad, así como, pacientes portadores asintomáticos (Jarvis et. al., 2012).

Un estudio multicentrico en Latino América reportaron la prevalencia de las infecciones por SARM mencionaron que estas se mantuvieron relativamente estables entre 2004 con un 44% disminuyendo al 40% en el 2010, afectando a niños y adultos durante el análisis. Este estudio multicéntrico incluyó a México y se reportó la prevalencia de SARM en 14 instituciones de salud pública, se presentó un aumento del 24% en el 2007 hasta el 65% respectivamente en el número de casos durante el 2010 (Garza-González et. al., 2013). Otro estudio realizado en la ciudad de México, reportaron un aumento en la prevalencia de infecciones por bacteriemia por SARM durante el 2004 con el 40% hasta alcanzar el 51% en el 2007, en pacientes hospitalizados mayores de 16 años, durante el periodo de estudio el análisis molecular de estas cepas demostró la presencia del *SCCmecII* con el 100% respectivamente de los casos repostados (Ponce-de-León et. al., 2010).

Un análisis que se llevó en cinco centros médicos de Monterrey, México, se reportó la prevalencia de infecciones por SARM durante el periodo de estudio, concluyó el número de casos vario en los distintos centros para el 2005-2006 le correspondió el 27% a dos centros, durante el 2007-2008 el 66% se presentó en tres centros, y en el 2009 el 5% solo para un centro. El análisis molecular de las cepas SARM del estudio mostró que el 100% correspondía al *SCCmecII* (Velázquez-Meza et. al., 2013). En el hospital San José TEC de Monterey, Nuevo León, México durante el 2014 concluyó la incidencia de cepas SARM

con el 1%, en pacientes con infección que no presentaron contacto previo con alguna institución de salud. El análisis molecular de estas cepas SARM concluyó con la incidencia del *SCCmecIV* para todos los casos (Hamdan-Partida et. al., 2014). Un estudio de varios hospitales localizados en el Edo. de México, se concluyó que la prevalencia por infecciones SARM alcanzaba respectivamente el 82% durante el 2012, este análisis realizó en pacientes tratados con hemodiálisis, en este estudio no se realizó el análisis de los *SCCmec* (Paniagua-Contreras et. al., 2012).

Para complementar el estudio anterior nuevamente en el 2014 se realizó el análisis de la prevalencia por infecciones SARM en los hospitales del Edo. De México, además se incluyó el análisis molecular del *SCCmec*, se concluyó que la prevalencia había disminuido, comparado con el 82% presentado en el 2012 a 32% de los casos en el 2014. El análisis molecular de este estudio reportó la prevalencia del *SCCmec IV* con 62%, seguido del *SCCmecI* con el 21.9%, el *SCCmecII* con 12.5% y finalmente una incidencia del *SCCmecV* con 31%, este análisis realizó en pacientes tratados con hemodiálisis (Paniagua-Contreras et. al., 2014).

La emergencia de las cepas SARM-AC ha logrado generar una alarma sanitaria a nivel mundial, debido al creciente número de casos reportados, sin embargo esta varía en función de la población y la ubicación geográfica. En la literatura se describe que un factor a considerar para el estudio de *S. aureus* en la comunidad es la colonización de este patógeno en individuos denominados como portadores sanos. Investigaciones estiman que entre 25-35% de los humanos son portadores sanos de *S. aureus* en la piel o las membranas mucosas (Wertheim et. al., 2005), así como también que la población adulta sana aproximadamente entre el 20-60 son portadores de *S. aureus* (Peacockemail et. al., 2001).

Un estudio realizado por el Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC) en EU reportó que el 32.4% de la población es portadora de *S. aureus* y el 0.8% está colonizado con cepas MRSA (Kuehnert et. al., 2006). En Australia en el año 2000 se describió una prevalencia de SAMR-AC de 10.3%, aumentando hasta 15% en 2004. En los E.U. en el año 2005, en población infantil, se describió una prevalencia de 9.6% (Creech et. al., 2005), y en 2006 de 3% (Creech et. al., 2006). En América del Sur se describen distintas prevalencias según el país. Brasil el año 2005 describió en acompañantes de pacientes al servicio de urgencia (n =600) una prevalencia de SARM-AC de 0,7%. En Argentina, se han descrito casos esporádicos, y en Chile se han reportado a la fecha sólo 7 casos autóctonos.

Un estudio nacional de comunidad en México describió la incidencia de SARM efectuado en niños sanos que acudían a guarderías, estos niños no registraron contacto previo a instituciones de salud, en este estudio se dividió a la república en tres zonas: norte (Tecate, Mexicali, Ensenada, B.C., Monterrey, Cd. Madero); centro (León, Gto., San Luis Potosí, DF, Toluca, Edo. México, Hidalgo, Cd. Zamora); sur (Oaxaca, Jalapa), el número de casos reportados que le correspondió a cada zona fue del 1.75% para la zona norte, 0.08% al centro y 1.71% al sur durante el periodo 2002 y 2003. El análisis molecular del estudio reveló que el 59% pertenecía al *SCCmecII* y 41% al *SCCmecIVa* respectivamente (Velázquez-Guadarrama et. al., 2009).

Es por esto que es importante evaluar la presencia de SARM en la comunidad, a modo de vigilancia epidemiológica y complementar con la de nuestro país, así como también conocer si se encuentra como flora colonizadora nasal de la población de Ensenada, B.C.

3. HIPÓTESIS

En Ensenada, Baja California, se han reportado cepas de *S. aureus* resistente a meticilina tipo *SCCmec II* y *IVa*, colonizando a la población infantil sin ocasionar síntomas, considerando que los diversos estudios demuestran que toda la población se encuentra en riesgo de ser portadora asintomática por cepas de *S. aureus* resistente a meticilina con la presencia del *SCCmec*, por lo que se espera registrar casos similares en la comunidad.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Determinar la epidemiología molecular de aislados clínicos de *S. aureus* obtenidos de la comunidad de Ensenada, Baja California, durante el periodo abril a junio del 2014.

4.2 Específicos

1. Identificar por pruebas microbiológicas y bioquímicas a *S. aureus* de aislados clínicos de personas que asistieron a consulta familiar en centros de atención de salud en Ensenada, B.C.
2. Identificar molecularmente la resistencia a meticilina mediante la amplificación del operón *mecA* en los aislados clínicos identificados como *S. aureus*.
3. Determinar la similitud genética entre los aislados clínicos de *SARM* obtenidos de acuerdo al tipo *SCCmec*.
4. Determinar la asociación entre el ser portador *S. aureus*, así como de *SARM* en los aislados clínicos identificados con las características epidemiológicas de la población de estudio.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Población de estudio

Se llevó a cabo un estudio transversal analítico, con personas de comunidad que acudieron a consulta en centros y brigadas de salud (Tabla VI), ubicados en la localidad del municipio de Ensenada, Baja California, México en el periodo de abril a junio 2014 (Tabla VI, Fig. 2).

Tabla VI: Unidades de Salud pública donde se realizó la colecta de muestras clínicas.

Localidad	Código	Núm. de muestras	Coordenadas
Clinica no. 25 IMSS, Col. Maestros	IMSS	17	31°51'47.56''N 116°35'32.17''O
CS, Col. Popular 89	C89	66	31°53'39.46''N 116°34'26.05O
CS, Col. Jalisco	CJA	14	31°51'08.07''N 116°34'36.91''O
CS, Col. Zorrillo	CZO	17	31°40'21.70''N 116°30'52.45''O
CM, Col. Morelos	CMO	15	31°51'17.39''N 116°33'59.03''O
CM, San Quintín	CMSQ	62	30°33'23.97''N 115°56'21.83''O
Centro	CEN	5	31°51'42.76"N 116°36'2.55"O
Villas del Real	VR	3	31°51'36.79"N 116°34'35.77"O
Lazaro Cardenas	LC	4	31°52'52.55"N 116°34'47.14"O
Valle Dorado	VD	4	31°49'42.86"N 116°35'48.68"O
Sauzal	SAZ	3	31°51'54.88"N 116°39'51.32"O

CS = Centro de Salud, CM = Clinica Movil UABC

Criterios de inclusión:

1. Todas las personas que aceptaron firmar el consentimiento informado (Anexo 1) y respondieron a la encuesta epidemiológica (Anexo 2).
2. Personas asintomáticas y sintomáticas
3. Personas de edad entre 1 y 80 años

Criterios de exclusión

1. Se excluyeron aquellas personas que no firmaron el consentimiento informado.
2. Personas menores de 1 año.

A)



B)

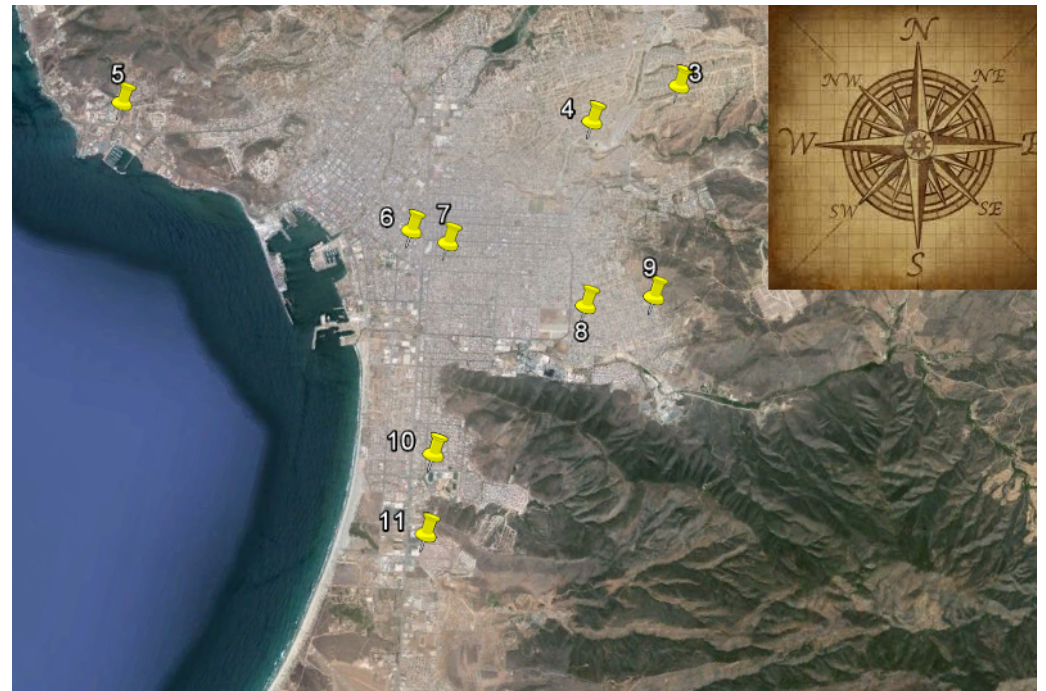


Figura 2: Mapa de los sitios de colecta de las muestras clínicas obtenidas; A) 1-CZO, 2-CMSQ. B) 3-C89, 4-LC, 5-SAZ, 6-CEN, 7-IMSS, 8-CJA, 9-CMO, 10-VD, 11-VR

5.2 Obtención de muestras

El muestreo se realizó por conveniencia. Se tomó una muestra de las fosas nasales mediante un hisopo estéril a cada una de las personas que aceptaron participar en el estudio. El hisopo se guardó en su respectivo tubo con medio de cultivo Amies (Becton Dickenson, Culture Swab Plus 220116) y fueron trasladadas en red en frío al LEEM donde se realizó el cultivo microbiológico, las pruebas bioquímicas y moleculares correspondientes.

5.3 Cultivo microbiológico

Las muestras clínicas se inocularon bajo mechero, en medio de cultivo agar sangre (Becton Dickenson) y se incubaron de 18 a 24 h. El crecimiento bacteriano con morfología correspondiente a *S. aureus* fueron inoculadas en cultivo agar sal manitol (MCD), y se incubaron de 18 a 24 h. El aislado microbiológico de este cultivo se utilizó para realizar el análisis bioquímico y molecular.

5.4 Pruebas bioquímicas para identificación de *S. aureus*

5.4.1 Prueba de la catalasa

Se tomó aproximadamente 50 mg de colonia aislada del cultivo agar sangre con un asa bacteriológica bajo mechero y se colocó sobre un portaobjetos limpio, el control positivo, *S. aureus* y control negativo, *Streptococcus* spp. Se agregó una gota de peróxido de hidrógeno al 3% con una pipeta pasteur, se observó de forma inmediata efervescencia lo que indicó una prueba positiva para *S. aureus*, de lo contrario se consideró una prueba negativa para *S. aureus*. Para desechar el portaobjetos se colocó en cloro al 20%.

5.4.2 Prueba de la coagulasa

Se tomó aproximadamente 50 mg del cultivo agar sangre con un asa bacteriológica bajo mechero y se colocó en un tubo de ensayo estéril con suero sanguíneo humano. Posteriormente se incubó a 37 °C con agitación suave, a los 30 min. se observó el inicio de la formación del coagulo, posteriormente después de haber pasado 3 h en total se observó por completo la formación del coagulo en los tubos, cualquier grado de coagulación se consideró una prueba positiva para *S. aureus*, de lo contrario se consideró negativa para *S. aureus*.

5.5 Análisis molecular

El análisis molecular de los aislados microbiológicos del medio de cultivo agar sal manitol consistió de cuatro etapas: 1) Extracción de ADN, 2) Identificación molecular mediante la amplificación del *gen mecA* y 3) Determinación de tipos y genotipos utilizando el análisis de secuencia del *SCCmec*.

5.5.1 Extracción de ADN

Se tomaron aproximadamente 50 mg de colonia del cultivo agar sal manitol y se colocó en un tubo de 1.5 mL con 100 µL de solución de lisis (10mM Tris- HCl [pH 8.3], 2 mM MgCl₂, 50 mM KCl), se agitó en vortex hasta su homogenización y se incubó a 95 °C por 30 min., durante este periodo se agitó cada 10 min. Posteriormente se centrifugó por 30 min a 13,000 rpm, el sobrenadante se transfirió a un tubo de 1.5 mL y se almacenó a -20 °C hasta su posterior análisis.

La eficiencia de la extracción se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% a 100 mV por 25 min, teñida con una solución al 0.5X de Gel-Star® y se visualizó con

luz ultravioleta en el foto documentador GelDoc™ XR, Biorad®. Se utilizó una regla molecular de 1 Kb como referencia para evaluar el tamaño y la concentración del DNA obtenido (DNA Step Ladder, Promega, USA).

5.5.2 Amplificación del operón *mecA*

La amplificación del *mecA* se realizó por medio de la reacción en cadena de la ADN polimerasa (PCR), que consistió de 1X de Buffer (10 mM Tris HCl, 50 mM KCl, pH 8.3), 1.8 mM MgCl₂, 200.0 µM de cada dNTPs, 0.1 µM de cada cebador (Tabla VII), 0.1 unidad de *Taq* ADN polimerasa (SIGMA) y 10 ng de ADN genómico.

El perfil de amplificación utilizado de acuerdo a las especificaciones del autor (Francois et. al., 2005, Motoshima et. al., 2010) con algunas modificaciones, consistió de un período de desnaturalización inicial de 10 min a 95 °C, seguido de 35 ciclos que consistieron de 10 s a 96 °C desnaturalización, 50 s a la 60° la alineación, 50 s a 60 °C extensión y una extensión final de 20 min a 74 °C.

El producto de la reacción fue evaluado en gel de agarosa al 1.5% 80 mV por 25 min. El gel fue teñido con una solución al 0.5X de Gel-Star® para visualizar el ADN a través de luz ultravioleta, en un foto documentador GelDoc™ XR, Biorad®. La calidad del producto obtenido de la PCR se evaluó utilizando una regla molecular de 1Kb (DNA Step Ladder, Promega, USA).

5.5.3 Amplificación del *SCCmec*

La amplificación del *SCCmec* y de los tipos se realizó por medio de la reacción en cadena de la ADN polimerasa (PCR), que consistió de 1X de Buffer (10 mM Tris HCl, 50 mM KCl, pH 8.3), 1.9 mM MgCl₂, 200.0 µM de cada dNTPs, 0.5 µM de cada cebador (Tabla VII), 0.12 unidad de *Taq* ADN polimerasa (SIGMA) y 10 ng de ADN genómico.

El perfil de amplificación utilizado de acuerdo a las especificaciones del autor (Francois et. al., 2005, Motoshima et. al., 2010) con algunas modificaciones, consistió de un período de desnaturalización inicial de 2 min a 95 °C, seguido de 35 ciclos que consistieron de 15 s a 95 °C desnaturalización, 20 s a la temperatura de cada cebador (Tabla VIII), la alineación, 40 s a 72 °C extensión y una extensión final de 20 min a 74 °C.

El producto de la reacción fue evaluado en gel de agarosa al 2% a 80 mV por 25 min. El gel fue teñido con una solución al 0.5X de Gel-Star® para visualizar el ADN a través de luz ultravioleta, en un foto documentador GelDocTM XR, Biorad®. La calidad del producto obtenido de la PCR se evaluó utilizando una regla molecular de 1Kb (DNA Step Ladder, Promega, USA).

Tabla VII: Cebadores utilizados para amplificación del *SCCmec* de *S. aureus*.

Cebador	Secuencia 5'-3'	Locus	Tamaño fragmento (pb)
<i>mecA</i>	GATGTTGAAGTTAGATTGGGA	454-473	163
<i>mecA-S</i>	TTGGAACGATCGCTATCTC	598-616	
SCC I-S	GAGTTGCTGATGAAG AAGG	18401 - 18419	491
SCC I-AS	TTTACCACAAGGACT ACCAG	18872 – 18891	
SCC II III-S	ATCAAGACTTGCATT CAGGC	42428 - 42447	209
SCC II III-AS	GCGGTTTCAATTCAC TTGTC	42617 – 42636	
SCC I II IV-S	TGC TTC CAC TTCCTT GAG	3905 – 37922	107
SCC I II IV-AS	CATCCTATGATAGCT TGGTC	37992 – 38011	

Cebadores desarrollados por Motoshima (2010)

5.5.4 Secuenciación de los productos amplificados

Los productos amplificados del *mecA* y *SCCmec* de los tipos se purificaron con ExoSap-IT® (USB), la reacción consistió de 2 µL de ExoSap y 5 µL del producto amplificado. Posteriormente se incubaron a 37 °C por 15 min y posteriormente a 80°C por 15 min. La cantidad y calidad de los productos purificados se evaluaron en un gel de agarosa al 1.5 % a 80 mV por 25 min.. Los productos se secuenciaron utilizando nucleótidos terminadores de secuencia BigDye®, Terminator v3.1 CycleSequencingKit, AppliedBiosystems, en un secuenciador automático ABI Prism 3100 Automated Capillary DNA sequencer AppliedBiosystems, en la empresa SeqXcel Inc. (<http://www.seqxcel.com/>) en San Diego, California, E.U.

5.5.4 Análisis de secuencias

Las secuencias obtenidas del gen *SCCmec* fueron revisadas con el programa Codon Code Aligner v.3.7.1 (Corporation, 2014). Las secuencias nucleotídicas y de aminoácidos se alinearon mediante el programa ClustalW, implementado en MEGA versión 5.10 (Tamura et. al., 2011). El número de haplotipos y diversidad haplotípica se determinó con el programa DNaSP 5.1 (Rozas et. al., 2010).

5.5.4 Análisis relación genética

Se determinaron las relaciones genéticas entre las secuencias obtenidas, con dos secuencias de referencia obtenida del GenBank AB033763.2 *SCCmecI* y AB063172.1 *SCCmecIV*. La relación genética se realizó por medio del programa PAUP 4.0 (Swofford, 1998) bajo el modelo transversional incluyendo los sitios invariables y la tasa de variación entre los sitios (T+C+G+A) el cual fue determinado por el programa ModelTest 3.7 (Posada et. al., 1998)

5.6 Análisis estadístico

Se midió la magnitud de asociación entre el ser portador de *S. aureus*, así como de SARM con los factores considerados de riesgo a través de la razón de momios, así mismo se analizó la significancia estadística mediante la X^2 y f-Fisher con intervalos de confianza a 95%.

6. RESULTADOS

6.1 Estudio epidemiológico

6.1.1 Variables sociodemográficas

De los 215 aislados clínicos correspondientes al mismo número de individuos, solo se obtuvo información epidemiológica de 210 pacientes. Por tal motivo el análisis epidemiológico que se describe a continuación es con base en la información de dichos pacientes. El mayor número de muestras se colectó en el CS popular 89 (31%, n = 66) y en San Quintín (30%, n = 66) y el menor en CS Jalisco (7%, n =14).

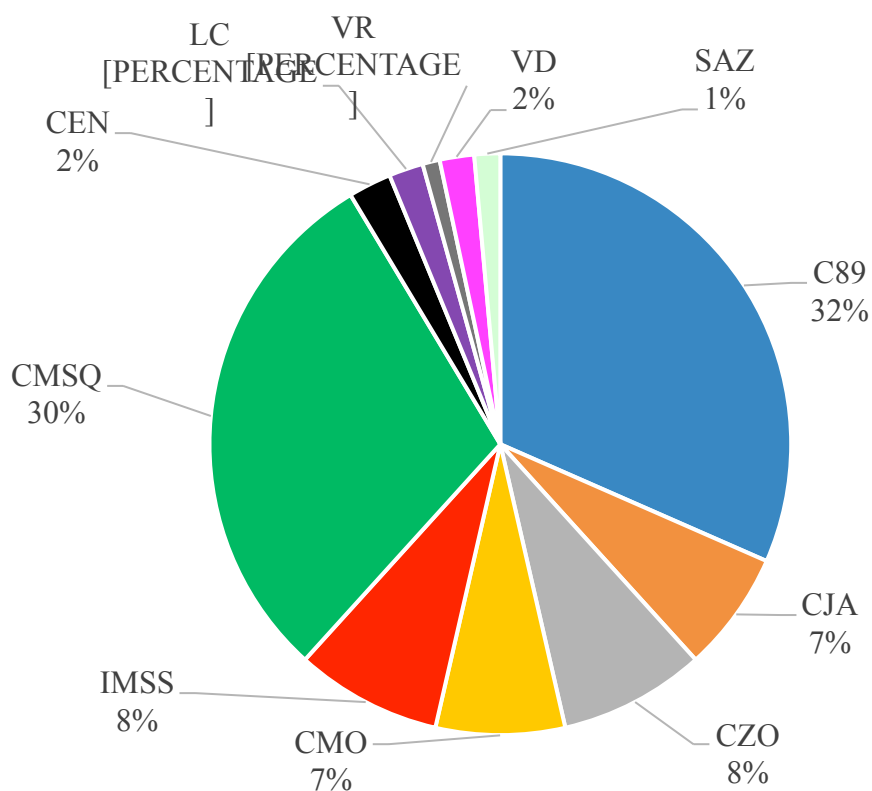


Fig. 3: Descripción de la población de estudio de acuerdo a la distribución de las muestras (n = 210).

6.1.2 Edad y sexo

La población estudiada se encontraba formada por 65.7% de mujeres y el resto hombres. El rango de edades estuvo comprendido entre 1 y 80 años, siendo el promedio 30 años (± 17.6) (Tabla VIII).

Tabla VIII: Características de la población de acuerdo al sexo y edad (n = 210)

Sexo	N	(%)
Mujeres	122	58
Hombres	88	42
Total	210	100

Edad	N	%
1 $\leq$ 9	19	9
10 $\leq$ 19	13	6
20 $\leq$ 59	156	74
60 $\leq$	22	11
Total	210	100

6.1.3 Variables clínicas

Las variables clínicas consideradas a partir de los individuos en la población de estudio fueron: Enfermedades asociadas, síntomas nasales, faríngeos y otras alteraciones (Tabla IX).

Tabla IX. Variables clínicas estudiadas en la población de estudio (n=210)

Enfermedad asociadas
Cardiovascular
Respiratoria
Diabetes mellitus
Hipertensión
Síntomas nasales
Congestión nasal
Rinorrea
Prurito
Resequedad
Atopias
Síntomas faríngeos
Disfagia
Tos seca
Expectoración
Odinofagia
Iritación
Otras alteraciones presentes
Onicocriptosis
Herida
Absceso
Esguince

Solo el 31% (n = 210) de la población presentó enfermedades asociadas el resto no, además se observó que el 9% correspondió a diabetes mellitus, así como fue el mayormente representado y de menor manera con el 4% enfermedades respiratorias (Fig. 4).

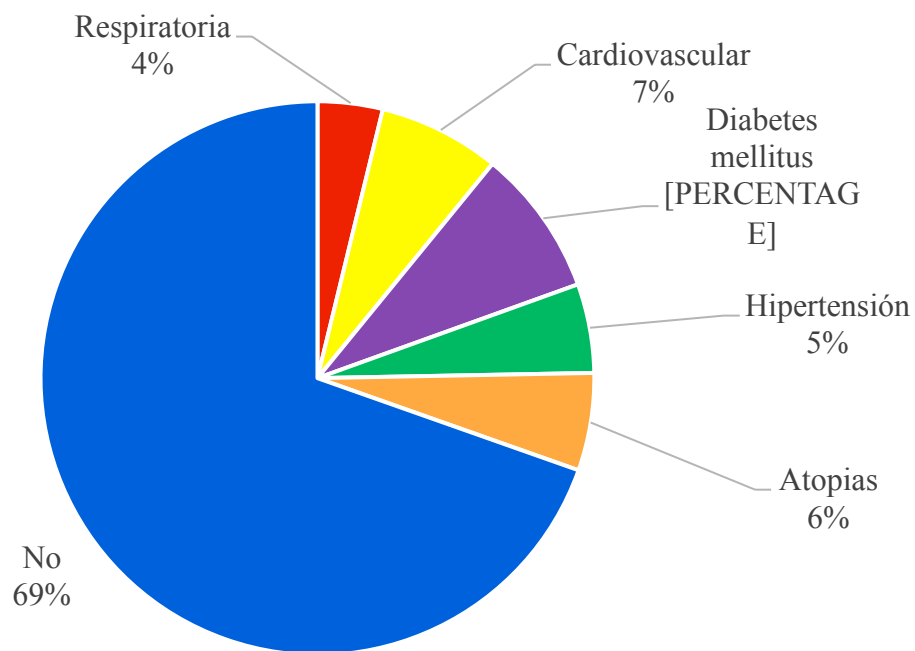


Figura 4: Enfermedades asociadas que se presentaron en la población estudiada (n=210).

El 67% de las personas presentaron algún tipo de sintomatología nasal, faríngea, así como otras alteraciones o la combinación de las estas, el resto no presentó ningún síntoma. El 25% de los pacientes reportaron presentar síntomas en la nariz, 20% en nariz y faríngeo, el resto de los síntomas se presentaron en menor proporción correspondiendo el 5% piel (Fig. 5).

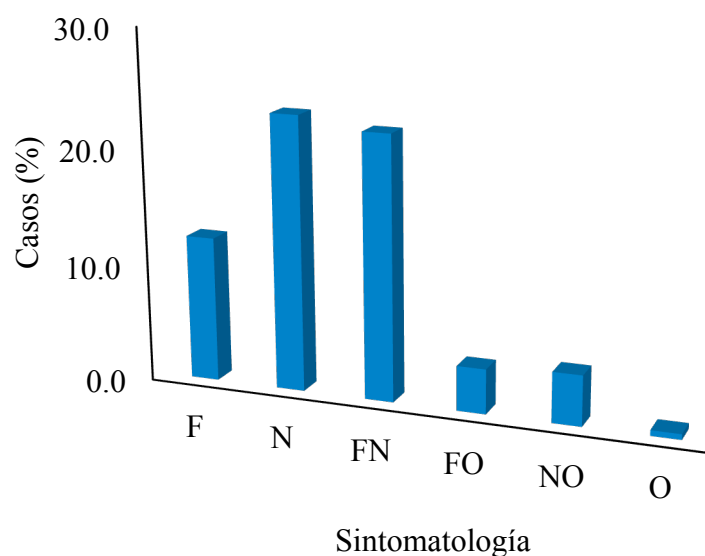


Figura 5: Sintomatología que se reportó por la población estudio (n=210), donde F = Faríngeos, N = Nasales, FN = Faríngeos + Nasales, FO = Faríngeos + Otras alteraciones y NO = Nasales + Otras alteraciones.

Los síntomas nasales que se reportaron en la población (n= 210), el 28% presentó rinorreo, el resto de los síntomas reportados fueron en menor proporción ocupando último lugar con el 4% resequedad (Fig. 6).

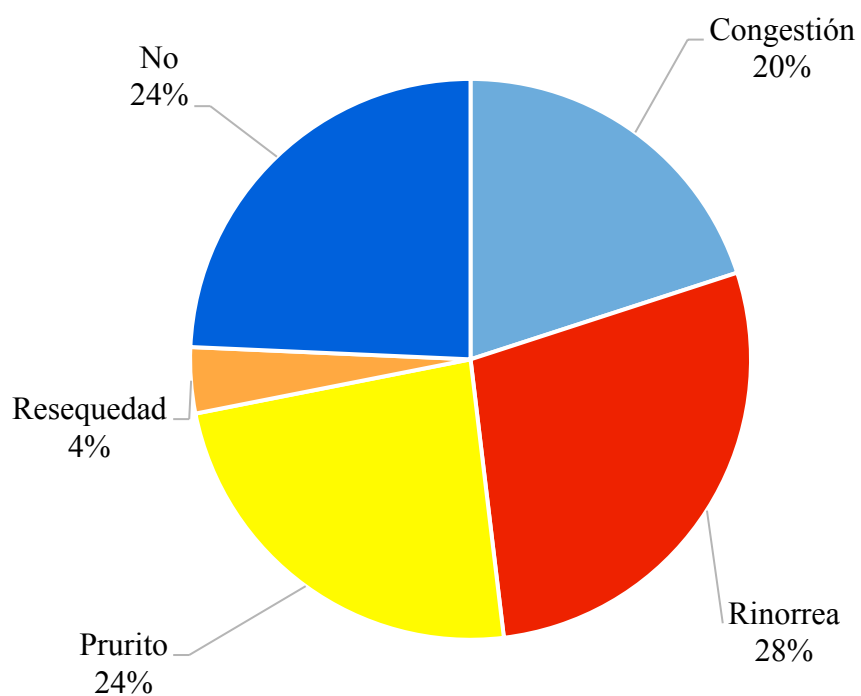


Figura 6: Síntomas en la nariz que reportaron presentar las personas en el estudio (n=210)

Los síntomas faríngeos que se reportaron en la población (n= 210), el 19% fue disfagia, el resto de los síntomas reportados fueron en menor proporción ocupando el último lugar expectoración con el 10% (Fig. 7).

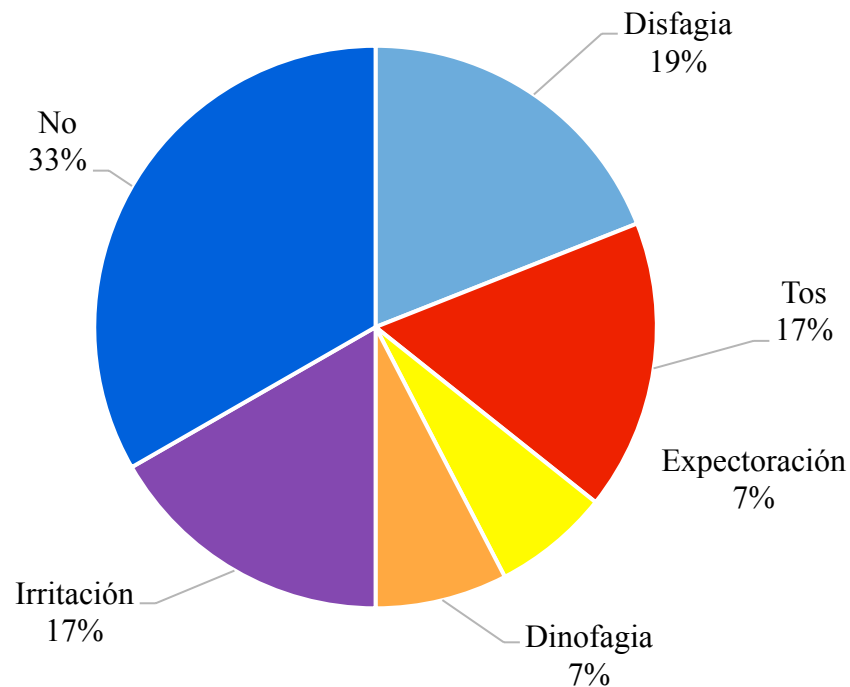


Figura 7: Síntomas en la faríngeo presentados en la población estudiada. (n=73)

En la población (n = 210) el 11% presentó otras alteraciones, en el que se observó que se comportaron de manera similar heridas, abscesos y onicocriptosis por que cada una de ellas presentó el 3%, la proporción restante correspondio a esguince.

6.1.4 Variables sociales

Las variables sociales se describen en la Tabla X. De las 210 personas estudiadas, el 10% tiene contacto con parientes que laboran en alguna institución de salud, así como practica algún deporte de contacto, solo 6% de la población estudiada asistió a baños públicos, así como tuvo contacto con alguna persona que tuviera alguna herida expuesta.

Tabla X. Variables sociales consideradas para el estudio de la población (n=210).

Contacto con algún pariente que se encontrara laborando en alguna institución de salud pública o laboratorio clínico.
Contacto con alguna persona que presentara alguna herida, y que esta estuviera visible (expuesta).
Practique algún deporte de contacto (fútbol, box, lucha entre otros).
Asiste a baños públicos, albercas, saunas entre otros
Contacto con la persona que presentaba síntomas de resfrío y lugar donde ocurrió (Tos, estornudos, rinorrea entre otro). Casa Trabajo Escuela Otro
Consumió alimento elaborado por una persona que presentaba síntomas de resfrío y lugar donde ocurrió (Tos, estornudos, rinorrea entre otro). Casa Trabajo Escuela Otro
Tipo de mascota que tiene en casa y que tipo Perro Gato Ave Otro

De 210 personas estudiadas el 30% tuvieron contacto con alguna persona que presentaba síntomas de resfrio. El lugar donde ocurrió esta interacción principalmente se dio en casa 56%, mientras que solo 1% interactuó no solo en casa sino en otros ambientes por igual (Fig. 8)

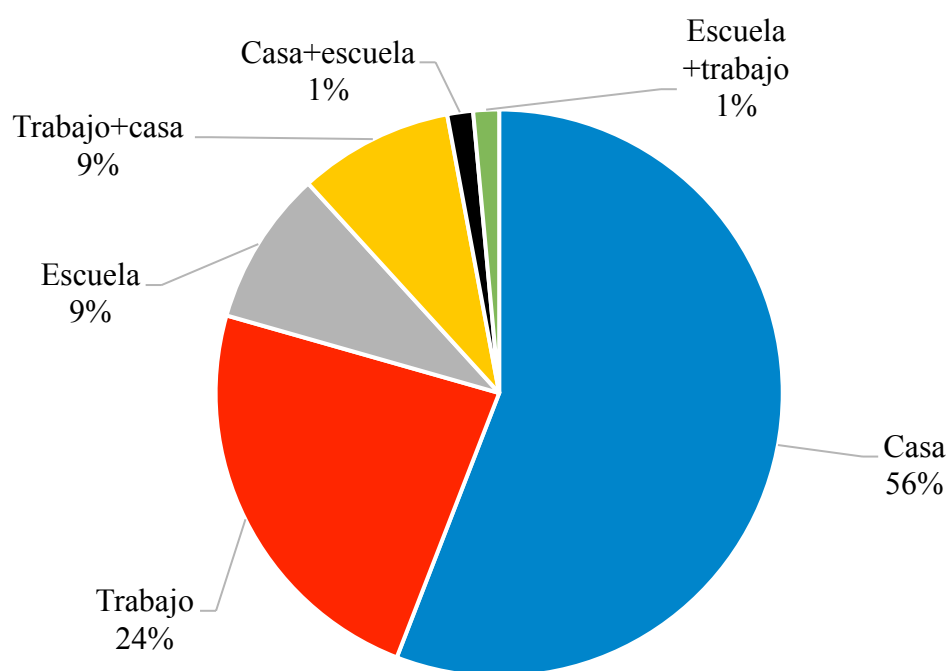


Figura 8: Lugar donde ocurrió el contacto con la persona enferma o que presentó síntomas de resfrio en la población de estudio (n=68)

De la población estudiada 210 aproximadamente el 70% de las personas tuvo mascotas y contacto con ellas. De estas personas el 72% tenían perro, mientras que solo el 1% tuvieron ave o la combinación entre ave y gato (Fig. 9).

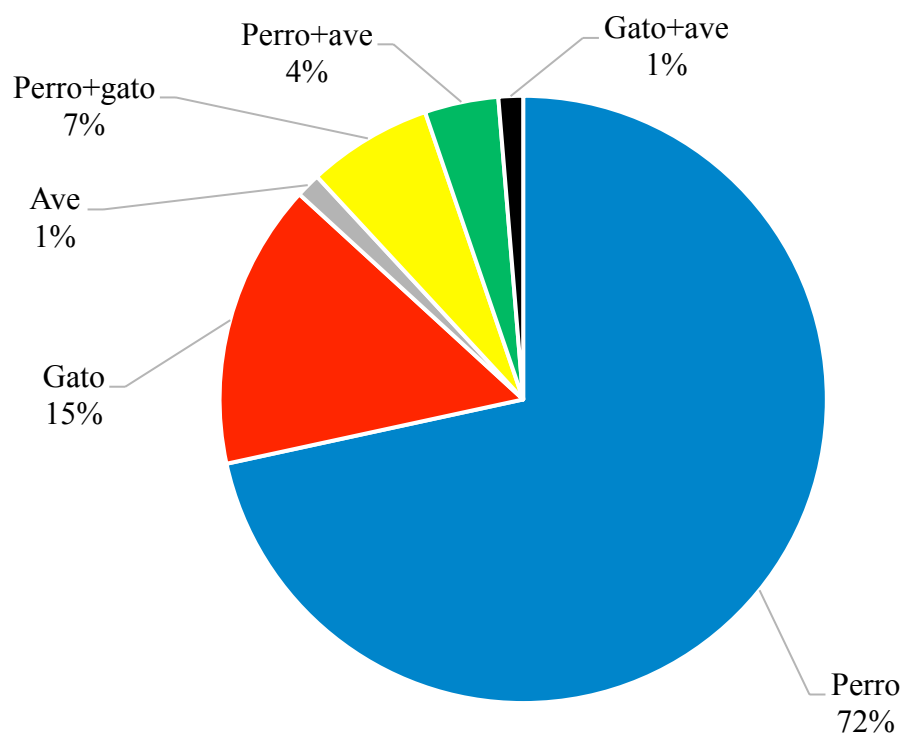


Figura 9: Mascotas reportadas por la población del estudio con las que tuvieron contacto (n=147)

6.2 Identificación microbiológica y bioquímica de los aislados clínicos de *S. aureus*

En total obtuvieron 215 muestras clínicas de hisopado nasal correspondientes a los 215 individuos. En total 52 aislados (24.7%) fueron confirmados como *S. aureus* (Fig. 10) mediante pruebas microbiológicas y bioquímicas de catalasa, coagulasa.

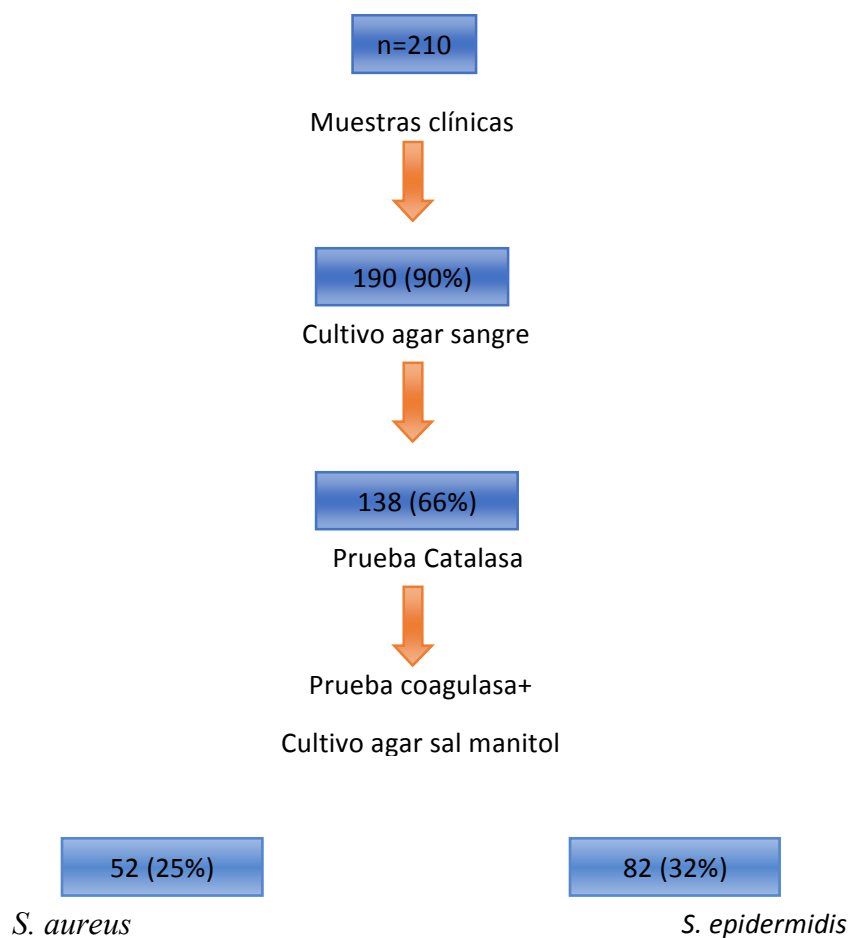


Figura 10: Diagrama de flujo de la identificación de *S. aureus* por las diferentes pruebas realizadas en el estudio.

6.3 Identificación molecular de la resistencia a meticilina

El 36.5% (n=19) de los aislados clínicos positivos a *S. aureus* amplificaron el gen *mecA*, indicando que solo estos son *S. aureus* meticilino resistentes. Estos aislados SARM fueron caracterizados molecularmente por el *SCCmec* el 68.4% correspondió a *SCCmecI* y el resto al *SCCmecIV* y de acuerdo con la alineación de estas secuencias y las de referencia AB033763.2 y AB063172.1 del GenBank.

6.4 Análisis relación genética de acuerdo al tipo *SCCmec*

El análisis comparativo de 19 secuencias que amplificaron el *SCCmec* junto con las dos secuencias de referencia AB033763.2_*SCCmecI* y AB063172.1_*SCCmecIV* proporcionaron 10 haplotipos con 43 sitios variables y una diversidad haplotípica de 0.9048.

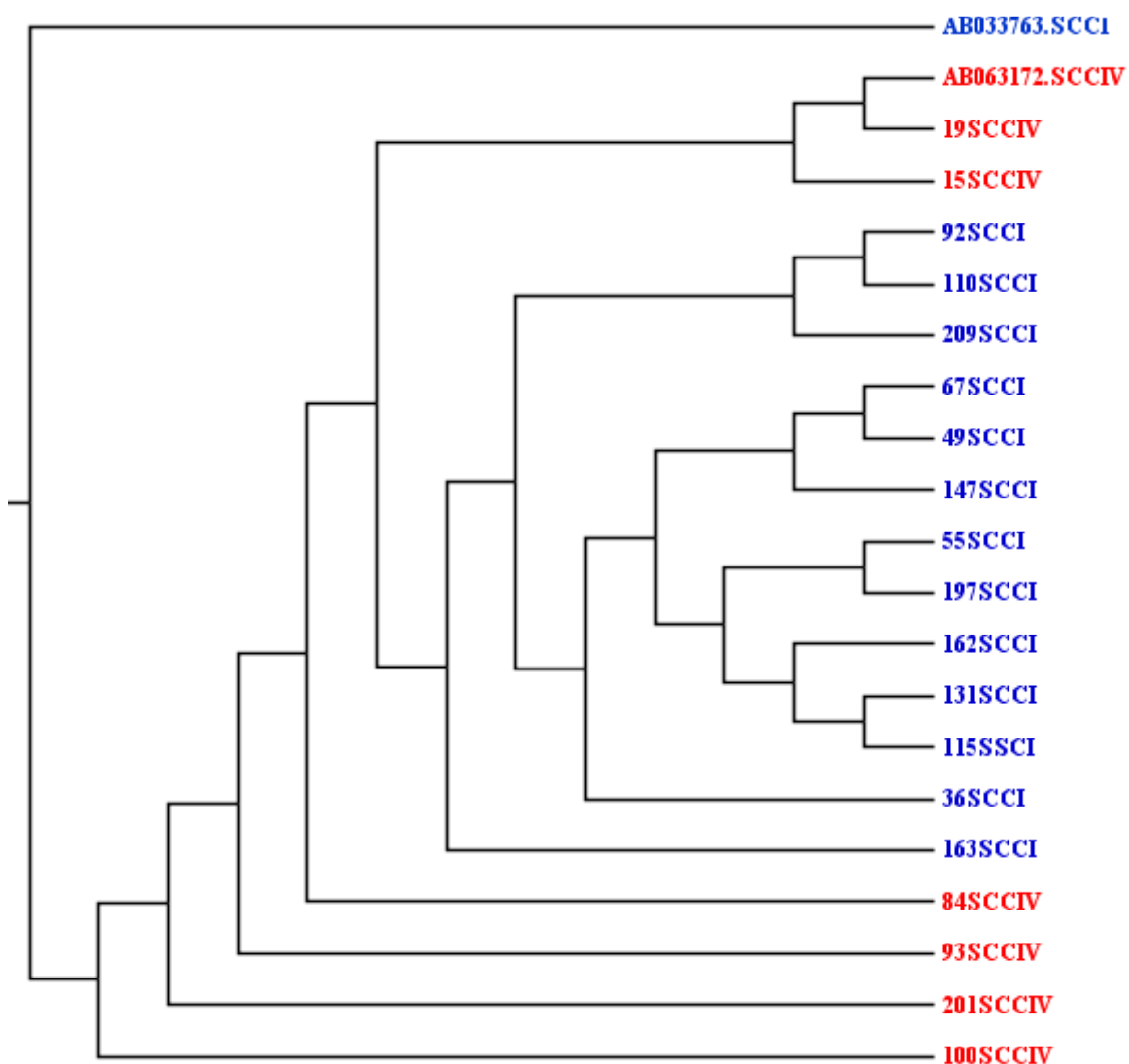


Fig. 12: Análisis de similitud para los tipos de *SCCmec* aislados de nuestro estudio (n=19), junto con dos de referencia AB033763.2_*SCCmecI* y AB063172.1_*SCCmecIV*.

6.5 Análisis epidemiológico molecular

6.5.1 Análisis sociodemográfico

El análisis de asociación entre los aislados identificados como *S. aureus* y SAMR con las características clínicas y sociodemográficas, el análisis de la razón de momios fue significativo ($p < 0.05$) con respecto a ser portador de *S. aureus* y a la distribución de la población ($n=210$), donde el 42% las personas acudieron al CS, Popular89 y el 17% las acudieron a la CM, San Quintín del resto de la población, sin embargo no significativo para las personas que presentaron SARM en toda la población (Tabla XI).

La edad fue otro factor sociodemográfico significativo ($p < 0.05$) donde el 4% de la población ($n=210$) se encontraba entre los 1 a 9 años, el 3% entre los 10 a 19 y de igual manera entre 20 a 59 años con respecto a ser portadoras de *S. aureus*, sin embargo no significativo entre estas edades para SARM (Tabla XII).

El resto de los factores clínicos y sociales no fueron significativos (Tabla XIII), por tal motivo se realizó un análisis descriptivo entre presentar a *S. aureus*, así como *S. aureus* resistente a meticilina con estos factores.

Tabla XI: Factores asociados a ser portador de *S. aureus* y SARM en la población estudiado por razón de momios.

Localidad Codigo	<i>S. aureus</i>					SARM				
	Casos (%)	no casos	MR	IC	P	Casos (%)	no casos	MR	IC	P
C89	22 (42.3)	44	1.90	0.9910 - 3.6428	0.053	9 (17.3)	13 (17.3)	1.38	0.4430 - 4.3275	0.575
	30	114				10	20			
CJA	5 (9.6)	9	1.76	0.5625 - 5.5144	0.331	0	5	0.1329	0.0069 - 2.5433	0.180
	47	149				19	28			
CZO	5 (9.6)	12	1.29	0.4335 - 3.8645	0.644	2	3 (3.8)	1.18	0.1785 - 7.7530	0.865
	47	146				17	30			
CMO	4 (7.7)	11	1.11	0.3388 - 3.6602	0.859	1	3 (1.9)	0.56	0.0537 - 5.7526	0.622
	48	147				18	30			
IMSS	2 (3.8)	15	0.38	0.0842 - 1.7265	0.211	1	1 (1.9)	1.78	0.1048 - 30.1666	0.690
	50	143				18	32			
LEEM	5 (9.6)	14	1.09	0.3742 - 3.1994	0.869	2	3 (3.8)	1.18	0.1785 - 7.7530	0.865
	47	144				17	30			
CMSQ	9 (17.3)	53	0.41	0.1881 - 0.9143	0.029	3	6 (5.7)	0.84	0.1850 - 3.8487	0.826
	43	105				16	27			

RM = Razón de momios, P = valor de significancia (0.05), IC = Intervalo de confianza.

Tabla XII: Factores asociados a ser portador de *S. aureus* y SARM en la población estudiado por razón de momios.

Factores de riesgo		<i>S. aureus</i>					SARM				
		Casos (%)	No casos	RM	IC	P	Casos	No casos	RM	IC	P
Sexo	Hombres	16 (7)	72	0.53	0.4428 - 1.6387	0.631	7 (13)	9	1.56	0.4218 - 2.9634	0.823
	Mujeres	36 (17)	86				12 (23)	24			
Edad	1 $\geq$ 9	10 (4)	9	3.94	1.5041 – 10.3305	0.005	3 (5)	7	0.70	0.1571 – 3.0871	0.633
	10 $\geq$ 19	7 (3)	6	3.94	1.2603 – 12.3224	0.018	3 (5)	4	1.36	0.2699 – 6.8460	7.709
	20 $\geq$ 59	30 (14)	126	0.35	0.1766 – 0.6790	0.002	11 (21)	19	1.01	0.3231 – 3.1768	0.982
	$\geq$ 60	5 (2)	17	0.88	0.3087 – 2.5224	0.815	2 (3)	3	1.18	0.1785 – 7.7530	0.865

RM = Razón de momios, P = valor de significancia (0.05), IC = Intervalo de confianza.

Tabla XIII: Factores asociados a ser portador de *S. aureus* y SARM en la población estudiado por razón de momios.

Factores de riesgo		<i>S. aureus</i>					SARM				
		Casos	No casos	RM	IC	P	Casos	No casos	RM	IC	P
Enfermedades asociadas											
	Respiratoria										
	Si	2	6	1.01	0.1982 - 5.1819	0.987	1	1	1.78	0.1048 - 30.1666	0.690
	No	50	152				18	32			
	Cardiovascular										
	Si	2	13	0.45	0.0973 - 2.0461	0.299	0	2	0.32	0.0147 - 7.0896	0.473
	No	50	145				19	31			
	Diabetes mellitus										
	Si	4	14	0.86	0.2692 - 2.7294	0.794	4	0	19.45	0.9849 - 384.1825	0.051
	No	48	144				15	33			
	Hipertensión										
	Si	2	9	0.66	0.1384 - 3.1682	0.605	1	9	0.15	0.0172 - 1.2776	0.082
	No	50	149				18	24			
Otras alteraciones											
	Onicocriptosis										
	Si	2	5	1.22	0.0786 - 2.2859	0.318	1	1	1.78	0.2523 - 20.5667	0.463
	No	50	153				18	32			
	Herida										
	Si	2	5	1.22	0.0786 - 2.2859	0.318	1	1	1.78	0.1048 - 30.1666	0.690
	No	50	153				18	32			

[illegible]

	Si	8	27	0.88	0.3734 - 2.0841	0.775	0	8	0.08	0.0042 - 1.4156	0.084
	No	44	131				19	25			
Expectoración											
	Si	4	10	1.23	0.3698 - 4.1128	0.732	1	3	0.56	0.0537 - 5.7526	0.622
	No	48	148				18	30			
Odinofagia											
	Si	3	13	0.68	0.1868 - 2.4970	0.564	0	3	0.22	0.0109 - 4.5660	0.330
	No	49	145				19	30			
Irritación											
	Si	9	26	1.06	0.4622 - 2.4430	0.886	4	5	1.49	0.3479 - 6.4092	0.590
	No	43	132				15	28			
Miembro familiar en institución											
	Si	4	23	0.49	0.1609 - 1.4867	0.207	1	3	0.56	0.0537 - 5.7526	0.622
	No	48	135				18	30			
Contacto con persona enferma											
Casa											
	Si	12	45	0.75	0.3624 - 1.5661	0.448	4	8	0.83	0.2138 - 3.2477	0.792
	No	40	113				15	25			
Trabajo											
	Si	4	22	0.52	0.1689 - 1.5710	0.243	0	4	0.17	0.0086 - 3.3003	0.240
	No	48	136				19	29			
Escuela											
	Si	2	8	0.75	0.1541 - 3.6493	0.721	1	1	1.78	0.1048 - 30.1666	0.690
	No	50	150				18	32			

Consumido alimento	Casa										
	Si	9	25	1.11	0.4827 - 2.5687	0.801	3	6	0.84	0.1850 - 3.8487	0.826
	No	43	133				16	27			
Asiste a baños públicos	Si	1	14	0.20	0.0259 - 1.5726	0.126	0	1	0.56	0.0216 - 14.3213	0.723
	No	51	144				19	32			
Practica deporte contacto	Si	4	23	0.49	0.1609 - 1.4867	0.207	2	2	1.82	0.2354 - 14.1270	0.565
	No	48	135				17	31			
Contacto con persona con herida	Si	4	13	0.93	0.2893 - 2.9865	0.902	1	3	0.56	0.0537 - 5.7526	0.622
	No	48	145				18	30			
Mascotas en casa	Perro										
	Si	37	119	0.81	0.4012 - 1.6288	0.551	12	25	0.55	0.1610 - 1.8691	0.337
	no	15	39				7	8			
	Gato										
	si	5	33	0.40	0.1485 - 1.0938	0.074	3	2	2.91	0.4398 - 19.2032	0.268
	no	47	125				16	31			

RM = Razón de momios, P = valor de significancia (0.05), IC = Intervalo de confianza.

6.6 Análisis de las variables clínicas con la presencia de *S. aureus* y SARM en la población de estudio

El 25% (n=52) de la población identificada como portadores de *S. aureus* presentó enfermedades asociadas. El 8% correspondió a diabetes mellitus, de manera similar se comportó para SARM, además se observó que hipertensión, cardiovascular y respiratoria obtuvieron el 4% cada una de ellas, es decir qué se observó una cantidad similar de casos, pero la presencia de SARM en estas variables fue distinto como fue el caso en enfermedad cardiovascular que no se presentaron casos (Fig. 13).

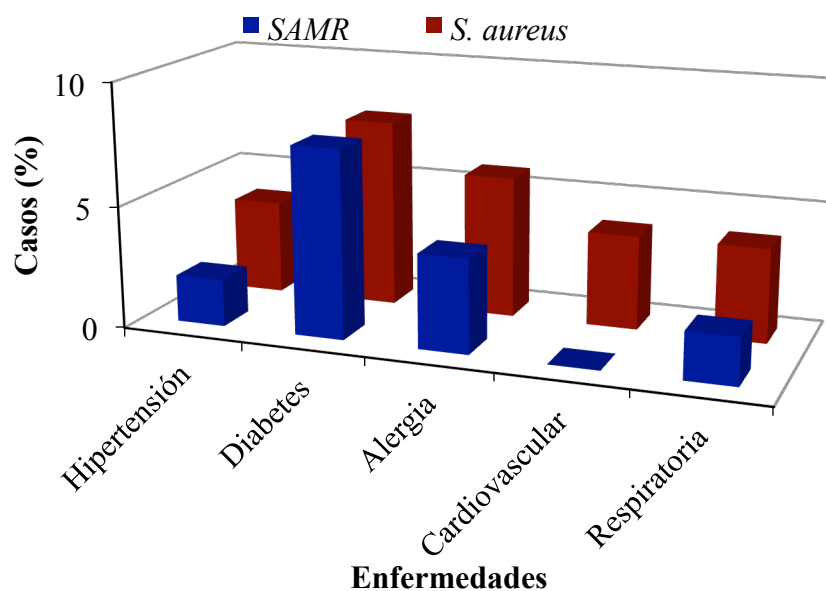


Fig. 13: Enfermedades asociadas que reportaron presentar la población de estudio identificados como *S. aureus* (n=52).

El 77% (n=52) de la población identificada como portadores de *S. aureus* presentó síntomas nasales, faríngeo y otras alteraciones. El 31% reportó tener la combinación de síntomas nasales y faríngeos, además el 10% correspondieron a SARM, por otra parte el 27% presentaron síntomas nasales y el 13% les correspondió a SARM, el resto de los síntomas no fue mayor del 10% en *S. aureus* como SARM incluso no se presentaron en faríngeo (Fig.14)

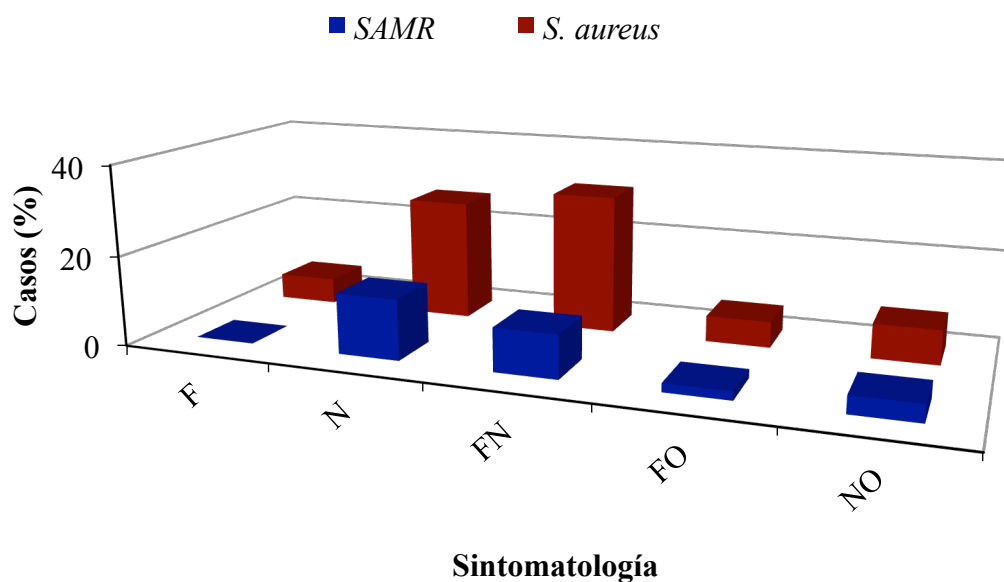


Fig. 14: Sintomatología que se presentaron en la población de estudio con *S. aureus* (n=52), donde F = Faríngeos, N = Nasales, FN = Faríngeos + Nasales, FO = Faríngeos + Otras alteraciones y NO = Nasales + Otras alteraciones.

6.7 Análisis descriptivo de las variables sociales con la presencia de *S. aureus* y SARM en la población de estudio

El análisis de los factores sociales en la población (n=52) identificados como portadores *S. aureus*, con respecto a las variables descritas en la Tabla XI, aproximadamente el 8% tuvo contacto con parientes que laboran en alguna institución de salud, así como para personas que practican algún deporte de contacto y personas que tuvieron contacto con alguna persona que tenía alguna herida expuesta, la presencia de SARM fue menor del 6% para todas estas variables, a su vez solo el 2% reportó que asistía a baños públicos y no se presentó SARM.

El 77% de la población (n=52) portadores de *S. aureus* reportó tener contacto con mascotas, el 67% reportó tener perro y el 20% presentó SARM, menos del 6% reportó tener gato además el 2% fue SARM, menos del 4% reportó tener ambas mascotas (Fig.18).

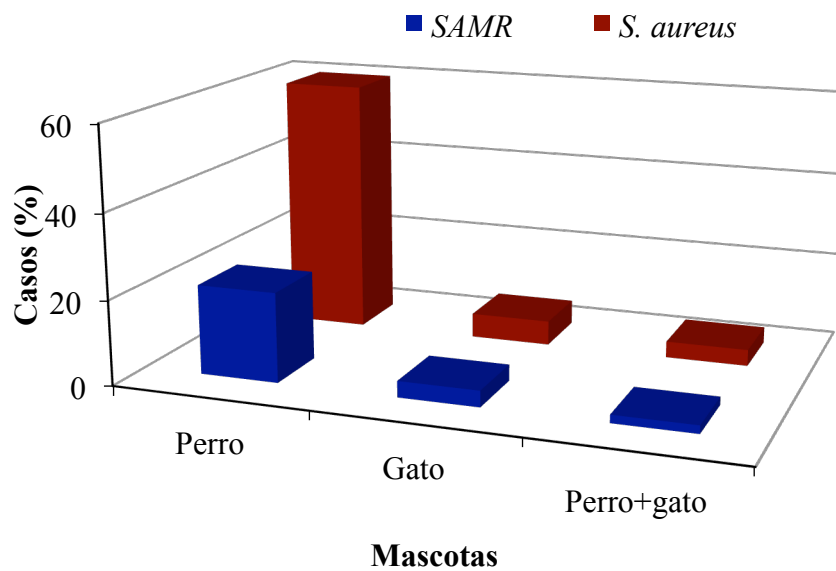


Fig. 18: Mascotas que reportaron la población con las que tuvieron contacto con respecto a los aislados identificados como *S. aureus* (n=52).

El 31% de la población (n=52) portadores *S. aureus* reportó tener contacto con una persona que presentaba síntomas de resfriado, el 19% tuvo interacción principalmente en casa y el 10% fue SARM, otras interacciones se reportaron escuela, trabajo estas presentaron de manera similar 4% cada una, solo el 2% presentó SARM y el contacto fue en escuela (Fig.17).

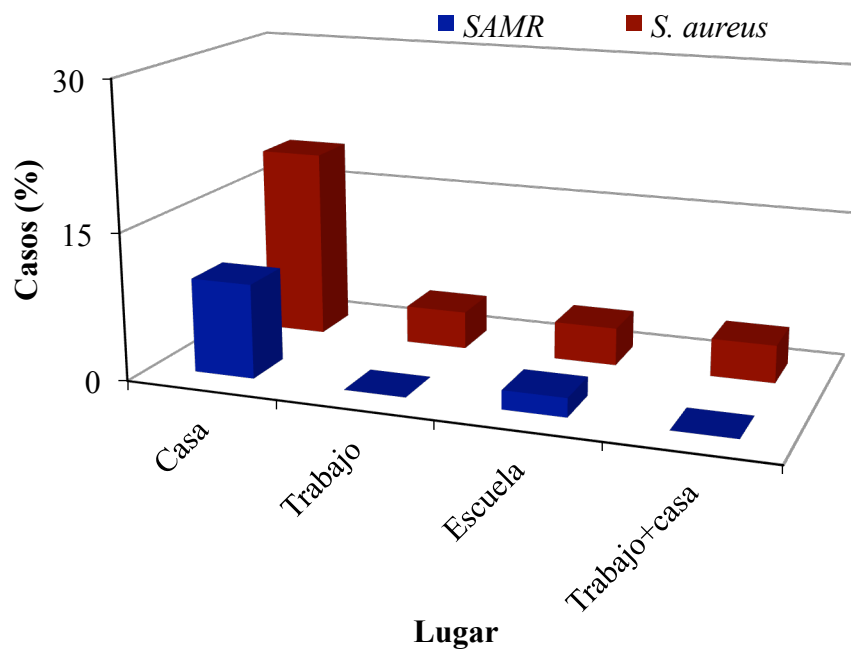


Fig. 17: Lugar de interacción con persona con síntomas de resfrio con respecto a los aislados identificados como *S. aureus* (n=52).

7.0 DISCUSIÓN

En el presente estudio el 25% de la población de estudio ($n = 210$) fue identificado como *S. aureus* por las diferentes pruebas y el 9% ($n = 52$) se consideraron SARM por la presencia del gen *mecA*. Resultado similar por que se encuentra entre el rango del 20 y 40% descrito por lo general a los portadores de *S. aureus*, sin embargo se describe que las cepas SARM se encuentran mayor del 60% por distintos autores (Bustos et. al., 2006, Peacock SJ, 2001). Un estudio realizado en la comunidad de la ciudad de México en el cual se reportó que el 59% de la población es portadora de este *S. aureus*, además el 12% es SARM (Hamdan-Partida et. al., 2010). Otra investigación que se realizó en Florida, E.U. reportó que el 29% de la población es portadora de *S. aureus* y el 12% SARM (Muthukrishnan et. al., 2013). El porcentaje entre los portadores sanos de *S. aureus*, así como de SARM varía dependiendo de la región y algunas limitaciones pueden ser la calidad del muestreo, técnicas de cultivo entre algunos factores como puede ser la edad, distribución o zonas entre otros factores que se puedan considerar en la población.

En este trabajo la asociación entre edad de la población con el ser portador de *S. aureus* fue significativo ($p < 0.05$), el 4% fueron niños y el 14% adultos ($n = 210$), pero no significativo para SARM donde el 5% son niños y 21% adultos ($n = 52$). Investigaciones previas en México han reportado de manera similar esta asociación significativa en la población infantil donde el 10% presentó *S. aureus* y el 1% correspondió a SARM (Velázquez-Guadarrama et. al., 2009). Al igual que el estudio anterior en Nashville, E.U. describen de la misma manera que asociación es significativa, donde el 36% presentó *S. aureus* y el 9% correspondió a SARM (Creech et. al., 2005). Con respecto a la población adulta una investigación que se realizó en el Norte de China obtuvo que fueron significativos aquellos menores de 24 años, donde el 16% fueron portadores de *S. aureus* y

el 0.3% correspondió a SARM (Yan et. al., 2014). De manera similar una investigación que se realizó en Lisboa, Portugal obtuvo de forma significativa las personas mayores de 60 años, donde el 20% portadores de *S. aureus* y el 2% correspondió a SARM (Almeida et. al., 2015). Comparando lo obtenido en este trabajo con las investigaciones previas y con respecto a la población portadora de *S. aureus* y de SARM se observa una variación muy cercana, esto puede estar generado por el tipo de estudio los cuales son dirigidos específicamente a cierto tipo de población con la diferencia de este trabajo que fue una población general y con respecto al tamaño de la población.

En la población de estudio (n=210) el 17% resultaron mujeres y 7% hombres portadores de *S. aureus* y 13% hombres, 23% mujeres SARM (n=52). Este resultado es menor comparado con una investigación realizada en la comunidad mexicana fue que la presencia de *S. aureus* fue mayor en hombres 40% que en mujeres 33% ($p = 0.011$), además describieron que fueron relativamente muy cercanos el ser portador de SARM en ambos generos 52% hombres y 47% mujeres de 743 individuos (Hamdan-Partida et. al., 2010). Una investigación que se realizó en Malta, Europa describió de manera similar la relación de generos donde el 9% fueron mujeres y el 7% hombre para portadores de SARM en una población de 320 individuos, además fue significativo (Scerri et. al., 2013). En comparación con lo obtenido en este trabajo esta diferencia en proporción pudo ser generado debido al momento del muestreo, ya que la mayoría se encontraban acompañadas por otra mujer, también hay que agregar que la asociación significativa puede estar generada por el tamaño de muestra ya que se menciona en la otra investigación en la no se obtuvo esta asociación significativa.

El 25% (n=52) de la población presentaron enfermedades crónicas y se identificaron como *S. aureus*, el 15% correspondieron a SARM. Una investigación que se realizó en Medellín, Colombia describió entre las enfermedades crónicas que el 5% presentó el binomio *S. aureus* y diabetes mellitus, además el 12% presentó la enfermedad y fue SARM en una población de 810 individuos, además no hubo diferencia significativa en el porcentaje de *S. aureus* y SARM (Jiménez et. al., 2013). Una investigación previa que se realizó en St. Louis, E.U. obtuvo una mayor proporción con respecto a portadores de *S. aureus* con el 53% de 321 personas y también fue mayor para SARM con el 66% de 32 individuos (Fritz et. al., 2008), en esta investigación no describieron que tipo de enfermedades se presentaron a diferencia con este trabajo donde el 8% se describe junto con el binomio diabetes mellitus., la comparación entre ambos estudios con respecto a este trabajo no se mostro una asociación significativa entre las variables. Una limitante para esta información podría ser que las personas no quierian dar esa información o realmente no saben que presentan alguna enfermedad.

El 77% (n=52) presenta sintomatología en nariz, faríngeo y piel, además fueron portadores de *S. aureus* y el 29% correspondió a SARM. De acuerdo con previas investigaciones que se han realizado en E.U. solo las infecciones en la piel han variado entre el 8 y el 50% los portadores de *S. aureus*, así como los portadores de SARM (David et. al., 2010), o como se describió en Vanderbilt E.U. donde que el 15% fueron portadores de *S. aureus* y el 4% de SARM (Creech et. al., 2005). Una investigación en Malta, Europa describió que el 7% presentó síntomas en la piel, síntomas en la nariz, además fueron SARM (Scerri et. al., 2013). Otra investigación que se realizó en Argentina describió que 36% presentó síntomas en nariz y fueron identificados como *S. aureus*, SARM no fue

identificad  (Fosch et. al., 2012). Al comporar estos resultados con los de este trabajo se observa que hay una diferencia entre las regiones, una limitación puede ser como se considera la variable sintomatología al momento de realizar la encuesta en la población

El 8% (n=52) tuvieron contacto con personas que laboraban en instituciones de salud pública, presentó *S. aureus* y el 2% fue SARM. Esta asociación se describió con una proporción menor en una investigación que se realizó en Brazil donde el 5% de 400 individuos fueron portadores de *S. aureus*, sin embargo no obtuvieron SARM a diferencia con lo obtenido en este trabajo (Vianna et. al., 2014). En la India de igual forma se describió que el 39% de 500 individuos fueron portadores de *S. aureus*, sin descripción de SARM (Kuehnert et. al., 2006). Tambien se ha descrito que el 14% de 217 trabajadores en intituciones de salud en Iran son portadores nasales de *S. aureus* y 43% de 17 trabajadores fueron SARM (Moghadam et. al., 2015). De acuerdo con la CDC la colonización varía en el personal de salud entre el 0.2 y 15% en E.U y Europa, además que varía entre 4 y 6% correpondiente a SARM (Dulon et. al., 2014). Comparando el resultado obtenido en este trabajo con las investigaciones previas se pude observar que no se encuentra dentro de lo mencionado pero si esto llegara a aumentar podría ocurrir lo que se describió en la India.

El 8% (4/52) de la población practica algún deporte de contacto y fueron portadores de *S. aureus*, además el 4% (2/52) fue SARM. Probablemente podría ocasionar infecciones en estas personas si se hubiera analizado si pertenesian ha algún equipo deportivo como se describió en una investigación que se realizó en Atletas de la Universidad de Virginia, E.U. en el que reportaron que 34% de 277 atletas presentaron SARM esto es mayor comparado con lo obtenido en este trabajo a pesar de que no describieron a *S. aureus* en la población

(Champion et. al., 2014). También es similar con lo que se describió en una investigación realizada para un equipo de football en los Angeles California, E.U en que reportaron que el 26% de 107 jugadores presentaron *S. aureus* y el 8% SARM, además en este estudio se describió que el 10% presentó infecciones en la piel (Nguyen et. al., 2005). Igualmente otra investigación estudio al equipo de los Rams de St. Louis, EU en el cual se reportó que el 42% de 84 jugadores presentó *S. aureus*, además el 9% de 58 jugadores presentaron infecciones en la piel por SARM (Kazakova et. al., 2005). Comparando este trabajo con las investigaciones previas las diferencias en las proporciones pueden estar generadas por el tipo de población la cual es más específica en contraste con este trabajo que no se investigaron atletas.

El 25% (n=210) tuvo contacto con mascotas y presentó *S. aureus*, además el 7% se identificó como SARM. Esto puede ser generado por la asociación entre el dueño y su la mascota porque de acuerdo con un estudio realizado en Taiwan quienes describieron esta asociación con mascotas y obtuvieron que el 12% (n = 94/787) de las personas fueron portadoras de *S. aureus*, el 5% (n = 20/776) presentaron SARM, además consideraron si las mascotas eran portadoras donde obtuvieron que 3% presentaron *S. aureus* y el 3% (n = 1/20) SARM (Wan et. al., 2011). Otro estudio similar realizado en Misuri, E.U. reportaron que el 23% de 26 perros y el 7% de 14 gatos presentaron *S. aureus*, además que el 12% de los perros y el 7% de los gatos fueron por SARM (Plano et. al., 2011). De igual forma en otra investigación realizada en E.U. reportaron que el 4% de las mascotas presentaron *S. aureus* (Davis et. al., 2013).

Los resultados de la caracterización de *SCCmec* de este trabajo es diferente con la investigación que se realizó en las fronteras de Texas y México donde obtuvieron que el 83% de 7 individuos presentaron el *SCCmecIV* esto es menor comparado con el 32% para lo obtenido en este trabajo para este *SCCmecIV*, además de que se observa la presencia del *SCCmecI* con el 68% (Ammons et. al., 2010). De la misma forma también es diferente con otro estudio realizado en México en el que obtuvieron 50% *SCCmecIV*, 23% *SCCmecII*, además *SCCmecV* 2% y *SCCmecIII* 0.8%, no hubo presencia del *SCCmecI* de 131 aislados SARM (Hamdan-Partida et. al., 2010). Estos pueden estar generados por que no se han realizados suficientes estudios que involucren a los portadores sanos, a diferencia de lo que se describió en el entorno hospitalario como se describe en el Hospital General Dr. Manuel Gea González México donde se describen cuatro tipos de *SCCmec* donde el 52% correspondió al *SCCmecIV* (Espinosa et. al., 2013). Similar a otro estudio en México en que describieron 4 tipos de *SCCmec* y la mayoría 65% (n=20) de las cepas SARM portaban el *SCCmecIV* (Gordon et. al., 2005). Lo que puede estar ocurriendo es que aun existe un balance que no permite el desplazamiento de las cepas en el entorno como sucede dentro de los hospitales. Comparado con otras regiones como una investigación en África obtuvieron el 62% correspondió al *SCCmecII*, en menor proporción el *SCCmecIV* y *SCCmecIII* (Makgotlho et. al., 2009).

La caracterización molecular de los 19 aislados SARM de acuerdo al *SCCmec* de este trabajo mostraron una variedad de haplotipos 10, lo que sugiere que SARM se presenta en diferentes formas colonizando a las personas en las fosas nasales. Estos resultados son similares a una investigación que se realizó en personas sanas en la Ciudad de México, donde se identificó una alta diversidad genética entre SARM (Hamdan-Partida

et. al., 2014). Similar también con una investigación que se realizó en Venezuela quienes describieron alta diversidad genética (Castellano-González et. al., 2009). La identificación de aislamientos bien definidos con antecedentes genéticos comunes proporciona cierta comprensión de los clones particulares en la comunidad que permitirá ayudar a evitar la diseminación del SARM. Estos resultados sugieren que un alto número de diferentes cepas SARM están en riesgo de entrar en ambientes hospitalarios a través la comunidad.

8.0 CONCLUSIÓN

Pocos estudios se han elaborado y han analizado los factores de riesgo epidemiológicos asociados a ser portador sano de *S. aureus*, así como de SARM en la comunidad en México. Lo más relevante de esta investigación es que hasta el momento este es el primer informe de la detección y caracterización de *S. aureus* y SARM en comunidad de Ensenada, B. C., México.

En conclusión los resultados de esta investigación sugieren diversos factores probablemente se encuentran asociados a ser portador sano de *S. aureus* así como de SARM, así como también existe diversidad genética entre las cepas SARM y estas probablemente se encuentran en riesgo de entrar o ya están circulando en ambientes hospitalarios a través de la comunidad. Esta investigación proporciona información adicional que permitirá fortalecer la comprensión del papel de *S. aureus* en portadores sanos de la comunidad de Ensenada, B.C.

Las limitaciones de este estudio incluyen el número limitado de personas. Por lo tanto, la puede estar subestimado o sobrestimado el número de casos de *S. aureus* y SARM en general, así como añadir el análisis de otros factores asociados. Por tal motivo en futuro es necesario continuar con el estudio de este patógeno para obtener información que permita aclarar más la epidemiología con el ser portador sano en la comunidad de Ensenada B.C.

LITERATURA CITADA

- 1 Aguadero, A, Vicente: Tipificación molecular y estudio de clonalidad de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, productores de infecciones intrahospitalarias y extrahospitalarias en extremadura. *In: Bioquímica y Biología molecular*. Universidad de Extremadura, España, 2014
- 2 Almeida, S, T. , Nunes, S, Paulo, A, C., S. , Faria, NA, de Lencastre, H, Sá-Leão, R. 2015, Prevalence, risk factors, and epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carried by adults over 60 years of age. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 34 593-600,
- 3 Ammons, D, R. , Puttagunta, R, Granados, J, e C. , De la Garza, G, Eyambe, GS, Rampersad, J. 2010, An Exploratory Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and *SCCmec* Elements Obtained from a Community Setting Along the Texas Border with Mexico. *National institute of health* 60 (5), 321–326,
- 4 Arreguín, N, Rocío , González, G, Ricardo , De la Torre, R, Alethse 2012, Infecciones adquiridas en los hospitales ¿Cuánto cuestan y cómo se calculan? *Revista Digital Universitaria* 13 (9), 1-10,
- 5 Barragán, I, Jose, Gerardo: Ausencia del Cassette de resistencia a meticilina *SCCmec* de *Staphylococcus aureus* en aislamientos de origen de bovinos. *In: Escuela de Quimicofarmacobiología*. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Morelia, Michoacan, 2010
- 6 Barrios, L, Marta: Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones por *S. aureus* adquirido en la comunidad en pediatría. *In: Medicina*, pp. 1-156. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 2012
- 7 Bustos, M, Jaime, A. , Hamdan, P, Aída , Gutiérrez, C, Marcia 2006, *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Revista biomedica* 17 (4), 287-305,

- 8 Castañón-Sánchez, C, Alberto 2012, Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus*. Evidencia Medica e Investigación en Salud 5 (3), 79-84,
- 9 Castellano-González, M, J. , Perozo-Mena, A, J. , Vivas-Vega, R, L. , Ginestre-Pérez, M, M. , Rincón-Villalobos, G, C. . 2009, Tipificación molecular y fenotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SAMR) en un hospital universitario. Microbiología Clínica 26 (1), 39-48,
- 10 Cervantes-García, E, García-González, R, Salazar-Schettino, P, María 2014, Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 61 (1), 28-40,
- 11 Cimerá, P, Danitza , Pérez, P, Francisco 2010, *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente y su relación con factores de riesgo y protectores en el personal de salud del Hospital General de las Fuerzas Armadas. Rev Mex Patol Clin 57 (4), 196-204,
- 12 Corporation, C: Sequence Assembly with CodonCode Aligner. 2014
- 13 Creech, C, B. , Kernodle, D, S. , Alsentzer, A, Wilson, C, Edwards, KM. 2005, Increasing rates of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. Pediatr Infect Dis J 24 (1), 617-621,
- 14 Creech, C, Buddy , Talbot, T, R. , Schaffner, W. 2006, Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: The Way to the Wound Is through the Nose. The Journal of Infectious Diseases 193 (1), 172-179,
- 15 Champion, A, E., Goodwin, T, A. , Brolinson, G, Werre, S, R. , Prater, M, Renee , Inzana, T, J. . 2014, Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from healthy university student athletes. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 13 (33), 1-11,
- 16 David, M, Z. , Daum, R, S. . 2010, Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. Critical Microbiology reviews 23 (3), 616-687,
- 17 Davis, JA, Jackson, CR, Fedorka-Cray, PJ, Barrett, JB, Brousse, JH, Gustafson, J, Kucher, M. 2013, Carriage of methicillin-resistant staphylococci by healthy companion animals in the US. Letters in Applied Microbiology 59 (1), 1-8,

- 18 De Colsa, R, Agustín 2011, *Staphylococcus aureus*: De la genómica a la clínica. *Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 24 (95), 91-94,
- 19 Díaz-Ramos, R, Delia Las actividades del epidemiólogo en el comite de infecciones nosocomiales. *In*: [Cited 2006 August 20] Available from: URL: www.respynuanl.mx/especiales/ee-6-2003/08pdf. 2006
- 20 Díez de Medina, M, Gil: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *In*: *Infectomía revista Chilena*, 152 ed., pp. 145-152. 2000
- 21 Dulon, M, Peters, C, Schablon, A, Nienhaus, A. 2014, MRSA carriage among healthcare workers in non-outbreak settings in Europe and the United States: a systematic review. *Infectious Diseases* 14 (363), 1-14,
- 22 Espinosa, dLM, Luz, Elena , Vega, M, María, Elisa , Rodríguez, C, Alma, Angélica, Jiménez, R, Leticia, Verónica , Morales, C, Evelia. 2013, Caracterización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aislado de pacientes con piodermitis. *Dermatolol Revista Mexicana* 57 (3), 165-170,
- 23 Fosch, S, Yones, C, Trossero, M, Grosso, O, Nepote, A. 2012, Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. *Red de Revistas Científicas de América Latina* 46 (1), 59-67,
- 24 Francois, P, Huyghe, A, Charbonnier, Y, Bento, M, Herzig, S, Topolski, I, Fleury, B, Lew, D, Vaudaux, P, Habarth, S, Leeuwen, W, Belkum, A, Blanc, D, Pittet, D, Schrenzel, J. 2005, Use of an automated multiple locus, variable number tandem repeat based method for rapid an high throughput genotyping of *S.aureus* isolates. *clinical microbiology* 43 (7), 3346-3355,
- 25 Fritz, S, A. , Garbutt, J, Elward, A, Shannon, W, Storch, G, A. . 2008, Prevalence of and Risk Factors for CommunityAcquired Methicillin-Resistant and MethicillinSensitive *Staphylococcus aureus* Colonization in Children Seen in a Practice-Based Research Network. *Pediatrics* 121 (2), 1090-1198,
- 26 Fueyo, M, José, María: Frecuencia y tipos de toxinas super antígenos en *S. aureus* de diferentes orígenes, relaciones con tipos genéticos. *In*: *Biología funcional*. Oviedo, Oviedo, 2005

- 27 Garza-González, E, Dowzicky, MJ. 2013, Changes in *Staphylococcus aureus* susceptibility across Latin America between 2004 and 2010. The Brazilian Journal of Infectious diseases 17 (1), 13-19,
- 28 Garza-Velasco, R, Zúñiga-Rangel, O, Perea-Mejía, L, Manuel 2013, La importancia clínica actual de *Staphylococcus aureus* en el ambiente intrahospitalario. Biomedicina 24 (1), 8-13,
- 29 Gómez, G, Carmen *Staphylococcus aureus* en población pediátrica: epidemiología molecular y factores de virulencia. In: Microbiología I, Facultad de medicina. Universidad Complutense De Madrid, Madrid, España, 2012
- 30 Gordon, R, J. , Quagliarello, B, Cespedes, C, Chung, M, de Lencastre, H, Vavagiakis, P, Miller, M, Zeller, B, Lowy, F, D. . 2005, A Molecular Epidemiological Analysis of 2 *Staphylococcus aureus* Clonal Types Colonizing and Infecting Patients with AIDS. Clinical Infectious Diseases 40 (1), 1028–1036,
- 31 Guzmán, C, Brenda, Judith: Determinación de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) aislados de fosas nasales de niños portadores que asisten a la guardería de la Universidad de San Carlos de Guatemala. In: Química biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, 2010
- 32 Hamdan-Partida, A, Sainz-Espuñes, T, Bustos-Martínez, J. 2010, Characterization and Persistence of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from the Anterior Nares and Throats of Healthy Carriers in a Mexican Community. Journal of clinical microbiology 48 (5), 1701-1075,
- 33 Hamdan-Partida, A, Sainz-Espuñes, T, Bustos-Martínez, J. 2014, Isolation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy carriers in a Mexican community. International Journal of Infectious Diseases 18 (1), 22-26,
- 34 Hernández Betancourt, O, Cuesta, Y, Ulloa , Méndez, DdR, Galdós, MdC. 2005, *Staphylococcus aureus* y su identificación en los laboratorios microbiológicos revisión bibliográfica. Archivo Médico de Camagüey 9 (1), 1-11,
- 35 Iowa State University. 2011, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. The center for food security and public health, College of veterinary medicine 1 (1), 1-23,

- 36 Jarvis, R, William, Jarvis, A, Ashley, Chinn, Y, Raymond. 2012, National prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in inpatients at United States health care facilities, 2010. American Journal of Infection Control 40 (1), 194-200,
- 37 Jevons, M, Patricia 1961, To-day's drug. Brithish medical 1 (1), 124,
- 38 Jiménez, J, Natalia , Ocampo, A, M. , Vanegas, J, M. , Rodriguez, E, A. , Mediavilla, J, R. , Chen, L, Muskus, C, E. , Vélez, L, A. , Carlos Rojas, Restrepo, A, V. , Garcés, C, Kreiswirth, B, N. , Correa, M, M. . 2013, A comparison of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* reveals no clinical and epidemiological but molecular differences. International Journal of Medical Microbiology 303 (1), 76-83,
- 39 Kazakova, S, V. , Hageman, J, C., Matava, M, Srinivasan, A, Phelan, L, Garfinkel, B, Boo, T, McAllister, S, Anderson, J, Jensen, B, Dodson, D, Lonsway, D, McDougal, L, K. , Arduino, M, Fraser, V, J. , Killgore, G, Tenover, F, C. , Cody, S, Jernigan, D, B. . 2005, A Clone of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Professional Football Players. The new england journal of medicine 352 (2), 468-475,
- 40 Kuehnert, M, J. , Kruszon-Moran, D, Hill, H, A. , McQuillan, G, McAllister, SK, Fosheim, G, McDougal, LK, Chaitram, J, Jensen, B, Fridkin, S, K. , Killgore, G, Tenover, F, C. . 2006, Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States. Journal Infection Diseases 193 (2), 172-179,
- 41 Lozano, F, Carmen: Epidemiología molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina del linaje CC398 de distintos orígenes: resistencia, virulencia y contenido plasmidico. In: Agricultura y alimentación. Universidad de La Roja, España, 2014
- 42 Makgotlho, P, E. , Kock, M, M. , Hoosen, A, Lekalakala, R, Shaheed, O, Dove, M, Ehlers, M, M. 2009, Molecular identification and genotyping of MRSA isolates. Immunol Med Microbiol 57 (1), 104-115,
- 43 Martínez, A, Gerardo Análisis de genotipos y de los tiempos de duplicación de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aisladas de infecciones nosocomiales y

adquiridas en la comunidad. *In*: Facultad de medicina. Universidad de Colima, Colima, 2010

- 44 Mensa, J, Soriano, A, Llinares, P, Barberán, J, Montejo, M, Salavert, M, Alvarez-Rocha, L, Maseda, E, Moreno, A, Pasquau, J, Gómez, J, Parra, J, Candel, J, Azanza, J, Ramón, J, García, J, Elías, J, Marco, F, Soy, D, Grau, S, Arias, J, Fortún, J, Aristides de Alarcón, C, Picazo, J. 2013, Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter 26 (1), 1-84,
- 45 Moghadam, S, Ohadian, Pourmand, M, Reza, Davoodabadi, A. 2015, The Detection of Mupirocin Resistance and Nasal Carriage of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* among Healthcare Workers at University Hospitals of Tehran, Iran. Journal Public Health 44 (3), 361-368,
- 46 Motoshima, M, Yanagihara, K, Morinaga, Y, Matsuda, J, Sugahara, K, Yamada, Y, Kohno, S, Kamihira, S. 2010, Genetic diagnosis of community acquired MRSA a multiplex real time pcr method for *SCCmec* typing and detecting toxin genes. Exp medical 22 (0), 165-170,
- 47 Muthukrishnan, G, Lamers, R, P, Ellis, A, Paramanandam, V, Persaud, A, Tafur, S, Parkinson, C, L, Cole, A, M. . 2013, Longitudinal genetic analyses of *Staphylococcus aureus* nasal carriage dynamics in a diverse population. BMC Infectious Diseases 13 (221), 1-13,
- 48 Nguyen, D, M, Mascola, L, Bancroft, E. 2005, Recurring Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infections in a Football Team. Emerging Infectious Diseases 11 (4), 2005,
- 49 O'Hara, F, Patrick, J, Amrine-Madsen, H, Mera, R, M, Brown, M, L, Close, N, M, Suaya, J, A, Acosta, C, J. . 2012, Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* in the United States 2004–2008 Reveals the Rapid Expansion of USA300 Among Inpatients and Outpatients. MICROBIAL DRUG RESISTANCE 18 (6), 555_561,
- 50 OMS: Antimicrobial resistance Global Report on Surveillance, ed. Data WLC-i-P. World health organization, 2014

- 51 Paniagua-Contreras, G, Monroy-Pérez, E, Gutiérrez-Lucas, R, Sainz-Espuñes, T, Bustos-Martínez, J, Vaca, S. 2014, Genotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and catheter of ambulatory hemodialysis patients in Mexico. *Folia Microbiol* 1 (1), 1-8,
- 52 Paniagua-Contreras, G, Sáinz-Espuñes, T, Monroy-Pérez, E, Rodríguez-Moctezuma, J, Raymundo , Arenas-Aranda, D, Negrete-Abascal, E, Vaca, S. 2012, Virulence Markers in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Hemodialysis Catheters of Mexican Patients. *Advances in Microbiology* 2 (1), 476-487,
- 53 Parra, Q, Ana, Maria: Tipificación genética de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. *In: Medicina*. Universidad de Zulia, Venezuela, 2009
- 54 Peacock SJ, dSI, Lowy FD. . 2001, What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiology* 9 (2), 605-610,
- 55 Peacockemail, S, J. , De Silva, I, Lowy, F, D. . 2001, What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiology* 9 (2), 605-610,
- 56 Plano, L, R.W. , Garza, A, C., Shibata, T, Elmir, S, M. , Kish, J, Sinigalliano, C, D. , Gidley, M, L., Miller, G, Withum, K, Fleming, L, E. , Solo-Gabriele, H, M. 2011, Shedding of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from adult and pediatric bathers in marine waters. *Microbiology* 2011, 11:5 11 (5), 1-10,
- 57 Ponce-de-León, A, Camacho-Ortiz, A, Macías, A, E. , Landín-Larios, C, Villanueva-Walbey, C, Trinidad-Guerrero, D, López-Jácome, E, Galindo-Fraga, A, Bobadilla-del-Valle, M, Sifuentes-Osornio, J. 2010, Epidemiology and clinical characteristics of *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in a tertiary-care center in Mexico City: 2003-2007. *Revista de Investigación Clínica* 62 (6), 553-559,
- 58 Ponce de León, S, Rangel-Frausto, M, Sigfrido , Elías-López, J, I. , Romero-Oliveros, C, Huertas-Jiménez, M. 1999, Infecciones nosocomiales: tendencias seculares de un programa de control en México. *salud pública de México* 41 (1), 5-11,
- 59 Posada, D, Crandall: Modeltest 3.7. 1998

- 60 Rozas, J, Librado, P, Sánchez-DelBarrio, JC, Messeguer, X, Rozas, R: DnaSP version 5.10.1 sequence polymorphis. 2010
- 61 Scerri, J, Monecke , S, Borg, M, A. . 2013, Prevalence and characteristics of community carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malta. Journal of Epidemiology and Global Health 3 (1), 165-173,
- 62 Skrupky, LP, Micek, S, T. , Kollef, M, H. . 2009, Bench-to-bedside review: Understanding the impact of resistance and virulence factors on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the intensive care unit. Critical Care 13 (222), 1-8,
- 63 Slonczewski Joan, L, John, FW: Microbiology United States of America, 2009
- 64 Swofford, D: PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), ed. Sunderland SA. Massachusetts, 1998
- 65 Tamura, K, Peterson, D, Pedersen, N, Stecher, G, Nei, M, Kumar, S: MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *In*: Molecular Biology and Evolution. 2011
- 66 Tong, S, Y., C. , McDonald, M, I. , Holt, D, C. , Currie, B, J. . 2008, Global Implications of the Emergence of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Indigenous Populations. Clinical Infectious Diseases 46 (1), 1871–1878,
- 67 Velázquez-Guadarrama, N, Martinez-Aguilar, G, Arellano, G, José , Zuñiga, G, Arbo-Sosa, A. 2009, Methicillin-resistant *S. aureus* colonization in Mexican children attending day care centres. Clin Invest Med 33 (1), 57-63,
- 68 Velázquez-Meza, M, Elena 2005, Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. Salud Publica México 47 (1), 381-387,
- 69 Velázquez-Meza, M, Elena , Hernández-Salgado, M, Contreras-Cordero, J, F., Pérez-Cortes, P, Villarreal-Treviño, L. 2013 Surveillance of Methicillin-resistant

Staphylococcus aureus Causing Nosocomial Infections in Five Medical Centers. Archives of Medical Research 16 (9), 20-21,

- 70 Vianna, B, Eneida, Dias , Aguiar-Alves, Fábio , Nogueira de Freitas, MdF, Oliveira de Silva, M, Valadares, C, Thami , Snyder, R, E., Afonso de Araújo, V, Asbury, M, Mariel , Riley, L, W., Setúbal, S, Silva, L, Esmeraldo , Araújo, C, Claudete, Aparecida. 2014, *S. aureus* colonization among healthy children attending public daycare centers in informal settlements in a large urban center in Brazil. Infection Diseases 14 (538),
- 71 Wan, M, T. , Fu, S, Y. , Lo, Y, P. , Huang, T, M. , Cheng, M, M. , Chou, C, C. . 2011, Heterogeneity and phylogenetic relationships of community-associated methicillin-sensitive/resistant *Staphylococcus aureus* isolates in healthy dogs, cats and their owners. Journal of Applied Microbiology 10 (1111), 1365-2672,
- 72 Wertheim, H, F. L. , Melles, D, C., Vos, M, C. , Van Leeuwen, W, Van Belkum, A, Henri A Verbrugh, Nouwen, J, L. . 2005, The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infectious Diseases 5 (1), 751-762,
- 73 Xue, M, Xiao, Ito, T, Tiensasitorn, C, Jamklang, M, Chongtrakool, P, Boyle-Vavra, S, Daum, RS, Hiramatsu, K. 2009, Classification of *Staphylococcal* Cassette Chromosome mec (*SCCmec*): Guidelines for Reporting Novel *SCCmec* Elements. Antimicrobial agents and chemotherapy 53 (12), 4961-4967,
- 74 Yan, X, Song, Y, Yu, X, Tao, X, Yan, J, Luo, F, Zhang, H, Zhang, J, Li, Q, He, L, Li, S, Meng, F, Zhang, J, Grundmann, H. 2014, Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage among healthy people in Northern China. Clinical Microbiology and Infection, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 21 (2), 157 - 162,



ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO



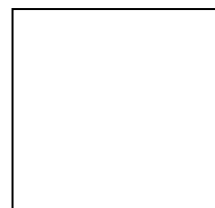
**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIDAD VALLE DORADO, CAMPUS ENSENADA**

Por este conducto hago constar que de forma voluntaria consiento en que el (la) doctor (a) _____ de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Baja California procese las muestras clínicas obtenidas de mi persona para el diagnóstico, caracterización o transformación necesarias para que se cubran los protocolos de investigación actuales y futuros en los que sean requeridos, en el entendido de que lo obtenido será manejado con absoluta discreción y podrá ser compartido o publicado mientras se me mantenga en el anonimato, evitando utilizar mi nombre, iniciales o folios que me relacionen de alguna manera.

Entiendo que el análisis de dichas muestras, se enfocará a la infección por *S. aureus* y que el laboratorio donde serán procesadas estas muestras es de investigación y no de referencia, lo que podría implicar un retardo en la entrega de resultados.

Nombre del Paciente _____

Firma del paciente _____



Índice derecho

NOMBRE Y FIRMA DE QUIEN TOMÓ LA MUESTRA

Expedida en la ciudad de Ensenada, Baja California, México a los _____ días del mes de _____ de 20____.



ANEXO 2

ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIDAD VALLE DORADO, CAMPUS ENSENADA**

DATOS DEL ENFERMO

Apellidos y Nombre: _____			
Edad ____ (años)	Sexo:	☐ Hombre	☐ Mujer
Estado civil:	☐ Soltero	☐ Casado	☐ Unión libre ☐ Divorciado ☐ Viudo
Domicilio:		Colonia	
Ocupación:	☐ Empleado	☐ Profesionista	☐ Dedicado al hogar
	☐ Dueño negocio	☐ Desempleado	☐ Profesor
	☐ Comerciante	☐ Otro ¿Cuál?	
Escolaridad:	☐ Primaria	☐ Carrera técnica	☐ Sabe leer y escribir
	☐ Secundaria	☐ Profesional/Licenciatura	☐ Ninguno
	☐ Bachillerato	☐ Posgrado	

DATOS CLÍNICOS

Fecha de inicio de los síntomas ____/____/____	Aparición:	☐ Forma aguda	☐ Gradual
Sintomatología:			
☐ Síntomas neurológicos	☐ Vómitos	☐ Fiebre	
☐ Dolor abdominal	☐ Diarrea	Otros (citar): _____	
☐ Síntomas cardiovasculares	☐ Nauseas		
Periodo de incubación y duración de la enfermedad: (Medido en : ☐ Horas ☐ Días)			
Periodo de incubación:	☐ Mínimo: _____	☐ Máximo: _____	☐ Mediano: _____
Duración de enfermedad:	☐ Mínimo: _____	☐ Máximo: _____	☐ Mediano: _____
Ingreso en hospital:	☐ No ☐ Si	Fecha: _____	
Presenta alguno de los siguientes padecimientos:			
☐ Enfermedad endocarditis	☐ Enfermedad cardiovascular	☐ Diabetes	☐ VIH
☐ Enfermedad respiratoria	☐ Enfermedad urinaria	☐ Osteomielitis	
Presenta alguna de las siguientes características en cualquier parte del cuerpo			
☐ Quemadura Necrosis (Tejido negro)	☐ Onicocriptosis	☐ Absceso	
☐ Fractura de hueso	☐ Herida	☐ Otro ¿Cuál?	



ANEXO 2

ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIDAD VALLE DORADO, CAMPUS ENSENADA**

DATOS EPIDEMIOLOGICOS

¿Alguna vez ha sido diagnosticado con <i>S. aureus</i> ? ☐ No ☐ Si----->Fecha: __/__/__		
¿Algún miembro de su familia trabaja en una institución de salud pública? Ejemplos: (Seguro social, hospital general, ISSTECAI, etc.) ☐ No ☐ Si		
¿Ha tenido contacto con alguna persona que estuviera enferma? ☐ No ☐ Si		
Si respondió (si) a la pregunta anterior ¿En cuál de los siguientes lugares? ☐ Trabajo ☐ Banco ☐ Gimnasio ☐ Casa ☐ Restaurante ☐ Otro ¿Cuál?		
¿Ha consumido algún alimento preparado por alguna persona que estuviera enferma? ☐ No ☐ Si		
Si respondió (si) a la pregunta anterior ¿Cuál de los siguientes lugares? ☐ Casa ☐ Restaurante ☐ Otro: ¿Cuál? ☐ Taquería ☐ Puesto ambulatorio		
¿Ha asistido o asiste a baños públicos, saunas, jacuzzi, etc.? ☐ No ☐ Si		
¿Practica algún deporte de contacto (fútbol, béisbol, box, etc.)? ☐ No ☐ Si		
¿Tiene mascotas o contacto frecuente con animales? ☐ No ☐ Si		
☐ Perro ☐ Ave ☐ Crustáceo ☐ Gato ☐ Reptil ☐ Pez		
¿Le ha producido alguna herida en el cuerpo? ☐ No ☐ Si		
Si respondió (si) a la pregunta anterior ¿Cuál de los siguientes lugares? ☐ Brazos ☐ Espalda ☐ Piernas ☐ Estomago ☐ Cara ☐ Manos		

DATOS DE QUIEN APLICA LA ENCUESTA

Nombre y apellido: _____
Cargo desempeñado: _____
Unidad medica: _____
Fecha: _____