

## ARTÍCULO ORIGINAL

# TIPIFICACIÓN DEL CASSETTE CROMOSÓMICO ESTAFILOCÓCICO DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES AL METICILINO EN EL ESTADO DE ARAGUA, VENEZUELA

Betsi Bastidas <sup>1,a</sup>, María V. Méndez <sup>1,b</sup>, Ysvette Vásquez <sup>2,a</sup>, Dayana Requena <sup>3,c</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Aragua, Venezuela.

<sup>2</sup> Laboratorio de Bacteriología, Hospital de los Samanes, Aragua, Venezuela.

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas Dr. Francisco Triana, Universidad de Carabobo, Aragua, Venezuela.

<sup>a</sup> Magister en Medicina Veterinaria; <sup>b</sup> doctora en Ciencias; <sup>c</sup> magister en Ciencias Biomédicas.

## RESUMEN

**Objetivos:** Tipificar el cassette SCCmec en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilino (SARM) en aislados clínicos de centros de salud del Estado Aragua-Venezuela y comparar la presencia de los genotipos SCCmec entre los centros de salud del estado y según el tipo de infección. **Materiales y métodos:** Durante enero y agosto de 2015 se estudiaron 81 cepas SARM de cuatro centros de salud del estado de Aragua en Venezuela. La resistencia al meticilino se midió con el método de Kirby-Bauer con discos de oxacilina (1 µgr) y cefoxitina (30 µgr). El gen *mecA* y el SCCmec se analizaron por la técnica de reacción en cadena de polimerasa múltiple. **Resultados:** 55 aislados (67,9%) amplificaron el gen *mecA*, y 24 cepas (43,6%) amplificaron el SCCmec. El SCCmec I fue el más frecuente, seguido de SCCmec IV y SCCmec III, representaron el 62,5%, 25% y 12,5%, respectivamente. El SCCmec I fue predominante en el centro de salud A (80%), mientras que el SCCmec IV se encontró en el centro de salud B (60%) y C (100%). En el centro de salud D, 50% resultó ser SCCmec I y 50% SCCmec IVd. Se encontró relación entre el SCCmec y el centro de salud con significancia estadística. En infecciones de piel y tejidos blandos y en las respiratorias predominó el SCCmec I con 63,2% y 50% respectivamente. **Conclusiones:** La frecuencia de SCCmec I y IV permitirá establecer nuevas medidas en el uso y control de la resistencia a los antibióticos.

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus*; SCCmec; Gen *mecA*; Epidemiología Molecular; *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (fuente: DeCS BIREME).

## TIPIFICATION OF THE STAPHYLOCOCCAL CHROMOSOME CASSETTE OF METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* IN THE STATE OF ARAGUA, VENEZUELA

## ABSTRACT

**Objective:** Typify the SCCmec cassette in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* in clinical isolates from health centers in the State of Aragua-Venezuela and compare the presence of SCCmec genotypes among the state health centers and according to the type of infection. **Materials and methods:** 81 MRSA strains from four health centers of the Aragua-Venezuela State were studied. Methicillin resistance was performed with the Kirby-Bauer method with oxacillin (1 µg) and cefoxitin (30 µg) disks. The *mecA* gene and SCCmec were analyzed by the multiple PCR technique. **Results:** Only 55 isolates (67.9%) amplified the *mecA* gene, and 24 strains (43.6%) amplified SCCmec. SCCmec type I was the most frequency, followed by SCCmec IV and SCCmec III, representing 62.5%, 25% and 12.5%, respectively. SCCmec I was predominant in health center A (80%), while in B and C 60% and 100% respectively were SCCmec IV. At health center D, 50% turned out to be SCCmec I and 50% SCCmec IVd. A relationship was found between the SCCmec and the health center with statistical significance. SCCmec I predominated in skin and soft tissue and respiratory infections with 63.2% and 50%, respectively. There was no association between genotype and type of infection with a p value greater than 0.05. **Conclusions:** The prevalence of SCCmec I and IV will allow establishing new measures in the use of antibiotics and epidemiological control.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*; SCCmec; *mecA* gene; Molecular Epidemiology; *Staphylococcus aureus* methicillin resistant (source: MeSH NLM).

**Citar como:** Bastidas B, Méndez MV, Vásquez Y, Requena D. Tipificación del cassette cromosómico estafilocócico de *Staphylococcus aureus* resistentes al meticilino en el estado de Aragua, Venezuela. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2020;37(2):239-45. doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.372.4652>

**Correspondencia:** María V. Méndez; [mvmendezster@gmail.com](mailto:mvmendezster@gmail.com)

## INTRODUCCIÓN

El *Staphylococcus aureus* resistente al meticilino (SARM) es un problema de salud pública en el mundo, que causa infecciones graves en los centros hospitalarios y en la comunidad. En el

**Recibido:** 07/07/2019  
**Aprobado:** 08/04/2020  
**En línea:** 15/06/2020

2018, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que la probabilidad de morir de los pacientes con infecciones por SARM es un 64% superior a los pacientes con infecciones no resistentes<sup>(1)</sup>. Asimismo, para el 2017 la OMS incluyó al SARM en la lista de los doce patógenos más peligrosos para la salud humana por su resistencia a los antibióticos<sup>(2)</sup>.

La resistencia a la meticilina se debe a que la bacteria sintetiza una proteína fijadora de penicilina conocida como PB-P2a, que posee baja afinidad a la meticilina y al resto de los antibióticos betalactámicos, lo que impide el ingreso de este tipo de antibióticos al interior de la célula bacteriana para ejercer su efecto antimicrobiano. La PBP2a es codificada por el gen *mecA*, que se encuentra dentro de un elemento cromosómico móvil, denominado cassette cromosómico estafilocócico (*SCCmec*). El gen *mecA* se encuentra distribuido tanto en el *S. aureus* como en otras especies de estafilococos coagulasa negativa resistentes al meticilino<sup>(3,4)</sup>.

El *SCCmec* puede medir entre 21 y 67 Kb, y tiene un conjunto de genes como el *ccr* (*ccrAB* y *ccrC*) que codifican recombinasas, además del complejo *mec* que contiene al gen *mecA*, sus genes reguladores (*mecI*, *mecR*), los determinantes genéticos adquiridos, que se producen como resultado de la integración de plásmidos y transposones, y finalmente, la secuencia de la región J<sup>(5)</sup>. La importancia de conocer la constitución del *SCCmec* reside en que de acuerdo a los eventos de recombinación entre los genes *ccr* y *mecA* se han generado una variedad de *SCCmec* que permiten clasificar el SARM según el *SCCmec* que posee. En ese sentido, se describieron inicialmente cinco tipos de *SCCmec* (I-V) y un determinado número de variantes o subtipos<sup>(5,6)</sup>; sin embargo, recientemente se publicaron nuevos tipos como *SCCmec* VI-XI<sup>(7)</sup>.

Además, los *SCCmec* se diferencian entre sí por sus determinantes de resistencia, de tal manera que los *SCCmec* I, IV, V, VI y VII codifican para resistencia exclusivamente a los antibióticos betalactámicos mientras que los *SCCmec* II, III y VIII poseen genes adicionales de resistencia a múltiples clases de antibióticos distintos a los antibióticos betalactámicos<sup>(5,8)</sup>.

Por otra parte, las cepas del SARM pueden ser adquiridas en el ambiente hospitalario (SARMAH) o en la comunidad (SARMAC). El SARMAC se caracteriza por ser sensible a múltiples antibióticos y, generalmente, solo es resistente a antibióticos betalactámicos, causa infecciones de piel y partes blandas, incluso casos graves de neumonía necrotizante, fascitis necrotizante, tromboflebitis séptica y sepsis<sup>(9,10)</sup>. El SARMAH es resistente a varios grupos de antibióticos, además de los betalactámicos, y está relacionado con pacientes que presentan factores de riesgo como el consumo elevado de antibióticos, estancias hospitalarias prolongadas, procedimientos invasivos (catéteres intravenosos, sondas urinarias, traqueotomía), úlceras de decúbito, enfermedades graves y contacto con pacientes colonizados por el SARM<sup>(9,10)</sup>. Asimismo, el SARM-AC es portador de los *SCCmec* IV y V<sup>(5)</sup>, mientras que las cepas del SARMAH tienen el *SCCmec* I, II o III<sup>(11)</sup>.

## MENSAJES CLAVE

**Motivación para realizar el estudio:** El *Staphylococcus aureus* resistente al meticilino (SARM) es un problema de salud pública. La resistencia al antibiótico se debe al gen *mecA* ubicado en el cassette cromosómico *SCCmec*. El tipo *SCCmec* diferencia entre el SARM adquirido en el hospital o en la comunidad, y predice los posibles genes de resistencia a antibióticos diferentes a los betalactámicos. Pocos estudios se han hecho en Venezuela, y en el estado de Aragua es la primera investigación que se realiza en cuatro hospitales.

**Principales hallazgos:** El hallazgo fue la alta frecuencia del SARM con *SCCmec* I de origen hospitalario.

**Implicancias:** La investigación contribuirá a establecer medidas para el control epidemiológico y para el uso de antibioticoterapia en cuatro centros de salud del estado de Aragua, Venezuela.

La tipificación molecular del *SCCmec* se realiza por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), empleando la técnica de PCR múltiple, que permite determinar de manera simultánea diferentes tipos de *SCCmec*, de gran utilidad en estudios epidemiológicos<sup>(12,13)</sup>. En ese sentido, Acuña *et al*<sup>(14)</sup>, aplicaron la técnica de PCR múltiple para tipificación de *SCCmec* en 21 cepas del SARM aisladas en el laboratorio de bacteriología de un hospital en Cumaná, en el estado de Sucre, donde encontraron *SCCmec* I y IV en pacientes ambulatorios y de la emergencia de adultos. La presencia de genotipos *SCCmec* IV indicó que los aislamientos eran de origen comunitario y se estaban diseminando a los servicios hospitalarios, produciendo infecciones nosocomiales. En el estado de Zulia, González *et al*<sup>(15)</sup>, caracterizaron los *SCCmec* de 54 cepas SARM por PCR múltiple y evidenciaron que el 54% tenían *SCCmec* IV; el 40%, *SCCmec* I; mientras que un 4% y 2%, el *SCCmec* IA y el *SCCmec* IIIB, respectivamente.

En el estado de Aragua no se han realizado estudios previos que hayan determinado el tipo de *SCCmec* circulante en los centros de salud de la región, razón por la cual el objetivo de la presente investigación fue tipificar el *SCCmec* en cepas del SARM aisladas de centros de salud de Aragua.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

El estudio fue descriptivo y de corte transversal, realizado entre enero y agosto del 2015 en pacientes que asistieron a cuatro centros de salud del estado Aragua, en Venezuela, denominados A, B, C y D en la presente investigación. El centro de salud A es un hospital privado que cuenta con 72 camas, consulta ambulatoria y hospitalización. El centro de salud B es un centro de atención público para pacientes con

complicaciones de pie diabético, que atiende en promedio 70 personas por día y no posee hospitalización. El centro de salud C es público, de atención preventiva para pacientes adultos y pediátricos con capacidad de atención para 2000 personas, mientras que el centro D es público y el más grande de la región, tiene capacidad de atención para 400 000 personas y 551 camas de hospitalización.

El aislamiento de las cepas de estafilococos se realizó de muestras de infecciones de piel, tejido blando, secreciones óticas, oculares, respiratorias, catéteres, entre otras; se identificó si las muestras procedían de pacientes hospitalizados o ambulatorios.

Estas muestras fueron inoculadas en placas de agar sangre e incubadas de  $35 \pm 2$  °C en aerobiosis durante 16-18 horas. Para la identificación bacteriana se emplearon los procedimientos estándares descritos en la literatura (16). Finalmente, de un total de 404 cultivos positivos para estafilococos, en 324 se aisló el *S. aureus*. Las cepas fueron preservadas a -20 °C en glicerol hasta el momento del estudio.

### Prueba de susceptibilidad antimicrobiana

Se aplicó el método de difusión de disco en agar o Kirby-Bauer, siguiendo los lineamientos del Instituto para la Estandarización de Laboratorios Clínicos para la identificación de SARM (17). Se utilizó el disco de cefoxitina de 30 µg (BD) y de oxacilina de 1 µg (BD). La cepa control utilizada fue *S. aureus* ATCC 25923.

### Extracción del ADN

Se realizó a partir de un cultivo puro del SARM en agar sangre luego de 18-24 horas de incubación. Se preparó una sus-

pensión en un tubo Eppendorf, tomando de 1 a 5 colonias del microorganismo que se colocaron en 50 µL de agua destilada estéril; posteriormente se sometió a ebullición a 99 °C por 10 min. Finalmente, se centrifugó a 30 000 / g por 1 min y se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo Eppendorf. El ADN concentrado se preservó a -20 °C hasta el momento del ensayo (13).

### Detección del gen *mecA* y genotipos SCC*mec* de cepas SARM

El ensayo de PCR múltiple para identificar el tipo de cassette SCC*mec* y las condiciones para la amplificación, se realizaron según la metodología descrita previamente por Zhang *et al* (13), y consistió en utilizar nueve pares de cebadores, incluyendo los cebadores específicos para los tipos y subtipos SCC*mec* I, II, III, IVa, IVb, IVc, IVd y V y los cebadores del gen *mecA*. Se amplificaron ocho *loci* distintos, con base en las secuencias que se presentan en la Tabla 1. Para la reacción de PCR se utilizaron las siguientes condiciones: para la mezcla Máster Mix, 50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl (pH 8,4); 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de cada desoxinucleótidos trifosfato (dATP, dUTP, dGTP y dCTP). Las concentraciones de los cebadores se encuentran en la Tabla 1. Adicionalmente, se utilizó una unidad de Go Taq Flexi DNA Polymerase\* (Promega Corp., EUA).

Para el control de calidad de las pruebas de tipificación molecular se emplearon las cepas del *S. aureus* ATCC 259233 (sensible al meticilino) como control negativo y del *S. aureus* ATCC 43300 (resistente al meticilino) como control positivo del gen *mecA*. El producto de la amplificación se sometió a

**Tabla 1.** Secuencias de los iniciadores que amplifican cada uno de los locis del cassette cromosómico estafilocócico (SCC*mec*)

Primers	Secuencia 5'-3'	Concentración (uM)	Tamaño amplificado	Tipo SCC <i>mec</i>
Type I-F Type I-R	GCTTTAAAGAGTGTTCGTTACAGGTTCTCTCATAGTATGACGTC	0,048	613 pb	SCC <i>mec</i> I
Type II-F Type II-R	CGTTGAAGATGATGAAGCGCGAAATCAATGGTTAATGGACC	0,032	398 pb	SCC <i>mec</i> II
Type III-F Type III-R	CCATATTGTGTACGATGCGCCTTAGTTGTGCGTAACAGATCG	0,042	80 pb	SCC <i>mec</i> III
Type IVa- F Type IVa- R	GCCTTATTTCGAAGAAACCGCTACTCTCTGAAAAGCGTCG	0,104	776 pb	SCC <i>mec</i> Iva
Type IVb- F Type IVb- R	TCTGGAATTACTTCAGCTGCAAACAATATTGCTCTCCCTC	0,092	493 pb	SCC <i>mec</i> IVb
Type IVc- F Type IVc- R	ACAATATTTGTATTATCGGAGAGCTTGGTATGAGGTATTGCTGG	0,078	200 pb	SCC <i>mec</i> IVc
Type IVd- F5 Type IVd- R6	CTCAAAATACGGACCCCAATACATGCTCCAGTAATTGCTAAAG	0,28	881 pb	SCC <i>mec</i> IVd
Type V- F Type V- R	GAACATTGTTACTTAAATGAGCGTGAAAGTTGTACCCTTGACACC	0,06	325 pb	SCC <i>mec</i> V
MecA147-F MecA147-R	GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATTATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T	0,046	147 pb	<i>mecA</i>

Fuente: Zhang *et al* (13)

migración electroforética en geles de agarosa al 2% a 100 v por 30 min. Se utilizó un marcador de tamaño molecular de 100 pb (New England Biolabs, Inc). Finalmente, la longitud del amplicón se comparó con los valores en el tamaño molecular registrados en la tabla 1 correspondientes al gen *mecA* y los tipos y subtipos de *SCCmec*.

### Análisis estadístico

Se utilizó una base de datos en Excel 2007 de Windows XP, donde se recopiló la procedencia de las cepas del SARM. El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa EpiInfo 3.5.1. Se realizaron análisis descriptivos con frecuencias y porcentajes. Se utilizó la prueba de Chi cuadrado con un nivel de significancia de  $p < 0,05$  para determinar si existen diferencias según algunas características en la procedencia de las cepas.

### Aspectos éticos

El proyecto fue evaluado y aprobado por el comité de Bioética de la Coordinación de Docencia e Investigación del Servicio Autónomo Hospital Central de Maracay. Adicionalmente, los pacientes que participaron en el estudio firmaron un consentimiento informado.

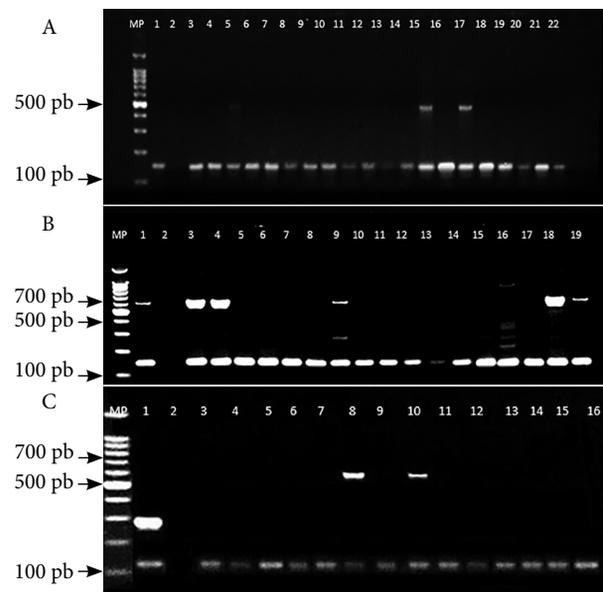
## RESULTADOS

Durante el período de estudio se analizaron un total de 404 cultivos positivos para estafilococos provenientes de los cuatro centros de salud del estado de Aragua, 80 cepas (19,8%) eran estafilococos coagulasa negativo (SCN) y 324 (80,2%) fueron *S. aureus*, de las cepas analizadas 81 (25%) fueron SARM.

La detección de la presencia del gen *mecA* arrojó como resultado que, de las 81 cepas del SARM, solo 55 aislados (67,9%) amplificaron el gen *mecA* y 26 (32,1%) no lo amplificaron, con un intervalo de confianza de entre 56,6% y 77,8% y con 95% de nivel de confianza. Entre los 55 aislados que dieron un resultado positivo para el gen *mecA*, solo 24 (43,6%) amplificaron algún tipo de *SCCmec*, mientras que en 31 aislados (56,4%) no se obtuvo amplificación con intervalos de confianza de entre 30,3% - 57,7% y 42,3%-68,7%, respectivamente (Figura 1A, B y C).

De las 24 cepas del SARM que amplificaron *SCCmec* se encontró que el cassette más predominante entre los aislados fue el cassette *SCCmec* tipo I, seguido de *SCCmec* IV (subtipos IVb y IVd) y *SCCmec* III representado por el 62,5%, 25% y 12,5%, respectivamente. No se encontraron los *SCCmec* II y *SCCmec* V (Tabla 2).

El mayor número de cepas del SARM en las que hubo amplificación de algún tipo de *SCCmec* fueron encontradas en el centro de salud A (15 cepas), donde se encontró que el *SCCmec* I fue predominante (80%), seguido del *SCCmec* III



**Figura 1.** Electroforesis en geles de agarosa al 2% de los productos de la amplificación por PCR de genotipos *SCCmec* y el gen *mecA*. A) MP: marcador de peso molecular de 100 pb; carril 1: control positivo; carril 2: control negativo; carriles 3 a 22 aislados SAMR donde se observa banda de 147 pb correspondiente al gen *mecA*; carriles 15 y 17 presentan banda adicional de 493 bp correspondiente al *SCCmec* IVb. B) MP: marcador de peso molecular de 100 pb; carril 1: control positivo; carril 2: control negativo; carriles 3 a 19 aislados SAMR donde se observa banda de 147 pb correspondiente al gen *mecA*; la banda de 881 pb es *SCCmec* IVd, de 613 pb es *SCCmec* I, de 395 pb corresponde a *SCCmec* II, de 325 pb es *SCCmec* V y de 200 pb IVc; carriles 1, 3, 4, 9, 18 y 19: cepas genotipo *SCCmec* I; carriles del 5 al 8, del 10 al 17: no hubo amplificación con los *SCCmec* incluidos en el estudio. C) MP: marcador de peso molecular de 100 pb; carril 1: control positivo; carril 2: control negativo; carriles 3 a 14 aislados SAMR donde se observa banda de 147 pb correspondiente al gen *mecA*; carriles 8 y 10: cepas genotipos *SCCmec* I.

(20%). En el caso del centro de salud B, un total de 5 cepas amplificaron *SCCmec*, donde se encontró que tres de ellas (60%) resultaron ser *SCCmec* IV (subtipos IVb e IVd) y 40%, *SCCmec* I. En cuanto al centro de salud C, se obtuvieron dos cepas SARM que amplificaron *SCCmec* IV, una amplificó el subtipo IVb y la otra el subtipo IVd. En el centro salud D, solo dos aislados del SARM amplificaron *SCCmec*, uno de ellos resultó ser *SCCmec* I y la otra cepa *SCCmec* IVd. Se encontró relación entre el genotipo aislado y el centro de salud ( $p = 0,032$ ) (Tabla 2).

De las 24 cepas analizadas, 19 se aislaron en piel y tejidos blandos, cuatro en infecciones respiratorias y 1 de hemocultivo. De los 19 aislados provenientes de piel y tejidos blandos, el *SCCmec* I fue el más predominante (63,2%), seguido de *SCCmec* IV (26,3%), donde 15,8% eran del subtipo IVb, y 10,5%, del subtipo IVd. En las muestras respiratorias se obtuvieron cuatro cepas que amplificaron *SCCmec*, de estas, dos (50%) portaban el *SCCmec* I, mientras que una resultó ser *SCCmec* III y una *SCCmec* IVd. No se encontró relación entre el genotipo y el tipo de infección ( $p = 0,870$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Frecuencia de genotipos del cassette cromosómico estafilocócico y su distribución según centros de salud y tipo de muestra

Característica	Tipo de cassette cromosómico estafilocócico (SCCmec)						Total n (%)
	I n (%)	II n (%)	III n (%)	IVb n (%)	IVd n (%)	V n (%)	
Número de aislamientos	15 (62,5)	0 (0)	3 (12,5)	3 (12,5)	3 (12,5)	0 (0)	24 (100)
Centro de salud							
A	12 (80)	0 (0)	3 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15 (100)
B	2 (40)	0 (0)	0 (0)	2 (40)	1 (20)	0 (0)	5 (100)
C	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	2 (100)
D	1 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	2 (100)
Tipo de muestra							
Hemocultivo	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
Piel y tejidos blandos	12 (63)	0 (0)	2 (10)	3 (16)	2 (10)	0 (0)	19 (100)
Respiratorio	2 (50)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	4 (100)

## DISCUSIÓN

El 25% del SARM en el presente estudio fue similar a los datos obtenidos por Dorante *et al*<sup>(18)</sup>, quienes encontraron que de 117 aislados de *S. aureus* en un hospital del estado de Aragua, 24,7% eran SARM. Asimismo, Chavez *et al*<sup>(19)</sup> reportaron que, en un hospital de Medellín (Colombia), de 35 aislados, 28,6% resultaron ser SARM. Sin embargo, Guillen *et al*<sup>(20)</sup> encontraron en su estudio en Paraguay que, de 77 cepas, el 18,7% fueron SARM, ligeramente más bajo al reportado en la presente investigación.

Por otra parte, la detección de SARM utilizando la identificación del gen *mecA* por la técnica de PCR, arrojó discrepancias con respecto a los resultados obtenidos con el uso de los discos de oxacilina y cefoxitina, ya que de los 81 aislados de SARM, solo 55 amplificaron el gen *mecA*. Otros estudios han reportado resultados similares, tal es el caso de Acuña *et al*<sup>(14)</sup>, quienes observaron que de 21 cepas SARM, solo 19 amplificaron el gen *mecA*. Caso contrario, las investigaciones de Chávez *et al*<sup>(19)</sup> y Guillen *et al*<sup>(20)</sup> reportaron que todas las cepas SARM estudiadas poseían el gen *mecA*. En el presente estudio, a las cepas que no amplificaron el gen *mecA* se les corroboró la identificación y sus perfiles fenotípicos de resistencia al metilino.

Según los resultados obtenidos, es posible que la resistencia esté relacionada a algún mecanismo diferente a la expresión de las PBP2a. Uno de ellos puede ser la hiperproducción de  $\beta$ -lactamasas por cepas de *S. aureus*, conocidas como BORSA (del inglés *Borderline oxacillinresistant S. aureus*)<sup>(21)</sup>. Adicionalmente, sería posible inferir que la ausencia de amplificación del gen *mecA* pueda deberse a que la cepa sea portadora del gen *mecC*, no detectable por los métodos convencionales, y responsable de un 2% de infecciones por SARM en humanos. El gen *mecC* presenta un 70% de

homología con el gen *mecA* y sintetiza una transpeptidasa con 60% de homología a la PBP2a<sup>(22)</sup>.

En relación con la tipificación del SCCmec, 24 cepas amplificaron algún tipo de SCCmec, encontrándose como más predominante el SCCmec I, seguido de SCCmec IV (subtipos IVb y IVd) y en menor proporción el SCCmec III. La distribución de los genotipos SCCmec fue diferente en los centros de salud A, B, C y D, siendo el centro de salud A en el que se concentró el mayor número de cepas, con un claro predominio del SCCmec I y, en menor frecuencia, del tipo III, lo que confirma su origen hospitalario y demuestra que aquellos aislados que portan el tipo III, deben poseer resistencia a una gran variedad de antibióticos diferentes a los  $\beta$ -lactámicos<sup>(5,8)</sup>. El centro B ocupó la segunda posición de acuerdo al total de aislados, con predominio de SCCmec tipo IV (subtipos IVb y IVd), seguido del tipo I. La presencia de SCCmec IV en el centro de salud B, un centro para pacientes ambulatorios con complicaciones de pie diabético, parece indicar su origen comunitario<sup>(5,8)</sup>. Sin embargo, en el mismo centro, el hallazgo de SCCmec I está relacionado con las cepas SARM-AH<sup>(5,8)</sup>, lo que pudiese predecir la posible diseminación de cepas adquiridas en el ambiente hospitalario en este centro de salud.

Adicionalmente, en los centros de salud C y D se encontró principalmente el SCCmec tipo IV. Sin embargo, fue bajo el número de cepas SARM asociadas a algún tipo de SCCmec, lo que pudo deberse a la escasez de recursos en los laboratorios de bacteriología que condicionan la detección e identificación de cepas SARM. La baja cantidad de cepas SARM y de SCCmec detectadas se considera una limitación para interpretar los resultados del presente estudio, por lo que serán necesarias nuevas investigaciones que permitan profundizar la distribución de SCCmec en ambos centros de salud, siendo el centro de salud D el más grande e importante de la región.

Los resultados relacionados con la alta frecuencia de SCCmec I son similares a los reportados en otras regiones de Venezuela y en otras ciudades del continente. De hecho, Acuña *et al.* <sup>(14)</sup>, encontraron en un hospital de la ciudad de Cumaná en Venezuela el predominio de SCCmec I (14 de 19 aislados SARM), seguido de SCCmec IV (3 de 19 cepas SARM). En Valdivia (Chile), se identificó la presencia de SCCmec I, seguido de SCCmec IV <sup>(23)</sup>. Las investigaciones citadas coinciden además con el predominio de SCCmec I hallado en el centro de salud A. Por otra parte, la presencia de SCCmec IV en los centros de salud B y C, coincide con lo planteado por Romero *et al.* <sup>(24)</sup> y Castellano *et al.* <sup>(25)</sup> en hospitales del estado de Zulia, así como con lo referido por Sánchez *et al.* <sup>(26)</sup> en hospitales de Medellín (Colombia). Un estudio realizado en un hospital de la ciudad de Cali (Colombia) <sup>(19)</sup>, reportaron que 26,6% de las cepas SARM portaban el SCCmec II, a diferencia de lo observado en el presente estudio, donde no se obtuvo en los cuatro centros de salud investigados. Este último resultado podría deberse a que existan diferencias en el predominio y distribución de SCCmec entre los hospitales y el área geográfica de referencia. De hecho, en los estudios publicados hasta la fecha en otras regiones de Venezuela no se ha identificado el SCCmec II <sup>(14,15,24,25)</sup>.

Identificar la presencia de SCCmec I en los centros de salud del estado de Aragua podría mejorar las opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones por SARM <sup>(5,8)</sup>. Sin embargo, la presencia de SCCmec IV también gana relevancia, por su resistencia exclusiva a los antibióticos betalactámicos y por estar relacionado con el SARM-AC <sup>(5,8)</sup>. Los aislamientos del SARM-AC que poseen SCCmec IV, y en menor frecuencia el tipo V, también presentan los genes de la toxina Leucocidina de Pantón-Valentine (LPV) <sup>(5)</sup>, mientras que las cepas del SARM adquirido en el ambiente hospitalario, poseen el SCCmec II o III, y en muy pocos casos se ha aislado la LPV <sup>(5,8)</sup>, es por ello que se ha propuesto que la determinación de LPV en cepas hospitalarias portadoras del SCCmec IV permite corroborar su origen y esclarecer el panorama epidemiológico <sup>(5,8)</sup>.

Relacionado al tipo de infección, la mayoría de las cepas tipificadas provenían de piel y tejidos blandos, con predominio del SCCmec I, confirmando el origen hospitalario de las

infecciones y proyectando el manejo de la antibioticoterapia, ya que el tipo I es portador de resistencia a antibióticos betalactámicos <sup>(5,8)</sup>. Los resultados del presente estudio difieren de los encontrados por Romero *et al.* <sup>(24)</sup>, quienes encontraron un alto porcentaje de aislamientos con SCCmec IV en muestras de piel y tejido blando.

De los 55 aislados SARM que amplificaron el gen *mecA*, en 56,4% no hubo amplificación del SCCmec, por lo que es posible inferir que se emplearon los cebadores para detectar los SCCmec del I al V y sus subtipos propuestos por Zhang *et al.* <sup>(13)</sup>, lo que representó otra limitación para el presente estudio, por lo que se sugiere aplicar los cebadores específicos para los nuevos SCCmec descritos <sup>(7)</sup>. La posible existencia de otros SCCmec indicaría la presencia de otros genotipos con nuevos determinantes de resistencia a antibióticos.

En conclusión, la identificación del SARM por tipificación de SCCmec, permitió evidenciar el predominio del SCCmec I y III relacionados al SARM adquiridos en el ambiente hospitalario y del SCCmec tipo IV asociado a la comunidad. Se evidenció que existe relación entre el genotipo aislado y el centro de salud. En muestras de piel y tejidos blandos predominó el SCCmec I; sin embargo, no se encontró relación entre los SCCmec y el tipo de infección.

Se recomienda llevar a cabo estudios prospectivos para la detección de SCCmec con la inclusión de los principales centros de salud de la región, el uso de métodos alternativos que verifiquen la metilino resistencia, y la introducción de los nuevos cebadores para la identificación de la existencia de otros SCCmec. Además, se recomienda incluir la valoración de hiperproducción de betalactamasas y la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias de oxacilina para aquellas cepas del SARM que no amplifican el gen *mecA*.

**Contribuciones de autoría:** BB, MVM, YV y DR han participado en la concepción del artículo, la recolección de datos, su redacción y aprobación de la versión final.

**Conflictos de interés:** Las autoras no presentan conflicto de interés en la publicación del artículo.

**Fuentes de financiamiento:** El estudio fue financiado por el Centro de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo-Venezuela (CDCHUC).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Organización Mundial de la Salud. 2018. Comunicado de Prensa. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>.
- Organización Mundial de la Salud. 2017. Comunicado de Prensa. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- Hiramatsu K, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends. Microbiol. 2001;9(10):486-493. doi: [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(01\)02175-8](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(01)02175-8).
- Cortés J, Gómez C, Cuervo S, Leal A. Implicaciones en salud Pública de *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad en Bogotá, Colombia. Rev. Salud Pública. 2007;9(3): 448-454. Disponible en: <https://www.scielosp.org/pdf/rsap/2007.v9n3/448-454/es>.
- Ito T, Katayama Y, Asada K, Namiko T, Kanae T, Chuntima T *et al.* Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 2001;45(5):1323-1336. doi: 10.1128/AAC.45.5.1323-1336.2001.

6. Oliveira D, Tomasz A, De Lancastre H. The evolution and pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Identification of two ancestral genetics backgrounds and the associated *mec* elements. *Microb Drug Resist.* 2001;7(4):349-361. doi: 10.1089/10766290152773365.
7. Liu J, Chen D, Peters B M, Li L, Li B, Xu Z, et al. Staphylococcal chromosomal cassettes *mec* (SCC*mec*): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog.* 2016;101:56-67. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.10.028>.
8. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Conly JM. Novel staphylococcal cassette chromosome *mec* type, tentatively designated type VIII, harboring class A *mec* and type 4 *ccr* gene complexes in a Canadian epidemic strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(2):531-540. 10.1128/AAC.01118-08.
9. Canoa M, Domínguez M, Ezpeletac C, Padillal B, Arellano E y Martínez L. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(4):220-229. doi: 10.1016/S0213-005X(08)72694-6.
10. Pérez N, Pava N, Rodríguez E. Resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos en un hospital de la Orinoquia colombiana. *Asociación Colombiana de Infectología. Rev Infect.* 2010;14(3):167-173. doi: 10.1016/S0123-9392(10)70108-9.
11. Cavalcante F, Schuenck R, Caboclo R, Ferreira D de C, Nouér S, Dos Santos K. Tetra cycline and trimethoprim/sulfamethoxazole at clinical laboratory: can they help to characterize *Staphylococcus aureus* carrying different SCC*mec* types?. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46(1):100-102. doi: 10.1590/0037-868216062013.
12. Faria N, Carrico J, Oliveira D, Ramírez M, De Lancastre H. Analysis of typing methods for epidemiological surveillance of both methicillin-resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(1):136-144. doi: 10.1128/JCM.01684-07.
13. Zhang K, McClure J, Elsayed S, Louie T. Novel Multiplex PCR Assay for Characterization and Concomitant Subtyping of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Types I to V in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J. of Clin. Microbiol.* 2005;43(10):5026-5033. doi: 10.1128/JCM.43.10.5026-5033.2005.
14. Acuña S, Sánchez E y Patiño L. Tipificación de la metilino resistencia en cepas de *Staphylococcus* spp. Hospital Universitario de Alcalá, Cumana, Estado Sucre, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol. Caracas.* 2014;34(1):1-8. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/rsvm/v34n1/art03.pdf>.
15. González M, Cavazza M, Perozo A. Tipo de cassette cromosómico estafilocócico en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilino. *Kasmera.* 2014;42(2):116-130. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/km/v42n2/art04.pdf>.
16. Koneman E., Allen S., Janda, W., Schreckenber P y Winn W. *Diagnóstico Microbiológico.* (5ª Ed.). Madrid: Panamericana; 2008.
17. Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Normas de funcionamiento de los antimicrobianos, Las pruebas de susceptibilidad de disco. Undécima edición. Estados Unidos. Estados Unidos; 2012.
18. Dorante V, Hurtado E, Martínez B, Méndez MV. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* metilino resistente en pacientes que asisten al laboratorio de microbiología del hospital "Los Samanes" estado Aragua. *Odous Científica.* 2013;14(1):29-36. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/vol14-n1/art04.pdf>.
19. Chávez M, Martínez A, Esparza M. Caracterización de *Staphylococcus aureus* obtenido del ambiente hospitalario y del personal de salud en un Hospital de la Ciudad de Cali. *Rev Biosalud.* 2017;16(2):22-33. doi: 10.17151/biosa.2017.16.2.3.
20. Guillén R, Carpinelli L, Rodríguez F, Castro H, Quiñónez B, Campuzano A. *Staphylococcus aureus* adquiridos en la comunidad: caracterización clínica, fenotípica y genotípica de aislados en niños paraguayos. *Rev Chilena Infectol.* 2016;33(6): 609-618. doi: 10.4067/S0716-10182016000600002.
21. Velásquez-Meza, M. Surgimiento y Diseminación de *Staphylococcus aureus* metilino resistente. *Salud Pública Mex.* 2005;47:381-387. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v47n5/28384.pdf>.
22. Ito T, Hiramatsu K, Tomasz A, de Lancastre H, Perreten V, Holden M T, et al. Guidelines for reporting novel *mecA* gene homologues. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(10):4997-4999. doi: 10.1128/AAC.01199-12.
23. Medina G, Egea A L, Otth C, Otth L, Fernández H, Bocco J L, et al. Molecular epidemiology of hospital-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Southern Chile. *Eur J Clin Microbiol Dis.* 2013;32(12):1533-1540. doi: <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1907-8>.
24. Romero A, Castellano M, Perozo M, Armindo J, Rincón G, Zabala D. Detección de cassette cromosómico en cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilino aisladas en un hospital universitario de la ciudad de Maracaibo. *Kasmera.* 2018; 46(1):40-51. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/24652/pdf>.
25. Castellano M, Cavazza J, Porro M, Perozo M, Armindo J. Tipo de cassette cromosómico estafilocócico en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilino. *Kasmera.* 2014;42(2):116-130. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/19528/19492>.
26. Sánchez M, Hernández O, Velásquez L, Rivas D, Marín A, González L, et al. Caracterización del gen *mecA* de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilino aislados de tres grupos poblacionales de la ciudad de Medellín. *Infectio.* 2013;17(2):66-72. doi: 10.1016/S0123-9392(13)70165-6.