

Artículo original

Tipificación de la metilino resistencia en cepas de *Staphylococcus* spp. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre, Venezuela

Saraí del Valle Acuña Ramírez^a, Elia Sánchez^b, Lorena Abadía-Patiño^{a,*}

^aInstituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA), Universidad de Oriente, Cumaná, estado Sucre.

^bHospital “Santos Aníbal Dominici”, Carúpano, estado Sucre, Venezuela.

Recibido 3 de junio de 2013; aceptado 2 de diciembre de 2013

Resumen: *Staphylococcus* spp. figura entre las bacterias patógenas más importantes para el ser humano. La caracterización molecular de cepas de *Staphylococcus* metilino resistentes (SMR) es necesaria para conocer qué tipo de complejo cromosómico estafilocócico que transporta el complejo *mec* (*SCCmec*) circula en una región. Se estudiaron 21 cepas de *S. aureus* y 29 de *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) aisladas en el Laboratorio de Bacteriología del HUAPA (enero a julio 2007) resistentes a metilino. Se les realizó antibiograma, PCR múltiple y concentración mínima inhibitoria (CMI) a las cepas positivas para *mecA*. 19 cepas de *S. aureus* y 24 de SCN fueron resistentes a oxacilina, correlacionándose con la presencia del gen *mecA* principalmente en *S. aureus*; algunas discordancias fueron observadas en SCN. Solo se identificaron *Staphylococcus SCCmec* tipo I y IV. La caracterización del *SCCmec* permitió conocer el tipo de *Staphylococcus* circulante en el hospital, lo que hará posible monitorear cambios futuros en estas cepas.

Palabras clave: *Staphylococcus*, *mecA*, metilino, *SCCmec*.

Typification of methicillin-resistance in *Staphylococcus* spp. strains isolated from University Hospital “Antonio Patricio de Alcalá” in Cumana, Sucre State, Venezuela

Abstract: *Staphylococcus* spp. figures as one of the most important bacteria for human beings. The molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* strains (MRS) is necessary for knowing what type of staphylococcal chromosomal complex transporting the *mec* complex (*SCCmec*) circulates in a certain area. Twenty one methicillin-resistant *S. aureus* and 29 coagulase negative (CNS) *Staphylococcus* strains isolated at the Bacteriology Laboratory of the HUAPA were studied during the January-July 2007 period. The study included antibiogram, multiple PCR, and minimum inhibitory concentration (MIC) determination of the *mecA* positive strains; 19 *S. aureus* and 24 CNS strains were oxacillin resistant, correlated with the presence of the *mecA* gene, mainly in *S. aureus* since some discordances were observed with the CNS strains. Only *Staphylococcus SCCmec* type I and II were identified. The *SCCmec* characterization identified the *Staphylococcus* type circulating in the hospital, possibilitating the monitoring of future changes of these strains.

Keywords: *Staphylococcus*, *mecA*, methicillin, *SCCmec*.

* Correspondencia:
E-mail: labadia@udo.edu.ve

Introducción

Staphylococcus aureus, denominado a menudo estafilococo dorado, es responsable de un gran número de infecciones en humanos tales como septicemia, endocarditis y neumonía, siendo la lesión característica, el absceso o exudado piógeno [1]. Los estafilococos coagulasa negativos (SCN), en general, son menos invasores; pero, actualmente, se les señala con más frecuencia, como patógenos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos con graves infecciones

nosocomiales [2].

Poco después de la introducción de la penicilina en 1941, usada en la erradicación de las infecciones estafilocócicas, se reportó el aislamiento de una cepa resistente por producción de betalactamasas [3]. En 1959 apareció la metilino, y en 1961 fueron reportadas las primeras cepas de *S. aureus* resistentes a este antibiótico (SAMR) [4], convirtiéndolo en resistente a todos los betalactámicos, creando un problema clínico importante por las pocas opciones terapéuticas [5].

La resistencia adquirida a metilino en *S. aureus* depende

de una proteína específica de membrana denominada PBP2a o PBP2', la cual tiene afinidad reducida por los betalactámicos y es diferente a la PBP2. Dicha resistencia está codificada por el gen *mecA*, el cual está ubicado en un elemento exógeno de ADN, insertado en el cromosoma de *S. aureus* [6].

El complejo cromosómico estafilocócico (SCC) es un elemento genético móvil que transporta el complejo *mec*, constituido por los genes *mecA* y los genes regulatorios *mecR1* y *mecI*, además del complejo *ccr*, formado por los genes *ccrA* y *ccrB* (SCC*mec*). Han sido descritos once tipos de SCC*mec*, del I al XI, de acuerdo al complejo *mec* y al complejo *ccr* presente. El SCC*mec* tipo I corresponde al complejo *mecA* clase B y al complejo *ccr* tipo 1; el SCC*mec* tipo II complejo *mec* clase A y al complejo *ccr* tipo 2; el SCC*mec* tipo III al complejo *mec* clase A y al complejo *ccr* tipo 3; el SCC*mec* tipo IV al complejo *mec* clase B y al complejo *ccr* tipo 2 [7, 8]; el SCC*mec* tipo V correspondiente al complejo *mec* clase C2 y al complejo *ccr* tipo 5, que en lugar de tener los genes *ccrA* y *ccrB* lleva una copia de un gen homólogo, *ccrC* [9]; el tipo VI es similar al tipo IV pero con un nuevo tipo *ccrAB* [10]; el tipo VII es análogo al tipo V, variando el complejo *mec* que es clase C1 [11]; el tipo VIII el cual pertenece al complejo *mec* clase A y el complejo *ccr* tipo 4 [12]. Tipos adicionales de SCC*mec*, *mec* y *ccr* no se han descrito en la literatura; son enumerados en el sitio web por el International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements [13]. Debido a la extensa diversidad genética que se ha observado en la organización de los elementos SCC*mec*, el IWG-SCC estableció criterios estándares para la clasificación de los mismos [14].

La caracterización molecular de cepas de SMR es necesaria para conocer el tipo de SCC*mec* que circula en una región, y para monitorear cambios futuros; debido a esto se realizó la caracterización molecular de cepas de SMR aislados en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (HUAPA) en Cumaná, estado Sucre.

Materiales y métodos

Recolección de cepas: Se recolectaron todas las cepas de SMR aisladas en el Laboratorio de Bacteriología del HUAPA, durante un período de siete meses (enero a julio de 2007).

Realización de antibiogramas: Los antibiogramas se llevaron a cabo por el método de Kirby-Bauer [15]. Los antibióticos utilizados fueron: oxacilina (1 µg) y cefoxitina (30 µg), colocados según las normas establecidas por el Manual M2-A9 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés) [14]. La cepa control utilizada fue *S. aureus* ATCC 25923.

Extracción de ADN: El ADN patrón se obtuvo extrayendo el ADN total de las cepas utilizando el Kit Wizard Genomic

DNA Purification (Madison, WI, USA) Promega®.

Identificación molecular del SCC*mec* en cepas SMR: Los oligonucleótidos utilizados y las condiciones de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) para la amplificación del gen *mecA*, así como los diferentes loci fueron establecidas según metodología conocida [8]. Se utilizaron tres cepas controles meticilino resistentes: *S. aureus* 77906 (SAMR-heterorresistente), 77907 (SAMR-hospitalaria) y 77908 (SAMR-comunitaria), y un control negativo, *S. aureus* ATCC 25923. Las cepas 77906, 77907, 77908 fueron suministradas por el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" como cepas multirresistentes. Las PCR se realizaron por triplicado.

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI): Las CMI para oxacilina se determinaron de acuerdo a lo recomendado por el Manual del CLSI y la lectura fue interpretada bajo los criterios del M7-A7 del mismo manual [16], utilizando como cepas controles *S. aureus* 77906 (positivo) y *S. aureus* ATCC 29213 (negativo).

Resultados y discusión

En el Laboratorio de Bacteriología del HUAPA se aislaron 50 cepas de *Staphylococcus* presuntivamente meticilino resistentes durante un período de siete meses (enero a julio 2007): 21 *S. aureus* (21,8%) y 29 SCN (11,3%), de los cuales 19 cepas de *S. aureus* y 22 cepas de SCN resultaron meticilino resistentes. En las tablas 1 y 2 se detallan tanto los servicios como la procedencia de las cepas. Hubo predominio en muestras provenientes de Emergencia de Adultos, Ambulatorios y Medicina A. Con respecto al tipo de muestra de donde se aislaron las cepas de *S. aureus*, se observó correlación con otro estudio realizado en el país, donde la mayoría de estas muestras fueron obtenidas de secreciones, catéteres, exudados y esputo [17].

En el caso de los SCN, la mayoría de las cepas provenían de la de la Unidad Neonatal (UN), con escasos aislados en los demás servicios aunque con predominio de pediatría, coincidiendo con lo reportado tanto a nivel nacional como internacional, como los servicios donde es más susceptible que ocurran infecciones por SCN, seguidos de las unidades de cuidados intensivos (UCI), y pacientes en diálisis o inmunocomprometidos [18]. La mayoría de las cepas de SCN provenían de hemocultivos.

Este trabajo fue realizado en el año 2007 siguiendo las normas establecidas por el Manual M2-A9 del CLSI [15], es por ello que se colocaron tanto el disco de oxacilina como el de cefoxitina; actualmente el manual M100-S23 del CLSI [19], establece que el disco de oxacilina no es confiable; sólo se debe utilizar el disco de cefoxitina e informarlo como oxacilina resistente o sensible. Se observó concordancia entre el fenotipo y el genotipo en la mayoría de las cepas de *S. aureus*, salvo en la cepa 116, que era meticilino resistente en el antibiograma y no amplificó el gen *mecA* (Tabla 1 y figura 1); a esta cepa se le realizó una comprobación fenotípica de

Tabla 1. Tipo de muestra, servicio, fenotipo, genotipo, tipo de SCCmec, CMI y loci amplificados en cepas de *Staphylococcus aureus*. Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá". Cumaná. Venezuela. Enero a julio de 2007.

Cepa	Servicio	Muestra	Oxa	Fox	<i>mecA</i>	SCCmec	CMI	Loci
1D1	MA	Espuito	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A,D
1D2	UCI	Sec. Bronquial	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1D3	TS	Sec. Bronquial	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1D4	Diá	Catéter	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	A
1D5	UCI	Catéter	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, C, D
1D6	CB	Sec. Úlcera	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1D7	EA	Sec. Absceso	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1D8	MA	Sec. Pie diabético	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1D9	Med A.	Granulomatosis	R	R	+	ND	256 mg/L	-
1E10	PB	Sec. Absceso	S	S	-	NA	-	A
1I5	PB	Sec. Pie diabético	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, C, D
1I6	CDI	Sec. Absceso	R	R	-	NA	-	C
1G3	CB	Sec. Quemaduras	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1G6	EA	Sec. Músculo	R	R	+	I	256 mg/L	A, D
1G7	PA	Catéter	R	R	+	IV	64 mg/L	D
1G9	MC	Sec. Hemicadera	R	R	+	IV	256 mg/L	D
1G10	OA	Catéter	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D
1H1	Vet	Sec. Exceso	R	R	+	I	2 mg/L	A, D
1H2	Vet	Sec. Pulgar	R	R	+	IV	128 mg/L	D
1H5	EA	Catéter	R	R	+	I	64 mg/L	A, D
1H9	EA	Sec. Pierna	R	R	+	I	64 mg/L	A, D

MA= Medicina A, UCI= Unidad de Cuidados Intensivos, TS= Trauma Shock, Diá= Diálisis, CB= Cirugía Blanda, EA= Emergencia Adultos, Med A= Medicina Adultos, PB= Pediatría B, PA= Pediatría A, CDI= Centro Médico de Diagnóstico Integral, MC= Medicina C, OA= Observación Adultos, Vet= Hospital de Veteranos, Sec= secreción, Oxa=Oxacilina, Fox=Cefoxitina, R=Resistente, S= Sensible, ND= No determinado, NA= No aplica.

producción de betalactamasa resultando positiva. Las cepas con falso positivo para la meticilino resistencia, pueden ser el resultado de una sobreproducción de penicilinas, sobreexpresión o alteraciones de PBP constitutivas, ya que está demostrado que las penicilinas estables a penicilinasas se pueden ver alteradas cuando estas enzimas están presentes [20]. Las CMI para oxacilina en cepas *S. aureus* y SCN se muestran en las tablas 1 y 2, respectivamente.

En los SCN hubo 10 casos de discordancia en la detección de la meticilino resistencia; siete SCN resultaron negativos para el gen *mecA* y fenotípicamente fueron resistentes a oxacilina y cefoxitina en el antibiograma. La cepa 1E4 tuvo disociación entre los discos de oxacilina y cefoxitina resultando sensible a cefoxitina, distinto a lo que indica Dourado *et al.* [20], quienes reportaron la importancia del disco de cefoxitina para inducir la expresión del gen *mecA* en SCN. La mayoría de las cepas de *S. aureus* presentaron resistencia homogénea, excepto la cepa 1H1 que fue heterorresistente, mientras que en SCN hubo mayor

número de cepas heterorresistentes, clasificadas de acuerdo a los resultados obtenidos en la CMI para oxacilina, según Tomasz *et al.* [21]. Las cepas 1E1, 1I7, 1J2 y 1G4, a pesar de poseer el gen *mecA*, mostraron CMI susceptibles, y fueron consideradas premetilino resistentes; este fenómeno ha sido descrito sólo en cepas de *S. aureus* con transcripción fuertemente reprimida por los genes reguladores [22].

Los loci amplificados en las cepas de *S. aureus* aisladas fueron A y D, ubicándolas como SCCmec tipo I y tipo IV (Tabla 1 y figura 1).

En la caracterización molecular de cepas de *S. aureus*, las cepas 1D1, 1D2, 1D3, 1D6, 1D7, 1D8, 1G3, 1G6, 1G10, 1H1, 1H5 y 1H9 fueron SCCmec tipo I. La metodología utilizada no permite discriminar algunos subtipos; las cepas 1D5 y 1I5, presentaron loci A y D además del gen *mecA*, específicas de SCCmec tipo I, pero presentaron una banda extra, la cual corresponde al tamaño amplificado para el locus C, el gen regulador *mecI*. Estas cepas pudieran ser tipo I con una inserción del locus C y estar en presencia de

Tabla 2. Tipo de muestra, servicio, fenotipo, genotipo, tipo de SCCmec, CMI y loci amplificados en cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativa. Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá". Cumaná, Venezuela. Enero a julio de 2007

Cepa	Servicio	Muestra	Oxa	Fox	<i>mecA</i>	SCCmec	CMI	Loci	BD
1D10	UN	Hemocultivo	R	R	+	ND	2 mg/L	A,H	220pb
1E1	UN	Hemocultivo	S	S	+	ND	1 mg/L	A,F	260pb
1E2	UN	Hemocultivo	R	R	+	IV	8 mg/L	D	
1E3	MC	Hemocultivo	R	R	+	ND	64 mg/L	B, H	
1E4	EA	Secreción	R	S	+	ND	≥ 512 mg/L	A,F,G	220pb
1E5	UN	Hemocultivo	S	R	+	ND	2 mg/L	D,G,H	220pb
1E6	UN	Hemocultivo	R	R	+	IV	2 mg/L	D	
1E7	UN	Hemocultivo	R	R	-	NA	-	A	
1E8	UCI-P	Hemocultivo	R	R	+	ND	256 mg/L	-	260pb
1E9	UN	Hemocultivo	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	-	
1I2	UN	Catéter	R	R	+	I	≥ 512 mg/L	A, D	
1I3	UCI	Secreción	R	R	-	NA	-	-	
1I4	Ped	Catéter	R	R	-	NA	-	D	
1I7	UN	Hemocultivo	R	R	+	IA	1 mg/L	A,D,G	260pb
1I8	P6-A	Hemocultivo	R	R	+	IV	8 mg/L	D	
1I9	P6-B	Catéter	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	A	
1I10	OP	Hemocultivo	R	R	-	NA	-	-	
1J1	UN	Hemocultivo	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	A	
1H10	EA	Secreción	R	R	+	ND	32 mg/L	A,F	260pb
1J2	Ped	Secreción	R	R	+	ND	0.5 mg/L	A,F	220pb
1G2	UN	Hemocultivo	R	R	-	NA	-	-	
1G4	UCI-P	Hemocultivo	R	R	+	I	1 mg/L	A,D	220pb
1G5	CH	Secreción	R	R	-	NA	-	-	
1G8	MB	Secreción	R	R	+	I	4 mg/L	A, D	
1H3	CDI	Secreción	R	R	-	NA	-	-	
1H4	TS	Secreción	R	R	+	I	4 mg/L	A, D	
1H6	P6	Catéter	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	A	
1H7	UN	Secreción	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	A	
1H8	TS	Hemocultivo	R	R	+	ND	≥ 512 mg/L	A	

UN= Unidad Neonatal, UCIP= Unidad de Cuidados Intensivos Pediatría, UCI= Unidad de Cuidados Intensivos, TS= Trauma Shock, EA= Emergencia Adultos, Ped= Pediatría, P6= Piso 6, P6-A= Piso 6-A, P6-B= Piso 6-B, CDI= Centro Médico de Diagnóstico Integral, MC= Medicina C, OP= Observación Pediátrica, CH= Consulta Hematológica MB= Medicina B, Oxa=Oxacilina, Fox=Cefoxitina, TS= Trauma Shock, R=Resistente, S= Sensible, ND= No determinado, NA= No aplica. BD=Banda desconocida.

un rearrreglo del complejo *mec* clase A y B en estas cepas [23]. Estos casos fueron verificados por triplicado.

Las cepas 1D4 de *S. aureus* y 1I9, 1J1, 1H6, 1H7 y 1H8 de SCN presentaron *locus* A y gen *mecA*, pudiera tratarse de SCCmec tipo I con una delección del *locus* D [8], siendo el *locus* A específico sólo de SCCmec tipo I. Estos casos igualmente fueron verificados por triplicado y repitiéndose

los resultados por lo que se recomienda probar cada oligonucleótido por separado para así descartar que sea un problema de la PCR multiplex que no es reproducible en estas cepas.

Las cepas 1E4 y 1E5 de SCN no pudieron ser identificadas con la PCR utilizada. La cepa 1E4 amplificó los *loci* A, F y G; el *locus* G se utiliza para distinguir la estructura

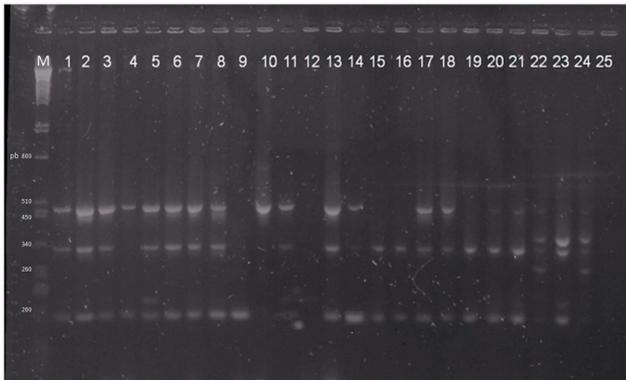


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa de la PCR múltiple de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá". Cumaná, Venezuela. Enero a julio de 2007.

Leyenda: M=Marcador de peso molecular, en pares de bases (pb), cepas de *S. aureus* del 1 al 21 (1=1D1, 2=1D2, 3=1D3, 4=1D4, 5=1D5, 6=1D6, 7=1D7, 8=1D8, 9=1D9, 10=1E10, 11=1I5, 12=1I6, 13=1G3, 14=1G6, 15=1G7, 16=1G9, 17=1G10, 18=1H1, 19=1H2, 20=1H5, 21=1H9), de la 22 a la 24 controles positivos (22=77906, 23=77907, 24=77908), 25 control negativo.

variante IA. La delección o incorporación de pUB110 ha sido reportado anteriormente [24]; el SCCmec tipo IA pudo haber evolucionado del tipo I o viceversa, lo que podría interpretarse como un SCCmec tipo IA con una delección del locus D y una inserción del locus F, respectivamente, infiriendo que se trata de una reorganización genética [23].

Las cepas 1G7, 1G9 y 1H2 de *S. aureus* amplificaron el locus D y el gen *mecA*, identificándose como SCCmec tipo IV, el cual es responsable de infecciones adquiridas en la comunidad; es un elemento pequeño que no lleva genes de resistencia asociadas al gen *mecA* [8].

Las cepas de *S. aureus* 1D9 y las de SCN 1E8 y 1E9 sólo poseen gen *mecA*; es necesario realizar PCR con otros oligonucleótidos distintos a los usados para verificar si amplifica para los nuevos tipos descritos de SCCmec, o si se trata de un tipo nuevo. Esto ha sido reportado previamente por Zhang [25], quien obtuvo 8 aislamientos que no amplificaron para ningún elemento SCCmec, pero sí para el gen *mecA*. Tanto la cepa 1E10 como la 1I6 de *S. aureus* no amplificaron para el gen *mecA*, pero sí amplificaron para el locus A. La cepa 1I6 amplificó el locus C, indicando que tiene parte del SCC, por lo tanto, no es resistente a los betalactámicos [6].

En el caso de los SCN amplificaron la mayoría de los loci excepto C y E, observándose predominio de A y D; una sola cepa (1E3) amplificó para el locus B. Se logró determinar el tipo de SCCmec sólo en 6 cepas de las 24 de SCN, con muchas inserciones y bandas desconocidas que se repitieron, como la banda de 220 pb que aparece en dos cepas (1D10, 1E4) y la banda de 260 pb en dos cepas (1E8, 1H10), mostrado en la tabla 2.

Existe una extensa diversidad en la organización genética de los SCCmec. El IWG-SCC recomienda que debe determinarse toda la secuencia de nucleótidos antes de la designación del tipo de SCCmec [13]; sería recomendable secuenciar las bandas desconocidas para saber a qué parte

del elemento SCCmec corresponden. Igualmente, debería realizarse una PCR simple para probar cada oligonucleótido y así descartar que estas bandas desconocidas no amplificaron por una falla en la técnica de la PCR múltiple.

En los SCN se encontraron once aislamientos no tipificables: uno para el gen *mecA* y el locus A, cuatro tenían múltiples bandas, y dos solamente amplificaron para el gen *mecA* por el método empleado, como en el caso de las cepas de SCN 1E8 y 1E9. Dichos aislamientos no fueron clasificados por la PCR múltiple de Oliveira, por lo tanto se deben utilizar otras técnicas para identificar qué tipo de SCCmec existe en las cepas no identificadas en este trabajo [8].

Adicionalmente, en los SCN hubo 16 cepas que amplificaron el locus A (Tabla 2) y sólo 5 pudieron ser clasificadas como SCCmec tipo I; las otras 11 cepas no pudieron serlo ya que las bandas amplificadas no correspondieron a tipos conocidos. La cepa 1E7 de SCN no presentó el gen *mecA* pero sí amplificó para el locus A. Esto también ha sido reportado en *S. hominis*, en una cepa de Tokyo, en la cual se encontraron elementos SCC en su genoma, pero era una cepa meticilino sensible [6].

No obstante, la presencia del locus A permite sugerir que son *S. sciuri*. El locus A corresponde a la región río abajo del gen *pls*. Este gen codifica a una gran proteína de superficie que media la agregación bacteriana y actúa como un factor de virulencia [26]. En la mayoría de los casos se reportan cepas SCCmec tipo I y tipo IV, quedando muchos SCN sin la determinación del tipo de SCCmec, por lo que se recomienda realizar una PCR que incluya otros oligonucleótidos.

El elemento SCCmec es un marcador epidemiológico crítico para SARM y esto ha contribuido a la elucidación del origen y la historia evolutiva a nivel mundial de los clones de SMR; sin embargo, no todas las cepas meticilino resistentes pueden ser tipificadas con los métodos disponibles por PCR, ya que existen todavía elementos SCCmec no identificados.

Conclusiones

Los discos de oxacilina y de cefoxitina fueron igualmente efectivos en la detección de resistencia a meticilina, al compararlo con la presencia del gen *mecA* en *S. aureus* pero no en los SCN.

En el HUAPA hay un predominio de cepas SARM SCCmec tipo I y IV.

Mediante la caracterización de SCCmec se logró conocer el tipo de *Staphylococcus* circulante en el Hospital.

Agradecimientos

A la Sociedad Venezolana de Infectología y al Vicerrectorado Administrativo de la Universidad de Oriente por la ayuda económica como parte de financiamiento para el proyecto realizado.

Referencias

1. Lowry F. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med. 1998; 339:520-32.
2. Kloos W, Bannerman T. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenoer F, Tenover F, Tenover F, editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington: American Society Microbiology; 1995. p. 282-98.
3. Spink F. Quantitative action of penicillin inhibitor from penicillin-resistant strains of *Staphylococci*. Science. 1945; 102:221-3.
4. Jevons M. "Celbenin"- resistant staphylococci. Brit Med J. 1961; 1:124-5.
5. Mongkolrattanothai K, Boyle S, Murphy T, Daum R. Novel non-*mecA*-containing staphylococcal chromosomal cassette composite island containing *pbp4* and *tagF* genes in a commensal staphylococcal species: a possible reservoir for antibiotic resistance islands in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48:1823-36.
6. Katayama Y, Takeuchi F, Ito T, Ma X, Mizutani Y, Kobayashi I, Hiramatsu K. Identification in methicillin-susceptible *Staphylococcus hominis* of an active primordial mobile genetic element for the staphylococcal cassette chromosome *mec* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 2003; 185:2711-22.
7. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, Hiramatsu K. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45:1323-36.
8. Oliveira D, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46:2155-66.
9. Ito T, Ma X, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V *Staphylococcus* cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48:2637-51.
10. Oliveira D, Milheiriço C, de Lencastre H. Redefining a structural variant of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*, SCC*mec* Type VI. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50:3457-59.
11. Berglund C, Ito T, Ikeda M, Ma X, Söderquist B, Hiramatsu K. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated in Sweden. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52:3512-6.
12. Zhang K, McClure J, Elsayed S, Conly M. 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; 53:531-40.
13. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*): guidelines for reporting novel SCC*mec* elements. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53:4961-7.
14. Shore A, Deasy E, Slickers P, Brennan G, O'Connell B, Monecke S, Ehricht R, Coleman D. Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55:3765-73.
15. Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turk M. Antibiotics susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 45:493-6.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 17th ed. Wayne, Pennsylvania; 2007.
17. De la Parte-Pérez M, Brito A, Landaeta J, Guzmán, M, Carmona, O. Cambios en la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos en centros clínicos del Área Metropolitana de Caracas, Venezuela. Período 1995-2002. Rev Soc Ven Microbiol. 2003; 23:190-5.
18. Kloss W, Bannerman T. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. Clin Microbiol Rev. 1994; 7:117-0.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 23th ed. Wayne, Pennsylvania; 2013.
20. Dourado A, Alves P, Barbosa L, Viana-Niero C, Francisco W, Lottenberg C, et al. Laboratory detection methods for methicillin resistance in coagulase negative *Staphylococcus* isolated from ophthalmic infections. Arq Bras Oftamol. 2007; 70:667-75.
21. Tomasz A, Nachman S, Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin resistant clinical isolates of staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35:124-9.
22. Hiramatsu K. Molecular evolution of MRSA. Microbiol Immunol. 1995; 39:531-43.
23. Mahillon J, Leonard C, Chandler M. IS elements as constituents of bacterial genomes. Res Microbiol. 1999; 150:675-87.
24. Oliveira D, Wu W, de Lencastre H. Genetic organization of the downstream region of the *mecA* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying different polymorphisms of this region. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44:1906-10.
25. Zhang K, McClure J, Lowie T, Conly J. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2005; 43:5026-33.
26. Josefsson E, Juuti K, Bokarewa M, Kuusela P. The surface protein Pls of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is a virulence factor in septic arthritis. Infect Immun. 2005; 73:2812-7.