

**ESTUDIO COMPARATIVO DE INFECCIONES POR *Staphylococcus aureus*
METICILINO-SENSIBLE Y METICILINO-RESISTENTE EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER, COLOMBIA**

CARLOS AUGUSTO CUADROS MENDOZA



**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
ESCUELA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA
BUCARAMANGA**

2014

**ESTUDIO COMPARATIVO DE INFECCIONES POR *Staphylococcus aureus*
METICILINO-SENSIBLE Y METICILINO-RESISTENTE EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER, COLOMBIA**

CARLOS AUGUSTO CUADROS MENDOZA

Trabajo de grado presentado para optar al título de
ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

Dirigido por:

Dr. LUIS MIGUEL SOSA ÁVILA, MD. INFECTÓLOGO PEDIATRA

Asesor metodológico:

Dr. LUIS ALFONSO DÍAZ MARTÍNEZ, MD. PEDIATRA EPIDEMIÓLOGO



**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
ESCUELA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA
BUCARAMANGA**

2014

- [...] ¿Sabes que Thomas Edison llegó a fracasar en dos mil ocasiones antes de lograr el filamento de hilo de algodón carbonizado para su bombilla?
- ¿Edison?
- Y cuando le preguntaron dijo: no fracasé. Descubrí dos mil modos de cómo no se hace una bombilla, pero sólo debía encontrar un modo de que funcionara.

La Búsqueda (2004). Jon Turteltaub

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios por darme la vida, por guardar mi corazón, por ser mi sustento, escudo y espada en todo momento. Todo lo que pasa en mi vida no es casualidad, es obra de Él.

A mis padres por su cariño, amor, ejemplo y apoyo incondicional, que día a día me empujan a continuar adelante sin desfallecer.

A mi hermano Gustavo, por ser mi cómplice y amigo incondicional.

Y a mi novia Katherinee, por incentivar mi deseo de lucha y perseverancia para alcanzar las metas trazadas en mi vida, por estar en el momento oportuno, por su cariño y comprensión.

AGRADECIMIENTOS

“Con relación a todo, den gracias” (1 Tesalonicenses 5:18)

Al Doctor Luis Miguel Sosa, mi tutor de tesis, por su voto de confianza al incluirme en este trabajo, por inculcarme el amor por la ciencia y contagiarme su pasión por la pediatría. Gracias por su paciencia, orientación, y dedicación a lo largo de mi especialización.

A la Doctora Clara Isabel González, por su asesoría, simpatía y acogida afectiva durante la realización de este trabajo.

A Mayra Alejandra Machuca, por su disposición permanente y valiosa colaboración en todos los niveles de este trabajo, pero ante todo, por su amistad.

Al Doctor Luis Alfonso Díaz por su tiempo, acompañamiento y asesoría epidemiológica.

A cada docente del Departamento de Pediatría de la Universidad Industrial de Santander, quienes contribuyeron con su experiencia y calidad humana a mi formación como pediatra.

A todos mis compañeros de residencia porque fueron parte fundamental de mi proceso de crecimiento personal y profesional.

A la Dra. Myriam Ríos, por abrirme cordialmente a diario las puertas de su laboratorio clínico.

A Laura Delgado y Catalina Galán por participar activamente en la recolección de información en este estudio.

CONTENIDO

| | Pág. |
|--|------|
| INTRODUCCIÓN | 15 |
| 1. OBJETIVOS | 16 |
| 1.1 OBJETIVO GENERAL | 16 |
| 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 16 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 17 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 24 |
| 3.1 TIPO DE ESTUDIO | 24 |
| 3.2 DEFINICIÓN DE CASO | 24 |
| 3.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN | 24 |
| 3.4 TAMAÑO DE MUESTRA | 24 |
| 3.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES | 25 |
| 3.6 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y ELABORACIÓN DE LA BASE DE DATOS | 31 |
| 3.6.1 Identificación de las cepas de <i>S.aureus</i> | 31 |
| 3.6.2 Recolección de la información clínica | 32 |
| 3.6.3 Recolección de la información molecular | 32 |
| 3.6.3.1 Extracción del ADN cromosómico | 32 |
| 3.6.3.2 Identificación molecular del <i>S. aureus</i> | 33 |
| 3.6.3.3 Caracterización genotípica de los aislamientos de SAMR | 34 |
| 3.7 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN | 34 |
| 3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 35 |
| 4 ASPECTOS ÉTICOS | 36 |
| 5. RESULTADOS | 37 |
| 5.1 CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA | 37 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 5.2 | CARACTERIZACIÓN CLÍNICA | 39 |
| 5.3 | CARACTERIZACIÓN MOLECULAR | 43 |
| 5.3.1 | Determinantes de virulencia | 43 |
| 5.3.1.1 | Distribución de los genes de virulencia según el tipo de aislamiento de <i>S. aureus</i> | 43 |
| 5.3.1.2 | Influencia de los determinantes de virulencia sobre la severidad de las infecciones por <i>S. aureus</i> | 45 |
| 5.3.2 | Determinantes de adhesión | 46 |
| 5.3.2.1 | Distribución de los genes de adhesión según el tipo de aislamiento de <i>S. aureus</i> | 46 |
| 5.3.2.2 | Influencia de los determinantes de adhesión sobre la localización del foco primario de las infecciones por <i>S. aureus</i> | 47 |
| 6. | DISCUSIÓN | 49 |
| 7. | CONCLUSIONES | 56 |
| 8. | RECOMENDACIONES | 57 |
| | BIBLIOGRAFÍA | 58 |
| | ANEXOS | 72 |

LISTA DE TABLAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Tabla 1. Variables socio-demográficas de interés | 25 |
| Tabla 2. Variables clínicas de interés | 26 |
| Tabla 3. Variables moleculares del <i>S. aureus</i> de interés | 29 |
| Tabla 4. Secuencia de iniciadores que amplifican los genes <i>nuc</i> y <i>mecA</i> | 34 |
| Tabla 5. Características socio-demográficas | 38 |
| Tabla 6. Características clínicas | 40 |
| Tabla 7. Resultados de los laboratorios de ingreso | 41 |
| Tabla 8. Desenlaces clínicos | 43 |
| Tabla 9. Distribución de los genes de virulencia según el tipo de aislamiento de <i>S. aureus</i> y el tipo de SCC <i>mec</i> | 44 |
| Tabla 10. Distribución del SCC <i>mec</i> según el origen del caso | 45 |
| Tabla 11. Influencia de los genes de virulencia en los casos severos | 46 |
| Tabla 12. Distribución de los genes de adhesión según el tipo de aislamiento de <i>S. aureus</i> | 47 |
| Tabla 13. Influencia de los genes de adhesión sobre la localización del foco primario del SAMR y SAMS | 48 |

LISTA DE FIGURAS

Pág.

- | | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1. | Inducción de la síntesis de PBP2-a en presencia de meticilina. | 18 |
| Figura 2. | Evolución de la resistencia antimicrobiana en <i>S. aureus</i> . | 20 |
| Figura 3. | Curva ROC del porcentaje de neutrófilos en infecciones por SAMR y SAMS | 41 |

LISTA DE ANEXOS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Anexo A. Formato de consentimiento informado | 73 |
| Anexo B. Formato de recolección de datos | 75 |

RESUMEN

Título: ESTUDIO COMPARATIVO DE INFECCIONES POR *Staphylococcus aureus* METICILINO-SENSIBLE Y METICILINO-RESISTENTE EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER, COLOMBIA*

Autor: CARLOS AUGUSTO CUADROS MENDOZA^{1**}

Palabras claves: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, severidad, mortalidad, factores de virulencia, factores de adhesión, niños.

Introducción. *Staphylococcus aureus* es una frecuente causa de infección en la población pediátrica. Son pocos los trabajos comparativos que evalúan las diferencias o similitudes moleculares entre SAMS y SAMR. Estas podrían influenciar el comportamiento clínico de estas infecciones.

Objetivo. Determinar frecuencias, diferencias o similitudes entre los determinantes de virulencia y adhesión de cepas de SAMS y SAMR, y su influencia en el comportamiento clínico de los en pacientes pediátricos hospitalizados en el HUS de la ciudad de Bucaramanga (Colombia), entre enero de 2011 y marzo de 2013.

Materiales y métodos. Estudio descriptivo. La caracterización molecular de los determinantes de virulencia y adhesión se realizó en todos los aislamientos utilizando PCR. Los determinantes moleculares fueron asociados con las características clínicas de cada paciente mediante métodos de análisis estadístico.

Resultados. De 49 aislamientos de *S. aureus* obtenidos, fueron confirmados 39 (79,6%) casos gen *nuc* (+). SAMR fue detectado en el 64,0% de los casos y SAMS en el 36,0%. Los casos severos de infecciones por SAMR y SAMS, correspondieron al 29,2% y 26,7% respectivamente (p: 0,866). Un paciente de cada grupo falleció a consecuencia de la infección (el 4,2% de los pacientes con SAMR y el 6,7% de los pacientes con SAMS, p: 0,731). Se indentificó la leucocidina de Panton Valentine (LPV) en el 100% de las cepas de SAMR y en el 26,7% de las cepas de SAMS (p: 0.0001). No se encontró una asociación entre la presencia de determinantes de virulencia con severidad, y de factores de adhesión con la localización del foco primario.

Conclusiones. Desde el punto de vista genético, SAMR y SAMS tienen el potencial de presentarse tanto con infecciones severas como no severas. SAMR y SAMS tienen el mismo potencial para producir infecciones tanto localizadas como sistémicas. A pesar de la amplia utilización de los métodos fenotípicos, estos pueden fallar.

* Proyecto de grado

** Facultad de Salud. Escuela de Medicina. Departamento de Pediatría. Especialización en Pediatría.. Director: Dr. Luis Miguel Sosa Ávila.

ABSTRACT

Title: A COMPARATIVE STUDY OF METHICILLIN-SENSITIVE AND METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* INFECTIONS IN CHILDREN AT HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER, COLOMBIA*

Author: CARLOS AUGUSTO CUADROS MENDOZA **

Keywords: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, severity, mortality, virulence factors, adhesion factors, children.

Introduction. *Staphylococcus aureus* is a common cause of infection in the pediatric population. There are few comparative studies evaluating molecular differences or similarities between MSSA and MRSA, which may influence the clinical behavior of these infections.

Objective. To determine frequency, differences or similarities between the determinants of virulence and adherence of MRSA and MSSA strains, and its influence on the clinical behavior in pediatric patients with *S. aureus* infections hospitalized at the HUS in Bucaramanga (Colombia), between January 2011 and March 2013.

Materials and methods. Descriptive study. Molecular characterization of virulence and adhesion determinants was performed on all isolates by polymerase chain reaction (PCR) amplification. Molecular determinants were associated with the clinical characteristics of each patient by statistical analysis methods.

Results. Among the 49 isolates of *S. aureus* obtained 39 (79.6%) confirmed cases by tipification of nuc gene were included in the study. MRSA was detected in 64.0% of cases and MSSA in 36.0%. Severe cases of MRSA and MSSA infections corresponded to 29.2% and 26.7% respectively ($p = 0.866$). One patient in each group died due to the infection (4.2% with MRSA infection and 6.7% with MSSA infection, $p: 0.731$). Panton-Valentine leukocidin (PVL) was identified in 100 % of MRSA strains and 26.7% of MSSA strains ($P = 0.0001$). We did not find an association between the presence of virulence determinants and severity, or adhesion factors and the primary focus location.

Conclusions. From the genetic standpoint, MRSA and MSSA have the potential to present as severe and non-severe infections. MRSA and MSSA have the same potential to produce localized and systemic infections. Despite massive utilization of methods phenotypic characterization of microorganisms, they can fail.

** Health Faculty. Department of Pediatrics. Pediatric Residency Training. Director: Dr. Luis Miguel Sosa Ávila

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es un agente frecuente de infección en la población general y pediátrica. En el Hospital Universitario de Santander (HUS), es el microorganismo más frecuentemente aislado en los cultivos de secreciones y líquidos corporales de la población pediátrica (Sosa e Hincapié 2007, Que y Moreillon 2010). La emergencia del *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR) ha generado un grave problema de salud pública en muchas partes del mundo (Charlebois et al. 2004, Wu et al. 2010).

En la literatura revisada, la investigación se ocupa principalmente del estudio de las infecciones producidas por SAMR (Rozgonyi et al. 2007). Son pocos los estudios comparativos que evalúan las diferencias o similitudes moleculares entre *Staphylococcus aureus* meticilino sensible (SAMS) y SAMR. Estas podrían influenciar el comportamiento clínico de estas infecciones (Miller et al. 2007, Mongkolrattanothai et al. 2003). En el HUS se realizó la caracterización molecular de cepas de SAMR aisladas de pacientes pediátricos, basada en la tipificación del SCCmec (casete cromosomal estafilocócico *mec*) y la detección de genes de resistencia, virulencia y moléculas de adhesión, observándose frecuencias genotípicas diferentes (Sosa et al. 2010); sin embargo no se tiene conocimiento de la frecuencia de estos genes en SAMS.

Por lo tanto, este trabajo pretende determinar frecuencias, diferencias o similitudes entre los factores de virulencia y adhesión de las cepas de SAMS y SAMR obtenidas de pacientes pediátricos hospitalizados en el HUS. Con esta información se intentará establecer la influencia que podrían tener algunos determinantes moleculares, sobre la presentación clínica de las infecciones por ambos tipos de *S. aureus*, buscando proponer nuevas herramientas diagnósticas y un tratamiento oportuno y adecuado.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar frecuencias, diferencias o similitudes entre los determinantes de virulencia y adhesión de cepas de SAMS y SAMR, y su influencia en el comportamiento clínico de los pacientes pediátricos con infecciones por *S. aureus* hospitalizados en el Hospital Universitario de Santander de la ciudad de Bucaramanga (Colombia), entre enero de 2011 y marzo de 2013.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer la proporción de infecciones causadas por SAMS y SAMR.
2. Establecer la proporción de casos de infecciones adquiridas en comunidad, asociadas al cuidado de la salud y las de tipo nosocomial.
3. Establecer las localizaciones más frecuentes de los casos de infecciones causadas por SAMS y SAMR.
4. Evaluar el patrón de severidad de las infecciones causadas por SAMS y SAMR.
5. Describir las frecuencias de genes determinantes de virulencia y de adhesión a tejidos en los aislamientos de SAMS y SAMR.
6. Explorar la influencia de los determinantes adhesión de *S. aureus* en la localización de las infecciones causadas por SAMR y SAMS.
7. Explorar la influencia de los determinantes virulencia de *S. aureus* en la severidad de las infecciones causadas por SAMR y SAMS.

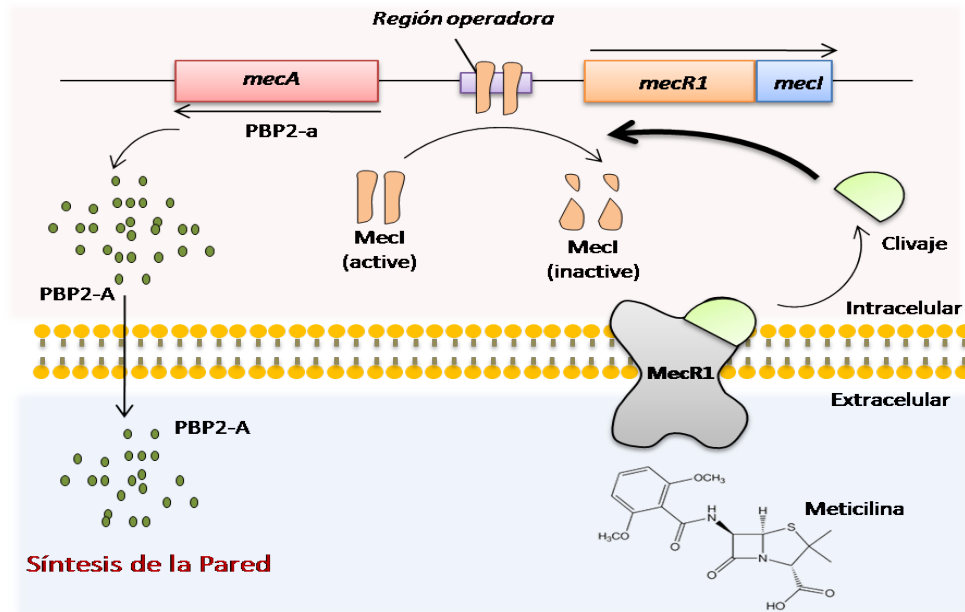
2. MARCO TEÓRICO

S. aureus es una bacteria Gram positiva que afecta humanos y mamíferos (Lowy 1998). Su importancia clínica radica en la extensa diseminación que ha tenido a nivel mundial, causando infecciones hospitalarias y adquiridas en la comunidad, particularmente en población pediátrica (Fridkin et al. 2005). Desde su descubrimiento en el año de 1880 se ha observado que las infecciones debidas a *S. aureus* manifiestan una amplia variedad de presentaciones clínicas (Alexander y Hudson 2001, Deurenberg y Stobberingh 2008).

La mortalidad debida a la infección por *S. aureus* antes de la introducción de la penicilina en 1942, era aproximadamente del 80% (Alexander y Hudson 2001, Deurenberg y Stobberingh 2008). Dos años después de la utilización masiva de la penicilina a escala mundial, se aisló la primera cepa resistente detectada en el ámbito hospitalario (Kirby 1944, Chambers 2001); con detección posterior en la comunidad (Memmi et al. 2008).

En 1960 los aislamientos de *S. aureus* resistentes a la penicilina a nivel mundial alcanzaban el 80%. Hacia 1961, dos años después de la introducción de la meticilina para el tratamiento de los aislamientos resistentes a penicilina, se reportó en Estados Unidos el primer caso de resistencia a la meticilina, debida a la adquisición del gen *mecA*, bacterias que se denominaron SAMR (Deurenberg y Stobberingh 2008). El gen *mecA* codifica para una proteína de unión a la penicilina, PBP2-a (*Penicillin-binding Proteins-2a*), que presenta una baja afinidad por la meticilina, limitando el efecto inhibitorio de la meticilina durante el proceso de división celular, figura 1 (Memmi et al. 2008). El gen *mecA* es transportado por la isla de patogenicidad *SCCmec*, que adicionalmente porta otros genes de resistencia a antibióticos (Ito et al. 2003).

Figura 1. Inducción de la síntesis de PBP2-a en presencia de metilicina.



La proteína represora MecI se asocia con el ADN en la región operadora bloqueando la transcripción de los genes *mecA*, *mecR1* y *mecl*, en ausencia del antibiótico la producción de PBP2-a se da en bajas concentraciones. La unión de la metilicina a la proteína MecR1, un sensor transmembranal que se cliva autocatalíticamente y el fragmento liberado constituyen una metaloproteinasas que degrada a la proteína represora a MecI, activándose la transcripción y por consiguiente la traducción de PBP2-a. Una vez en el citoplasma, PBP2-a atraviesa la membrana celular y supe la función de transpeptidación en el proceso de síntesis de la pared bacteriana.

Fuente: Tomado y modificado de Lowy 2010.

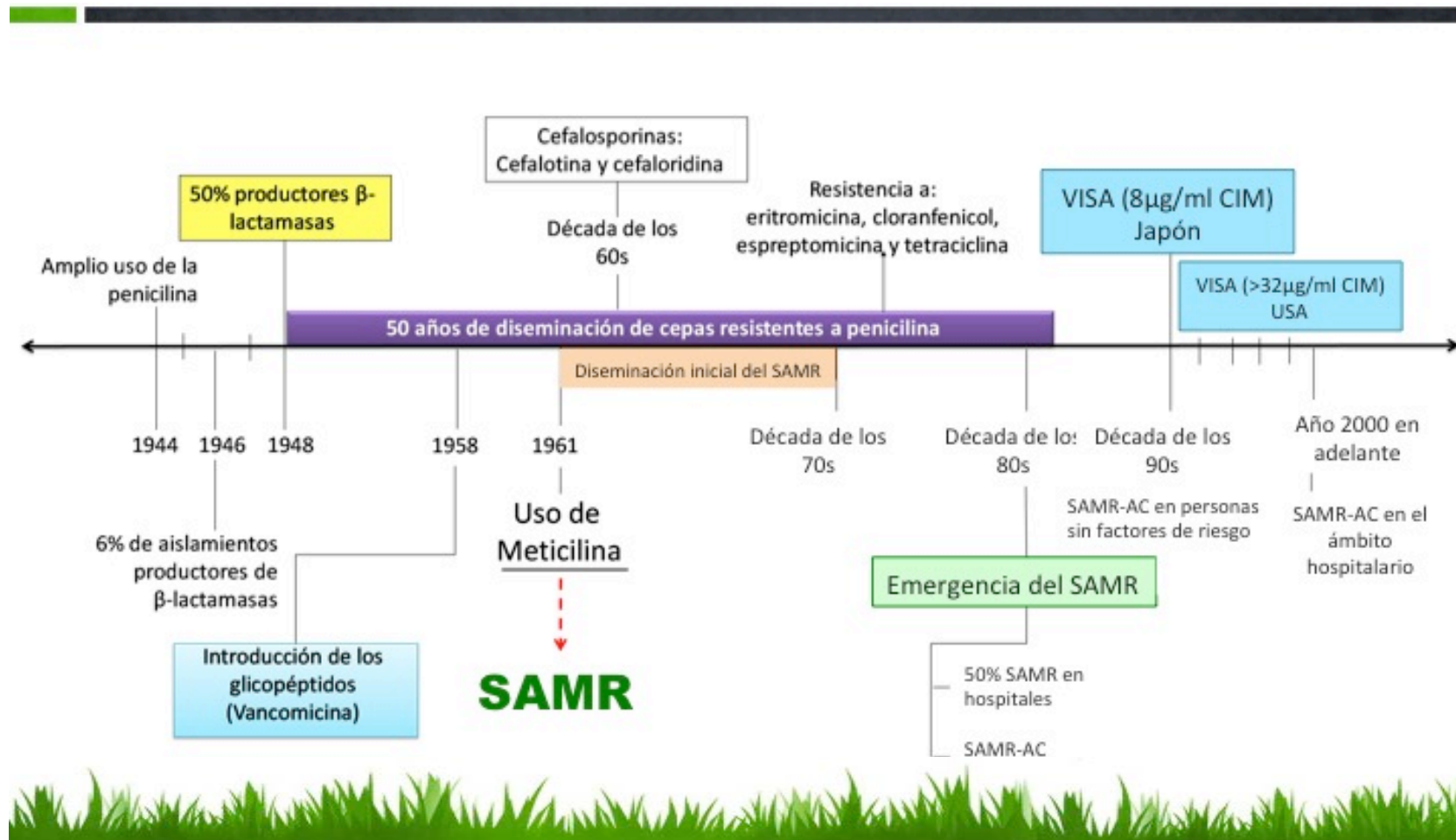
En los últimos 40 años ha existido un alarmante aumento en la prevalencia de las infecciones por SAMR (Chastre y Fagon 2002, Wisplinghoff et al. 2004), documentándose inicialmente en pacientes con factores predisponentes como: hospitalización, uso de drogas endovenosas, procedimientos invasivos y tratamiento previo con antibióticos (Chambers 2001). Sin embargo, hacia la década de los noventa, la emergencia de cepas SAMR de origen comunitario (SAMR-AC) renueva su atención (Deurenberg y Stobberingh 2009); en particular debido al aislamiento de estas cepas en individuos sanos sin factores de riesgo

predisponentes, constituyendo actualmente un preocupante problema de salud pública (Seal et al. 2003, Kaplan et al. 2005, Moran et al. 2006, Aiello et al. 2006, Ofner-Agostini et al. 2006). Por otra parte, recientemente se han reportado cepas de SAMR de origen comunitario a nivel nosocomial (Figura 2). En pediatría existe poca información al respecto, particularmente obtenida de estudios realizados en Norte América (Healy et al. 2004, González et al. 2006, Hakim et al. 2007, Hulten et al. 2010).

El primer reporte que mencionó la aparición de aislamientos de SAMR-AC en pacientes sin factores de riesgo en Colombia, se realizó en el año 2006 en la ciudad de Bogotá, en el que se describieron dos pacientes con infecciones de piel y tejidos blandos producidas por SAMR con sensibilidad a varios antibióticos y caracterización fenotípica positiva para SCC*mec* tipo IV y Leucocidina de Pantón Valentine (LPV); características genéticas similares a las de los SARM-AC de los Estados Unidos (Álvarez et al. 2006). Posteriormente se llevó a cabo un estudio en cuatro ciudades de Colombia, que utilizó electroforesis de campo pulsado y secuencia multilocus, identificando aislamientos de SARM-AC relacionados genotípicamente con el clon USA300 ST8 (Arias et al. 2008). Desde entonces se han realizado múltiples reportes en varias ciudades del país como Bogotá (Cortés et al. 2007, Buitrago et al. 2008, Yomayusa et al. 2008, Escobar et al. 2008, Reyes et al. 2008, Álvarez et al. 2010), Medellín (Ocampo et al. 2007, Ocampo et al. 2010, Rodríguez et al. 2010), Cartagena (Reyes et al. 2010, Díaz et al. 2008), Montería (Máttar et al. 2010) y Bucaramanga (Sosa e Hincapié 2007, Sosa et al. 2010, Machuca et al. 2013, Machuca et al. 2014).

El gran interés en el estudio de SAMR se basa en la severidad de la presentación clínica de las infecciones causadas por este germen, en comparación con su contraparte SAMS (Rozgonyi et al. 2007).

Figura 2. Evolución de la resistencia antimicrobiana en *S. aureus*.



SAMR: *S. aureus* metilinoresistente, SAMR-AC: SAMR-Adquirido en comunidad, SAMR-AH: SAMR-Adquirido en hospital, VISA: *S. aureus* con susceptibilidad intermedia a vancomicina, VRSA: *S. aureus* resistente a vancomicina.

Dentro del espectro clínico de las infecciones por *Staphylococcus aureus*, se incluyen desde infecciones benignas como las producidas en piel y tejidos blandos, hasta infecciones severas invasivas, que tienen alta morbimortalidad como endocarditis, neumonía, abscesos metastásicos, fascitis necrosante, neuroinfección, sepsis, bacteremia, artritis y osteomielitis (Falcone et al. 2009).

Dentro de los factores de riesgo para presentar bacteremia e infecciones severas por este germen se encuentran: edad menor a 1 año, exceptuando los recién nacidos hospitalizados desde el nacimiento, colonización o infección previa por SAMR, celulitis ó úlceras en piel al ingreso hospitalario, estancias hospitalarias prolongadas, múltiples hospitalizaciones especialmente en los 6 meses previos al ingreso, presencia de catéter venoso central, antibiótico-terapia en los 30 días previos a la admisión, diabetes mellitus, fístula arterio-venosa y presencia de enfermedades crónicas (Falcone et al. 2009, Burke et al. 2009).

El pronóstico de estos pacientes con infección severa es más sombrío, comparado con los que padecen una infección leve por *S. aureus*. Se han realizado estudios que sugieren que las cepas resistentes a la meticilina y con una amplia gama de factores de virulencia, podrían estar asociadas con infecciones severas, pronóstico desfavorable y mayor mortalidad (Cosgrove et al. 2003, Chang et al. 2003, Shurland et al. 2007). Asimismo se ha visto que SAMR posee una mayor variedad de factores de virulencia, en comparación con SAMS; siendo uno de los más estudiados la Leucocidina Pantón Valentine (LPV), una toxina formadora de poro, codificada por dos genes co-transcriptos *lukS/F-PV*, la cual causa destrucción de leucocitos y necrosis tisular, y se asocia a infecciones severas de piel y tejidos blandos, neumonía necrosante y sepsis (Boyle y Daum 2006, Gordon et al. 2008, Kreisel et al. 2011).

No obstante, en los últimos años se han descrito cepas de SAMS productoras de LPV y de otros factores de virulencia y adhesión, que participan en la patogenia

del SAMS (Robinson et al. 2005, Kearns et al. 2006, Tinelli et al. 2009). Dicho hallazgo se ha encontrado en brotes de infecciones superficiales de piel en niños escolares en Suiza (Boubaker et al. 2004), en un pueblo de Alemania (Wiese-Posselt et al. 2007), y en soldados Franceses en Costa de Marfil (Lesens et al. 2007). Sumado a esta situación, un ensayo clínico multicéntrico realizado en 15 países de 4 continentes (América, Europa, Asia y África), que incluyó 494 aislamientos de *S. aureus*, encontró grandes diferencias regionales en la prevalencia de positividad de la LVP en SAMR y SAMS. SAMS-LPV positiva se aisló con mayor frecuencia en Asia, África y Europa [SAMS-LPV positiva en Asia, África: 17/24 (70.8%); SAMS-LPV positiva en Europa: 70/187 (37.4%) Vs SAMS-LPV positiva en Estados Unidos: 12/45 (26.7%); SAMS-LPV positiva en América del Centro y Sur: 1/8 (12.5%)]. Por el contrario, SAMR-LPV positiva se observó con más frecuencia en América, comparado con los aislamientos de SAMR LPV positiva encontrados en Europa [SAMR-LPV positiva de Estados Unidos: 129/185 (69.7%); SAMR-LPV positiva en América del Centro y Sur: 1/4 (25%) Vs SAMR-LPV positiva de Europa: 40/239 (16.7%); SAMR-LPV positiva de Asia / África: 0/3 (0%)]. (Strauss et al. 2007).

Además de la LPV, existen otros factores de virulencia expresados por *S. aureus*, entre los cuales se mencionan un gran número de superantígenos que incluyen: Enterotoxinas estafilocócicas responsables de intoxicaciones alimentarias, codificadas por 18 genes descritos hasta el momento, siendo *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *sek* y *seq* los más estudiados. La toxina del síndrome de shock tóxico tipo 1, codificada por el gen *tst*, que causa síntomas típicos de shock, con fiebre alta y exantema. Las toxinas exfoliativas, codificadas por los genes *eta*, *etb* y *etd*, implicadas en la patogénesis del síndrome de piel escaldada. También se han descrito hemolisinas (hemolisina alfa, beta, delta y gama, codificadas en los genes *hla*, *hlb*, *hld* y *hlg*, respectivamente), las cuales tienen la capacidad de destruir eritrocitos y otras células eucariotas (Lowy 1998, Otto et al. 2010, Malachowa y DeLeo 2011).

En Colombia son escasos los estudios sobre este tema. Un estudio realizado en Medellín, caracterizó los genes de virulencia de SAMS y SAMR aislados en 60 pacientes, encontrando una mayor frecuencia y diversidad de genes de virulencia en aislamientos de SAMS, comparado con las cepas de SAMR estudiadas [83% vs 73%]. Este estudio halló una frecuencia del 37% de genes *lukS/F* en cepas SAMS, comparado con un 63% en SAMR (p 0,004). Por otro lado, los genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* y *tst* se determinaron en mayor frecuencia en cepas de SAMS que en las de SAMR (8% vs 0%; 40% vs 7%; 12% vs 0%; 33% vs 7%; 20% vs 4%; y 28% vs 12%, respectivamente). Este trabajo evidenció diferencias estadísticamente significativas en la presencia de los genes de virulencia *lukS/F*, *seb* y *sed* (Jiménez et al. 2011).

A pesar de lo anteriormente descrito, a nivel mundial son pocos los estudios que han caracterizado los factores de virulencia y de adhesión de las cepas de SAMS, desconociéndose la frecuencia de estos determinantes moleculares en las infecciones producidas por SAMS, y su potencial patogénico posiblemente subestimado (Tinelli et al. 2009).

En Colombia existe pobre información relacionada con la determinación de los factores de virulencia presentes en las cepas de SAMS y SAMR, y su asociación con la morbimortalidad y severidad de estas infecciones (Jiménez et al. 2011).

En el HUS se ha visto que SAMS presenta un comportamiento clínico similar a SAMR, el cual podría estar relacionado con la presencia de más factores de virulencia, incluso que SAMR (Sosa et al. 2007, Sosa et al. 2010). Debido a esto, se hace importante la caracterización molecular de cepas de SAMS, determinando factores de virulencia y adherencia, en busca de diferencias o similitudes con SAMR, que influyan en el comportamiento clínico de estas infecciones.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio descriptivo de una serie de casos sucesivos de pacientes menores de 15 años con infecciones por *S. aureus* que requirieron hospitalización.

3.2 DEFINICIÓN DE CASO

Se definió como caso a reclutar, pacientes menores de 15 años, que presentaban infecciones locales o sistémicas con aislamiento de *S. aureus*, internados en el Hospital Universitario de Santander de la ciudad de Bucaramanga, Colombia, entre enero de 2011 y marzo de 2013, y que cumplieron con los siguientes criterios: 1. Aislamiento de *S. aureus* en cualquier secreción corporal y 2. Consentimiento informado por parte de padres o cuidadores responsables.

3.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Ausencia del gen *nuc*, específico de la especie *S. aureus* durante la realización de la reacción en cadena de la polimerasa.

3.4 TAMAÑO DE MUESTRA

Se tuvieron en cuenta todos los pacientes elegibles que fueron internados en el Hospital Universitario de Santander. Se estableció la Leucocidina de Pantón

Valentine como marcador de estudio, debido a que es la más estudiada en los diferentes trabajos reportados en la literatura, y es la que se ha asociado directamente con la severidad de estas infecciones. Se esperaba que el SAMS estuviera presente en el 12.5% de los pacientes hospitalizados por cualquier tipo de infección, mientras que el SAMR representara el 25%. Esto significa que para obtener un poder del 80%, era necesario estudiar 304 pacientes con infecciones probadas por *S. aureus*.

3.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES

Se tuvieron en cuenta variables socio-demográficas, características clínicas y determinantes moleculares de virulencia y adhesión del *S. aureus*. Las variables de interés se observan en la tabla 1, 2 y 3.

Tabla 1. Variables socio-demográficas de interés

| VARIABLE (UNIDAD DE MEDICIÓN) | TIPO DE VARIABLE | DEFINICIÓN DE LA VARIABLE | MEDIDAS RESUMEN | FUENTE CÓDIGOS |
|-------------------------------------|---------------------------------------|--|--|--|
| Edad (años) | Cuantitativa, razón, continua. | Es la edad del menor y definida como el número de meses o años cumplidos al ingreso de la hospitalización y es calculada a partir de la fecha de nacimiento. | media aritmética (DE). mediana (cuartiles) | Historia clínica |
| Sexo del menor | Cualitativa, nominal, discreta. | Se define como el fenotipo de acuerdo a la historia clínica. Se clasifica como femenino o masculino. | proporción, intervalos de confianza al 95% | Historia o examen clínicos 1-masculino 2-femenino |

| | | | | |
|--|---------------------------------|--|--|--|
| Lugar de residencia | Cualitativa, nominal, discreta. | Es definido por el municipio y el departamento de residencia habitual del menor. | proporción, intervalos de confianza al 95% | Historia clínica 1. Bucaramanga 2. Floridablanca 3. Piedecuesta 4. Barrancabermeja 5. Rionegro 6. Girón 7. Otros Santander 8. Fuera de Santander |
| Area de residencia | Cualitativa, nominal, discreta. | Se establece si reside en al área urbana o rural. | proporción, intervalos de confianza al 95% | Historia clínica 1-Urbano 2- Rural |
| Nivel socioeconómico de la residencia | Cualitativa, ordinal, discreta. | Es el estrato socioeconómico en el que se clasifica a la residencia en la que vivía el menor durante la hospitalización y que fue consignado en la historia clínica. | proporción, intervalos de confianza al 95% | Historia clínica 1,2,3,4,5,6 |

Tabla 2. Variables clínicas de interés

| VARIABLE (UNIDAD DE MEDICIÓN) | TIPO DE VARIABLE | DEFINICIÓN DE LA VARIABLE | MEDIDAS RESUMEN | FUENTE CÓDIGOS |
|--|---------------------------------|--|--|--|
| ANTECEDENTES | | | | |
| Uso previo de antibióticos al ingreso | Cualitativa nominal dicotómica. | Uso de antibióticos para el manejo de la infección antes de la hospitalización. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| Lesiones previas en piel | Cualitativa nominal dicotómica. | Presencia de lesiones superficiales en piel, como impétigo, eczema, heridas, traumatismos. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| CONDICIONES CLÍNICAS AL INGRESO | | | | |
| Lugar de aislamiento | Cualitativa nominal categórica. | Lugar de la toma de muestra o tipo de muestra en donde se aisló el <i>S. aureus</i> | proporción, intervalos de confianza al 95% | 1-Hemocultivo 2- Secreción 3- Líquido pleural 4- Líquido articular 5- Líquido pleural 6- Líquido cefalorraquídeo 7- Otros líquidos |

| | | | | |
|--|---------------------------------|--|--|---|
| Localización del foco primario | Cualitativa nominal categórica. | Localización de la entidad(es) nosológica (s) presente(s) al ingreso del paciente. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 1-Piel y tejidos blandos 2- Osteoarticular 3- Neumonía 4-Otros: Meningitis, Endocarditis, Sepsis, etc. |
| Origen del caso (McGeer et al. 1991, Friedman et al. 2002, Umscheid et al. 2010) | Cualitativa ordinal. | Caso según el sitio donde se adquiere la infección de acuerdo a la clasificación clínica propuesta por el CDC: <ul style="list-style-type: none"> • Infección de adquisición nosocomial: Enfermedad clínica no evidente al ingreso, y con aislamiento de <i>S. aureus</i> después de las primeras 48 h de hospitalización. • Infección asociada al cuidado de la salud: Aislamiento de <i>S. aureus</i> en las primeras 48 horas de hospitalización, de un paciente con alguno de los siguientes factores de riesgo: <ul style="list-style-type: none"> • Atención domiciliaria especializada, terapia endovenosa, cuidado de heridas, o diálisis en el último mes. • Hospitalización mayor a 48 h en centro sanitario en los últimos 3 meses. • Intervención quirúrgica, o realización de algún procedimiento invasivo (intubación orotraqueal, catéter vascular ó urinario) en el último mes. • Convivencia actual con personal de salud, o residencia en ancianatos. • Enfermedad crónica (trastornos neurológicos, diabetes, neoplasia) • Infección adquirida en la comunidad: Se aísla SA, en las primeras 48 horas de hospitalización, de un paciente sin internación en las 48 horas previas al ingreso y sin factores de riesgo. | proporción, intervalos de confianza al 95% | Historia Clínica 1-Caso de infección adquirida en comunidad 2-Caso de infección asociada al cuidado nosocomial 3-Caso de infección de adquisición nosocomial |

| | | | | |
|--|-----------------------------------|---|--|--------------|
| Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (Khilnani et al. 2010) | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia de al menos dos de los siguientes cuatro criterios, de los cuales temperatura o recuento leucocitario deben ser anormales: 1-Temperatura central > 38,5°C o < 36°C. 2-Taquicardia: frecuencia cardíaca > 2 DS para la edad, en ausencia de estímulos externos, uso crónico de drogas ó estímulos dolorosos; ó elevación persistente inexplicada por más de 0,5 a 4 horas ó para niños < 1 año bradicardia: < p 10 para la edad en ausencia de estímulos vagales, bloqueantes, cardiopatía congénita; ó depresión persistente inexplicada por más de 0,5 horas. 3-Taquipnea: frecuencia respiratoria > 2 DS para la edad, ó ventilación mecánica para un proceso agudo no relacionado con enfermedad neuromuscular o anestesia general. 4-Leucocitos elevados o disminuidos para la edad (no secundario a quimioterapia) o > 10 % de neutrófilos inmaduros. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| Leucocitos | Cuantitativa, discreta. | Recuento de leucocitos en las primeras 48 horas del ingreso a la hospitalización. | mediana (cuartiles) | |
| Porcentaje de segmentados | Cuantitativa, discreta. | Porcentaje de segmentados en las primeras 48 horas del ingreso a la hospitalización. | mediana (cuartiles) | |
| Eritrosedimentación | Cuantitativa, discreta. | Velocidad de sedimentación globular en las primeras 48 horas del ingreso a la hospitalización. | mediana (cuartiles) | |
| Proteína C reactiva | Cuantitativa, discreta. | Proteína C reactiva en las primeras 48 horas del ingreso a la hospitalización. | mediana (cuartiles) | |
| DESCENLACE | | | | |
| Duración de la fiebre desde la hospitalización | Cuantitativa, discreta. | Días de fiebre definida como temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$, cuantificados desde el ingreso a la hospitalización, hasta obtener registros inferiores a 38°C . | proporción, intervalos de confianza al 95% | |

| | | | | |
|---|-----------------------------------|--|--|--|
| Complicaciones | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Complicaciones presentadas durante la historia natural de la enfermedad y documentados por el médico en la historia clínica, como la presencia de focos secundarios y /o sepsis. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| Muerte | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Muerte directamente relacionada con el proceso infeccioso, producida durante la historia natural de la enfermedad y documentados por el médico en la historia clínica. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| Severidad* (Mylotte et al. 2000, Fowler et al. 2003) | Cualitativa ordinal discreta. | Se define como severa aquella infección invasiva que tiene alta letalidad o genera secuelas de gran impacto: <ul style="list-style-type: none"> • Infección osteoarticular con dos o más focos. • Sepsis con y sin hemocultivos positivos • O algunas de las siguientes Endocarditis, Síndrome del shock tóxico, Neumonía necrosante, Fascitis necrosante, Neuroinfección. <p>*Los investigadores establecerán la severidad o no de la infección, desconociendo el tipo de aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> y los determinantes moleculares.</p> | proporción, intervalos de confianza al 95% | 1--Infección no severa 2-Infección severa |

Tabla 3. Variables moleculares del *S. aureus* de interés

| VARIABLE (UNIDAD DE MEDICIÓN) | TIPO DE VARIABLE | DEFINICIÓN DE LA VARIABLE | MEDIDAS RESUMEN | FUENTE CÓDIGOS |
|---|-----------------------------------|---|--|----------------|
| DETERMINANTE ESPECÍFICO DE ESPECIE | | | | |
| <i>nuc</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que tiene secuencias específicas de especie de <i>S. aureus</i> . | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |

| DETERMINANTES DE RESISTENCIA | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|---|--|--|
| <i>mecA</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la resistencia a meticilina. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>SCCmec</i> | Cualitativa nominal categórica. | Presencia del casete cromosómico estafilocócico <i>SCCmec</i> , que permite la diferenciación de clonas de SAMR, el cual contiene el gen <i>mecA</i> , genes reguladores y secuencias de inserción. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 1-Tipo I 2- Tipo II 3- Tipo III 4- Tipo IV 5- Tipo V |
| DETERMINANTES DE VIRULENCIA | | | | |
| <i>hlg</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la hemolisina gamma, la cual lisa eritrocitos y linfoblastos humanos. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>Luk F/S</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia de los genes que codifican la Leucocidina de Pantón Valentine (LPV), una exotoxina formadora de poros. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>seb</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la enterotoxina B, una toxina, que actúa como superantígeno, y participa en la patogénesis de la intoxicación alimentaria <i>S. aureus</i> . | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>sek</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la enterotoxina K, una toxina que actúa como superantígeno, y participa en la patogénesis de la intoxicación alimentaria <i>S. aureus</i> . | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>seq</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la enterotoxina Q, una toxina que actúa como superantígeno, y participa en la patogénesis de la intoxicación alimentaria <i>S. aureus</i> . | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>eta</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la exfoliotoxina A, una toxina epidermolítica, que puede producir el síndrome de piel escaldada. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>etb</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la exfoliotoxina B, una toxina epidermolítica, que puede producir el síndrome de piel escaldada. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |

| DETERMINANTES DE ADHESION | | | | |
|---------------------------|-----------------------------------|---|--|--------------|
| <i>fnBA</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica una proteína de superficie del <i>S. aureus</i> que permite la unión a fibronectina. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>clfA</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica el Factor de agrupamiento A que participa en la unión a fibronectina. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>clfB</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica el Factor de agrupamiento B que participa en la unión a fibronectina. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>ica</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica la adhesina polisacárida intracelular (PIA). | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |
| <i>cna</i> | Cualitativa, nominal, dicotómica. | Presencia del gen que codifica una proteína de superficie del <i>S. aureus</i> que permite la unión al colágeno. | proporción, intervalos de confianza al 95% | 0-No 1-Si |

3.6 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y ELABORACIÓN DE LA BASE DE DATOS

3.6.1 Identificación de las cepas de *S. aureus*. La identificación inicial de *S. aureus* se determinó en el Laboratorio Clínico del Hospital Universitario de Santander, utilizando el sistema automatizado para microbiología MicroScan[®]. Se asignó una bacterióloga responsable de preservar los aislamientos e informarlos al equipo de trabajo. Todos los *S. aureus* recolectados fueron cultivados en agar BHI (*brain-heart infusion*) y conservados por criopreservación a -70°C con glicerol al 20%.

3.6.2 Recolección de la información clínica. Una vez era informado el caso, se solicitaba el consentimiento informado por escrito, a los padres o representantes legales de los niños (as), explicando los objetivos, implicaciones y alcances del proyecto (Anexo 1). Posteriormente se procedía a diligenciar el formato de recolección de datos, el cual contenía las variables previamente definidas (Anexo 2). La historia clínica fue la fuente de la información de interés.

3.6.3 Recolección de la información molecular. Los aislamientos de *S. aureus* eran transportados al Laboratorio de inmunología y biología molecular de la Facultad de Salud de la UIS, para su procesamiento molecular.

3.6.3.1 Extracción del ADN cromosómico. La extracción del material genético del *S. aureus* se realizó en el laboratorio del grupo de inmunología y epidemiología molecular de la facultad de salud de la UIS utilizando las normas *del clinical and laboratory standard institute*, CLSI (CLSI, 2011).

El ADN cromosómico fue aislado de un cultivo masivo de *S. aureus* crecido durante toda la noche en 15 ml de BHI. El cultivo se centrifugó a 4.000 rpm, el precipitado bacteriano fue resuspendido en 3 ml de 0.5 mM EDTA pH 8 y para el debilitamiento de la pared bacteriana se adicionaron las enzimas lisozima y lisostafina a concentraciones de 20 mg/ml y 2 mg/ml respectivamente, incubándose a 37°C por 1 hora. Para completar la lisis bacteriana se adicionó proteinasa K (20 mg/ml) y se incubó a 56°C por 30 minutos. La precipitación de proteínas se realizó con 5 M acetato de sodio y centrifugación a 14.000 rpm. El ADN fue recuperado por precipitación con isopropanol y centrifugación a 14.000 rpm. Finalmente el ADN fue resuspendido en 100 µl de TE 1X (10 mM Tris-HCl pH

8, 1 mM EDTA pH 8). La concentración y pureza del ADN se determinó por espectrofotometría (260/280nm).

3.6.3.2 Identificación molecular del *S. aureus*. La confirmación de los aislamientos de SARM y SAMS fue realizada mediante la detección de dos genes, el gen *nuc*, específico de especie del SAMR y el gen *mecA*, determinante de resistencia a meticilina.

El gen *nuc* codifica para una nucleasa termoestable (thermonuclease, TNase, DNase), con función de endonucleasa que degrada ácidos nucleicos (ADN y ARN). La detección de este gen se realizó mediante amplificación por RCP utilizando los iniciadores *nucA-F* y *nucA-R* que generan un amplificado de 299 pb (Tabla 4). De la misma manera se realizó la detección del gen *mecA*, determinante de resistencia que codifica para la PBP2a, enzima con baja afinidad a los betalactámicos producida por todas las cepas de SARM. Para la detección del gen *mecA* se utilizaron los iniciadores *mA2* e *IS2* que limitan una región de 533 pb (Tabla 4).

Se realizaron amplificaciones independientes en un volumen final de 20 µl que contenían buffer de reacción a una concentración final de 1X, 2.5mM de MgCl₂, 200 µM de cada desoxinucleótido trifosfatado, 0.5 µM de cada iniciador (*nuc*, *nucA-F* y *nucA-R* y *mecA*, *mA2* y *IS2*), 1 unidad de Taq DNA polimerasa y 1 µl de ADN bacteriano. La amplificación se realizó en un termociclador Biorad con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos, seguida por 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 minuto, anillamiento a 55°C por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto y extensión final a 72°C por 2 minutos. En las dos reacciones de amplificación se utilizó como control positivo se la cepa NRS100 (Cepa COL). De la misma forma se llevó a cabo la amplificación de los genes de virulencia y adhesión.

Tabla 4. Secuencia de iniciadores que amplifican los genes *nuc* y *mecA*

| Iniciador | Secuencia | Tamaño del Amplificado | Referencia |
|-----------|--|------------------------|-------------------------|
| nuc-F | 5'-AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC-3' | 279 pb | (Brakstad, et al. 1992) |
| nuc-R | 5'-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT-3' | | |
| mA-2 | 5'-AAC GTT GTA ACC CCA AGA-3' | 533 pb | (Okuma, et al. 2002) |
| IS-2 | 5'-TGA GGT TAT TCA GAT ATT TCG ATC TC-3' | | |

4.6.3.3 Caracterización genotípica de los aislamientos de SAMR. Se llevó a cabo mediante la tipificación del SCC*mec*. El tipo de SCC*mec* se determinó según las combinaciones del complejo *mec* y el complejo *ccr* mediante reacciones en cadena de la polimerasa independientes.

3.7 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Una vez se completó la recolección de la información clínica y molecular se diseñó una base de datos utilizando el programa Microsoft Excel. La base fue digitada en dos ocasiones por personas independientes y se realizó una validación visual de su contenido, cuando hubo dudas se realizaron las pesquisas pertinentes en la historia clínica.

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron con el programa estadístico Stata 12.1 (StataCorp, College Station, TX, 2013). El análisis estadístico descriptivo incluyó para las variables cualitativas el cálculo de proporciones, las cuales son presentadas en tablas de frecuencia. Para las variables cuantitativas se calcularon medidas de tendencia central (media o mediana), según fuera el caso, con sus respectivas medidas de dispersión (desviación estándar, cuartiles y rangos intercuartílicos), luego de realizar las pruebas de normalidad para cada una de las variables. Además, se agruparon según su distribución y se elaboraron tablas de frecuencia.

El análisis bivariado se hizo por medio de diferentes test estadísticos, dependiendo de la naturaleza de la variable: Chi cuadrado (χ^2) o test exacto de Fisher para variables cualitativas; y *t* de student o análisis de varianza para las variables cuantitativas. Se asumió un nivel de $p < 0,05$ para considerar diferencias estadísticamente significativas. Se diseñaron curvas de características operador receptor (*Receiver Operating Characteristic* -ROC- en ingles) de las variables cuantitativas con significancia estadística.

Se realizó el análisis multivariado utilizando el modelo de regresión lineal múltiple.

4. ASPECTOS ÉTICOS

Esta investigación se clasificó como “de riesgo mínimo” porque incluyó la toma de muestras de secreción o de sangre para cultivos, y los riesgos son inherentes a los de la situación médica; y en ella se cumplen con las normas fijadas en la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia que establece las disposiciones éticas para la investigación en humanos. Todos los procedimientos aquí contemplados fueron realizados por profesionales de la salud entrenados para tal fin. La participación de los representantes legales de los niños evaluados en este proyecto fue voluntaria y en ningún momento se ejerció presión sobre ésta (estímulos económicos o de otra índole). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los representantes legales del niño(a) una vez se informó la justificación y objetivos de la investigación, los beneficios o riesgos esperados, la garantía de recibir respuestas a preguntas y la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento (Anexo 1). Por el principio de confidencialidad de la información recolectada en investigación clínica, se protegió en todo momento la identidad de los participantes, mediante un código.

De igual forma, este trabajo fue evaluado y avalado por el comité *Ad Hoc* de ética para la investigación de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, y quedó inscrito en esa oficina con el código 8012020.

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA

Entre el primero de enero de 2011 y el 31 de marzo de 2013 ingresaron al Hospital Universitario de Santander (HUS) 49 pacientes con cultivos positivos para *S. aureus* caracterizados mediante el sistema automatizado MicroScan[®], disponible en el Laboratorio Clínico del HUS, de los cuales 39 (79,6%) fueron confirmados a través de la tipificación del gen específico de especie *nuc*, e incluidos en este estudio. De ellos, 24 (64,0%) correspondían a SAMR (*mec* positivo) y 15 (36,0%) a SAMS. Las características demográficas de ambos grupos se presentan en la tabla 5.

El análisis comparativo univariado, no mostró diferencias estadísticamente significativas relacionadas con el sexo, la edad, el lugar de procedencia y el área de residencia. Las infecciones por SAMR fueron significativamente más frecuentes en el estrato 1 (tabla 5).

Tabla 5. Características socio-demográficas

| | Tipo de <i>S aureus</i> | | Total | Valor de p |
|----------------------------------|-------------------------|-------------|-------------|------------|
| | SAMR (n=24) | SAMS (n=15) | | |
| Sexo | | | | |
| <i>Masculino</i> | 17 (70,8%) | 9 (60,0%) | 26 (66,7%) | 0,485 |
| <i>Femenino</i> | 7 (29,2%) | 6 (40,0%) | 13 (33,3%) | |
| Edad (años)* | 3 (1-3) | 2 (1-7) | 3 (1-6) | 0,977 |
| Grupo etario | | | | |
| <i>Neonatos</i> | 4 (16,7%) | 2 (13,3%) | 6 (15,4%) | 0,856 |
| <i>Lactantes</i> | 6 (25,0%) | 4 (26,7%) | 10 (25,6%) | |
| <i>Preescolares</i> | 4 (16,7%) | 4 (26,7%) | 8 (20,51%) | |
| <i>Escolares</i> | 8 (33,3%) | 3 (20,0%) | 11 (28,21%) | |
| <i>Adolescentes</i> | 2 (8,3%) | 2 (13,3%) | 4 (10,26%) | |
| Procedencia | | | | |
| <i>B/ga y área metropolitana</i> | 15 (62,5%) | 11 (73,3%) | 26 (66,7%) | 0,359 |
| <i>Otros Santander</i> | 6 (25,0%) | 4 (26,7%) | 10 (25,6%) | |
| <i>Fuera de Santander</i> | 3 (12,5%) | 0 (0,0%) | 3 (7,7%) | |
| Área de residencia | | | | |
| Urbano | 17 (70,8%) | 12 (80,0%) | 29 (74,4%) | 0,524 |
| Rural | 7 (29,2%) | 3 (20,00%) | 10 (25,6%) | |
| Estrato | | | | |
| 1 | 20 (83,3%) | 7 (46,7%) | 27 (69,2%) | 0,006 |
| 2 | 2 (8,3%) | 8 (53,3%) | 10 (25,6%) | |
| 3 | 2 (8,3%) | 0 (0,0%) | 2 (5,1%) | |

*Mediana y RIQ

5.2 CARACTERIZACIÓN CLÍNICA

La distribución de las infecciones por *S. aureus* según el origen del caso, es presentada en la tabla 6. La frecuencia de aislamientos de *S. aureus* en infecciones nosocomiales fue relativamente similar a la de las infecciones adquiridas en la comunidad [19 (48,7%) vs 18 (46,2%) respectivamente]; siendo las infecciones por SAMR más frecuentes tanto a nivel comunitario como hospitalario. Sin embargo no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre SAMR y SAMS al realizar el análisis univariado (p 0,682).

La mayoría de cultivos positivos para *S. aureus* se obtuvieron de secreciones de piel y tejidos blandos 17 (76,9%), seguidos por los adquiridos de catéteres venosos centrales 3 (10,3%), hemocultivos 2 (7,7%) y líquidos corporales 2 (5,1%).

En 11 (28,2%) casos se encontró el antecedente de tratamiento antibiótico previo [10 (90,9%) de ellos habían recibido tratamiento con oxacilina y 1 (9,1%) con amoxicilina]. De estos casos, 7 (63,6%) correspondían a infección por SAMR. Asimismo en 16 (41,0%) pacientes se halló el antecedente de foco previo en piel, de los cuales 10 (62,5%) tenían aislamiento de SAMR.

En los dos grupos el foco primario más frecuente se localizó a nivel de piel y tejidos blandos. No obstante no se encontró predominio de alguna cepa por un foco particular (tabla 6).

En el análisis bivariado las siguientes variables no se asociaron de forma estadísticamente significativa a infecciones por SAMR: los antecedentes de antibiótico-terapia previa y de lesiones cutáneas previas, la presencia de SRIS al ingreso y la duración de la fiebre (tabla 6).

Tabla 6. Características clínicas

| | Tipo de <i>S aureus</i> | | Total | Valor de p |
|-----------------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| | SAMR(n=24) | SAMS(n=15) | | |
| Origen del caso | | | | |
| <i>Comunitario</i> | 13 (54,2%) | 6 (40,0%) | 19 (48,7%) | 0,682 |
| <i>ACS⁺</i> | 1 (4,2%) | 1 (6,7%) | 2 (5,1%) | |
| <i>Nosocomial</i> | 10 (41,7%) | 8 (53,3%) | 18 (46,6%) | |
| Lugar de aislamiento | | | | |
| <i>Hemocultivo</i> | 2 (8,33%) | 1 (6,7%) | 3 (7,7%) | 0,595 |
| <i>Secreción</i> | 17(70,8%) | 13 (86,7%) | 30 (76,9%) | |
| <i>Líquidos</i> | 2 (8,3%) | 0 (0,0%) | 2 (5,1%) | |
| <i>CVC</i> | 3 (12,5%) | 1 (6,7%) | 4 (10,3%) | |
| Lesiones previas | | | | |
| Si | 10 (41,7%) | 6 (40,0%) | 16 (41,0%) | 0,918 |
| No | 14 (58,3%) | 9 (60,0%) | 23 (59,0%) | |
| Uso previo de antibióticos | | | | |
| Si | 7 (29,2%) | 4 (26,7%) | 11 (28,2%) | 0,866 |
| No | 17 (70,8%) | 11 (26,7%) | 28 (71,8%) | |
| SRIS | | | | |
| Si | 8 (33,3%) | 2 (13,3%) | 10 (25,6%) | 0,164 |
| No | 16 (66,7%) | 13 (86,7%) | 29 (74,4%) | |
| Foco primario | | | | |
| No aclarado | 0 (0,0%) | 2 (13,3%) | 2 (5,1%) | 0,823 |
| Piel y tej. blandos | 17 (70,8%) | 9 (60,0%) | 26 (66,7%) | |
| Osteoarticular | 2 (8,3%) | 1 (6,7%) | 3 (7,7%) | |
| Respiratorio | 1 (4,2%) | 0 (0,0%) | 1 (2,5,6%) | |
| CVC | 3 (12,5%) | 1 (6,7%) | 4 (10,3%) | |
| Ocular | 1 (4,2%) | 2 (13,3%) | 3 (7,7%) | |
| Duración Fiebre* | 0 (0-3) | 0 (0-8) | | |

*Mediana y RIQ

⁺ ACS: Asociado al cuidado de la salud

Al analizar las pruebas de laboratorio realizadas al ingreso hospitalario no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos relacionadas con el recuento de leucocitos y la velocidad de sedimentación globular. Sin embargo, al evaluar el porcentaje de neutrófilos se halló una diferencia estadísticamente significativa a favor del SAMR (tabla 7). No se analizó la proteína C reactiva debido a que no se efectuó en 17 (43,6%) pacientes.

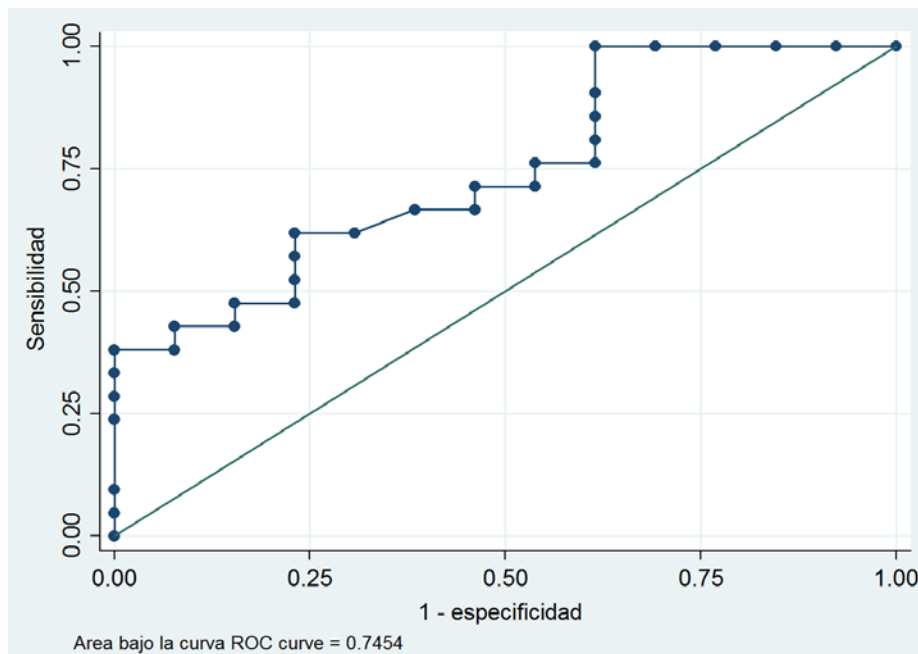
Tabla 7: Resultados de los laboratorios de ingreso

| | Tipo de <i>S aureus</i> | | Total | Valor de p |
|-----------------------|-------------------------|-------------------|-------|------------|
| | SAMR(n=24) | SAMS(n=15) | | |
| Leucocitos* | 14000 (9300- 19300) | 11200(7300-14000) | | 0,330 |
| % Segmentados* | 71 (55-84) | 60 (30-65) | | 0,0175 |
| VSG* | 21 (8-46) | 22 (15-47) | | 0,793 |

*Mediana y RIQ

Para evaluar el rendimiento diagnóstico del porcentaje de neutrófilos como predictor de infección por SAMR y SAMS, se diseñó una curva receptor operador (*Receiver Operating Characteristic –ROC-*, figura 1), la cual mostró ser discriminante (área bajo la curva ROC de 0,745 -IC95% 0,576 - 0,915-), y que un porcentaje de neutrófilos $\geq 81\%$ es predictor de infección por SAMR (S: 38.10%, E: 100.0%) y un porcentaje de neutrófilos $\leq 34\%$ predice infecciones por SAMS (S: 100.00%, E: 38.46%).

Figura 1. Curva ROC del porcentaje de neutrófilos en infecciones por SAMR y SAMS



Al realizar el análisis multivariado con regresión lineal múltiple, se halló que el porcentaje de segmentados fue un predictor de infección por SAMR o SAMS, independiente de la edad, lugar de aislamiento, sexo, área de residencia, lugar de procedencia, nivel socioeconómico, antecedentes de lesión previa en piel y de antibiótico-terapia previa, duración de la fiebre, presencia de SRIS y severidad; encontrando que los SAMR tenían un 18,1% mayor porcentaje de neutrófilos que los SAMS (IC95% 2.9-33.3).

Se analizaron los desenlaces clínicos identificando un mayor porcentaje de complicaciones en los pacientes con infecciones por SAMR, que en los que tenían infecciones por SAMS. En 5 pacientes con infecciones por SAMR se encontró más de una complicación, mientras que en 1 de los paciente con infecciones por SAMS se determinó mas de una complicación. Asimismo los pacientes con infecciones por SAMR presentaron con más frecuencia infecciones severas, que en los pacientes con infecciones por SAMS. Sin embargo tanto en el grupo de infecciones por SAMR, como en el de infecciones por SAMS, sólo se presentó un caso de mortalidad [1(4,2%) vs 1(6,7%)]. Al realizar el análisis bivariado no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos relacionadas con estas variables (tabla 8).

Tabla 8: Desenlaces clínicos

| | Tipo de <i>S aureus</i> | | Total | Valor de p |
|-----------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| | SAMR(n=24) | SAMS(n=15) | | |
| Complicaciones | | | | |
| No complicados | 15 (62,5%) | 11 (73,3%) | 26 (66,7%) | |
| Complicados | 9 (37,5%) | 4 (26,7%) | 13 (33,3%) | |
| Shock séptico | 5 (20,8%) | 4 (26,7%) | 9 (23,1%) | |
| Manif. a distancia | 7 (29,2%) | 2 (13,3%) | 9 (23,1%) | 0,485 |
| Osteoarticular | 5 (24,8%) | 0 (0,0%) | 5 (12,8%) | |
| Neumonía | 2 (8,3%) | 1 (6,7%) | 3 (7,7%) | |
| Meningitis | 0 (0,0%) | 1 (6,7%) | 1 (2,6%) | |
| Severidad | | | | |
| Severa | 7 (29,2%) | 4 (26,7%) | 11 (28,2%) | 0,866 |
| No severa | 17 (70,8%) | 11 (73,3%) | 28 (71,8%) | |
| Mortalidad | | | | |
| Muerte | 1 (4,2%) | 1 (6,7%) | 2 (5,1%) | 0,731 |
| No muerte | 23 (95,8%) | 14 (93,3%) | 37 (94,9%) | |

5.3 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

5.3.1 Determinantes de virulencia.

5.3.1.1 Distribución de los genes de virulencia según el tipo de aislamiento de *S. aureus*. En SAMS se encontró que la mayoría de los aislamientos contenían 2 genes de virulencia de forma simultánea [9 (64,3%) de los 15 aislamientos]. *hlg* que codifica la hemolisina gamma se encontró en todos los aislamientos. *Luk S/F- PV* que codifica la Leucocidina de Pantón Valentine se detectó en 4 (26,7%) de estas cepas. Los genes que codifican las enterotoxinas estafilocócicas k, b y q, se observaron con mayor frecuencia que los genes que codifican exfoliotoxinas, siendo *sek* el gen más frecuentemente detectado en 13 (86,7%) casos, seguido por *seb* en 4 (26,7%) y *seq* en 1 (6,7%) caso. *eta* y *etb* se identificaron en 3 (20,0%) y 1 (6,7%) de los aislamientos respectivamente.

En SAMR se identificó que la mayoría de las cepas albergaban 4 genes de virulencia simultáneamente [14 (58,3%) de los 24 aislamientos]. Tanto *hlg* como *Luk S/F- PV* se encontraron presentes en todos los aislamientos. De forma similar a SAMS, los genes que codifican enterotoxinas predominaron sobre los genes que codifican exfoliotoxinas, siendo *sek* el gen más frecuentemente detectado en 22 (91,7%) cepas, seguido de *seq* en 13 (54,2%) y *seb* en 2 (8,3%) cepas. *eta* y *etb* se identificaron en una baja frecuencia [3 (12,5%) y 1 (4,2%) de las cepas respectivamente].

El análisis bivariado mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la presencia de los siguientes genes de virulencia entre las cepas de SAMS y SAMR: *Luk S/F- PV* (100 % vs 26,7%, $p = 0,004$) y *seq* (54,2% vs 6,7%, $p = 0,003$; tabla 9).

Tabla 9: Distribución de los genes de virulencia según el tipo de aislamiento de *S. aureus* y el tipo de SCCmec

| | Tipo de <i>S aureus</i> | | Total | Valor de p | Tipo de SCC mec SAMR | | |
|----------------------|-------------------------|----------------|------------|------------|----------------------|-------------------|-------------|
| | SAMR (n=24) | SAMS (n=15) | | | Tipo I (n=4) | Tipo IV (n=19) | NT (n=1) |
| <i>lukS/F</i> | 24(100,0%) | 4 (26,7%) | 28(71,8%) | 0,0001 | 4(16,7%) | 19(79,2%) | 1(4,2%) |
| <i>hlg</i> | 24(100,0%) | 15(100,0%) | 39(100,0%) | | 4(16,7%) | 19(79,2%) | 1(4,2%) |
| <i>eta</i> | 3 (12,5%) | 3 (20,0%) | 6(15,38%) | 0,528 | 1(4,2%) | 2(8,3%) | 0(0,0%) |
| <i>etb</i> | 1 (4,2%) | 1 (6,7%) | 2(5,13%) | 0,731 | 0(0,0%) | 1(4,2%) | 0(0,0%) |
| <i>seb</i> | 2 (8,3%) | 4 (26,7%) | 6(15,4%) | 0,123 | 3(12,5%) | 9(37,5%) | 1(4,2%) |
| <i>sek</i> | 22 (91,7%) | 13(86,7%) | 35(89,7%) | 0,617 | 0 (0,0%) | 2(8,3%) | 0(0,0%) |
| <i>seq</i> | 13 (54,2%) | 1 (6,67%) | 14 (35,9%) | 0,003 | 4(16,7%) | 17(70,8%) | 1(4,2%) |

Adicionalmente se determinó la presencia de casete cromosomal SCCmec en los aislamientos de SAMR. De ellos 19 (79,2%) contenían SCCmec IV, 4 (16,7%) SCCmec I y 1 (4,2%) no fue tipificado. La frecuencia de los genes de virulencia según el tipo de SCCmec se presenta en la tabla 9.

La distribución del tipo de SCCmec de acuerdo al origen del caso se muestra en la tabla 4. SCCmec IV se identificó con mayor frecuencia tanto en los casos comunitarios [11(78,6%) vs 2(14,3%) respectivamente], como en los asociados al cuidado de la salud [1(100,0%) vs 0 (0,0%)], y los nosocomiales [7 (77,8%) vs 2 (22,2%)]. No obstante, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos al realizar el análisis bivariado (tabla 10).

Tabla 10: Distribución del SCCmec según el origen del caso

| Tipo de caso | Tipo de SCCmec del SAMR | | | Total | Valor de p |
|-------------------------------------|-------------------------|--------------|------------|---------------|------------|
| | I | IV | NT | | |
| | n: 4 (16,7%) | n:19 (79,2%) | n:1 (4,2%) | n:24 (100,0%) | |
| Comunitario | 2 (14,3%) | 11 (78,6%) | 1 (7,14%) | 14 (100,0%) | |
| Asociado al cuidado de salud | 0 (0,0%) | 1 (100,0%) | 0 (0,0%) | 1 (100,0%) | 0,886 |
| Nosocomial | 2 (22,2%) | 7 (77,8%) | 0 (0,0%) | 9 (100,0%) | |

5.3.1.2. influencia de los determinantes de virulencia sobre la severidad de las infecciones por *S. aureus*. No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de genes de virulencia y la severidad de las infecciones por *S. aureus* (Ver tabla 11).

Tabla 11: Influencia de los genes de virulencia en los casos severos

| Severidad F.virulencia | <i>S. aureus</i> (n. 39) | | Total | Valor p |
|---------------------------|--------------------------|-------------------|-------|---------|
| | Severa (n: 11) | No severa (n: 28) | | |
| <i>lukS/F-PV</i> | 9 (32,1%) | 19 (67,9%) | 28 | 0,383 |
| <i>hlg</i> | 11 (28,2%) | 28 (71,8%) | 39 | - |
| <i>eta</i> | 1 (16,6%) | 5 (83,3%) | 6 | 0,495 |
| <i>etb</i> | 0 (0,0%) | 2 (100,0%) | 2 | 0,363 |
| <i>seb</i> | (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 | - |
| <i>sek</i> | 9 (25,7%) | 26 (74,2%) | 35 | 0,307 |
| <i>seq</i> | 2 (16,0%) | 12 (85,7%) | 14 | 0,148 |

5.3.2. Determinantes de adhesión.

5.3.2.1 Distribución de los genes de adhesión según el tipo de aislamiento de *S. aureus*. En los aislamientos de SAMR se detectó *fnbA*, *clfA* y *clfB* en 24 (100%) cepas, seguidos *ica* en 21 (87,5%) cepas; a diferencia de los aislamientos de SAMS, que mostraron *fnbA* y *clfB* en todas las cepas 15 (100%), seguidos por *clfA* en 14 (93,3%) cepas, e *ica* en 13 (86,7%) cepas.

El análisis bivariado no mostró diferencias estadísticamente significativas al evaluar la presencia de genes de adhesión entre ambas cepas (Ver tabla 12).

Tabla 12: Distribución de los genes de adhesión según el tipo de aislamiento de *S. aureus*

| | Tipo de <i>S aureus</i> | | Total | Valor de p |
|-------------|-------------------------|-------------|-------------|------------|
| | SAMR(n=24) | SAMS(n=15) | | |
| <i>fnbA</i> | 24 (100,0%) | 15 (100,0%) | 39 (100,0%) | - |
| <i>clfA</i> | 24 (100,0%) | 14 (93,3%) | 38 (97,4) | 0,200 |
| <i>clfB</i> | 24 (100,0%) | 15 (100,0%) | 39 (100,0%) | - |
| <i>icA</i> | 21 (87,5%) | 13 (86,7%) | 34 (87,2%) | 0,940 |
| <i>cna</i> | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | - |

5.3.2.2. influencia de los determinantes de adhesión sobre la localización del foco primario de las infecciones por *S. aureus*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas cepas al relacionar la localización del foco primario con la presencia de genes de adhesión (tabla 13).

Tabla 13: Influencia de los genes de adhesión sobre la localización del foco primario del SAMR y SAMS

| Factores de adhesión Foco primario | fnbA | | clfA | | clfB | | icA | | Cna | |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | SAMR n:24 | SAMS n:15 | SAMR n:24 | SAMS n:15 | SAMR n:24 | SAMS n:15 | SAMR n:24 | SAMS n:15 | SAMR n:24 | SAMS n:15 |
| No detectable | - | 2 (13,3%) | - | 2(13,3%) | - | 2 (13,3%) | - | 2 (13,3%) | - | 0 (0,0%) |
| Piel y TB | 17(70,8%) | 9 (60,0%) | 17(70,8%) | 8(53,3%) | 17(70,8%) | 9 (60,0%) | 14(58,3%) | 8 (53,3%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| Osteoarticular | 2 (8,3%) | 1 (6,7%) | 2 (8,3%) | 1 (6,7%) | 2 (8,3%) | 1 (6,7%) | 2 (8,3%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| Respiratorio | 1 (4,2%) | - | 1 (4,2%) | - | 1 (4,2%) | - | 1 (4,2%) | - | 0 (0,0%) | - |
| CVC | 3 (12,5%) | 1(6,7%) | 3 (12,5%) | 1 (6,7%) | 3 (12,5%) | 1 (6,7%) | 3 (12,5) | 1 (6,7%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| Ocular | 1 (4,2%) | 2 (13,3%) | 1(4,2%) | 2 (13,3%) | 1 (4,2%) | 2 (13,3%) | 1 (4,2%) | 2 (13,3%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| Valor de p | - | | | 0,992 | - | | | 0.271 | | - |

6. DISCUSIÓN

En los últimos años ha resurgido el interés en el estudio de las infecciones por *S. aureus*, a causa del impacto que ha generado la emergencia del SAMR a nivel mundial, por ser uno de los principales agentes causales de infecciones tanto hospitalarias como comunitarias, y estar asociado con mayor severidad y mortalidad, al compararse con SAMS (Cosgrove et al. 2003, García et al. 2007). No obstante, existen trabajos en población adulta que señalan que las características clínicas de las infecciones por SAMR podrían ser similares a las causadas por SAMS (Murray et al. 2004, Wang et al. 2008).

En la población pediátrica existen pocas publicaciones sobre este tema. Burke y colaboradores llevaron a cabo un estudio retrospectivo entre 2001 y 2006, que reclutó 151 episodios de bacteremia por *S. aureus*, encontrando que los niños con bacteremia por SAMR tenían una estancia hospitalaria más prolongada y una mayor tasa de mortalidad, en comparación con los niños con bacteremia por SAMS (Burke et al. 2009).

Recientemente Park DA y colaboradores, realizaron un metaanálisis que mostró una mayor tasa de mortalidad en el grupo con bacteremia por SAMR, en comparación con el de bacteremia por SAMS [Incluyó 7 estudios de cohorte publicados entre el 2000 y 2011, n: 667 pacientes pediátricos (191 SAMR, 476 SAMS)]. Sin embargo, debido al número limitado de publicaciones en este grupo poblacional, los autores indican la necesidad de realizar mayor investigación que evalúe el impacto de la resistencia a meticilina sobre la morbimortalidad en la edad pediátrica (Park DA et al. 2013). De forma opuesta a los trabajos previamente expuestos, este estudio no encontró diferencias estadísticamente significativas relacionadas con severidad, complicaciones y mortalidad de las infecciones por

SAMR y SAMS. Sin embargo, su pequeño tamaño de muestra no permite validar dicho hallazgo.

Por otra parte, se encontró de forma llamativa que 10 de los 11 pacientes con uso de antibióticoterapia previa (90,90%) habían recibido oxacilina en instituciones hospitalarias de menor complejidad. De ellos, 2 fallecieron. Dicho hallazgo pone de manifiesto la necesidad de iniciar cubrimientos antibióticos empíricos que garanticen eficacia y adecuadas concentraciones inhibitorias mínimas frente a *S. aureus*. Recientemente se llevó a cabo un estudio que no mostró bioequivalencia entre los medicamentos genéricos de Oxacilina utilizados en Colombia al compararlos con el innovador, e incluso observó que algunos tenían curvas de eficacia máxima significativamente menores (Rodríguez et al. 2010). Lo anterior hace recomendable limitar el uso de medicamentos genéricos de Oxacilina, debido a la menor eficacia y el alto riesgo de realizar tratamientos subóptimos.

De igual modo, fue interesante el hallazgo de una diferencia estadísticamente significativa entre el porcentaje de neutrófilos al ingreso hospitalario presentado por los pacientes con infecciones por SAMR y SAMS. Los datos obtenidos identificaron la presencia de neutrofilia predominantemente en las infecciones causadas por SAMR; a diferencia de las infecciones por SAMS, en las cuales se evidenciaron porcentajes de neutrófilos considerablemente menores. Diversos trabajos han atribuido la capacidad que tiene *S. aureus* para producir activación, proliferación y lisis de los neutrófilos, a la expresión de una amplia gama de factores de virulencia (LPV, leucotoxinas LukGH y LukAB, modulina soluble en fenol tipo α y hemolisina alfa), los cuales podrían estar interrelacionados (Wang et al. 2007, Li et al. 2009, Rigby et al. 2012). Estos factores, particularmente en SAMR-AC, podrían condicionar cuadros clínicos severos caracterizados por neutrofilia mayor al 80% y marcada elevación de reactantes de fase aguda (Diep et al. 2008, Chase et al. 2012).

Sin embargo, existe controversia respecto a la influencia que tiene la adquisición de determinantes de resistencia a antibióticos en *S. aureus*, sobre la expresión de genes de virulencia, y el impacto que estos podrían tener en la clínica de estas infecciones (Sakoulas et al. 2003, Gill et al. 2005, Jiménez et al. 2011). Algunos trabajos sugieren que la adquisición de resistencia a la meticilina en *S. aureus*, podría disminuir la expresión de los determinantes de virulencia (Collins et al. 2010, Otto 2010). Contrario estos resultados, el presente estudio mostró una mayor diversidad de determinantes de virulencia en las cepas SAMR, que en las de SAMS, los cuales pudieron influenciar la tendencia a la neutrofilia vista en las cepas de SAMR.

Asimismo, se ha sugerido que la presencia de un determinado casete cromosomal *SCCmec* podría influenciar la expresión de ciertos determinantes de virulencia en las cepas de SAMR. Collins y colaboradores encontraron que los SAMR que contenían el *SCCmec* II, un casete cromosomal grande, tenían una importante reducción en el número de factores de virulencia, mientras que los aislamientos con *SCCmec* IV, un casete de tamaño pequeño, poseían una mayor cantidad de determinantes de virulencia. De forma similar, este estudio identificó que las cepas que albergaban el *SCCmec* tipo I, un casete cromosomal de gran tamaño, presentaban un menor número de genes de virulencia, en comparación con las cepas que contenían el *SCCmec* tipo IV. Posiblemente esta diferencia esté dada por una mayor demanda de energía en los SAMR con casetes cromosomales de gran tamaño, que produce una disminución en el rendimiento metabólico de estas cepas (Lee et al. 2007, Collins et al. 2010, Jiménez et al. 2011).

Al analizar la frecuencia de cada *SCCmec* según su origen, este estudio encontró un mayor porcentaje de *SCCmec* tipo IV, tanto en las infecciones adquiridas a nivel comunitario, como en las asociadas al cuidado de la salud, y las adquiridas a nivel nosocomial. Este hallazgo coincide con estudios realizados principalmente en los Estados Unidos y Taiwán, donde la prevalencia del SAMR-AC es muy alta, que

muestran una tendencia del SAMR-AC a diseminarse al ámbito hospitalario, la cual incluso, podría estar reemplazando al SAMR-AH (Popovich et al. 2008). No obstante, en Colombia durante la última década, también se ha informado esta tendencia en Bogotá (Álvarez et al. 2010) y Bucaramanga (Machuca et al. 2013, Machuca et al. 2014). Lo anterior pone de manifiesto la necesidad de continuar la realización de estudios a nivel local que determinen la verdadera prevalencia de *S. aureus* y la dinámica de su transmisión nosocomial y comunitaria; con el fin de encontrar medidas eficientes de manejo racional y mejorar las condiciones de salud de la población pediátrica.

Por otro lado, se ha sugerido que la adquisición de algunos determinantes de virulencia y resistencia podría estar influenciada por la ubicación geográfica y factores clínico epidemiológicos propios de cada región. En Estados Unidos se encontró una baja frecuencia de los genes que codifican la LPV en las cepas de SAMS (Kuehnert et al. 2006), a diferencia de República Checa, en donde se halló que estos eran más frecuentes en los aislamientos de SAMS (Sila et al. 2009). De igual forma, un estudio multicéntrico llevado a cabo en cuatro continentes, encontró que en América se identificó una mayor frecuencia de aislamientos de SAMR LPV (+), que en África, Asia y Europa (Straus et al. 2007). Lo anterior coincide con los hallazgos obtenidos en este estudio, el cual muestra una mayor frecuencia del gen *Luk S/F-PV* en los aislamientos de SARM.

Aparte de los genes que codifican la LPV, este estudio encontró una mayor frecuencia de genes que codifican enterotoxinas (*seb*, *sek*, *seq*) y hemolisina gamma (*hlg*) en SAMR, que en SAMS. Este hallazgo concuerda con los resultados de Sila y colaboradores, quienes determinaron una mayor prevalencia de los genes de enterotoxinas en las cepas de SARM (Sila et al. 2009). La baja frecuencia de *eta* y *etb* se relaciona con la reportada en otro estudio que identificó estos genes en el 5 % de *S. aureus* (van Trijp et al. 2010).

Aunque existe controversia sobre el papel que tienen los determinantes de virulencia en la severidad de las infecciones por *S. aureus* (Oliveira et al. 2002 , Chambers et al. 2009 , DeLeo et al. 2009 , Otto 2010), este estudio no mostró una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de determinantes de virulencia y la severidad clínica de las infecciones por SAMR y SAMS. Sin embargo, debido a que este estudio no alcanzó un poder estadístico cercano al 80%, a causa de su pequeño tamaño de muestra, no es posible establecer de forma confiable esta asociación. Lo anteriormente expuesto, señala la necesidad de llevar a cabo investigaciones a largo plazo, que permitan la inclusión de un mayor número de pacientes, con el fin de establecer de forma confiable la influencia de los factores de virulencia en la morbimortalidad de los pacientes con infecciones por *S. aureus*.

Adicionalmente no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en expresión de factores de adhesión entre las infecciones por SAMR y SAMS. Asimismo no se determinó una asociación entre la expresión de factores de virulencia y la localización del foco primario en ambas cepas. Esto sugiere que SAMR y SAMS, tienen el mismo potencial para producir infecciones tanto localizadas como diseminadas.

Finalmente, se debe señalar que una de las principales debilidades de este estudio fue el tamaño de muestra reducido y la pérdida de un porcentaje considerable de pacientes, debido a que a pesar de incluir inicialmente 49 casos de pacientes con cultivos positivos para *S. aureus*, durante la tipificación molecular del gen *nuc*, sólo 39 cepas (79,59%) de *S. aureus* fueron confirmadas. Estos resultados sugieren que la utilización de cultivos automatizados, podría excluir a otras especies bacterianas con perfiles bioquímicos similares a *S. aureus*, que son erróneamente identificadas como *S. aureus*.

Hasta la fecha, se conocen siete especies de estafilococos que tienen un perfil

bioquímico parecido al del *S. aureus*, tradicionalmente descritas en la medicina veterinaria. *S. intermedius*, *S. pseudointermedius* y *S. delphini* son fuente de infección en perros, gatos, caballos y aves (Devriese et al. 2005, Sasaki et al. 2007). *S. schleiferi* subespecie *coagulans* se ha aislado en perros (Igimi et al. 1990), *S. lutrae* en nutrias, *S. agnetis* en la leche de bovinos con mastitis (Tapoen et al. 2012) y *S. hyicus* en porcinos (Fudaba et al. 2005).

Sin embargo, en humanos también se han reportado casos de infecciones causadas por dichos gérmenes. *S. intermedius*, *S. pseudointermedius* y *S. delphini*, han sido aislados en heridas por mordedura de perros (Devriese et al. 2005, Sasaki et al. 2007). *S. schleiferi* subespecie *coagulans* fue identificado por tipificación molecular en un paciente con infección en piel y tejidos blandos de origen nosocomial (Vandenesch et al. 1994), y en un caso de endocarditis e infección metastásica que requirió manejo con Vancomicina, Gentamicina y Rifampicina, en el cual se reportaron inicialmente cultivos erróneamente positivos para *S. aureus* (Kumar et al. 2007). *S. hyicus* fue aislado en un paciente con infección de la herida causada por la mordedura de un burro (Osterlund et al. 1997). Recientemente se reportó el caso de un granjero que tenía contacto estrecho con porcinos, hospitalizado por sepsis y celulitis de la pierna izquierda, en quién se reportaron cultivos positivos para *S. aureus*. Sin embargo debido a la rápida recuperación del paciente, inusual en infecciones causadas por este microorganismo, y ante la presencia de características bioquímicas atípicas para *S. aureus*, se realizó la caracterización molecular de especie, la cual identificó la presencia de *S. hyicus* (Casanova C et al. 2011).

A pesar que los sistemas de cultivos automatizados, como el MicroScan[®] (utilizado este trabajo), tienen aceptables índices de confiabilidad, varias investigaciones señalan que las técnicas fenotípicas, poseen limitaciones en su capacidad de tipificación y estabilidad, siendo más propensas a sufrir modificaciones en el tiempo, en comparación a los métodos de genotipificación. (Kloos et al. 1991,

Maslow et al. 1993, Hernández et al. 2001, Sasaki et al. 2007, Kaase et al. 2009, Sasaki et al. 2010). Esta circunstancia pone de manifiesto la necesidad de implementar técnicas de tipificación molecular en el Hospital Universitario de Santander, con el propósito de mejorar la identificación de agentes etiológicos con perfiles bioquímicos similares a las bacterias clásicamente tipificadas, las cuales podrían diferir en el potencial de patogenicidad y la susceptibilidad a antibióticos.

7. CONCLUSIONES

Desde el punto de vista genético, SAMR y SAMS tienen el potencial de presentarse tanto con infecciones severas como no severas en los pacientes pediátricos internados en el Hospital Universitario de Santander. Posiblemente estas cepas cuenten con otros determinantes, que modifiquen la presentación clínica y su severidad.

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la mortalidad, complicaciones y severidad de las infecciones por SAMR y SAMS en los pacientes pediátricos internados en el Hospital Universitario de Santander.

Ambas cepas tienen un perfil similar de factores de adhesión, lo que sugiere que tanto SAMR como SAMS tienen el mismo potencial para producir infecciones localizadas ó sistémicas.

SAMS continúa siendo una causa importante de infección en el Hospital Universitario de Santander y a nivel mundial, lo que sugiere que aún SAMR no lo ha sustituido.

Se determinó que los aislamientos de SARM se distribuyeron de forma proporcional entre los orígenes de comunitarios y nosocomiales, y se encontró SARM comunitario en el ámbito hospitalario.

A pesar de la amplia utilización de los métodos de caracterización fenotípica de microorganismos, estos pueden fallar. Esto tiene importantes implicaciones clínicas y de vigilancia epidemiológica.

8. RECOMENDACIONES

Realizar estudios moleculares de tipificación a largo plazo que permitan reclutar un mayor número de pacientes, con el fin de lograr un mayor conocimiento de la epidemiología molecular de *S. aureus*, lo cual posibilitará el establecimiento de medidas eficientes en el manejo racional de estas infecciones e impactará en el mejoramiento de las condiciones de salud de la población.

Implementar en el Hospital Universitarios de Santander métodos de tipificación molecular que logren mejorar el diagnóstico de microorganismos inusuales que tengan perfiles bioquímicos similares a las bacterias comúnmente caracterizadas.

9. BIBLIOGRAFÍA

AIELLO, A. E., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among US prisoners and military personnel: review and recommendations for future studies. En: Lancet Infectious Diseases. Jun, 2006, vol. 6, no. 6, p. 335–41.

ALEXANDER, E. H., and HUDSON, M. C. Factors influencing the internalization of *Staphylococcus aureus* and impacts on the course of infections in humans. En: Appl Microbiol Biotechnol. Aug, 2001, vol. 56, no. 3-4, p. 361-6.

ÁLVAREZ, C.A., et al. Community- associated Methicillin -resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. En: Emerg Infect Dis. Jun, 2006, vol. 12, no. 6, p. 2000-1.

—. Nosocomial infections caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Colombia. En: Am J Infect Control. May. 2010, vol. 38, no. 4, p. 315-8.

ÁLVAREZ, M.I., et al. Caracterización clínica, epidemiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina causante de infecciones en niños de instituciones de tercer nivel en Bogotá: primeros 50 casos. En: Infectio. Oct, 2010, vol. 14, suppl 1, p. 77.

ARIAS, C.A., et al. MRSA USA 300 clone and VREF -a U.S.- Colombian connection?. En: N Engl J Med. Nov, 2008, vol. 359, no. 20, p. 2177-9.

BOUBAKER, K., et al. Panton-Valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. En: Emerg Infect Dis. Jan, 2004, vol. 10, no. 1, p. 121-4.

BOYLE-VAVRA, S., and DAUM, R.S. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. En: Lab Invest. Jan, 2007, vol. 87, no. 1, p. 3-9.

BUITRAGO, G., et al. Emergencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina con perfil comunitario en hospitales de Bogotá. En: Infectio. Oct, 2010, vol. 14, suppl 1, p. 64.

BURKE, R.E., et al. Pediatric and neonatal *Staphylococcus aureus* bacteremia: epidemiology, risk factors, and outcome. En: Infect Control Hosp Epidemiol. Jul, 2009, vol. 30, no. 7, p. 636- 44.

CASANOVA, C., et al. *Staphylococcus hyicus* bacteremia in a farmer. En: J Clin Microbiol. Dec, 2011, vol. 49, no. 12, p. 4377-8.

CHAMBERS, H.F., and DELEO, F.R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. En: Nat Rev Microbiol. Sep, 2009, vol. 7, no. 9, p. 629-41.

CHAMBERS, H.F. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?. En: Emerg Infect Dis. Mar-Apr, 2001, vol. 7, no. 2, p.178-82.

CHANG, F.Y., et al. A prospective multicenter study of *Staphylococcus aureus* bacteremia: Incidence of endocarditis, risk factors for mortality, and clinical impact of methicillin resistance. En: Medicine (Baltimore). Sep, 2003, vol. 82, no. 5, p. 322-32.

CHARLEBOIS, E.D., et al. Origins of community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. En: Clin Infect Dis. Jul, 2004, vol. 39, no. 1, p.47-54.

CHASE, M., et al. Predictors of bacteremia in emergency department patients with suspected infection. En: Am J Emerg Med. Nov, 2012, no. 30, vol. 9, p. 1691-7.

CHASTRE, J., and FAGON, J.Y. Ventilator-associated pneumonia. En: Am J Respir Crit Care Med. Apr, 2002, vol. 165, no. 7, p. 867-903.

CLSI. Quality Management System: A Model for Laboratory Services; Approved Guideline - Fourth Edition. Pennsylvania USA, 2011. En: CLSI document GP26-A4. 2011, vol. 31, no.15.

COLLINS, J., et al. Offsetting virulence and antibiotic resistance costs by MRSA. En: ISME J. Apr, 2010, vol. 4, no. 4, p. 577-84.

CORTÉS, J.A., et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Bogotá, Colombia: public health implications. En: Rev Salud Pública (Bogotá). Jul-Sep, 2007; vol.9, no. 3, p. 448-54.

COSGROVE, S.E., et al. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bacteremia: a meta-analysis. En: Clin Infect Dis. Jan, 2003, vol 36, no.1, p. 36-9.

DELEO, F.R., DIEP, B.A., and OTTO, M. Host defense and pathogenesis in Staphylococcus aureus infections. En: Infect Dis Clin North Am. Mar, 2009, vol. 23, no.1, p. 17-34.

DEURENBERG, R.H., and STOBBERINGH, E.E. The evolution of Staphylococcus aureus. En: Infect Genet Evol. Dec, 2008, vol. 8, no. 6, p.747-63.

DEURENBERG, R.H., and STOBBERINGH, E.E. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. En: *Curr Mol Med*. Mar, 2009, vol. 9, no. 2, p. 100-15.

DEVRIESE, L. A., et al. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. En: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Jul, 2005, vol. 55, no. 4, p. 1569–73.

DÍAZ, M.H., et al. Estudio Multicéntrico: caracterización epidemiológica y microbiológica de aislamientos hospitalarios vs. asociados a la comunidad de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativo* meticilino resistentes en instituciones hospitalarias de la Región Caribe. En: *Infectio*. 2008, vol. 12, Suppl. 1, p.122.

DIEP, B.A., and OTTO, M. The role of virulence determinants in community-associated MRSA pathogenesis. En: *Trends Microbiol.* 2008;16:361-9.

ESCOBAR, J., et al. Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina adquirido en la comunidad (SARM-AC) en Colombia. En: *Infectio*. 2008, vol. 12, Suppl. 1, p. 72.

FALCONE, M., SERRA, P., and VENDITTI, M. Serious infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An evolving challenge for physicians. En: *Eur J Intern Med*. Jul, 2009, vol. 20, no. 4, p. 343–7.

FOWLER, V.G., et al. Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia. En: *Arch Intern Med*. Sep, 2003, vol 163, no. 17, p. 2066-72.

FRIDKIN, S.K., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. En: *N Engl J Med*. Apr, 2005, vol. 352, no. 14, p. 1436-44.

FRIEDMAN, N.D., et al. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. En: Ann Intern Med. Nov, 2002, vol. 137, no. 10, p. 791-7.

FUDABA, Y., et al. Staphylococcus hyicus exfoliative toxins selectively digest porcine desmoglein 1. En: Microb. Pathog. Nov-Dec, 2005, vol. 39, no. 5-6, p. 171-6.

GARCÍA, E, et al. A comparative study of patients with methicillin susceptible versus methicillin resistant Staphylococcus aureus bacteremia: epidemiology and prognostic factors. En: Med Clin (Barc). May, 2007, vol. 128, no. 18, p. 681-6.

GILL, S.R., et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain and a biofilm-producing methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis strain. En: J Bacteriol. Apr, 2005, vol. 187, no. 7, p. 2426-38.

GONZALEZ, B.E., et al. Community-associated strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus as the cause of healthcare-associated infection. En: Infect Control Hosp Epidemiol. Oct, 2006, vol. 27, no. 10, p.1051-6.

GORDON, R.J., and LOWY, F.D. Pathogenesis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. En: Clin Infect Dis. Jun, 2008, vol. 46, Suppl 5, p. S350-9.

HAKIM, H., MYLOTTE, J.M., and FADEN, H. Morbidity and mortality of staphylococcal bacteremia in children. En: Am J Infect Control. Mar, 2007, vol. 35, no. 2, p.102-5.

HEALY, C.M., et al. Emergence of new strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit. En: Clin Infect Dis. Nov, 2004, vol. 39, no. 10, p. 1460–6.

HERNANDEZ, J.L., et al. Clinical and microbiological characteristics of 28 patients with *Staphylococcus schleiferi* infection. En: Eur J Clin Microbiol Infect Dis. Mar, 2001, vol. 20, no. 3, p. 153-8.

HULTEN, K.G., et al. Hospital-Acquired *Staphylococcus aureus* Infections at Texas Children's Hospital, 2001–2007. En: Infect Control Hosp Epidemiol. Feb, 2010, vol. 31, no. 2, p. 183-90.

IGIMI, S., TAKAHASHI, E., and MITSUOKA, T. *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* subsp. *nov.*, isolated from the external auditory meatus of dogs with external ear otitis. En: Int. J. Syst. Bacteriol. Oct, 1990, vol. 40, no. 4, p. 409-11

ITO, T., et al. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. En: Drug Resist Updat Feb, 2003, vol. 6, no. 1, p. 41-52.

JIMENEZ, J.N., et al. Characterisation of virulence genes in methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a paediatric population in a university hospital of Medellin, Colombia. En: Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Dec, 2011, vol. 106, no. 8, p. 980-5.

KAASE, M., et al. Performance of MicroScan WalkAway and Vitek 2 for Detection of Oxacillin Resistance in a Set of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates with Diverse Genetic Backgrounds. En: J Clin Microbiol. Aug, 2009, vol. 47, no. 8, p. 2623-5

KAPLAN, S.L., et al. Three-year surveillance of community acquired Staphylococcus aureus infections in children. En: Clin Infect Dis. Jun, 2005, vol. 40, no. 12, p.1785–91.

KEARNS, A.M., GANNER, M., and HOLMES, A. The ‘Oxford Staphylococcus’: a note of caution. En: J Antimicrob Chemother. Aug, 2006, vol. 58, no. 2, p. 480-1.

KHILNANI, P., et al. Pediatric Sepsis Guidelines: Summary for resource-limited countries. En: Indian J Crit Care Med. Jan-Mar, 2010, vol. 14, no. 1, p. 41–52.

KIRBY, WMM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. En: Science. Jun, 1944, vol 99, p. 452-3.

KLOOS, W.E., and GEORGE, C.G. Identification of Staphylococcus species and subspecies with the MicroScan Pos ID and Rapid Pos ID panel systems. En: J Clin Microbiol. Apr, 1991, vol. 29, no. 4, p. 738-44.

KREISEL, K.M., et al. USA300 methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia and the risk of severe sepsis: is USA300 methicillin-resistant Staphylococcus aureus associated with more severe infections?. En: Diagn Microbiol Infect Dis. Jul, 2011, vol. 70, no. 3, p. 285–90.

KUEHNERT, M.J., et al Prevalence of Staphylococcus aureus nasal colonization in the United States, 2001-2002. En: J Infect Dis. Jan, 2006, vol. 193, no. 2, p. 172-9.

KUMAR, D., et al. Case of Staphylococcus schleiferi subspecies coagulans endocarditis and metastatic infection in an immune compromised host. En: Transpl Infect Dis. Dec, 2007, vol. 9, no. 4, p. 336-8.

LESENS, O., et al. Methicillin-susceptible, doxycycline-resistant *Staphylococcus aureus*, Côte d'Ivoire. En: Emerg Infect Dis. Mar, 2007, vo. 13, no. 3, p. 488-90.

LI, M., et al. Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. En: Proc Natl Acad Sci USA. Apr, 2009, vol. 106, no. 14. p. 5883-8.

LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* infections. En: N Engl J Med. Aug, 1998, vol. 339, no. 8, p. 520-32.

MACHUCA, M.A., GONZÁLEZ, C.I., and SOSA, L.M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causes both community-associated and health care-associated infections in children at the Hospital Universitario de Santander. En: Biomédica, Apr, 2014, vol. 34, Suppl.1, p. 163-9

MACHUCA, M.A., SOSA, L.M., and GONZÁLEZ, C.I. Molecular typing and virulence characteristic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from pediatric patients in Bucaramanga, Colombia. En: PLoS ONE. Aug, 2013, vol. 8, no. 8, e73434, p. 1-8.

MALACHOWA, N., and DELEO, F.R. *Staphylococcus aureus* survival in human blood. En: Virulence. Nov-Dec, 2011, vol. 2, no. 6, p. 567-9.

MASLOW, J., MULLIGAN, M., and ARBEIT, R. Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. En: Clin Infect Dis. Aug, 1993, vol. 17, no. 2, p. 153-62.

MÁTTAR, S., GONZALES, M., LOZANO D, *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina productores de PVL aislados en individuos sanos de Montería, Córdoba. En: Infectio. Oct, 2010, vol. 14, suppl 1, p. 90

MCGEER, A, et al. Definitions of infection for surveillance in long-term care facilities. En: Am J Infect Control, Feb, 1991, vol. 19, no. 1, p.1–7.

MEMMI, G, et al. Staphylococcus aureus PBP4 is essential for beta-lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. En: Antimicrob Agents Chemother. Nov, 2008, vol. 52, no. 11, p. 3955-66.

MILLER, L.G., et al. Clinical and epidemiologic characteristics cannot distinguish community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection from methicillin susceptible S. aureus infection: a prospective investigation. En: Clin Infect Dis. Feb, 2007, vol. 44, no. 4, p. 471–82.

MONGKOLRATTANOTHAI, K., et al. Severe Staphylococcus aureus infections caused by clonally related community- acquired methicillin-susceptible and methicillin-resistant isolates. En: Clin Infect Dis, Oct, 2003, vol. 37, no. 8, p. 1050-8.

MORAN, G.J., et al. Methicillin-resistant S. aureus infections among patients in the emergency department. En: N Engl J Med. Aug, 2006, vol 355, no. 7, p. 666-74.

MURRAY, R.J., et al. Community onset methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia in northern Australia. En: Int J Infect Dis. Sep, 2004, vol. 8, no. 5, p. 275-83.

MYLOTTE, J.M, and TAYARA, A. Staphylococcus aureus bacteremia: Predictors of 30 day mortality. En: Clin Infect Dis. Nov, 2000, vol. 31, no.5, p.1170-4.

OCAMPO, A.M.,, et al. Determinación de los genes de virulencia de Staphylococcus aureus resistente a la meticilina y sensible a la meticilina en

población pediátrica del Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Antioquia. En: Infectio. Oct, 2010, vol. 14, suppl 1, p. 66.

OFNER-AGOSTINI, M., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian aboriginal people. En: Infect Control Hosp Epidemiol. Feb, 2006, vol. 27, no. 2, p. 204–7.

OSTERLUND, A., and NORDLUND, E. Wound infection caused by *Staphylococcus hyicus* subspecies *hyicus* after a donkey bite. En: Scand. J. Infect Dis. 1997, vol. 29, no. 1, p. 95.

OTTO, M. Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. En: Annu Rev Microbiol. 2010, vol. 64, p. 143-62.

POPOVICH, K.J., WEINSTEIN, R.A., and HOTA, B. Are community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains replacing traditional nosocomial MRSA strains? En: Clin Infect Dis. Mar, 2008, vol. 46, no. 6, p. 787-94.

QUE, Y.A., and MOREILLON, P. *Staphylococcus aureus* (Including *Staphylococcal Toxic Shock*). En: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th Edition. Philadelphia: Gerald Mandell, John Bennett, and Raphael Dolin, 2010. p. 2543- 2582.

REYES, J.C., et al, Epidemiología Molecular de *Staphylococcus aureus*: un estudio prospectivo en hospitales colombianos, 2006-2007. En: Infectio. 2008, vol. 12, suppl. 1, p. 105.

REYES, N., et al. Prevalencia de la leucocidina Panton-Valentine en infecciones pediátricas por *Staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en Cartagena de Indias. En: Infectio. Oct, 2010, vol. 14, suppl 1, p. 69.

RIGBY, K.M., and DELEO, F.R. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. *Semin Immunopathol.* Mar, 2012, vol. 34, no. 2, p. 237–59.

ROBINSON, D.A., et al. Re-emergence of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired methicillin-resistant clone. En: *Lancet.* Apr, 2005, vol. 365, no. 9466, p. 1256-8.

RODRÍGUEZ, E.A., et al. Predominio de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina tipo IVc causante de infección asociada a la atención en salud en instituciones de alta complejidad en Medellín. En: *Infectio.* Oct, 2010, vol. 14, suppl 1, p.78.

ROZGONYI, F., et al. Is MRSA more virulent than MSSA?. En: *Clin Microbiol Infect.* Sep, 2007, vol. 13, no. 9, p. 843–5.

SAKOULAS, G., et al. *Staphylococcus aureus* accessory gene regulator (agr) group II: is there a relationship to the development of intermediate-level glycopeptide resistance?. En: *J Infect Dis.* Mar, 2003, vol. 187, no. 6, p. 929-38.

SASAKI, T., et al. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. En: *J. Clin. Microbiol.* Mar, 2010, vol. 48, no. 3, p. 765-9.

SASAKI, T., et al. Reclassification of phenotypically identified staphylococcus intermedius strains. En: *J. Clin. Microbiol.* Sep, 2007, vol. 45, no. 9, p. 2770–8.

SEAL, J.B., et al. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* at the University of Chicago Hospitals: a 15-year longitudinal assessment in a large university-based hospital. En: *Infect Control Hosp Epidemiol*, Jun, 2003, vol. 24, no. 6, p. 403-8.

SHURLAND, S., et al. Comparison of mortality risk associated with bacteremia due to methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. En: *Infect Control Hosp Epidemiol*. Mar, 2007, vol. 28, no. 3, p. 273–9.

SILA, J., SAUER, P., and KOLAR, M. Comparison of the prevalence of genes coding for enterotoxins, exfoliatins, panton-valentine leukocidin and *tst-1* between methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus* at the university hospital in olomouc. En: *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. Sep, 2009, vol. 153, no. 3, p. 215-8.

SOSA, L.M., and HINCAPIÉ, M.L. Portadores nasales de *Staphylococcus aureus* metilino resistente en contactos de pacientes pediátricos con enfermedad diseminada adquirida en comunidad. En: *MedUNAB*. 2007, vol. 10, no. 3, p.195-200.

SOSA-AVILA, L.M., et al. Infecciones por *Staphylococcus aureus* metilino resistente en niños en Bucaramanga Colombia. En: *Salud UIS*. 2010, vol. 42, no. 3, p. 256-64

STRAUSS, R., et al. Regional variation in Pantone-Valentine leukocidin positivity among *S. aureus* isolates in complicated skin and skin structure infections. In: 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Munich, Germany; March 31–April 3; Abstract 1321. En: *Clin Microb Infect*. Jun, 2007, vol. 13, suppl. 1, p. S365.

TAPONEN, S., et al. *Staphylococcus agnetis* sp. nov., a coagulase-variable species from bovine subclinical and mild clinical mastitis. En: Int. J. Syst. Evol. Microbiol. Jan, 2012; vol. 62, no. 1, p. 61-5.

TINELLI, M., et al. Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in Skin and Soft Tissue Infections, Northern Italy. En: Emerg Infect Dis. Feb, 2009, vol. 15, no. 2, p. 250-7

UMSCHEID, C.A., et al. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Updating the guideline development methodology of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. En: Am J Infect Control. May, 2010, vol. 38, no. 4, p. 264–73.

VANDENESCH, F., et al. Clotting activity in *Staphylococcus schleiferi* subspecies from human patients. En: J Clin Microbiol. Feb, 1994, vol. 32, no. 2, p. 388- 92.

WANG, J.L., et al. Comparison of both clinical features and mortality risk associated with bacteremia due to community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *S. aureus*. En: Clin Infect Dis. Mar, 2008, vol. 46, no. 6, p. 799–806.

WANG, R., et al. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. En: Nat Med. Dec, 2007, vol. 13, no. 12, p.1510–4.

WIESE-POSSELT, M., et al. Successful termination of a furunculosis outbreak due to lukS-lukF-positive, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a German village by stringent decolonization, 2002–2005. En: Clin Infect Dis. Jun, 2007, vol. 44, no.11. p. 88-95.

WISPLINGHOFF, H., et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. En: Clin Infect Dis. Aug, 2004, vol. 39, no. 3, p. 309-17.

WU, D., et al. Epidemiology and molecular characteristics of community-associated methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from skin/soft tissue infections in a children's hospital in Beijing, China. En: Diagn Microbiol Infect Dis. May, 2010, vol. 67, no. 1, p. 1-8.

YOMAYUSA, N., et al. Caracterización epidemiológica y molecular de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en comunidad (SARM-AC) en 7 hospitales de Colombia. Infectio. 2008, vol. 12, Suppl. 1, p. 73.

ANEXOS

ANEXO A. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Cuadros CM, Sosa LM. Investigación en *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes y meticilino sensibles

Datos de Identificación

HC: _____ Fecha diligenciamiento (dd/mm/aa): ___/___/___ Pediátrico Adulto
 Fecha ingreso cepa (dd/mm/aa): ___/___/___ Código Cepa lab Clínico: _____ Código Cepa GIEM: _____
 Ingreso al hospital. Fecha(dd/mm/aa): ___/___/___ Hora: ___ Fecha Nacimiento (dd/mm/aa): ___/___/___ Edad: ___
 Sexo: M F Nivel socioeconómico: _____ Residencia habitual: _____ Zona: U R
 Teléfono fijo ó móvil: _____ Servicio: UCI Urgencias Hospitalizados Consulta Externa

I. Aislamiento y perfil de susceptibilidad.

Fecha:(dd/mm/aa): ___/___/___ Hora: _____

Marque con una X el Lugar de la toma de muestra ó tipo de la muestra

| | | |
|--------------------------------------|--|--|
| Hemocultivo <input type="checkbox"/> | Líquido Pleural <input type="checkbox"/> | Líquido Cefalorraquídeo <input type="checkbox"/> |
| Secreción <input type="checkbox"/> | Líquido Articular <input type="checkbox"/> | Otros Líquidos <input type="checkbox"/> |
| Localización: _____ | Líquido Pleural <input type="checkbox"/> | Localización: _____ |

SAMS SAMR

Marque con X a lo que es resistente. Si no aparece entre los antibióticos probados marcar No aplica (NA)

| | | | |
|--|---|---|--------------|
| TMP-SMX <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | Eritromicina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | Ciprofloxacina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | Otros: _____ |
| Rifampicina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | Clindamicina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | Amikacina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | _____ |
| Vancomicina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | Tetraciclina <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/> | | _____ |

II. Definición de Caso

| | |
|--|--|
| 1. Enfermedad por <i>S. aureus</i> al ingreso <input type="checkbox"/> 2. Aislamiento en las primeras 48 hs <input type="checkbox"/> 3. Hospitalización en las últimas 48 horas <input type="checkbox"/> 4. Factores de Riesgo <input type="checkbox"/> Si presenta alguna de las siguientes situaciones, marque una x arriba <ul style="list-style-type: none"> • En los últimos 6 meses el niño: Ha estado hospitalizado ó Le han hecho alguna cirugía ó Le han hecho Intubación orotraqueal ó Ha recibido antibióticos • Alguna de las personas con quien vive trabaja en hospital, clínica o similar • Presentaba antes de la hospitalización alguna de estas condiciones: Catéter vascular Catéter urinario, Insuficiencia renal crónica, Fibrosis quística, Diabetes mellitus | Defina el caso según los criterios. Marque con X Caso de Infección adquirida en comunidad <input type="checkbox"/> Enfermedad clínica evidente al Ingreso Aislamiento en las primeras 48 hs No hospitalización previa en las últimas 48 hs No factores de riesgo Caso de Infección asociada al cuidado de la salud <input type="checkbox"/> Enfermedad clínica evidente al Ingreso Aislamiento en las primeras 48 hs No hospitalización previa en las últimas 48 hs Presencia de factores de riesgo Caso de Infección de adquisición nosocomial <input type="checkbox"/> Enfermedad clínica no evidente al Ingreso Aislamiento de SAMR después de las primeras 48 hs de hospitalización |
|--|--|

III. Condiciones al ingreso

1. Entidades nosológicas presentes al ingreso

Foco en piel Si No Tipo: _____ Localización: _____

Tejidos Blandos Si No Tipo: _____ Localización: _____

Osteomielitis Si No # Focos: _____ Localización: _____
 Artritis séptica Si No # Focos: _____ Localización: _____
 Neumonía Si No Tipo: _____ SIRS Si No
 Otros: _____

2. Condiciones previas

Lesiones previas en piel en el último mes Si No Tipo: _____
 Foco en piel en la última semana Si No Tipo: _____
 Antibióticos previos Si No Cual: _____

3. Datos de clínicos de la hospitalización

A. Días con fiebre durante la hospitalización _____

B. Datos de laboratorio en las primeras 48 horas del ingreso

Leucocitos: _____000 Segmentados: _____%
 VSG: _____mm/hora Proteína C reactiva: _____

C. Complicaciones clínicas durante la hospitalización Si No

Osteomielitis Si No # Focos: _____ Localización: _____
 Artritis séptica Si No # Focos: _____ Localización: _____
 Neumonía Si No Tipo: _____
 Otros: _____

esquemas ATB usados _____ Cuales: _____

D. Severidad Si No

Infección invasiva que tiene alta letalidad o genera secuelas de gran impacto:

- Infección osteoarticular con dos o más focos.
- Sepsis con y sin hemocultivos positivos
- O algunas de las siguientes Endocarditis, Síndrome del shock tóxico, Neumonía necrosante, Fascitis necrosante, Neuroinfección.

E. Mortalidad Si No

IV. Clasificación molecular

Determinante de especie: *nuc*

Determinantes de resistencia a meticilina: *mecA* Si No

SCCmec Tipo I Tipo II Tipo III Tipo IV

Determinantes de virulencia

Hlg *seb* *seq* *sek* *eta* *etb* *lukS/F*

Determinantes de adhesión

fmbA *clfA* *clfB* *icaA* *cna*

Encuestador: _____

ANEXO B. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

La Universidad Industrial de Santander realizará el estudio "Caracterización molecular de las cepas de *Staphylococcus aureus*

a) **La justificación y los objetivos de la investigación.** *Staphylococcus aureus* es una bacteria que produce infecciones. Algunas pueden complicarse. El tratamiento incluye antibióticos y extracción del pus. Últimamente, han aparecido algunas de bacterias que no se curan con ayuda de los antibióticos habituales. Eso empeora las cosas y requiere de otros antibióticos. El estudio se hace porque es necesario estudiar esas bacterias y las enfermedades que ellas provocan. El objetivo es identificar los elementos moleculares responsables de que las bacterias no respondan a ciertos antibióticos y los responsables de las enfermedades. Para efectos de esta investigación el cuidador responsable es alguno de los padres o un tutor (familiar adulto a cargo del niño).

b) **Los procedimientos que van a usarse y su propósito.** Se requiere que el cuidador responsable responda algunas preguntas; además tomaremos algunos datos de la historia clínica y se estudiará a la bacteria que se obtuvo del niño. Su participación en el estudio será de aproximadamente 30 minutos para responder la encuesta, anotar los datos de la historia clínica.

c) **Las molestias o riesgos esperados.** El niño no va a ser sometido a ningún procedimiento como parte de la investigación, los microorganismos serán aislados de las secreciones corporales o sangre, obtenidas como parte del proceso diagnóstico. Por ello es una investigación de riesgo mínimo

d) **Los beneficios.** Se me ha explicado que los beneficios por participar en este estudio es que los resultados podrían ayudar a establecer tratamientos adecuados, actividades preventivas que eviten estas enfermedades.

e) **Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para el sujeto.** El niño recibirá el tratamiento que le corresponde, establecido en los protocolos de atención del Hospital Universitario de Santander.

f) **Carácter voluntario de la participación y la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio.** La participación en el estudio es voluntaria. Tienen libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento sin que se vea afectada la prestación de los servicios de salud.

g) **La seguridad que no se identificará al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.** Las respuestas sobre las preguntas antes mencionadas y los datos obtenidos de la historia clínica serán confidenciales y solo serán utilizados para fines de esta investigación. Los datos de este estudio podrán ser publicados en revistas científicas, respetando la confidencialidad y el anonimato de mi hijo(a) y mi familia. Los niños serán identificados con un código y no con sus nombres.

h) **Si deseo información adicional, aunque ésta pudiera afectar la voluntad del sujeto para continuar participando.** Los niños y sus cuidadores tienen la garantía de recibir respuestas a preguntas, aclaraciones a cualquier duda y a que se les proporcione información actualizada sobre el problema. Para ello deben dirigirse a el Dr. **Luis Miguel Sosa Ávila** en el servicio de infectología pediátrica del Hospital Universitario de Santander, ó al cel 3105600315

i) **Responsabilidad que tiene el participante en el estudio.**

Los pacientes y sus familiares tienen responsabilidad de brindar información verdadera.

El estudio y la participación del niño ha sido explicada por: _____

Yo, _____ cc. _____, Acudiente o adulto responsable de:

Autorizo la participación del niño en el presente estudio.

Firma de quien autoriza la participación

Bucaramanga, _____

Fecha

Firma del investigador

Bucaramanga, _____

Fecha