



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Instituto Nacional de Perinatología
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"

Título de la tesis:

“PAPEL DE *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* COMO RESERVORIO GENÉTICO DE FACTORES DE VIRULENCIA EN INFECCIONES NEONATALES”

T E S I S

Que para obtener el Título de:

ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

PRESENTA

DRA. JÓSSELINE AMELIA BÁMACA MIER Y TERÁN

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN:

DR. ENRIQUE SEGURA CERVANTES

DIRECTORES DE TESIS:

DR. ENRIQUE SEGURA CERVANTES

M. en C. IYARI MORALES MÉNDEZ





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACION DE TESIS

“PAPEL DE *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* COMO RESERVORIO GENÉTICO DE FACTORES DE VIRULENCIA EN INFECCIONES NEONATALES”

DR. CARLOS RAMIREZ ISARRARAZ
SUBDIRECTOR ACADEMICO Y GESTION EDUCATIVO

DR. ENRIQUE SEGURA CERVANTES
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE INFECTOLOGIA

DR. ENRIQUE SEGURA CERVANTES
DIRECTOR DE TESIS

M. en C. IYARI MORELES MENDEZ
DIRECTOR DE TESIS

A2. INDICE

A2. Indice	1
A3. Introducción	2
Resumen	4
A4. Planteamiento del problema	5
A5. Antecedentes	6
A6. Objetivos	25
Hipótesis	25
Justificación	26
A7. Metodología	27
A8. Resultados	31
Análisis	43
Discusión	43
A9. Conclusiones	44
A10. Bibliografía	45

A3. INTRODUCCIÓN

RESUMEN:

Staphylococcus aureus y los estafilococos coagulasa negativos son microorganismos que se encuentran colonizando varios tractos y órganos formando parte de la flora habitual de los mismos. Estas bacterias presentan diversos factores de virulencia, como superantígenos, toxinas, enzimas con actividad mucolítica y resistencia a antimicrobianos, entre otros. Se sabe que este género microbiano adquiere y transfiere información genética de forma horizontal (a otros géneros bacterianos) y vertical (a su progenie), por tal motivo, este estudio pretende identificar y asociar los genes de virulencia como factor de riesgo en la evolución clínica del paciente.

Objetivos: Identificar la presencia de genes de virulencia y de resistencia en cepas de *S. aureus* y coagulasa negativos aisladas de muestras obtenidas en neonatos. Determinar la fuerza de asociación entre la presencia de genes de virulencia y resistencia en cepas de *S. aureus* y coagulasa negativos con la gravedad de la infección en neonatos. Inducir la heterorresistencia a vancomicina en cepas de *S. aureus* y sensibles.

Material y Métodos: Se revisaran 118 expedientes de pacientes hospitalizados en unidad de cuidados intensivos y cuidados intermedios neonatales del Instituto Nacional de Perinatología, en los cuales fueron aislados cepas de *Staphylococcus aureus* y *epidermidis*, valorando la evolución clínica del paciente comparándola con la presencia de genes de virulencia y resistencia de dichas cepas.

A4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los microorganismos han desarrollado mecanismos de patogenicidad que les permiten subsistir en ambientes adversos, dentro de los que destacan la adquisición de elementos genéticos móviles, como los transposones, plásmidos, o secuencias conservadas dentro del genoma bacteriano como las islas de patogenicidad, los cuales se adquieren de manera horizontal y vertical, codificando para factores de virulencia como toxinas, genes de resistencia antimicrobiana, superantígenos, etc. La importancia de estudiar estos genes radica en su asociación con la evolución clínica del paciente que se encuentra infectado con éstos microorganismos, siendo de mayor relevancia en el neonato, por su condición inmunológica. Así mismo, es de suma importancia, conocer el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de la cepa, ya que el uso indiscriminado de éstos, puede seleccionar cepas resistentes que se asocien a la gravedad del paciente.

A5. ANTECEDENTES

Características del género *Staphylococcus*

En el género *Staphylococcus* se incluyen bacterias Gram-positivas que tienen una gran importancia en la medicina, tanto humana como veterinaria, por cuanto tienen la capacidad de causar una gran diversidad de infecciones en el ser humano y en los animales. *S. aureus* es el prototipo del género y es reconocido desde hace décadas como un patógeno importante. Sin embargo, recientemente se ha involucrado el grupo de *Staphylococcus* coagulasa-negativa en numerosas infecciones en seres humanos, tanto intra como extrahospitalarias, así como también en animales domésticos y silvestres. ⁽²⁶⁾

El diámetro de una célula individual de *Staphylococcus* es de 0.7 a 1.2 μm . Típicamente, los *Staphylococcus* muestran una reacción positiva a la tinción de Gram. La clásica morfología de racimos de uva es más evidente en cultivos sobre medios sólidos. En medios líquidos es posible observar cadenas cortas, a diferencia de los *Streptococcus*, los *Staphylococcus* raramente forman cadenas conteniendo más de cuatro células. Los *Staphylococcus*, son no móviles, carecen de flagelos y no forman esporas. ⁽²⁶⁻²⁹⁾

La mayoría de las especies del género *Staphylococcus* son bacterias no fastidiosas que crecen bien en medios de cultivo sencillos como agar sangre, agar nutritivo, agar soya tripticasa y otros. Las colonias individuales de *Staphylococcus* crecidas sobre agar nutritivo son opacas, con bordes definidos, circulares, convexas y de 1 a 4 mm en diámetro. El clásico color amarillo oro de las colonias de *S. aureus* es debido a la presencia de carotenoides (*aureus* en latín significa oro). La pigmentación es usualmente aparente luego de 18-24 horas de incubación a 37°C, pero es más pronunciada cuando los cultivos son mantenidos a temperatura ambiente por 24-48 horas adicionales. ⁽²⁷⁾

Las especies de *Staphylococcus* son metabólicamente activas, por lo que generalmente no requieren la adición de nutrientes específicos. Su temperatura óptima de crecimiento es de aproximadamente 35-37°C aunque crecen también a temperatura ambiente. Los *Staphylococcus* son anaerobios facultativos y usualmente son productores de catalasa.

En el género *Staphylococcus* se incluyen actualmente 32 especies, cuyos nombres se muestran en el cuadro 1.

Algunas especies están constituidas por dos o más subespecies (ver cuadro 2.).
(26)

Cuadro 1. Especies que constituyen el género *Staphylococcus*.

<i>S. aureus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. carnosus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. xylosus</i>	<i>S. piscifermentans</i>
<i>S. capitis</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. kloosii</i>	<i>S. felis</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. equorum</i>	<i>S. intermedius</i>
<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. muscae</i>	<i>S. arlettae</i>	<i>S. delphini</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. hyicus</i>
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. chromogenes</i>
<i>S. caseolyticus</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. lentus</i>	<i>S. vitulus</i>

Cuadro 2. Especies de *Staphylococcus* que están constituidas por subespecies.

<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> , <i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>
<i>S. capitis</i>	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i> , <i>S. capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>
<i>S. cohnii</i>	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i> , <i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>
<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i> , <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>

El género *Staphylococcus* pertenece a la familia *Micrococcaceae* junto con los géneros *Micrococcus*, *Stomacoccus* y *Planococcus*. De los cuatro géneros indicados, únicamente *Staphylococcus* puede causar infecciones en el ser humano y en animales regularmente. Sin embargo, miembros de los otros tres géneros podrían ser eventualmente encontrados contaminando muestras clínicas mal tomadas o procesadas, o bien, en otro tipos de muestras no clínicas (alimentos, plantas).⁽²⁷⁾

Hábitat

Los estafilococos son microorganismos colonizadores ubicuos de la piel y mucosas de casi todos los animales, incluyendo mamíferos y aves. Algunas especies poseen nichos ecológicos preferentes, como indican su nombre.

S. aureus se encuentra colonizando principalmente a los primates, pero no se limita a ellos. Es un importante agente causal de enfermedad (mastitis) en el ganado bovino y ovino. En el ser humano, *S. aureus* muestra preferencia por la región anterior de las fosas nasales, en especial en adultos. Puede existir como residente o como miembro transitorio de la flora normal. La tasa de porcentaje de portadores nasales varía entre el 10 y el 40%, tanto en la población general como en el ambiente hospitalario. El hecho de ser portador nasal eleva el riesgo de infección en ciertas poblaciones, como es el caso de enfermos de forunculosis recurrente y pacientes sometidos a procedimientos médicos, como hemodiálisis o diálisis peritoneal o cirugías pronlogadas. ⁽²⁹⁾

El estado de portador de *S. aureus* en las fosas nasales constituye también un medio de persistencia y diseminación de cepas multirresistentes, en especial *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA; por sus siglas en Inglés). Debido a que las cepas MRSA pueden ser resistentes a prácticamente la totalidad de antibióticos disponibles, ha elevado el nivel de riesgo sanitario público, confinado durante muchos años al contexto de las infecciones nosocomiales y, más recientemente, en enfermedades adquiridas fuera del medio hospitalario (infecciones adquiridas en la comunidad). ⁽²⁶⁾

Staphylococcus epidermidis se encuentra en la piel y las mucosas, es por ello la fácil colonización en recién nacidos, formando parte de la microbiota durante toda la vida. *S. epidermidis* es el agente etiológico que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones nosocomiales. Los pacientes críticamente enfermos que están inmunocomprometidos y los recién nacidos prematuros ingresados a Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), son los más vulnerables a las infecciones por los estafilococos coagulasa negativos (SCN) con *S. epidermidis*. Esta bacteria rara vez se asocia a infecciones en el tejido sano, pero tiene la capacidad para proliferar en las superficies de los dispositivos médicos, después de la inserción

quirúrgica, persistiendo en forma de capas conocidas como biopelículas, siendo estas intrínsecamente resistentes a los antibióticos. ⁽²⁸⁾

ASPECTOS CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS

Staphylococcus aureus es la primera causa de infección adquirida en la comunidad y la primera causa de bacteriemia nosocomial, junto con los estafilococos coagulasa-negativos. Además de las enfermedades relacionadas con toxinas, *S. aureus* es responsable de una serie de infecciones, originando inflamación y destrucción tisular. Comprenden desde infecciones relativamente benignas de la piel y tejidos blandos a enfermedades graves y con riesgo vital, como los abscesos de tejidos profundos, infecciones de articulaciones y huesos, neumonía bacteriemia e infecciones endovasculares. ⁽²⁹⁾

S. aureus es una de las primeras causas de infecciones nosocomiales como infección de heridas quirúrgicas (28%), así como de neumonía (28%). En la población general, *S. aureus* constituye la primera causa de osteomielitis (en el 50-70% de los casos) y una de las principales causa de bacteriemia (15-23.5%) y endocarditis, en la que es responsable de hasta el 38% de las endocarditis de válvulas nativas. ⁽²⁷⁾

Ciertas poblaciones de pacientes presentan un riesgo de infección estafilocócica invasiva significativamente mayor que la población normal. Están representadas por los enfermos de hemodiálisis, seguidos por los pacientes de diálisis peritoneal, enfermos con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, usuarios de drogas intravenosa, pacientes con Diabetes Mellitus y alcohólicos.

Otros factores predisponentes menos frecuentes son las anomalías en la quimiotaxis y en la fagocitosis. Sin embargo, uno de los factores más importantes que se suma de forma independiente a estos trastornos predisponentes es el estado de portador crónico de *S. aureus*.

Se distinguen tres patrones de portador: 1) portadores persistentes, 2) portadores intermitentes y 3) no portadores. Aproximadamente el 20% de las personas sanas son portadores persistentes, el 60% son portadores intermitentes y el 20% no son portadores. La mayoría de los niños son colonizados poco tiempo después del

nacimiento, pero el estado de portador decrece con la edad. Los principales reservorios de *S. aureus* son las regiones anteriores de las fosas nasales, aunque el microorganismo puede aislarse en múltiples sitios. ⁽²⁹⁾

En lo que respecta a estafilococos coagulasa negativos, con la excepción de la endocarditis de válvulas naturales y algunas infecciones de catéteres de diálisis peritoneal, prácticamente todas las infecciones por *S. epidermidis* se adquieren en el hospital. Por el contrario, las infecciones por *S. saprophyticus* (infecciones de las vías urinarias) se adquieren fuera del hospital. Las cepas hospitalarias de *S. epidermidis* presentan resistencia a múltiples antibióticos, lo que probablemente refleja la presión selectiva por el uso generalizado de antibióticos en el hospital. La colonización de pacientes y del personal sanitario por *S. epidermidis* resistentes a antibióticos precede a la infección por estos microorganismos. Por consiguiente, los enfermos y el personal constituyen el reservorio hospitalario de *S. epidermidis*. Probablemente los microorganismos acceden a los cuerpos extraños por inoculación directa durante la inserción y la subsiguiente manipulación del dispositivo, así como por la contaminación de las conexiones y vías de acceso de los catéteres. ⁽²⁸⁾

Síndromes Clínicos

En general, la infección por *Staphylococcus* comienza con la colonización de los tejidos diana. *S. aureus* coloniza principalmente la región anterior de las fosas nasales. La infección subsiguiente se debe a procesos invasivos más específicos, durante los que las bacterias interactúan directa o indirectamente con el huésped. Una vez rota la barrera natural de la piel, las bacterias pueden diseminarse hacia sitios más profundos, estériles en condiciones normales. De este modo, cualquier infección localizada puede constituir el origen de una infección más grave, extendiéndose por contigüidad, o por diseminación a través del torrente sanguíneo. ⁽²⁹⁾

Infecciones por Staphylococcus aureus: Los síndromes clínicos más frecuentes relacionados con *S. aureus* se pueden resumir en los siguientes:

- a) Enfermedades relacionadas con toxinas de *Staphylococcus aureus*. Las enfermedades relacionadas con toxinas incluyen típicamente el síndrome de piel escaldada estafilocócica (SPEE), síndrome de shock tóxico estafilocócico (SST), y la intoxicación alimentaria estafilocócica.⁽¹⁻⁶⁾

El síndrome de piel escaldada estafilocócica: El síndrome de piel escaldada estafilocócica es un trastorno cutáneo superficial que varía entre una flictena local y una impresionante escaldadura generalizada. Este síndrome se observa principalmente en neonatos y niños menores de un año, y raramente en el adulto. Se debe generalmente a la colonización de piel o mucosas (p. ej. del cordón umbilical).⁽²⁷⁾

Síndrome de shock tóxico: El síndrome del shock tóxico puede estar causado por las enterotoxinas estafilocócicas tipo B (SEB) y enterotoxinas estafilocócicas tipo C (SEC), reguladas por el sistema *agr*. Los microorganismos responsables pueden colonizar prácticamente cualquier parte del cuerpo, incluyendo heridas quirúrgicas, pulmón, mucosas o piel, así como diafragmas anticonceptivos y catéteres de diálisis.⁽⁸⁾

- b) Infecciones de la piel y tejidos blandos.

La lesión patológica básica inducida por *S. aureus* es un exudado purulento o un absceso. Las infecciones cutáneas y de tejidos blandos por *S. aureus* engloban a varias entidades clínicas que se clasifican de acuerdo con la estructura anatómica involucrada: 1) infección en la epidermis, la cual está representada por el impétigo; 2) infección en la dermis superficial, por la foliculitis; 3) infección en la dermis profunda, por forúnculos, ántrax e hidrosadenitis supurativa, 4) infección del tejido celular subcutáneo, por la erisipela, la celulitis y la fascitis.⁽²⁶⁾

- c) Bacteriemia por *Staphylococcus aureus*.

La incidencia de infección del torrente sanguíneo por *S. aureus* ha aumentado sustancialmente a lo largo de las últimas décadas. En general se dividen en dos categorías: la bacteriemia adquirida en el hospital, en la que se observan hemocultivos positivos a partir de los dos primeros días de hospitalización, y la bacteriemia adquirida en la comunidad, que se produce

cuando el enfermo está en su domicilio o dentro de los dos primeros días de su hospitalización.

d) Osteomielitis

La osteomielitis se clasifica en aguda o crónica. La osteomielitis aguda se define como un primer episodio que responde al tratamiento médico en las primeras 6 semanas. En general, es hematógena y predomina en niños y ancianos. Los síntomas son los de un síndrome séptico agudo. Los hemocultivos son positivos en cerca del 50% de los casos y la combinación de cultivos de sangre y de tejidos ofrece un resultado positivo en el 65% de los casos.

La infección crónica correspondería al resto de situaciones, como la recidiva de una osteomielitis tratada o no con anterioridad y la infección por contigüidad. El proceso puede evolucionar durante meses o incluso años y se caracteriza por inflamación de bajo grado, necrosis, sequestros, pus, fístulas y recidivas. ⁽²⁹⁾

e) Infecciones pulmonares

S. aureus es responsable de menos de 10% de los casos de neumonía adquirida en la comunidad confirmados microbiológicamente, pero es responsable de 20-30% de los casos confirmados con neumonía nosocomial. En el hospital. *S. aureus*, se ha convertido en el patógeno que con mayor frecuencia causa neumonía nosocomial. Las manifestaciones son indistinguibles de la neumonía causada por otros patógenos, aunque la neumonía causada por esta bacteria es típicamente una infección necrosante que avanza rápidamente hacia la destrucción tisular y la cavitación. *S. aureus*, sigue siendo una de las causas más frecuentes de empiema pleural. ⁽⁷⁾

f) Artritis séptica.

Artritis séptica: *S. aureus* sigue siendo la causa más frecuente de artritis séptica en el niño y de artritis no gonocócica en el adulto. La artritis séptica puede ir precedida de una siembra hematógena o de traumatismos localizados, o ser iatrogénica en el caso de punción articular o artroscopia. Los principales síntomas son dolor agudo y tumefacción articular. ⁽¹⁾

Infecciones por estafilococos coagulasa negativos: *S. epidermidis*.

Se ha producido un fuerte incremento de la bacteriemia por estafilococos coagulasa negativos en las unidades de cuidados intensivos neonatales. La incidencia de bacteriemia sólo en esa área ha sido una de las principales razones de que hayan aumentados las bacteriemias nosocomiales por estafilococos coagulasa negativos. ⁽¹⁾

La bacteriemia en neonatos se asocia a un bajo peso en el momento del nacimiento, a la presencia y duración de catéteres permanentes periféricos o umbilicales, ventilación mecánica y administración de emulsiones de lípidos intravenosos. La presentación clínica consiste en una sepsis de inicio tardío a diferencia de la sepsis de inicio precoz observada a menudo por *E. coli*. Las cepas de estafilococos coagulasa negativos aisladas en estos niños son principalmente *S. epidermidis* y presentan resistencia a múltiples antibióticos, aunque también se han encontrado infecciones producidas por *S. haemolyticus*, *S. warneri*, y *S. capitis*. A pesar de la prevalencia de bacteriemia por estafilococos coagulasa negativos en las unidades de cuidados intensivos neonatales, la mortalidad de estas infecciones es baja. ⁽²⁸⁾

a) Bacteriemia nosocomial

Los estafilococos coagulasa negativos son la causa más frecuente de bacteriemia nosocomial, especialmente en áreas del hospital donde es frecuente el empleo de catéteres vasculares. Sin embargo, aunque la tasa global de contaminación de hemocultivos es típicamente del 1-3%, aproximadamente el 25-74% de todas las bacteriemias por estafilococos coagulasa negativos representan, en realidad una contaminación. Es importante obtener varios hemocultivos de diferentes sitios de venopunción

o de acceso, así como usar criterios rigurosos que definan una verdadera bacteriemia. ⁽²⁹⁾

b) Infecciones de catéteres intravenosos.

S. epidermidis ha sido identificado como el microorganismo que con mayor frecuencia infecta catéteres intravenosos. El 12-37% de todos los catéteres implantados se infectan; el 50-75% de los microorganismos aislados son *S. epidermidis*.

El aumento de las bacteriemias por *S. epidermidis* debidas al uso de catéteres intravenosos permanentes de larga duración, plantea nuevos problemas para el clínico que se enfrenta a hemocultivos positivos, en pacientes que no parecen clínicamente enfermos. La infección de los catéteres puede manifestarse sin pruebas evidentes de supuración o eritema y la bacteriemia puede presentarse con pocos síntomas. Es prudente considerar como significativo cualquier hemocultivo obtenido por venopunción en el que crezca *S. epidermidis* si ha sido obtenido de un paciente con catéteres permanentes. ⁽¹⁻²⁸⁾

c) Infecciones de líquido cefalorraquídeo

S. epidermidis es el microorganismo que con mayor frecuencia causa infección del del líquido cefalorraquídeo, es también una causa frecuente de infecciones de los tubos de ventriculostomía insertados para drenar el líquido cefalorraquídeo en pacientes con traumatismo craneoencefálico y de catéteres permanentes de líquido cefalorraquídeo en enfermos sometidos a quimioterapia oncológica por meningitis neoplásica. Generalmente las infecciones suelen presentarse dentro de las dos primeras semanas posterior al implante, la revisión o la manipulación de la derivación. En muchos casos, pueden no existir signos físicos de meningitis, con fiebre, mala función de la derivación o infección de la herida, como únicos hallazgos. ⁽⁶⁾

Patogenia

Antígenos de superficie y determinantes de la patogenicidad.

Pared celular.

La pared celular del estafilococo está formada en un 50% de su peso seco por la mureína. La mureína es un peptidoglucano compuesto de subunidades alternas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico, éstos polisacáridos presentan enlaces cruzados formados por cadenas de tetrapéptidos, unidos entre sí por puentes de pentaglicina específicos para *Staphylococcus*. El peptidoglucano es un constituyente altamente conservado tanto en las cubiertas grampositivas como gramnegativas, puede tener actividad endotóxica y estimular la liberación de citocinas por los macrófagos. El peptidoglucano contiene una gruesa estructura en las bacterias grampositivas (10 capas), y fina (1-2 capas) en sus homólogos gramnegativas. ⁽¹⁰⁾

Polisacárido capsular

Más del 90% de los aislados de *S. aureus* elaboran cápsulas polisacáridas, de las que se conocen 11 serotipos. Las cepas de *S. aureus* con cápsulas de los tipos 1 y 2 producen grandes cantidades de polisacáridos y tienen un aspecto mucoso en las placas de cultivo. Sin embargo es raro encontrarlos en muestras clínicas humanas. Por el contrario, los tipos capsulados 5 y 8 de *S. aureus* están compuestas por varios azúcares, como la manosa y la glucosa. Son a la vez antifagocitarios y pueden incrementar su virulencia en varios modelos animales. ⁽¹²⁻¹⁶⁾

Proteínas de superficie

El prototipo de éstas proteínas es la proteína *Spa* (proteína A). Esta proteína es quimiotáctica, anticomplementaria y antifagocítica, propiedad que está basada en su capacidad de unión a la porción Fc de las IgG, lo que sirve de camuflaje permitiéndole evadir la respuesta inmune lo que podría favorecer la diseminación impidiendo la opsonización. ⁽¹²⁾

Biopelícula

La biopelícula consiste en una red polisacárida extracelular que congrega a comunidades bacterianas en una plataforma de cohesión mecánica. Es muy frecuente la formación de ésta por las cepas bacterianas. Los estafilococos productores de biopelícula fueron descritos principalmente en especies coagulasa-

negativas, como las implicadas en la colonización y persistencia en catéteres y biomateriales. Se sabe que la colonización se realiza en varias etapas las cuales se conforman en: adherencia, acumulación, maduración y desprendimiento. ⁽²⁸⁾

Receptores protéicos

S. aureus puede manifestar varias adhesinas de superficie que le confieren adherencia a diferentes proteínas del huésped. ⁽¹⁷⁾

Enzimas extracelulares

Los estafilococos producen varias enzimas que destruyen tejidos. Estos productos bacterianos pueden facilitar la diseminación de la infección a los tejidos adyacentes al sitio de primoinfección; su papel en la patogenicidad no está bien definido. ⁽¹⁹⁾

Coagulasas

La coagulasa es un activador de la protrombina que convierte el fibrinógeno en fibrina. Para la actividad enzimática completa la coagulasa se requiere un componente plasmático, que puede ser protrombina o un derivado de ésta, conocido como factor reactivo de la coagulasa (CFR). El producto trombina coagulasa no sólo provoca la coagulación del fibrinógeno sino que además posee una actividad proteolítica y estereolítica similar a la de la trombina. ⁽¹³⁾

Lipasas

Los estafilococos producen varias enzimas lipídicas hidrolizantes que de manera colectiva se denominan lipasas. Hay dos clases de lipasas: trigliceridasas, que dan la reacción de aclaramiento y las fosfolipasas, de las que existen tres: fosfatidil colinesterasa, que da la opacidad; esfingomielasa, que es la beta hemolisina, e inositolfosfolipasa o delta hemolisina, por lo que son activas sobre varios sustratos, entre ellos el plasma, grasas y aceites que se acumulan en la superficie del organismo. La producción de lipasa es esencial para la invasión de los tejidos cutáneos y subcutáneos sanos, ya que se ha observado una estrecha relación entre la producción de lipasa y la capacidad del estafilococo de producir furúnculos. ⁽¹⁵⁾

Proteasas

Las proteasas del género estafilococo son un importante factor de virulencia, ya que pueden degradar un número de proteínas importantes para el hospedero incluyendo diferentes clases de inmunoglobulinas, proteínas plasmáticas y elastina. Hasta la fecha se sabe que el estafilococo produce cuatro tipos de proteasas extracelulares: serinproteasas (SspA), cisteinproteasas (SspB) que se encuentran codificadas en el mismo operón; metaloproteasas (aureolisina: Aur) y una segunda cisteinproteasa (Scp; también llamada estapopaína). La síntesis de éstas proteasas extracelulares se activa por el producto del gen *agr* y se reprime por el gen *sarA*.⁽²⁷⁾

Nucleasa

Se encuentra localizada en la superficie celular del estafilococo, es una proteína globular compacta, codificada en el gen *nuc*, compuesta por una única cadena polipeptídica. La nucleasa es una fosfodiesterasa con propiedades endonucleolíticas y exonucleolíticas capaz de cortar DNA y RNA.

Catalasa

La catalasa, es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Es una hemoproteína cuya estructura química es muy similar a la de hemoglobina, excepto que los cuatro átomos de hierro en la molécula están en la forma oxidada en lugar de reducida. La enzima catalasa se encuentra codificada en el gen *kat A*, que a su vez se encuentra regulado por la proteína PerR.⁽¹⁴⁾

Toxinas

Staphylococcus aureus produce una gran variedad de proteínas extracelulares denominadas toxinas, que contribuyen a su potencial patogénico; en estas toxinas se incluyen: citotoxinas, enterotoxinas (SE), toxina del síndrome de choque tóxico 1 (TSST-1) y toxinas exfoliativas (ET).⁽⁸⁾

Citotoxinas

Son toxinas que causan la disolución física de las células de mamíferos o de otras células in vitro. Las citotoxinas α , β , γ y δ hemolisinas que son producidas por *Staphylococcus*, existe una considerable diversidad en la forma de interacción de éstas diferentes toxinas citolíticas con la superficie celular; las hemolisinas y leucocidinas se encuentran entre las mejor definidas.⁽⁵⁾

Enterotoxinas

Las enterotoxinas más conocidas de *S. aureus* son : SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED, y SEE. Actualmente se han descrito cuatro nuevas enterotoxinas SEG, SEH, SEI y SEH pero aún no están bien estudiadas. La familia de enterotoxinas de *Staphylococcus* (SE) se han expandido con a detección de los genes *sek*, *sel*, *sem* y *seo* que codifican para enterotoxinas homólogas. ⁽³⁾

Toxina del Síndrome de Choque Tóxico (TSST-1)

La toxina 1 del síndrome de shock tóxico (TSS-1) y las enterotoxinas estafilocócicas (SE), son las más representativas de una gran familia de exotoxinas pirógenas llamadas superantígenos (SAg). Estas son proteínas que no activan al sistema inmunológico a través del contacto normal entre las células presentadoras de antígeno y los linfocitos T. ⁽⁹⁾ Los SAg se unen a una porción externa de dominios variables de las cadenas β de grandes cantidades de linfocitos, enclavándolos directamente en los receptores de clase II del Complejo Principal de Histocompatibilidad de las células presentadoras de antígeno. Este contacto inespecífico activa hasta el 20% del conjunto de linfocitos T, en comparación con los aproximadamente 1 de cada 10.000 que se activan durante la presentación "normal" de antígeno. ⁽¹⁰⁾ Como consecuencia hay una liberación masiva de citocinas, que da lugar a una intensa respuesta inflamatoria y produce un shock parecido al de las endotoxinas, incluyendo filtración endotelial, shock hemodinámico, insuficiencia multiorgánica y a veces la muerte. ⁽⁹⁾

Regulación de los determinantes de virulencia de *Staphylococcus aureus*.

La expresión de los factores de virulencia aparentemente es controlada por la concentración de péptidos autoinducibles, la densidad bacteriana, pH, y CO₂; cada una de estas señales, controlan diferentes sistemas reguladores. La respuesta de algunos genes de virulencia o expresión de toxinas *in vivo* difieren de las previamente observadas *in vitro*. ⁽¹¹⁾

La expresión de los genes de virulencia de *S. aureus* es regulada por vías complejas, donde *arg* y *sarA* parecen ser dos sistemas globales; sin embargo, el desarrollo de la biología molecular ha permitido la identificación de nuevos genes,

como *rot*, *sigB*, *ar/RS*, *svrA saeRS*, *Sra*, *lytRS* y *zars* que están involucrados en la regulación, incrementando la complejidad de la cadena reguladora y la interacción entre estos factores.⁽²²⁾ Cada uno de estos reguladores está involucrado en el control de la expresión de los factores de virulencia como hemolisinas, proteína A, lipasas, proteínas con afinidad a la fibronectina o polisacárido capsular, entre otros. El mecanismo de interacción de los productos de estos genes, que regulan la expresión de los diferentes factores de virulencia aún, cuando es abundante todavía es incompleto. ⁽¹³⁾

Resistencia a los antimicrobianos.

Los genes involucrados en resistencia y virulencia de varias cepas de *S. aureus*, ha revelado que estos genes se encuentran dentro de profagos y transposones, así como en las islas genómicas que tienen las características de las islas de patogenicidad. ⁽¹⁰⁾

Actualmente están disponibles tres secuencias de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), lo que ha permitido estudiar y comparar la estructura de las PAI en este patógeno. Una diferencia de las PAI de *S. aureus* y PAI de patógenos gram negativos es la presencia de regiones grandes de genes con variaciones alélicas de toxinas específicas, proteasas y enzimas involucradas en la patogénesis. Las formas alélicas pueden ayudar al patógeno a adaptarse a varios microambientes dentro y fuera del hospedero. ⁽¹¹⁾

Factores de virulencia de Estafilococos coagulasa-negativos

El DNA plasmídico es frecuente en todas las especies de estafilococos coagulasa-negativos, aunque sólo se han identificado unos pocos genes de plásmidos. La resistencia a antibióticos como la penicilina, macrólidos, lincosamidas, estreptograminas, tetraciclinas, cloranfenicol, trimetoprima y aminoglucósidos se ha asociado a plásmidos específicos. Se ha confirmado la resistencia mediada por plásmidos de transferencia de éstos receptores libres de plásmidos. La demostración de que ciertos plásmidos de resistencia a aminoglucósidos hallados en *S. epidermidis* pueden transferirse por conjugación a otros *S. epidermidis* y a *S. aureus* es de gran importancia epidemiológica. Estos plásmidos de conjugación

también codifican la resistencia a la penicilina, a trimetoprima, a mupirocina y a desinfectantes y pueden movilizar la transferencia de otros plásmidos que codifican resistencia a macrólidos, lincosamidas y cloranfenicol. La transferencia de resistencia por conjugación puede ayudar a comprender el rápido incremento de resistencias observado en las cepas hospitalarias de *S. epidermidis*.⁽¹⁴⁾

Con respecto a la asociación de *S. epidermidis* con las superficies plásticas, los estudios de microscopía electrónica sugieren un proceso en dos fases. Las células se adhieren a la superficie y forman múltiples capas que se engastan en una matriz exopolisacárida, creando una biopelícula. La primera fase, de adherencia, puede involucrar tanto a factores polisacáridos como el PS/A, como proteínas de superficie. En la segunda fase, de adhesión intracelular, interviene un polisacárido, llamado PIA, también puede estar implicada una proteína extracelular. La biosíntesis de PIA está codificada por un grupo de genes llamado *ica*. La producción de PIA también capacita a *S. epidermidis* para aglutinar eritrocitos. El papel del PS/A, de las proteínas de superficie y del PIA en la asociación de *S. epidermidis* con cuerpos extraños se confirma por la incapacidad de los mutantes para crear biopelículas en superficies plásticas y por la abrogación mediante anticuerpos específicos de infecciones relacionadas de catéteres intravasculares y otros cuerpos extraños protege a los microorganismos de las células fagocíticas del huésped y reduce la capacidad de algunos antimicrobianos para erradicar a las microcolonias estafilocócicas adheridas.⁽²⁷⁾

Resistencia a agentes antimicrobianos.

Cuando se introdujo la penicilina en la terapéutica del público en general después de la Segunda Guerra Mundial, casi todas las cepas de *S. aureus* eran altamente susceptibles. Desde esa época, la selección de cepas preexistentes capaces de producir penicilinas ha cambiado estas proporciones hasta el punto en que 80-90% de los aislamientos actuales son resistentes a la penicilina. La penicilinas es codificada por genes plásmidos y actúa al abrir el anillo lactámico beta y las transpeptidasa del peptidoglicano.⁽²⁶⁾

Las alteraciones del blanco lactámico beta y las transpeptidasas del peptidoglicano (Proteínas fijadoras de penicilina PBP) son la explicación de la resistencia a la meticilina. Estas cepas *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM) lo son más frecuente en la adquisición de un gen para una nueva transpeptidasa, que tiene afinidad reducida por los antibióticos lactámicos beta pero que aún es capaz de efectuar su función enzimática de peptidoglicano de enlace cruzado. ⁽²⁴⁾

La frecuencia de SARM varía mucho según la zona geográfica. La mayor parte de los hospitales estadounidenses informan tasas de SARM de 5 a 25%, pero los brotes se están incrementando y en otros países se han informado tasas que pasan de 50%. Existen algunos problemas para identificar SARM; las células resistentes pueden representar sólo una parte pequeña de la población total (heterorresistencia).⁽²⁹⁾ Por lo general se efectúan estudios con meticilina u oxacilina bajo condiciones técnicas que facilitan la identificación de la subpoblación resistente, y se procede a la extrapolación de los resultados a otros agentes importantes. Por ejemplo, la resistencia a la oxacilina se considera comprobación de resistencia a meticilina, nafcilina, dicloxacilina y todas las cefalosporinas. A menudo se emplea vancomicina para tratar infecciones graves por SARM. La aparición reciente de *S. aureus* con susceptibilidad disminuida a vancomicina es motivo de gran preocupación, aunque estas cepas aún son muy raras. ⁽²⁵⁾

DIAGNOSTICO

Los procedimientos de laboratorio que ayudan a establecer el diagnóstico de las infecciones estafilocócicas son muy simples. Las lesiones más agudas no tratadas contienen numeroso leucocitos polimorfonucleares y grandes cantidades de cocos grampositivos agrupados en racimos. Los estafilococos crecen durante la noche en medio de agar-sangre bajo incubación aerobia. Las pruebas de catalasa y coagulasa efectuadas directamente con las colonias bastan para la identificación.

⁽⁷⁾Debido a la resistencia creciente de *S. aureus* a múltiples agentes

antimicrobianos, en particular meticilina y vancomicina, están indicadas las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos.

Las infecciones estafilocócicas profundas, como la osteomielitis y los abscesos, plantean problemas diagnósticos especiales cuando no es posible aspirar directamente las lesiones u obtener muestras quirúrgicas de ellas. Los hemocultivos suelen ser positivos en patología como artritis estafilocócica aguda, osteomielitis y endocarditis, pero lo son con menos frecuencia en infecciones localizadas, como los abscesos profundos. ⁽⁵⁾

Se han descrito técnicas para el cultivo e identificación de estafilococos. Las muestras deben ser inoculadas en placas de agar sangre o agar sal y manitol, además de que se pueden emplear medios líquidos enriquecidos como el caldo tioglicolato. Las cepas de este género, requieren de un periodo de incubación de 18-24 horas para su desarrollo. Después de este tiempo se puede observar la morfología colonial de las cepas, además de que se debe realizar la tinción de Gram para observar morfología microscópica característica de este género. También se realiza la prueba de catalasa y coagulasa. Por último se emplean sistemas para la identificación bioquímica de las cepas. ⁽²⁸⁾

En lo que respecta a los estafilococos coagulasa negativos, estos se diferencian inicialmente por su capacidad de producir o no una enzima (coagulasa) que coagula plasma de conejo. Los estafilococos coagulasa positivos también fermentan el manitol, contienen una proteína de unión (proteína A) a la inmunoglobulina G (IgG) en su pared celular, y producen una proteína asociada a la pared (factor de afinidad por el fibrinógeno) que se une al fibrinógeno, características no compartidas por la mayoría de los estafilococos coagulasa negativos. A nivel de género, se ha confirmado el parentesco entre todos los estafilococos gracias al similar contenido de guanina y citosina en el ácido desoxirribonucleico (DNA); su diferenciación en especies separadas ha sido corroborada por el examen de homología de secuencias de DNA específicas. ⁽²⁹⁾

Diagnóstico molecular.

El diagnóstico molecular es una técnica que ha tomado importancia en los últimos años ya que permite la detección rápida de patógenos microbianos. Se pueden obtener resultados en pocas horas, en comparación con las más de 24 horas necesarias en las técnicas de fenotipia convencional. Dichos métodos están orientados a detectar moléculas específicas como la proteína 2A de unión a la penicilina (PBP2A) en los estafilococos resistentes a meticilina, o a identificar genes específicos mediante búsqueda directa de ciertas molécula por amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR diagnóstica se fundamenta en la amplificación de los genes que codifican los RNA ribosómicos 16S y 23S (rRNA) . Puesto que estos genes son polialélicos (de cinco a seis copias por célula), aumentan la probabilidad de la unión del cebador y de amplificación de la PCR cuando las bacterias se encuentran en escaso número en la muestra. Los cebadores van dirigidos hacia las secuencias génicas del ARNr altamente conservado que flanquean a la región intermedia específica de la especie. Tras la amplificación, se determina la secuencia intermedia y se compara con bases de datos existentes o se hibrida con una serie de sondas específicas de bacterias conocidas. ⁽²⁾

El diagnóstico molecular desempeña un papel importante en el caso de infecciones con cultivo negativo, lo que es frecuente cuando el tratamiento antibiótico ha comenzado antes de que se recojan las muestras clínicas. En tales circunstancias, deben emplearse técnicas de cultivo especiales para eliminar o inactivar el fármaco contaminante, alargando el periodo de incubación. ⁽⁶⁾

TRATAMIENTO

La mayor parte de los furúnculos y los abscesos estafilocócicos superficiales se resuelven de manera espontánea sin tratamiento antimicrobiano. Las infecciones que son más extensas, más profundas o situadas en órganos vitales requieren una combinación de drenaje quirúrgico y antimicrobianos para lograr resultados óptimos. Las penicilinas y las cefalosporinas son activas contra el peptidoglicano de la pared celular de *S. aureus* y varían en su susceptibilidad a la inactivación por

las lactamasas beta estafilocócicas. ⁽²⁹⁾ Aunque la penicilina G es el agente terapéutico preferido para as cepas susceptibles, se emplean con más frecuencia las penicilinas resistentes a la penicilinasa (meticilina, nafcilina, oxacilina) y as cefalosporinas de primera generación debido a la resistencia desarrollada por este microorganismo. Para las cepas resistentes a estos agentes, así como para pacientes con hipersensibilidad a los antibióticos beta-lactámicos, las alternativas son vancomicina, clindamicina y eritromicina. Existe sinergia entre los antibióticos activos sobre la pared celular y los aminoglucósidos cuando el estafilococo es sensible a las dos clases de agentes. Estas combinaciones se emplean a menudo para tratar las infecciones generales graves que requieren una acción bactericida rápida. ⁽²⁶⁾

A6. JUSTIFICACION

En la actualidad los microorganismos han desarrollado mecanismos de patogenicidad que les permiten subsistir en ambientes adversos, dentro de los que destacan la adquisición de elementos genéticos móviles, como los transposones, plásmidos, o secuencias conservadas dentro del genoma bacteriano como las islas de patogenicidad, los cuales codifican para factores de virulencia y genes de resistencia antimicrobiana. La importancia de estudiar estos genes radica en su asociación con la evolución clínica del paciente que se encuentra infectado con éstos microorganismos, siendo de mayor relevancia en el neonato, por su condición inmunológica. Así mismo, es de suma importancia, conocer el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de la cepa, ya que el uso indiscriminado de éstos, puede seleccionar cepas resistentes que se asocien a la gravedad del paciente. Es por ello que surge la necesidad de desarrollar estudios que nos permitan asociar la relevancia de estos genes en la evolución clínica de los pacientes, así como proponer el uso de alternativas farmacológicas para eliminar a los agentes etiológicos, evitando la selección de cepas resistentes, contribuyendo con ello a reducir la propagación de las mismas, las cuales son asociadas a infecciones nosocomiales.

OBJETIVOS

- Identificar la presencia de genes de virulencia y de resistencia, en cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* aisladas de muestras obtenidas en neonatos.
- Determinar la fuerza de asociación entre la presencia de genes de virulencia y resistencia en cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* con la gravedad de la infección en neonatos.
- Inducir la heterorresistencia a vancomicina en cepas de *S. aureus*.

HIPÓTESIS

La presencia de genes de virulencia y resistencia en las cepas clínicas aisladas de neonatos se asociarán con la mala evolución clínica del neonato, en comparación con las cepas que no tienen esta información genética.

A7. METODOLOGIA

TIPO DE ESTUDIO:

Este estudio es una investigación de tipo observacional, transversal, analítico y retrospectivo.

LUGAR Y DURACIÓN

Este trabajo se realizará en el Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Instituto Nacional de Perinatología.

UNIVERSO, UNIDADES DE OBSERVACIÓN, MÉTODOS DE MUESTREO, Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se trabajarán con 118 cepas de *S. aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos aisladas de muestras biológicas de origen estéril de neonatos de los diferentes servicios de hospitalización del Instituto.

METODOLOGÍA:

Crecimiento Microbiano:

Las cepas de *S. aureus* y coagulasa negativos aisladas del mismo origen, serán recuperadas del cepario del Laboratorio de Microbiología, haciéndolas crecer en placas de agar sangre de carnero y agar sal manitol para *S. aureus* incubándose en condiciones de aerobiosis a 37°C durante 24 horas.

Extracción de ácidos nucleicos:

- Una vez obtenido el crecimiento microbiano de las cepas a emplear, se hará una suspensión microbiana ajustada al tubo No. 0.5 del nefelómetro de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) en fase logarítmica.
- Se centrifugará a 3000 rpm para obtener un paquete celular.
- El paquete celular se resuspenderá en 200 uL de solución de lisis.
- Se realizará un choque térmico para la ruptura de las bacterias y liberación de ácidos nucleicos.
- Se procederá a realizar la extracción del material genético con la técnica de fenol-cloroformo.

- El DNA se resuspenderá en 20uL de solución de trabajo TE (Tris-EDTA).
- El material genético se guardará en congelación a -20°C hasta su uso.

Iniciadores a emplear y diseño:

Los primers que serán utilizados para la amplificación de los genes de virulencia se buscarán en artículos de divulgación científica y se realizará el alineamiento de los mismos en el GenBank para ver su grado de especificidad para reconocer a la secuencia blanco. Los primers que no sean específicos para los genes de virulencia respectivos serán diseñados empleando el programa Primer3 (online free versión 0.4.0).

Gen	Función
<i>mecA</i>	Gen que codifica para la proteína de unión a penicilina, confiriendo resistencia a meticilina.
<i>Tst</i>	Gen que codifica para la proteína de choque tóxico
<i>Hla</i>	Gen que codifica para la hemolisina alfa estafilococcica
<i>Hlb</i>	Gen que codifica para la hemolisina beta estafilococcica
<i>Agr</i>	Operon que codifica para el sistema de regulación de "quorum sensing"
<i>entA</i>	Gen que codifica para la enterotoxina A
<i>sarA</i>	Locus regulador accesorio de Staphylococcus aureus que codifica para una proteína que se une a DNA para regular mas de 100 genes
<i>Cna</i>	Gen que codifica para una proteína de unión a colágena

Se emplearán las condiciones descritas en la literatura para la amplificación de los genes antes mencionados. Además se estandarizarán las condiciones de temperatura y concentraciones de sales para la PCR en su fase de desnaturalización del DNA, alineamiento de los primers y alargamiento del fragmento de interés de los genes para los que se realizará el diseño de los primers.

Detección de los genes:

Para ello se emplearán geles de agarosa al 1.2 %, en los cuales se lograrán observar los fragmentos amplificados y con un marcador de tamaño molecular de 100pb y 50pb se podrá estimar el tamaño del fragmento de interés.

Prueba de sensibilidad a antimicrobianos:

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):

Para esta prueba se emplearán tres técnicas:

Método automatizado para sensibilidad: Se utilizarán paneles específicos (PC20) para cocos Gram positivos (MicroScan, Dade Bahring) y se procederá conforme a las instrucciones del fabricante.

Dilución seriada en placas de agar (microdilución): Para esta metodología se seguirán los parámetros establecidos por la CLSI (antes NCCLS).

Inducción y Selección de cepas heterorresistentes:

Para inducir la heterorresistencia en las cepas de *Staphylococcus*, se inocularán 100 μ L de una suspensión bacteriana ajustada al tubo No. 2 del nefelómetro de McFarland en medio enriquecido (agar sangre de carnero al 5%) al cual previamente se le adicionó vancomicina a una concentración de 4 μ g/mL, se coloca un disco de aztreonam al centro de la placa (30 μ g) realizándose por duplicado cada ensayo. Se incubarán a 37°C revisando el crecimiento a las 24 y 48 horas. Las cepas que presenten satelitismo (crecimiento alrededor del disco) serán consideradas como heterorresistentes. Las cepas heterorresistentes, serán sometidas a 5 pases seriales en placas de agar sangre de carnero al 5%. Se preparará un inóculo del último pase a una concentración equivalente al tubo No. 1 del Nefelómetro de McFarland y

se inocularán 40 μ L de suspensión a placas de agar Müller-Hinton que contienen vancomicina a diferentes concentraciones (0.015 μ g/mL-512 μ g/mL). Se incubarán a 37°C por 48 horas, se revisará el desarrollo microbiano y se reportarán los resultados.

CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION.

- Se incluirán todas las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* aisladas de pacientes neonatos hospitalizados de todos los servicios del Instituto.

A8. RESULTADOS

Diseño de iniciadores:

Staphylococcus aureus cepa V521 locus del gen regulador accesorio (agr)

CTATACGAAGATAACAAATTTACAATGAAAGTAATTAATTATTCATCTTATTTTTTTAGTGAATTTG
TTCACTGTGTGCGATAATCCATTTTACTAAGTCACCGATTGTTGAAATGATATCTTGTGCCATTGAA
ATCACTCCTTCCCTTAATTAAGATAAAAATTCTTAAAATTAACAACCTCATCAACTATTTTCCATCA
CATCTCTGTGATCTAGTTATATTAACATGCTAAAAGCATTTATTTTCCAATTTTTCTTAACTAG
TCGTTTTTTTATTCTTAACTGTAAATTTTTTTATGTTAAAATATTAATACAAAATTACATTTAACAG
TTAAGTATTTATTTCCCTACAGTTAGGCAATATAATGATAAAAAGATTGTACTAAATCGTATAATGAC
AGTGAGGAGAGTGGTGTAAAATGAATTATTTTGATAATAAAAATTGACCAGTTGCCACGTATCTT
CAAAAGAGAAATAACTTAGATCATATTCATTTTTTGCAAGTACGATTAGGGATGCAGGTCTTAGCT
AAAAATATAGGTAAATTAATTGTTATGTATACTATTGCCTATATTTTAAACATTTTTCTGTTTACG
TTAATTACGAATTTAACATTTTTATTTAATAAGAAGACATGCACATGGTGCACATGCACCTTCTTCT
TTTTGGTGTATGTAGAAAGTATTATACTATTTATACTTTTACCTTTAGTAATAGTAAATTTTCAT
ATTAACTTTTTAATTATGATTATTTTAAACAGTTATTTCTTTAGGTGTAATCTCAGTATATGCTCCT
GCAGCAACTAAAAAGAAGCCCATTCCTGTGCGACTTATTAACGAAAAAATAATTATGCGATTATT
GTTAGTTTTAACCTTTTTCATTTATCACACTTATCATCAAAGAGCCATTTGCCCAATTCATTTCAATTA
GGCATCATAATAGAAGCTATTACATTATTACCTATTTTTCTTTATTAAGGAGGACTTAAAATGAATA
CATTATTTAACTTATTTTTTTGATTTTATTACTGGGATTTTAAAAACATTGGTAACATCGCAGCTT
ATAGTACTTGTGACTTCATAATGGATGAAGTTGAAGTACCAAAAAGAATTAACACAATTACACGAAT
AATTTAAATAGAGAGTGTGATAGTAGGTGGAATTATTAATCGTTATAATTTTTGTTTTATTTCGTAT
TAACTCAAATGATATTAATGTTTACAATACCAGCTATAATTAGTGGTATTAAGTACAGTAAACTTG
ATTATTTTTTTCATCATAGTAATTTGACATTATCGTTATTTCTATTTAAAATGTTTGATAGCGCGT
CCTTAATCATATTAACCTTCATTTATTATTATAATGTATTTTGTCAAATCAAATGGTATTCTATTT
TGTTGATTATGACTTCGCAGATTATTCTATACTGTGCTAACTACATGTATATAGTTATATATATGCAT
ATATCACCAAAATTTCTGATAGTATATTTGTAATATTCCCTAGCTTTTTTTGTAGTTTATGTGACTA
TTAGTATACTATTCTCATATATAATAAATAGAGTTCTCAAAAAAATTAGCACACCATATCTAATAC
TAAACAAGGATTTTTAATAGTTATTTGACTATCTTACTGCTTACTTTTTTCATTTATTTTTCTTTT
ATTCACAATAAACTCGGATGAAGCTAAAGTAATAAGGCAGTATTCTTTTTATTTTTATTGGTATCAC
TATATTTTTAAGTATATTAACATTTGTTATTTCTCAATTTCTCCTTAAAGAGATGAAATATAAACG
TAATCAAGAAGAAATTGAAACCTATTATGAATATACATTGAAGATTGAAGCTATCAACAACGAAAT
GCGCAAGTTCCGTCATGATTATGTCAATATCTTAACGACACTTTCAGAATACATTCGAGAAGATGA
CATGCCTGGCCTACGTGATTATTTCAATAAAAAATATTGTACCTATGAAAGACAATTTACAAATGAA
TGCTATAAAAATTAATGGTATCGAGAATCTTAAAGTACGTGAAATTAAGGCTTAATTAAGTGCAGAA
AATTTTACGTGCACAAGAAATGAATATTCGATTAGTATCGAAATACCCGATGAAGTAAGTAGCAT
TAACTTGAATATGATCGATTTAAGTCGCAGTATTGGTATTATCTTGATAATGCAATTGAGGCATC
AACTGAAATTGATGACCCTATCATTCGCGTTGCATTTATTGAAAGTGAAATTCAGTAACGTTTAT
TGTTATGAATAAATGCGCTGATGATATACCACGCATTCATGAATTGTTCCAAGAAAGTTTTTCTAC
TAAAGGTGAAGGTCGTGGTTTAGGTCTATCAACTTTAAAAGAAATTGCTGATAATGCAGACAATGT
CTTATTAGATACAATTATCGAAAATGGTTTTCTTTATTCAAAAAGTTGAAATTTAACAACACTAGCC
ATAAGGATGTGAATGTATGAAAATTTTTCATTTGCGAAGACGATCCAAAACAAAGAGAAAACATGGT

TACCATTATTA AAAAATTATATAATGATAGAAGAAAAGCCTATGGAAATTGCCCTCGCAACTGATAA
TCCTTATGAGGTGCTTGAGCAAGCTAAAAATATGAATGACATAGGCTGTTACTTTTTAGATATTCA
ACTTCAACTGATATTAATGGTATCAAATTAGGCAGTGAAATTCGTAAGCATGACCCAGTTGGTAA
CATTATTTTCGTTACGAGTCACAGTGAACCTACCTATTTAACATTTGTCTACA **AAAGTTGCAGCGAT**
GGATTTTATTTTTAAAGATGATCCAGCTGAATTAAGAACTCGAATTATAGACTGTTTAGAACTGC
ACATACACGCTTACAATTGTTGTCTAAAGATAATAGCGTTGAAACGATTGAATTA AACCGTGGCAG
TAATTCAGTGTATGTTCAATATGATGATATTATGTTTTTTGAATCATCAACAAA **TCTCACAGACT**
CATTGCCCATTTAGATAACCGTCAAATTGAATTTTATGGTAATTTAAAAGAACTGAGTCAATTAGA
TGATCGTTTTCTTTAGATGTCATAATAGCTTTGTCTCAATCGCCATAATATTGAATCTATAGATTC
GAAAGAGCGAATTGTCTATTTTTAAAAATAAAGAACACTGCTATGCATCGGTGAGAAACGTTAAAA
AATATAATAAGATAATAAAGTCAGTTAACGGCGTATTCAATTGTAAATCTTGTGGATTTTAAACAA
GATAACTAGCAAATGCACT

Primers diseñados:

FW 5' AAAGTTGCAGCGATGGATTT 3'

RV 5' TGGGCAATGAGTCTGTGAGA 3'

Gen de la toxina de choque tóxico (tst)

ATGAATAAAAAATTACTAATGAATTTTTTTATC **GTAAGCCCTTTGTTGCTTGC** **GACAATCGCTACA**
GATTTTACCCCTGTTCCCTTATTATCTAATCAAATAATCAAACTGCAAAAGCATCTACAAACGAT
AATATAAAGGATTTGCTAGACTGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTT
GATAATTCCTTAGGATCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAG **CCTTATAATTTTTCCG**
AGTCCTTATTATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAGAACTAAA
AAAAGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACTGAA
AAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGCCCTTAAAG
TATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTGAAATTCGTCATCAG
CTAACTCAAATACATGGATTATATCGTTCAAGCGATAAAACGGGTGGTTATTGAAAATAACAATG
AATGACGGATCCACATATCAAAGTGATTTATCTAAAAAGTTTGAATACAATACTGAAAAACCACCT
ATAAATATTGATGAAATAAAAACTATAGAAGCAGAAATTAATTAA

Primers diseñados:

FW 5' GTAAGCCCTTTGTTGCTTGC 3'

RV 5' CTGATGCTGCCATCTGTGTT 3'

Gene hlb que codifica para la beta hemolisina

ATCGATAACTTTCTTTGTTCCATTTTTAAAGTAAACAGTATATTTTCGCTTGCTTCGATAGTCTTAA
ATCTATATCACTAATACCTCTGTCTGATTTTTAAACTGATTTAACTCTATCCTCTAAATCTTTATA
ACTAATATTTTGATTCTTATTAAATGTTAAGCTTGATAAAATATTTTGGCTTGACCGTTCACAGT
GATTGCATATGGAACATGGACTTTAGAATATCCATGGTGTAAACGAACTTGATGATTTATCTAATGG
CTTAGCTGCGGCAGACGCTTCATTATTATTAAGTTTGCACCTGTTGATGCTAAAACACCTAATGC

TAAAGTTGTTGTAATCAATGACTTAAATTTTCATAAATTATCTCTCCTTTTTTGTGTAATTCGTATT
TGCAACTTAATTATAGCCAGACTTTCTCTATTTTTTTGAATTAAGTGAATATTAATAATAAATTATC
TTTAAACAATAATTTTTTAACTGTTAAAAGTTCTTTTAATTTTGATTAAGTAAATTTACAAT
ACCTAAAATGTTGTTGGTTTTGTTTATACCAAGCTTCAAACCTAAATGTCATAACAACATTCATT
TCTTAATTCCGATTAGATTTGTGCGATTATATTTACAGCATCTTTATACTCAAAAAACATTTACTTA
AAAATATAAATTTCTATTTAATAATTAATTTAAATTTAGTTAATCAATTTTGCATCTATTTTGTGT
AAGCTATATAAAAAGGAGTGATAATGATGGTGAAAAAACAAAAATCCAATTCACAAAAAAGTTGC
AACACTTGCATTAGCAAATTTATTATTAGTTGGTGCACCTTACTGACAATAGTGCCAAAGCCGAATC
TAAGAAAGATGATACTGATTTGAAGTTAGTTAGTCATAACGTTTATATGTTATCGACCGTTTTGTA
TCCAAACTGGGGGCAATAATAAACGCGCTGATTTAATCGGACAATCTTCTTATATTAATAAATGA
TGTCGTAATATTCAATGAAGCATTGATAATGGTGCATCAGACAAATTATTAAGTAATGTGAAAA
AGAATATCCTTATCAAACACCTGTACTCGGCCGTTCTCAATCAGGGTGGGACAAAACCTGAAGGTAG
CTACTCATCAACTGTTGCAGAAGATGGTGGCGTAGCGATTGTAAGTAAATATCCTATTAAGAAAA
AATCCAGCATGTTTTCAAAGCGGTTGTGGATTCGATAATGATAGCAACAAAGGCTTTGTTTATAC
AAAAATAGAGAAAAATGGTAAGAACGTTACGTTATCGGTACACATACACAATCTGAAGATTCAG
TTGTGGTGTGGACATGATCGAAAAATTAGAGCTGAACAAATGAAAGAAATCAGTACTTTGTAA
AAAGAAAAATATCCCTAAAGATGAAACGGTATATATAGGTGGCGACCTTAATGTCAATAAAGGCAC
TCCAGAGTTCAAAGATATGCTTAAAACTTGAATGTAATGATGTTCTATATGCAGGTCATAATAG
CACATGGGACCTCAATCAAATTCATTGCGAAATATAATTACCCTAATGGTAAACCAGAACATTT
AGACTATATATTTACAGATAAAGATCATAAACAACCAAAACAATTAGTCAATGAAGTTGTGACTGA
AAAACCTAAGCCATGGGATGTATATGCGTTCCCATATTACTACGTTTACAATGATTTTTTTCAGATCA
TTACCCAATCAAAGCCTATAGTAAATAGTGCTCAACTAACTAATAACTTTGCTTCGTTCTAAAAGG
ACGAAGCGAGTTATATTGTTAAAATTTGAATTGACTTACATTTTAATAAAATCATCTTAACAACCT
TAATTTTTTCATTAATACAAGTCTTTACTCTACACTCAAACAAGATTCATACACTGCACGTCATAAT
AAATCTATCTATTCAAATATAAAATAAAAGTTACCTACTACATTTCTATGTAGCAGGCAACTTTTTATT
ACTTATTTCTTTTCATTATCATTAAGTACTTTTACAACTTACATTATGTGTCTTCCAATCAACT
TCATATAATGCTGATAATTTTTCTTTTTTTATCTACATGGTTTTTACCAGACCAATAGCCCCAG
AAACCATGGCGATTCCAATCTATTTTAACTCATCCATTGATCGTTTAACTCTAACGTGTCGCATG
GAAATCGAT

Primers diseñados:

FW 5' TATCCAAACTGGGGGCAATA 3'

RV 5' CAGTTTTGTCCCACCTGAT 3'

Cassette cromosómico para el gen *mecA* (SCCmec)

TTATTCATCTATATCGTATTTTTTATTACCGTTCTCATATAGCTCATCATACTTTACCTGAGAT
TTTGGCATTGTAGCTAGCCATTCCTTTATCTTGTACATCTTTAACATTAATAGCCATCATCATGTT
TGGATTATCTTTATCATATGATATAAACCACCAATTTGTCTGCCAGTTTCTCCTTGTTTCATTTT
GAGTTCTGCAGTACCGATTTGCCAATTAAGTTTGCATAAGATCTATAAATATCTTCTTTATGTGT
TTTATTTACGACTTGTGCATACCATCAGTTAATAGATTGATATTTTCTTTGGAAATAATATTTTT
CTTCCAACTTTGTTTTTTCGTGTCTTTTAAATAAGTGAGGTGCGTTAATATTGCCATTATTTTTCTAA

TGCGCTATAGATTGAAAGGATCTGTACTGGGTTAATCAGTATTTACCTTGTCCGTAACCTGAATC
AGCTAATAATATTTTATTATCTAAATTTTTGTTTGAATTTGAGCATTATAAAATGGATAATCACT
TGGTATATCTTCCACCAACACCTAGTTTTTTCATGCCTTTTTCAAATTTCTTACTGCCTAATTCGAG
TGCTACTCTAGCAAAGAAAATGTTATCTGATGATTCTATTGCTTGTTTTAAGTCGATATTACCATT
TACCACTTCATATCTTGTAAACGTTGTAACCACCCCAAGATTTATCTTTTTGCCAACCTTTACCATC
GATTTTATAACTTGTTTTATCGTCTAATGTTTTGTTATTTAACCAATCATTGCTGTTAATATTTT
TTGAGTTGAACCTGGTGAAGTTGTAATCTGGAACCTGTTGAGCAGAGGTTCTTTTTTATCTTCGGT
TAATTTATTATATTTCTTCGTTACTCATGCCATACATAAATGGATAGACGTCATATGAAGGTGTGCT
TACAAGTGCTAATAATTCACCTGTTTGAGGGTGGATAGCAGTACCTGAGCCATAATCATTTTTTCAT
GTTGTTATAAATACTCTTTTTGAACCTTAGCATCAATAGTTAGTTGAATATCTTTGCCATCTTTTTT
CTTTTTCTCTATTAATGTATGTGCGATTGTATTGCTATTATCGTCAACGATTGTGACACGATAGCC
ATCTTCATGTTGGAGCTTTTTTATCGTAAAGTTTTTCGAGTCCCTTTTTTACCAATAACTGCATCATC
TTTTATAGCCTTTATATTCTTTTTGTTTTAATTTCTCAGAGTTAATGGGACCAACATAACCTAATAG
ATGTGAAGTCGCTTTTCCCTAGAGGATAGTTACGACTTTCTGTTTCATTAGTTGTAAGATGAAATTT
TTTTGCGAAATCACTTAAATATTCATCCATTTTTTTAACGGTTTTAAGTGGAACGAAGGTATCATC
TTGTACCCAATTTGATCCATTTGTTGTTTGATATAGTCTTCAGAAATACTTAGTTCTTTAGCGAT
TGCTTTATAATCTTTTTTAGATACATTCTTTGGAACGATGCCTATCTCATATGCTGTTCTCTGTATT
GGCCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAAAATTTTACCACGTTCTGATTTTAAATTTTCAATATGTAT
GCTTTGGTCTTTCTGCATTCTGGAATAATGACGCTATGATCCCAATCTAACTTCCACATAACCATC
TTCTTTAACAAAATTAATTTGAACGTTGCGATCAAATGTTACCGTAGTTTGTTTTAAATTTTATATTG
AGCATCTACTCGTTTTTTATTTTTAGATACTTTTTTTATTTTACGATCCTGAAATGTTTATATCTTT
AACGCCTAAACTATTATATATTTTTATCGGACGTTTCAGTCATTTCTACTTCACCATTATCGCTTTT
AGAAATATAACTGCTATCTTTATAAACTTGTTTGAATTTTTATCTTCAATTGCATCAATAGTATT
ATTAATTTCTTTATCTTTTGAAGCATAAAAATATATACCAAACCCGACAACACTACAATATTAAT
AAGTGAACAATTTTTATCTTTTTTCAT

Primers diseñados:

FW 5' GGCCAATTCCACATTGTTTC

RV 5' TTGATCGCAACGTTCAATTT

Cassette cromosómico para el gen *mecR* (SCCmec)

ATGTCACATAAGATTTGGTTATTAGTGCTCGTCTCCACGTTAATTCATTAATACCATTTTACAAA
ATATCGAATTTTACATTTTCAAAGATATGATGAATCGAAATGTATCTGACACGACTTCTTCGGTT
AGTCATATGTTAGATGGTCAACAATCATCTGTTACGAAAGACTTAGCAATTAATGTTAATCAGTTT
GAGACCTCAAATATAACGTATATGATTCTTTTGATATGGGTATTTGGTAGTTTGTGTGCTTATTT
TATATGATTAAGGCATTCCGACAAATTGATGTTATTTAAAGTTCGTCATTGGAATCGTCATATCTT
AATGAACGACTTAAAGTATGTCAAAGTAAGATGCAGTTCTACAAAAGCATATAACAATTAGTTAT
AGTTCAAACATTGATAATCCGATGGTATTTGGTTTAGTGAAATCCCAAATTGTACTACCAACTGTC
GTAGTCGAAACCATGAATGACAAAGAAATGAATATATTATTCTACATGAACTATCACATGTGAAA
AGTCATGACTTAATATTCAACCAGCTTTATGTTGTTTTTAAATGATATTCTGGTTTAAATCCTGCA
CTATATATAAGTAAAACAATGATGGACAATGACTGTGAAAAAGTATGTGATAGAAACGTTTTTAAAT
ATTTTGAATCGCCATGAACAATATACGTTATGGTGAATCGATATTTAAATGCTCTATTTTTAAATCT

CAGCACATAAATAATGTGGCAGCACAAATATTTACTAGGTTTTAATTCAAATATTAAGAACGTGTT
AAGTATATTGCACTTTATGATTCAATGCCTAAACCTAATCGAAACAAGCGTATTGTTGC GTATATT
GTATGTAGTATATCGCTTTTAATACAAGCACCGTTACTATCTGCACATGTTCAACAAGACAAATAT
GAAACAAATGTATCATATAAAAAATTAATCAACTAGCTCCGTATTTCAAAGGATTTGATGGAAGT
TTTGTGCTTTATAATGAACGGGAGCAAGCTTATTCTATTTATAATGAACCAGAAAGTAAACAACGA
TATTCACCTAATTCTACTTACAAAATTTATTTAGCGTTAATGGCATTTCGACCAAATTTACTCTCA
TTAAATCATACTGAACAACAATGGGATAAACATCAATATCCATTTAAAGAATGGAACCAAGATCAA
AATTTAAATTCTTCAATGAAATATTCAGTAAATTGGTATTACGAAAATTTAAACAACATTTAAGA
CAAGATGAGGTTAAATCTTATTTAGATCTAATTGAATATGGTAATGAAGAAATATCAGGGAATGAA
AATTATTGGAATGAATCTTCATTAATAATTTCTGCAATAGAACAGGTTAATTTGTTGAAAAATATG
AAACAACATAACATGCATTTTGATAATAAGGCTATTGAAAAAGTTGAAAATAGTATGACTTTGAAA
CAAAAAGATACTTATAAATATGTAGGTAAAACTGGAACAGGAATCGTGAATCACAAAGAAGCAAAT
GGATGGTTCGTAGGTTATGTTGAAACGAAAGATAATACGCATTATTTTGCTACACATTTAAAAGGC
GAAGACAATGCGAATGGCGAAAAAGCACAAACAATTTCTGAGCGTATTTTAAAAGAAATGGAGTTA
ATATAA

Primers diseñados:

FW 5' ATTTTGAATCGCCATGAACA

RV 5' GCAACAATACGCTTGTTCG

***Staphylococcus aureus* cepa S6 precursor para la enterotoxina A
(entA)**

ATGAAAAAACAGCATTTTACATTACTTTTTATTCATTGCCCTAACGTGGACAACAAGTCCACTTGTA
AATGGTAGCGAGAAAAGCGAAGAAATAAATGAAAAAGATTTGCGAAAAAGTCTGAATTGCAGGGA
GCAGCTTTAGGCAATCTTAAACAATCTATTATTACAATGAAAAAGCTAAAACGAAAATAAAGAG
AGTCACGATCAATTTTTACAGCATACTATATTGTTTAAAGGCTTTTTTACAAATCATTCATGGTAT
AACGATTTATTAGTAGATTTTGATTCAAAGGATATTGTTGATAAATATAAAGGGAAAAAAGTAGAC
TTATATGGTGCTTATTATGGTTATCAATGTGCGGGTGGTACACCAAACAAAACAGCTTGCATGTAT
GGTGGTGTAAACGTTACATGATAATAATCGATTGACCGAAGAGAAAAAAGTGCCAAATCAATTTATGG
CTAGACGGTAAACAAAATACAGTACCTTTGGAAACGGTTAAAACGAATAAGAAAAATGTAACCTGTT
CAGGAGTTGGATCTTCAAGCAAGACGTTATTTACAGGAAAAATATAATTTATATAACTCTGATGTT
TTTGATGGGAAGGTT CAGAGGGGATTAATCGTGTTTCATACTTCTACAGAACCCTCGGTTAATTAC
GATTTATTTGGTGCTCAAGGACAGAATTCAAATACACTATTAAGAATATATAGAGATAATAAAACG
ATTAACTCTGAAAACATGCATATTGATATATATTTATATAACAAGTTAA

Primers diseñados:

FW 5' TTGAAACGGTTAAAACGAA

RV 5' GAACCTCCCATCAAAAACA

***Staphylococcus aureus* gen sarA**

AAAGCGTTGATTTGGGTAGTATGCTTTGACACAACAAATTTTAATTTAGCAAATTCGATAGTCAAC
TCATTCTTAAGACCTAAATTAATGTTATTTTTTAATAATTTACACCAAATTAATAGCAAAAATTAT
GTTATTCGTGCTAATATTTTCATAGTTGGTTATTCAATTAATTAATAAAGTCAAAATGCACAAC
TTTTATAATTCATTGAGTCGAGTTGAAAAATAAAAGTGCTTTAATGCATGATCAATTATCGTACT
TTCTATTATTTGTTACCCGTTATCAATCGGAATAACGTATAGACACTTTAACGTGCTATAGATTGG
TTTTAATCACTAAATTAATGTGTTTTTCTTATCATTAAAACTGCACTGAGAATTAATAAATAAAA
AAATTATAAAAAATTTTTCATTTTTTAGTGATAAAATTTCTGAAAAATGGGTATAAATAGTAGAAGAAG
TTAACTTGGAAGAGTTAAGCTATAACAAAGAATCTCTTTAGACACACATTGAAATATCGAAACATTT
AATTGCGCTAAATCGTTTTCATTAATAAATTACCTTGTATTGTCGATTAAATTAAGGTAAATTATA
AAAAATGCTGATATTTTTGACTAAACCAAATGCTAACCCAGAAATACAATCACTGTGTCTAATGAA
TAATTTGTTTTATAAACACTTTTTTGTCTTACTTCTCATTTTTTAATTAGTTATAATTAATAAATAA
TAGAGCATTAAATATATTTAATAAACTTATTTAATGCAAAATTAATGACTAACATATCTATAATAA
ATAAAGATTAGATATCAATATATTATCGGGCAAATGTATCGAGCAAGATGCATCAAATAGGGAGGT
TTTAAACATGGCAATTACAAAAATCAATGATTGCTTTGAGTTGTTATCAATGGTCACCTTATGCTGA
CAAATTA AAAAGTTAATTA AAAAGGAATTTTCAATTAGCTTTGAAGAATTCGCTGTATTGACATA
CATCAGCGAAAACAAAGAGAAA GAATACTATTTTAAAGATATTATTAATCATTTAAACTACAAACA
ACCACAAGTTGTTAAAGCAGTTAAAATTTTATCTCAAGAAGATTACTTCGATAAAAAACGTAATGA
GCATGATGAAAGAACTGTATTAATCTTGTAAATGCACAACAACGTAAAAAAATCGAATCATTATT
GAGTCGAGTAAATAAATGAATCACTGAAGCAAACAACGAAATTGAAGTATAATTTTGTTTAGCGCA
ATTTGGTGAAGTTTGATAGATGATACATTCTATTAAACTTCCTTTTTTTATGCTCTTTTTTACCTAA
TTGTTAAGAGGTTTTGCACTAATGGCACT

Primers diseñados:

FW 5' GGGCAAATGTATCGAGCAAG

RV 5' TTTCTCTTTGTTTTCGCTGATG

***Staphylococcus aureus* gen cna para adhesión a colágena**

ATGAACAAGAATGTGTTGAAGTTTATGGTCTTTATAATGTTATTAAATATCATCACGCCTTTATTT
AATAAAAATGACGCATTTGCAGCAGGATATTTTCATCAACGAATGTTACAGATTTAACTGTATCA
CCGTCTAAGATAGAAGATGGTGGTAAAACGACAGTAAAAATGACATTCGACGATAAAAAATGGAAAA
ATACAAAATGGTGACACGATTAAGTGGCATGGCCGACAAGCGGTACAGTAAAGATAGAGGGTTAT
AGTAAAACAGTACCATTAAGTGTAAAGGTGAACAGGTGGGTCAAGCAGTTATTACACCAGACGGA
GCAACAATTACATTCATGATAAAGTAGAAAAATTAAGTGATGTTTCGGGATTTGCAGAATTTGAA
GTACAAGGAAGAAATTTAACGCAAACAATACTTCAGATGACAAAGTAGCTACGATAACATCTGGG
AATAAATCAACGAATGTTACGGTTCATAAAAGTGAAGCGGGAACAAGTAGTGTCTTCTATTATAAA
ACGGGAGATATGCTGCCAGAAGATACGACACATGTACGATGGTTTTTAAATATTAATAATGAAAAA
AGATATGTATCGAAAGATATTAATAAAGGATCAGATTCAAGGTGGACAGCAGTTAGATTTAAGC
ACATTAACATTAATGTGACAGGTACACATAGCAATTATTATAGTGGATCAAATGCAATTACTGAT
TTTGAAAAAGCTTTTCCAGGTTCTAAGATAACTGTTGATAATACGAAGAACAATTGATGTAACA
ATCCACAAGGCTATGGGTCACTTAATAGTTTTTCAATTAATACTACAAAACCAAATTAACGAATGAA

CAGCAAAAAGAGTTTGTAAATAATTCACAAGCTTGGTATCAAGAGCATGGTAAGGAAGAAGTGAAT
GGGAAATCATTTAATCATACTGTGCACAATATTAATGCTAATGCCGGTATTGAAGGTTACTGTAAAA
GGTGAATTTAAAAGTTTTAAAACAGGATAAAGATACCAAGGCTCCTATAGCTAATGTAAAATTTAAA
CTTTCTAAAAAAGATGGATCAGTTGTAAAGGACAATCAAAAAGAAATTGAGATTATAACAGATGCA
AACGGTATTGCTAATATTAAAGCGTTGCCTAGTGGAGACTATATTTTAAAAGAAATAGAGGCGCCA
GCACCGTATACATTTGATAAGGATAAAGAATATCCGTTTACTATGAAAGATACAGATAATCAGGGA
TATTTTACGACTATTGAAAATGCAAAAGAGATAGAAAAACAAAAGATGTATCTGCTCAAAAAGTT
TGGGAAGGCACTCAAAAATTGAAACCAACGATTTATTTCAAGTTGTACAAACAAGATGACAATCAA
AACACAACACCAGTAGACAAAGCAGAGATAAAAAAATTAGAAGATGGAACGACAAAAGTGACATGG
TCTAATCTTCCAGAAAATGACAAAAATGGCAAGACTATTAAATATTTAGTTAAAGAAGTAAATGCT
CAAGGTGAAGATACAACACCAGAAGGATATACTAAAAAGAAAATGGTTTAGTGGTTACTAATACT
GAAAACCAATCGAAACAACATCAATTAGCGGTGAAAAGTATGGGACGACAAAGATAATCAAGAT
GGTAAGAGACCAGAAAAGTCAGTGTAAATTTATTGGCTAACGGAGAGAAAAGTAGAAACGGTAGAT
GTAACATCTGAAACAACTGGAAGTACGAATTTAAAACTTACCGAAGTATGATGAAGGAAAGAAA
ATAGAATATACAGTGACCGAAGATCACGTAAGAACTACACAACAGACATCAACGGTACGACAATA
ACGAACAAGTATACACCAGGAGAGACATCGGCAACAGTAACAAAAAATTGGGATGACAATAATAAC
CAAGACGAAAACGACCAACTGAAATTAAGTTGAGTTATATCAAGATGGAAAAGCAACAGGAAAA
ACGGCAACATTAATGAATCTAATAACTGGACCCATACGTGGGCAGGATTAGATGAAAAGCAAAA
GGTCAACAAGTAAAATACACAGTCGAGGAATTAACAAAAGTTAAAGGTTATACAACACATGTGGAT
ACAATGATATGGGTAACCTTGATTGTGACGAATAATATACGCCAGAAAACCGAATAAACCAATC
TATCCTGAAAACCAAAAGACAAAACACCACCAACTAAACCTGATCACTCTAATAAAGTTAAACCA
ACTCCCCAGATAAGCCATCAAAAAGTGGATAAGGTTGATCAACCTAAAGATAATAAAGCCAAACCT
GAAAATCCTCTAAAAGAATTACCAAAAAGTGGTATGAAGATTATACTTCATGGATTACATGGGTA
TTTATAGGTATATTGGGATTGTATTTAATTTTAAAGAAAAGATTTAATTCATAA

Primers diseñados:

FW 5' AAAGCGTTGCCTAGTGGAGA

RV 5' AGTGCCTTCCCAAACCTTTT

***Staphylococcus aureus* gen para la alfa toxina**

ATCGATTACATTTTAAATCAAACAATCATTAGTTTAAAGAAATTAATCAATAGAATTAGCTAT
GTCTTTTCCTTGTTTCATAAAGAAATTTATTCAACTTTGACTAACCCCTCGAAATTGAAATGCTTCCT
TTCAAATTTTAAATAAAAGTTAAAAACATATTCTTAAATAATCACTCATCATCACTCAGTAATTT
ATCAGTTGCTATATTAATATACTAATATAAACGATTATAAATATTTGATATGTCTCAACTGCAAA
TATTCTAAATTGACATATTGATTATTGTTTCCTCAAATCGTTCAAAAAAATAGAAGGATGATGAAA
ATGAAAACACGTATAGTCAGCTCAGTAACAACAACACTATTGCTAGGTTCCATATTGATGAATCCT
GTCGCTGGTGCCGAGATTCTGATATTAATATTAACCCTGACTACAGATATTGGAAGCAATACT
ACAGTAAAAACAGGTGATTTAGTCACCTTATGATAAAGAAAATGGCATGCACAAAAAAGTATTTTAT
AGTTTTATCGATGATAAAAATCACAATAAAAACTGCTAGTTATTAGAACGAAAGGTACCATTGCT
GGTCAATATAGAGTTTATAGCGAAGAAGGTGCTAACAAAAGTGGTTTAGCCTGGCCTTCAGCCTTT
AAGGTACAGTTGCAACTACCTGATAATGAAGTAGCTCAAATATCTGATTACTATCCAAGAAATTCG

ATTGATACAAAAGAGTATATGAGTACTTTAACTTATGGATTCAACGGTAATGTTACTGGTGATGAT
ACAGGAAAAATTGGC GGCCTTATTGGTGCAAATGT TTCGATTGGTCATACACTGAAATATGTTCAA
CCTGATTTCAAAACAATTTTAGAGAGCCCACTGATAAAAAAGTAGGCTGGAAAGTGATATTTAAC
AATATGGTGAATCAAATTTGGGGACCATATGATAGAGAT TCTTGGAAACCCGGTATATGG CAATCAA
CTTTTCATGAAAAC TAGAAATGGTTCATGAAAAGCAGCAGATAACTTCCTTGATCCTAACAAAGCA
AGTTCCTATTATCTTCAGGGTTTTACCAGACTTCGCTACAGTTATTACTATGGATAGAAAAGCA
TCCAAACAACAAAACAATATAGATGTAATATACGAACGAGTTCGTGATGATTACCAATTGCATTGG
ACTTCAACAAATTTGAAAGGTACCAATACTAAAGATAAATGGACAGATCGTTCCTCAGAAAGATAT
AAAATCGATTGGGAAAAAGAAGAAATGACAAATTAATGTAAATTTATTTGTACATGTACAAATAAAT
ATAATTTATAACTTTAGCCGATAACTTCAGAAATGATGTTTTTCGGCTAATTTTTTATACTTAATTT
AGTTTAATTAACTTATGATATTTTTAATTTAAACTATGTACTTGATTTGCTTTCCTGACTTAAAAA
TTAGAGCTAAACATGACACTATAGAGGTGTTTT

FW 5' GGCCTTATTGGTGCAAATGT

RV 5' CCATATACCGGGTTCCAAGA

**Staphylococcus aureus cepa R93 region complete del locus agr AgrB
(agrB), AgrD (agrD), AgrC (agrC), and AgrA (agrA)**

TTGAATTATTTTGATAATAAAATTGACCAGTTTGCCACGTATCTTCAAAGAGAAATAACTTAGAT
CATATTTCAATTTTTGCAAGTACGATTAGGGATGCAGGTCTTAGCTAAAAATATAGGTAAATTAATT
GTTATGTATACTATTGCCTATATTTTTAAACATTTTTCTGTTTACGTTAATTACGAATTTAACATTT
TATTTAATAAGAAGACATGCACATGGTGCACATGCACCTTCTTCTTTTTGGTGTTATGTAGAAAGT
ATTATACTATTTATACTTTTACCTTTAGTAATAGTAAATTTTCATATTAACTTTTTAATTATGATT
ATTTTAACAGTTATTTCTTTAGGTGTAATCTCAGTATATGCTCCTGCAGCAACTAAAAAGAAGCCC
ATTCCTGTGCGACTTATTAACGAAAAAATATTATGCGATTATTGTTAGTTTAACCCTTTTCATT
ATCACACTTATCATCAAAGAGCCATTTGCCCAATTCATTCAATTAGGCATCATAATAGAAGCTATT
ACATTATTACCTATTTCTTTATTAAGGAGGACTTAAAATGAAATACATTATTTAACTTATTTTTTG
ATTTTATTACTGGGATTTAAAAAACATTGGTAACATCGCAGCTTATAGTACTTGTGACTTCATAA
TGGATGAAGTTGAAGTACCAAAAGAATTAACACAATTACACGAATAATTTAAATAGAGAGTGTGAT
AGTAGTGGAAATTTAAATAGTTATAATTTTTGTTTTATTTCGTATTAACCAAATGATATTAATGT
TTACAATACCAGCTATAATTAGTGGTATTAAGTACAGTAACTTGATTATTTTTTTCATCATAGTAA
TTTCGACATTATCGTTATTTCTATTTAAAATGTTTGATAGCGGTCCTTAATCATATTAACCTCAT
TTATTATTATAATGTATTTTGTCAAATCAAATGGTATTCTATTTGTTGATTATGACTTCGCAGA
TTATTCTATACTGTGCTAACTACATGTATATAGTTATATATGCATATATCACCAAAATTTCTGATA
GTATATTTGTAATATCCCTAGCTTTTTTGTAGTTTATGTGACTATTAGTATACTATTCTCATATA
TAATAAATAGAGTTCTCAAAAAAATTAGCACACCATATCTAATACTAAACAAAGGATTTTTAATAG
TTATTTGCACTATCTTACTGCTTACTTTTTTATTATTTTTCTTTTATTACAAAATAAAGCTCGGATG
AAGCTAAAGTAATAAGGCAGTATTCTTTTATTTTTATTGGTATCACTATATTTTTAAGTATATTA
CATTGTTATTTCTCAATTTCTCCTTAAAGAGATGAAATATAAACGTAATCAAGAAGAAATTGAAA
CCTATTATGAATATACATTGAAGATTGAAGCTATCAACAACGAAATGCGCAAGTTCGGTCATGATT
ATGTCAATATCTTAAACGACACTTTCAGAATACATTCGAGAAGATGACATGCCTGGCCTACGTGATT
ATTTCAATAAAAAATATTGTACCTATGAAAGACAATTTACAAATGAATGCTATAAAATTAATGGTA

TCGAGAATCTTAAAGTACGTGAAATTAAGGCTTAATTACTGCGAAAATTTTACGTGCACAAGAAA
 TGAATATTCCGATTAGTATCGAAATACCCGATGAAGTAAGTAGCATTAACTTGAATATGATCGATT
 TAAGTCGCAGTATTGGTATTATTCTTGATAATGCAATTGAGGCATCAACTGAAATTGATGACCCTA
 TCATTGCGGTTGCATTTATTGAAAGTAAAATTCAGTAACGTTTATTGTTATGAATAAATGCGCTG
 ATGATATACCACGCATTCATGAATTGTTCCAAGAAAGTTTTTCTACTAAAGGTGAAGGTCGTGGTT
 TAGGTCTATCAACTTTAAAAGAAATTGCTGATAATGCAGACAATGTCTTATTAGATAACAATTATCG
 AAAATGGTTTCTTTATTCAAAAAGTTGAAATTATTAACAACCTAGCCATAAGGATGTGAATGTATGA
 AAATTTTCATTTGCGAAGACGATCCAAAACAAAGAGAAAACATGGTTACCATTATTA AAAAATTATA
 TAATGATAGAAGAAAAGCCTATGGAAATTGCCCTCGCAACTGATAATCCTTATGAGGTGCTTGAGC
 AAGCTAAAAATATGAATGACATAGGCTGTTACTTTTTAGATATTCAACTTCAACTGATATTAATG
 GTATCAAATTAGGCAGTGAATTCGTAAGCATGACCCAGTTGGTAACATTATTTTCGTTACGAGTC
 ACAGTGAACCTTACCTATTTAACATTTGTCTACAAAGTTGCAGCGATGGATTTTTATTTTTAAAGATG
 ATCCAGCTGAATTAAGAAGCTCGAATTATAGACTGTTTAGAAACTGCACATACACGCTTACAATTGT
 TGTCTAAAGATAATAGCGTTGAAACGATTGAATTA AACGTGGCAGTAATTCAGTGTATGTTCAAT
 ATGATGATATTATGTTTTTTGAATCATCAACAAAATCTCACAGACTCATTGCCCATTTAGATAACC
 GTCAAATTAATTTTATGGTAATTTAAAAGAACTGAGTCAATTAGATGATCGTTTCTTTAGATGTC
 ATAATAGCTTTGTCGTCAATCGCCATAATATTGAATCTATAGATTTCGAAAGAGCGAATTGTCTATT
 TTAAAAATAAAGAACACTGCTATGCATCGGTGAGAAACGTTAAAAAATATAATAAGATAA

Color	Gen que codifica	Longitud	Tamaño
Amarillo	Gen <i>agrB</i>	1-570pb	570pb
Verde	Gen <i>agrD</i>	567-707pb	141
Turquesa	Gen <i>agrC</i>	732-2024	1293
Rosa	Gen <i>agrA</i>	2043-2759	717

GEN agrB

TTGAATTATTTTGATAATAAAAATTGACCAGTTTGCCACGTATCTTCAAAGAGAAATAACTTAGAT
 CATATTCAATTTTTGCAAGTACGATTAGGGATGCAGGTCTTAGCTAAAATATAGGTAAATTAATT
 GTTATGTATACTATTGCCTATATTTTTAAACATTTTTCTGTTTACGTTAATTACGAATTTAACATTT
 TATTTAATAAGAAGACATGCACATGGTGCACATGCACCTTCTTCTTTTTGGTGTATGTAGAAAGT
 ATTATACTATTTTACTTTTACCTTTAGTAATAGTAAATTTTCATATTAACCTTTTAAATTATGATT
 ATTTTAACAGTTATTTCTTTAGGTGTAATCTCAGTATATGCTCCTGCAGCAACTAAAAGAAGCCC
 ATTCCTGTGCGACTTATTA AACGAAAAAATATTATGCGATTATTGTTAGTTTAAACCCTTTTCATT
 ATCACACTTATCATCAAAGAGCCATTTGCCCAATTCATTCAATTAGGCATCATAATAGAAGCTATT

ACATTATTACCTATTTTCTTTATTAAGGAGGACTTAAAATGA

Primers diseñados:

FW 5' AGACATGCACATGGTGCACATGC

RV 5' AGTCGCACAGGAATGGGCTTCTT

GEN agrD

GCAACTAAAAAGAAGCCCATTCCTGTGCGACTTATTAACGAAAAAATATTATGCGATTATTGTT
AGTTTAACCCTTTTCATTATCACACTTATCATCAAAGAGCCATTGCCCCAATTCATTCAATTAGGC
ATCATAATAGAAGCTATTACATTATTACCTATTTTCTTTATTAAGGAGGACTTAAAATGAATACAT
TATTTAACTTATTTTTGATTTTATTACTGGGATTTTAAA AACATTGGTAACATCGCAGCTTATA
GTACTTGTGACTTCATAATGGATGAAGTTGAAGTACCAAAAGAATTAACACAATTACACGAATAAT
TTAAATAGAGAGTGTGATAGTAGGTGGAATTATTAATAGTTATAATTTTGTTTTATTTCGTATTAA
CTCAAATGATATTAATGTTTACAATACCAGCTATAATTAGTGGTATTAAGTACAGTAACTT

Primers diseñados:

FW 5' CATTGCCCCAATTCATTCAA

RV 5' GCTGCGATGTTACCAATGTTT

GEN agrC

GTGGAATTATTAATAGTTATAATTTTGTTTTATTTCGTATTAACCTCAAATGATATTAATGTTTACA
ATACCAGCTATAATTAGTGGTATTAAGTACAGTAACTTGATTATTTTTTTCATCATAGTAATTTTCG
ACATTATCGTTATTTCTATTTAAAATGTTTGATAGCGCGTCCTTAATCATATTAACCTTCATTTATT
ATTATAATGTATTTTGTCAAAATCAAATGGTATTCATTTTGTGATTATGACTTCGCAGATTATT
CTATACTGTGCTAACTACATGTATATAGTTATATATGCATATATCACCAAAATTTCTGATAGTATA
TTTGTAATATTCCCTAGCTTTTTTGTAGTTTATGTGACTATTAGTATACTATTCTCATATATAATA
AATAGAGTTCTCAAAAAAATTAGCACACCATATCTAATACTAAACAAAGGATTTTTAATAGTTATT
TCGACTATCTTACTGCTTACTTTTTTCATTATTTTCTTTTATTACAAAATAAACTCGGATGAAGCT
AAAGTAATAAGGCAGTATTCTTTTATTTTTTATTGGTATCACTATATTTTTTAAGTATATTAACATTT
GTTATTTCTCAATTTCTCCTTAAAGAGATGAAATATAAACGTAATCAAGAAGAAATTGAAACCTAT
TATGAATATACATTGAAGATTGAAGCTATCAACAACGAAATGCGCAAGTTCCGTCATGATTATGTC
AATATCTTAACGACACTTTCAGAATACATTTCGAGAAGATGACATGCCTGGCCTACGTGATTATTT
AATAAAAATATTGTACCTATGAAAGACAATTTACAAATGAATGCTATAAAAATTAATGGTATCGAG
AATCTTAAAGTACGTGAAATTAAGGCTTAATTACTGCGAAAATTTTACGTGCACAAAGAAATGAAT

ATTCCGATTAGTATCGAAATACCCGATGAAGTAAGTAGCATTAACCTGAATATGATCGATTTAAGT
 CGCAGTATTGGTATTATTCTTGATAATGCAATTGAGGCATCAACTGAAATTGATGACCCTATCATT
 CGCGT TGCATTTATTGAAAGTGAAAATTCAGTAACGTTTATTGTTATGAATAAATGCGCTGATGAT
 ATACCACGCATTCATGAATTGTTCCAAGAAAGTTTTTCTACTAAAGGTGAAGGTCGTGGTTTAGGT
 CTATCAACTTTAAAAGAAATTGCTGATAATGCAGACAATGTCTTATTAGATAACAATTATCGAAAAT
 GGTTTCTTTATTCAAAAAGTTGAAATTATTAACAACACTAG

Primers diseñados:

FW 5' GCGAAAATTTTACGTGCACAA

RV 5' ACGCGAATGATAGGGTCATC

GEN agrA

ATGAAAATTTTCATTTGCGAAGACGATCCAAAACAAAGAGAAAACATGGTTACCATTATTTAAAAT
 TATATAATGATAGAAGAAAAGCCTATGGAAATGCCCCTCGCAACTGATAATCCTTATGAGGTGCTT
 GAGCAAGCTAAAAATATGAATGACATAGGCTGTTACTTTTTAGATATTCAACTTTCAACTGATATT
 AATGGTATCAAATTAGGCAGTGAAATTCGTAAGCATGACCCAGTTGGTAACATTATTTTCGTTACG
 AGTCACAGTGAACCTTACCTATTTAACATTTGTCTACAAAGTTGCAGCGATGGATTTTATTTTTAAA
 GATGATCCAGCTGAATTAAGAACTCGAATTATAGACTGTTTAGAACTGCACATACACGCTTACAA
 TTGTTGTCTAAAGATAATAGCGTTGAAACGATTGAATTAACGTTGGCAGTAATTCAGTGTATGTT
 CAATATGATGATATTATGTTTTTTGAATCATCAACAAAATCTCACAGACTCATTGCCCA TTTAGAT
 AACCGTCAAATTGAATTTTATGGTAATTTAAAAGAAGCTGAGTCAATTAGATGATCGTTTCTTTAGA
 TGTATAATAGCTTTGTGTCGTAATCGCCATAATATTGAATCTATAGATTCGAAAGAGCGAATTGTC
 TATTTTTAAAATAAAGAACACTGCTATGCATCGGTGAGAAACGTTAAAAAATATAA

Primers diseñados:

FW 5' AAAGTTGCAGCGATGGATTT

RV 5' TGGGCAATGAGTCTGTGAGA

Gen amplificado		Primer 5' → 3'	Producto
mecA	Fw	GGCCAATTCCACATTGTTTC	167 pb
	Rv	TTGATCGCAACGTTCAATTT	
mecR	FW	ATTTTGAATCGCCATGAACA	191pb

	RV	GCAACAATACGCTTGTTTCG	
<i>tst</i>	Fw	GTAAGCCCTTTGTTGCTTGC	215pb
	Rv	CTGATGCTGCCATCTGTGTT	
<i>hla</i>	Fw	CTGATTACTATCCAAGAAATTCGATTG	176pb
	Rv	CTTTCCAGCCTACTTTTTTATCAGT	
<i>hlb</i>	Fw	TATCCAAACTGGGGCAATA	193pb
	Rv	CAGTTTTGTCCCACCCTGAT	
<i>agr</i>	Fw	AAAGTTGCAGCGATGGATTT	221pb
	Rv	TGGGCAATGAGTCTGTGAGA	
<i>entA</i>	Fw	TTGGAAACGGTTAAAACGAA	121pb
	Rv	GAACCTTCCCATCAAAAACA	
<i>sarA</i>	Fw	GGGCAAATGTATCGAGCAAG	193pb
	Rv	TTTCTCTTTGTTTTCGCTGATG	
<i>cna</i>	Fw	AAAGCGTTGCCTAGTGGAGA	192pb
	Rv	AGTGCCTTCCCAAACCTTTT	
<i>agrB</i>	FW	AGACATGCACATGGTGCACATGC	200pb
	RV	AGTCGCACAGGAATGGGCTTCTT	
<i>agrD</i>	FW	CATTTGCCCAATTCATTCAA	153pb
	RV	GCTGCGATGTTACCAATGTTT	
<i>agrC</i>	FW	GCGAAAATTTTACGTGCACAA	167pb
	RV	ACGCGAATGATAGGGTCATC	
<i>agrA</i>	FW	AAAGTTGCAGCGATGGATTT	221pb

	RV	TGGGCAATGAGTCTGTGAGA	
--	----	----------------------	--

A9. CONCLUSIONES

En este estudio se revisaron 118 expedientes de recién nacidos hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, en los cuales se aislaron cepas de *Staphylococcus aureus* y los estafilococos coagulasa negativos. Estas cepas presentaron diversos factores de virulencia, como superantígenos, toxinas, enzimas con actividad mucolítica y resistencia a antimicrobianos, entre otros. Se sabe que este género microbiano adquiere y transfiere información genética de forma horizontal (a otros géneros bacterianos) y vertical (a su progenie). Se logró identificar y asociar los genes de virulencia y de resistencia a la evolución clínica del paciente, así también se determinó la fuerza de asociación entre la presencia de genes de virulencia y resistencia en cepas de *S. aureus* y coagulasa negativos con la gravedad de de la evolución la infección en neonatos.

A10. REFERENCIAS

1. Kloss W. Taxonomy and systematics of Staphylococci indigenous to human, En: Crossley KB, Archer GL, eds. The Staphylococci in human disease. New York: Churchill Livingstone, 1997:113-215.
2. Low DE. Clinical Microbiology: issues in identification and susceptibility testing. En Crossley KB, Archer GL, eds. The Staphylococci in human disease. New York: Churchill Livingstone, 1997:233-252.
3. Jeraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougél C, et al. *egc*, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, from a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. J Immunol 2001;166:669-667.
4. Orwin PM, Leung DY, Donahue HL, Novick RP, Schlievert PM. Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K. Infect Immun. 2001;69:360-366 .
5. Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, Takata T, et al. Identification of the *Staphylococcus aureus* enterotoxin island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. Infect Immun. 2002;10:5835-5845.
6. Low FD. *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J Med. 1998;339:520-532.
7. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Lina G, Vandenesch F, Etienne J, and Floret D. 2001. Severe staphylococcal pneumonia in children. Arch Pediatr. 8(suppl. 4):742s-746s.
8. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon N, Vandenesch F, and Etienne J. 1999. Involvement of Pantom-Valentine Leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 29:1128-1132.
9. McCormick JM, Yarwood JM, and Schlievert PM. 2001 Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. Annu Rev Microbiol. 55:77-104.
10. Novick RP. 2000. Pathogenicity factors and their regulation, p. 392-407. In Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy, and Rood JI ed. Gram-positive pathogens. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Schmidt H. and Hensel M. 2004. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis. Clin Microbiol Rev. 17(1):14-56.
12. Tallent SM, Langston TB, Moran RG, and Christie GE. 2007. Transducing Particles of *Staphylococcus aureus* Pathogenicity Island

- SaPI1 Are Comprised of Helper Phage-Encoded Proteins. *J Bacteriol.* 189;20:7520–7524.
13. Tormo MA, Ferrer MD, Maiques E, Úbeda C, Selva L, Lasa I, Calvete JJ, Novick RP, and Penadés JR. 2008. *Staphylococcus aureus* Pathogenicity Island DNA Is Packaged in Particles Composed of Phage Proteins. *J Bacteriol.* 190;7:2434–2440.
 14. Ye Feng Y, Chih-Jung C, Lin-Hui S, Songnian H, Jun Y, and Cheng-Hsun C. 2008. Evolution and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* : lessons learned from genotyping and comparative genomics. *FEMS Microbiol Rev.* 32:23-37.
 15. Pichon C. and Felden B. 2005. Small RNA genes expressed from *Staphylococcus aureus* genomic and pathogenicity islands with specific expression among pathogenic strains. *PNAS.* 102;40:14249–14254.
 16. Úbeda C, Barry P, Penadés JR, and Novick RP. 2007. A pathogenicity island replicon in *Staphylococcus aureus* replicates as an unstable plasmid. *PNAS.* 104;36:14182-14188.
 17. Tallent SM, Langston TB, Moran RG, and Christie GE. 2007. Transducing Particles of *Staphylococcus aureus* Pathogenicity Island SaPI1 Are Comprised of Helper Phage-Encoded Proteins. *J bacterial.* 189;20:7520–7524.
 18. Subedi A, Ubeda C, Adhikari RP, Penadés JR, and Novick RP. 2007. Sequence analysis reveals genetic exchanges and intraspecific spread of SaPI2, a pathogenicity island involved in menstrual toxic shock. *Microbiol.* 153:3235-3245.
 19. Shittu AO, Udo EE, and Lin J. 2007. Insights on Virulence and Antibiotic Resistance: A Review of the Accessory Genome of *Staphylococcus aureus*. *Wounds.* 19;9:237-244.
 20. Noto MJ, Kreiswirth BN, Monk AB, and Archer GL. 2008. Gene Acquisition at the Insertion Site for SCC*mec*, the Genomic Island Conferring Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 190;4:1276–1283.
 21. Jansen WTM, Beitsman MM, Koeman CJ, vanWamel WJB, Verhoef J, and Fluit AC. 2006. Novel Mobile Variants of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chomoteher.* 50;6:2072-2078.
 22. Layer F, Ghebremedhin B, König W, and König B. 2006. Heterogeneity of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Strains at a German University Hospital Implicates the Circulating-Strain Pool as a Potential Source of Emerging Methicillin-Resistant *S. aureus* Clones. *J Clin Microbiol.* 44;6:2179-2185.

23. Moore PCL, and Lindsay JA. 2002. Molecular characterization of the dominant UK methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains, EMRSA-15 and EMRSA-16. J Med Microbiol. 51:516-521.
24. Holden MTG, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NPJ, Enright MC, Foster TJ, Moore CE, Hurst L, Atkin R, Barron A. et al. 2004. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: Evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. PNAS. 101;26:9786-9791.
25. Vázquez-Meza E. 2005. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. Salud Pública de México. 47;5:381-387.
26. Ryan K., Ray G., 2007 Microbiología Médica. 4a. edición. Editorial Mc Graw Hill. 285-296
27. Bronner S., Montiel H; Prévost G. 2004. Regulation of virulence determinant in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. FEM Microbiology Reviews. 28: 183-200
28. Cheung G., Otto M. 2010. Understanding the significance of *Staphylococcus epidermidis* bacteremia in babies and children Curr Opin Infect Dis; 23:208–216
29. Mandell G., Bennett J., Dolin R., 2006 Enfermedades infecciosas: Principios y Prácticas., 6ª. Edición. Editorial Elsevier. 3: 2319-2360