



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Identificación de los distintos tipos de SCC_{mec} en
Staphylococcus aureus.

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA:

Ambriz Melchor Marcela Beatriz

Director: Dr. Eric Monroy Pérez

PROYECTO FINANCIADO POR LA
DGAPA, UNAM, PAPIIT IN218211

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA ESTADO DE MÉXICO 2013



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.

Dedicatoria y agradecimientos

Antes que nada quiero agradecer infinitamente a mis padres, porque gracias a ellos, con todo el apoyo y confianza que me brindaron he logrado terminar uno de mis tantos objetivos como es la tesis, gracias a ellos por su apoyo incondicional, por sus regaños y consejos que hicieron de mí una gran persona. Gracias a mis hermanos y familia que me aconsejaron para salir adelante y siempre estuvieron ahí. Otra personita muy especial que llegó a mi vida, pollito, que a pesar de todo siempre me ha alentado y dado ánimos para salir adelante, quien se ha desvelado conmigo, con el que he vivido los mejores momentos. Gracias a todos los profesores que día a día desde que entre a la escuela me fueron formando hasta llegar a la licenciatura, en especial gracias a la Dra. Gloria Luz Paniagua y al Dr. Eric Monroy quien me asesoro en la realización de esta tesis, a Paty y Susa agradezco su apoyo en el laboratorio.

Se las dedico a todos mis amigos de la universidad con los cuales compartí la mejor etapa de mi vida, jamás olvidare las prácticas y todo lo que aprendimos juntos, pocos amigos pero de los mejores que he tenido. Amigas las quierooo!!

Y mil gracias a todas esas personas que alentaban a echarle ganas en la escuela, la tesis y la vida, gracias a todos, lo logré!!

INDICE

Resumen.....	5
Introducción.....	6
Insuficiencia Renal Crónica.	
Contaminación bacteriana de los catéteres de hemodiálisis.	
Morfología y características generales de <i>Staphylococcus aureus</i> .	
Factores de virulencia de <i>S. aureus</i> .	
Resistencia de <i>S. aureus</i> a la meticilina (Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> : MRSA)	
<i>Staphylococcal cassette chromosome mec</i> (SCCmec)	
Antecedentes.....	17
Objetivos.....	19
Metodología y procedimiento.....	20
Selección de pacientes y toma de muestras.	
Extracción de ADN bacteriano para la identificación de <i>S. aureus</i> .	
Identificación de <i>S. aureus</i> por PCR.	
Susceptibilidad de las cepas de <i>S. aureus</i> a la meticilina	
Detección del gen que confiere resistencia a meticilina (<i>mecA</i>)	
Identificación de los diferentes tipos de SCCmec por PCR multiplex.	
Análisis de las muestras amplificadas por electroforesis en geles de agarosa.	
Resultados.....	26
Población estudiada.	
Identificación de <i>S. aureus</i> por PCR convencional.	
Origen de la Insuficiencia Renal Cronica en los Pacientes.	

Determinación de la resistencia a la meticilina y del gen *mecA* en las cepas de *S. aureus*.

Identificación de los diferentes tipos de SCC*mec* en *S. aureus*.

Discusión.....	33
Conclusiones.....	37
Bibliografía.....	38

RESUMEN.

El propósito de este estudio fue identificar en un grupo de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de catéteres y resistentes a la meticilina (MRSA), los diferentes tipos de SCC*mec*. Se analizaron los catéteres de 112 pacientes de hemodiálisis infectados, de los cuales 48 fueron mujeres y 64 hombres. La edad de los pacientes se encontró en el intervalo de 17 a 77 años. A partir de los catéteres se identificaron 55 cepas (49%) de *S. aureus*. El gen *mecA* fue detectado por PCR convencional y los diferentes tipos de SCC*mec* por PCR multiplex. El gen *mecA* que confiere resistencia a la meticilina fue identificado en el 82% (n = 45) de las cepas bacterianas. El SCC*mec* tipo I fue detectado en el 51.1% (n = 23) de las cepas, SCC*mec* tipo II en el 33.3% (n = 15) y SCC*mec* tipo IV en el 15.5% (n = 7). Los resultados mostraron la elevada resistencia de las cepas de *S. aureus* a la meticilina, la amplia distribución de los diferentes tipos de SCC*mec* y sobre todo el alto riesgo para los pacientes de adquirir infecciones más severas, como septicemia, endocarditis, artritis séptica, etc.

INTRODUCCIÓN

Insuficiencia Renal Crónica

La IRC ocurre como consecuencia de la pérdida progresiva del filtrado glomerular y de los mecanismos renales y sistémicos. Actualmente la padecen 750 de cada millón de personas (Bernardo, 2001). La IRC inicia con la disminución progresiva del volumen del filtrado glomerular debido a la pérdida irreversible de las nefronas, a lo que se agregan los trastornos tubulares, homeostáticos y finalmente la falla de las funciones renales, hasta el deterioro terminal conocido como uremia, siendo necesario el tratamiento sustitutivo, como la diálisis o el trasplante renal (Soriano, 2004).

En condiciones normales el riñón filtra diariamente 180 litros de plasma, de los cuales el 99% son reabsorbidos y regresados a la circulación, el resto se elimina en forma de orina. En la IRC el riñón es incapaz de manejar estos volúmenes, debido a la pérdida de funcionalidad de las nefronas, por lo que hay retención de líquidos y solutos con grandes repercusiones orgánicas (Bernardo, 2001).

La IRC constituye un gran problema de salud pública a nivel mundial, y cada año comienzan tratamiento con diálisis entre 80-120 pacientes por cada millón de habitantes, convirtiéndose en un problema sanitario, social y económico de primera magnitud (Bernardo, 2001). Las principales causas que condicionan la Insuficiencia Renal Crónica son la Nefropatía diabética, Glomerulopatías, Hipertensión arterial, Nefropatía gotosa, Enfermedad renal poliquística, enfermedades sistémicas e Infección crónica de vías urinarias, siendo la diabetes mellitus y la hipertensión arterial las dos causas más frecuentes que condicionan la insuficiencia renal crónica y considerando que actualmente el 30,8% de la población mayor de 20 años tiene hipertensión y alrededor del 10% tiene diabetes mellitus, hace de la IRC un gran problema de salud en México (Fundación Mexicana del Riñón, 2012).

Existen tres alternativas terapéuticas para el tratamiento de la insuficiencia renal crónica que son: la diálisis peritoneal, la hemodiálisis y el trasplante renal, siendo la última la mejor opción terapéutica (Treviño, 2004). Actualmente la alternativa terapéutica más usada en el mundo es la hemodiálisis, procedimiento de sustitución renal extracorpóreo que consiste en extraer la sangre del organismo y pasarla a través de un dializador de doble compartimiento, llamado catéter, en donde, por el primer compartimento pasa la sangre y por el otro el líquido de diálisis. Ambos compartimentos se encuentran separados por una membrana semipermeable para eliminar residuos en exceso (Daugirdas, 2003). El catéter más usado para este procedimiento es el Mahurkar, que se inserta en una vena del paciente, generalmente la subclavia, sin embargo el uso de estos dispositivos médicos puede ocasionar infecciones sistémicas, debido a la contaminación de estos dispositivos médicos por bacterias u hongos (Aguilar *et al.*, 2004). La infección relacionada a catéteres constituye una de las principales complicaciones y la principal causa de bacteriemia nosocomial, siendo *Staphylococcus aureus* la bacteria que con mayor frecuencia contamina los catéteres de pacientes sometidos a hemodiálisis (Fica, 2003).

Contaminación bacteriana de los catéteres de hemodiálisis

Ante la incapacidad de realizar trasplantes al gran número de pacientes con IRC, la opción terapéutica más adecuada es la hemodiálisis, la cual consiste en insertar un catéter tipo Mahurkar generalmente en la vena subclavia del paciente (Stolic *et al.*, 2008). El propósito de la hemodiálisis es sustituir la función filtradora y limpiadora del riñón.

La inserción de catéteres vasculares en los pacientes con IRC representa la principal alternativa de tratamiento (Tokards, 2000; Reddan, 2002) sin embargo constituye un factor de riesgo para contraer bacteriemia. (Allon, 2004). Las bacteriemias asociadas a los catéteres se deben al desarrollo de una película bacteriana en el interior de los túneles de los catéteres formada por

Staphylococcus aureus o por otras bacterias patógenas que pueden ocasionar complicaciones como shock séptico, endocarditis, osteomielitis o abscesos epidurales, que en determinados momentos resultan fatales para los pacientes (Kanafani & Fowler, 2006).

Se ha descrito que la contaminación de los catéteres por *S. aureus* en los pacientes con IRC puede deberse que del 40% al 60% de ellos, son portadores de esta bacteria en las fosas nasales, por lo que la mayoría de las infecciones es ocasionada por la misma flora de los convalecientes (Toshkova *et al.*, 2001)

Se ha reportado que en las bacteriemias relacionadas a los catéteres, se han aislado bacterias como *S. aureus* y *S. epidermidis* resistentes a la meticilina, así como *Enterococcus* spp, *E. coli*, *Enterobacter* spp. *Klebsiella* spp y *Pseudomonas* spp, entre otras (Poole *et al.*, 2004).

Morfología y características generales de *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus es una bacteria de la familia *Micrococaceae* del género *Staphylococcus*, el cual contiene más de 30 especies diferentes, muchas de las cuales son habitantes naturales de la piel y membranas mucosas del hombre. Es un coco Gram positivo, mide de 0.5 a 1 µm de diámetro, se agrupa en forma de racimos, es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. Este microorganismo produce catalasa, coagulasa, no forma esporas, no móvil y crece rápidamente en agar sangre. Sus colonias miden de 1 a 3 mm, producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y existen cepas capaces de producir hemólisis a las 24-36 horas (Bustos *et al.*, 2006). *S. aureus* puede identificarse por pruebas bioquímicas (manitol, coagulasa, catalasa, etc) o por PCR mediante la detección de los marcadores cromosómicos *femA*, *femB* y *nuc*. (Kobayashi *et al.*, 1994; Nashev *et al.*, 2004)

S. aureus posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una alta gama de enfermedades. Es un patógeno que puede ocasionar lesiones

superficiales en la piel, infecciones del sistema nervioso central, neumonía, infecciones del tracto urinario, intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos, es responsable del síndrome del shock tóxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo, septicemia, osteomielitis, endocarditis, impétigo y es la principal causa de infecciones nosocomiales (Kanafani ZA & Fowler, 2006).

Factores de virulencia de *S. aureus*

S. aureus posee diferentes factores de virulencia que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades en el humano (Tabla 1), entre las que encontramos las: a) estructurales: adhesinas denominadas MSCRAMMs (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) que median la unión al fibrinógeno, la fibronectina y el colágeno de la matriz extracelular del hospedero; b) Peptidoglucano y polisacáridos. C) Capsulares; enzimas (coagulasa, nucleasas, proteasas); D) toxinas (hemolisinas, enterotoxinas); E) enterotoxinas estafilocócicas (SE), Toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1) y Toxinas exfoliativas (ETA y ETB).

Factores de virulencia	Efecto
Hemolisinas	Lisa eritrocitos y tiene toxicidad para otras células
Estafilocinasa	Degrada coágulos de la sangre
Cápsula	Inhibe la quimiotaxis y la fagocitosis, inhibe la proliferación de las células mononucleares
Peptidoglucano	Proporciona estabilidad osmótica, estimula la producción de pirógenos endógenos, inhibe la fagocitosis
Ácido teicoico	Regula la concentración catiónica de la membrana celular.
Proteína A	Quimioatrayente, leucocitario, anticomplemento, antifagocítica, y lesiona a las plaquetas
Leucocidina	Lisa neutrófilos y macrófagos
Toxina exfoliativa A y B	Proteasas séricas que rompen los puentes intercelulares en el estrato granuloso de la epidermis causando descamación de la piel.
Enterotoxinas A-E,G-I	Superantígeno, estimula la proliferación de células T y la liberación de citocinas y mediadores inflamatorios
Toxina del síndrome del shock tóxico	Superantígeno, produce la destrucción de células endoteliales y produce fiebre, vómito, daño en órganos.
Coagulasa	Convierte el fibrinógeno en fibrina y coagula el plasma de la sangre
Catalasa	Transforma el peróxido de hidrogeno en agua.
Hialuronidasa	Hidroliza los ácidos hialurónicos degradando el tejido conectivo
Fibrinolisisina	Disuelve los coágulos de fibrina.
Lipasa	Hidroliza lípidos y ayuda a colonizar la piel
Nucleasas	Hidroliza el ADN

Tabla 1. Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus*.

Resistencia de *S. aureus* a la meticilina (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)

La aparición y propagación de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) en los últimos años se ha convertido en un grave problema de salud a nivel mundial (Enright, 2002; Ko, 2005). La resistencia de *S. aureus* a la meticilina se debe a la presencia del gen *mecA*, que codifica para las PBP2a con un tamaño de 78 kDa. Como los antibióticos β -lactámicos no pueden unirse a la PBP2a, la síntesis de la capa de peptidoglicano y de la pared celular continúan y la bacteria no muere. El gen *mecA* está regulado por el represor MecI, y por el transductor de señal transmembranal que censa β -lactámicos *mecR1*. En ausencia de un antibiótico β -lactámico, la proteína represora MecI reprime la transcripción de *mecA* y de *mecRI-mecI*. En presencia de un β -lactámico, MecRI se rompe autocatalíticamente y esto activa a un dominio de metaloproteasa localizado en la parte citoplásmica de MecRI. La metaloproteasa degrada al represor MecI, que se encuentra unido al operador de *mecA*, lo que permite la transcripción de *mecA* y la producción subsecuente de PBP2a (Sharma *et al.*, 1998).

Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*)

El gen *mecA* (2.1 kb) está localizado en un elemento genético móvil llamado el Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*; Ito *et al.*, 2003). Actualmente se han clasificado 11 tipos diferentes de SCC*mec* (International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements, 2011), dentro de los cuales los SCC*mec* tipo I (34.3 kb), IV (20.9-24.3 kb) y V (28 kb) codifican exclusivamente para resistencia a β -lactámicos. En contraste los SCC*mec* tipo II (53 kb) y III (66.9 kb) codifican para resistencia múltiple a antibióticos, debido a que poseen genes de resistencia adicionales integrados en plásmidos (pUB110, pl258 y pT181) y en transposones (Tn554) (Figura 1). El plásmido pUB110 contiene el gen *ant* (4') responsable para la resistencia a kanamicina, tobramicina y bleomicina, y el pl258 codifica para la resistencia a penicilinas y metales pesados. El plásmido pT181 codifica para la

resistencia a tetraciclina, mientras que el transposón Tn554 acarrea el gen *ermA*, que induce la resistencia a macrólidos, lincosamida y estreptogramina (Ito *et al.*, 2003; Leclercq, 2002). SCC*mec* también contiene secuencias de inserción como IS431, así como genes responsables de la regulación de la transcripción de *mecA* como Δ *mecRI* (en SCC*mec* tipos I, IV y V) o *mecRI* y *mecl* (en SCC*mec* tipos II y III) (Figura 1) (Ito *et al.*, 2003; Ito *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2002). Estos genes están situados dentro de cinco clases de complejos *mec* (A-E) (Tabla 2) (Katayama *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2003; Ito *et al.*, 2001).

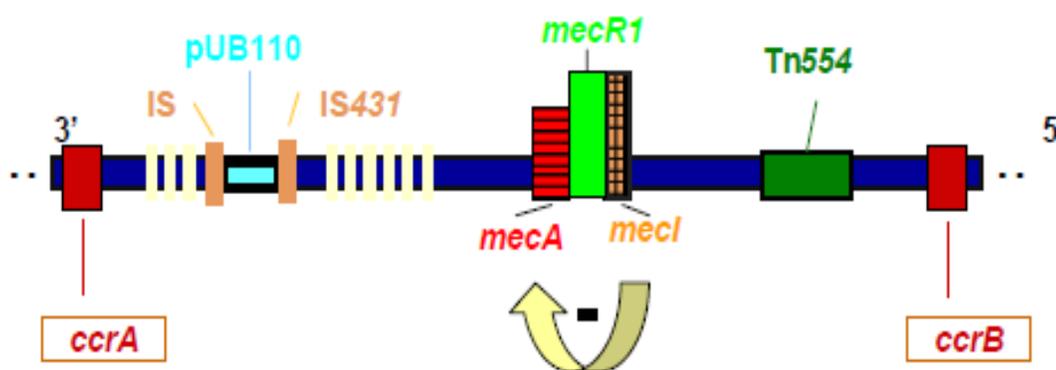


Figura1. Representación de un fragmento del DNA cromosómico de MRSA con los siguientes elementos: región reguladora del gen *mecA* compuesta por los genes *mecl* y *mcR1*, plásmido (pUB110), secuencia de inserción (IS431), transposón (Tn554) y genes cromosómicos de las recombinasas A y B (*ccrA*, *ccrB*).

Clase	Estructura	SCC <i>mec</i>	Especies
A	<i>mecl</i> – <i>mecRI</i> – <i>mecA</i> –IS431	II, III	<i>S. aureus</i>
B	IS1272– Δ <i>mecRI</i> – <i>mecA</i> –IS431	I, IV	<i>S. aureus</i>
C	IS431– Δ <i>mecRI</i> – <i>mecA</i> –IS431	V	<i>S. aureus</i>
D	Δ <i>mecRI</i> – <i>mecA</i> –IS431	-	<i>Staphylococcus caprae</i>
E	Δ <i>mecRI</i> – <i>mecA</i> –IS431 ^a	-	<i>S. aureus</i>

Tabla 2. Diferentes clases del complejos *mec* (Tomada de Deurenberg *et al.*, 2007)

^a Delección de 976 pb en *mecRI* comparado con el complejo *mec* de clase D.

Para la integración interna y la excisión en un sitio específico del cromosoma (*attB_{scc}*; ubicada en la región terminal 3', de un fragmento de lectura abierta, de función desconocida, *orfX*) (Ito *et al.*, 1999), existen genes que codifican para recombinasas de cromosoma cassette (*ccr*), localizados entre los elementos *SCCmec*. Estos genes son designados *ccrA1* y *ccrB1* (en *SCCmec* tipo I), *ccrA2* y *ccrB2* (en *SCCmec* tipos II y IV), *ccrA3* y *ccrB3* (en *SCCmec* tipo III), *ccrA4* y *ccrB4* (en *SCCmec* tipo IV de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), cepa HDE288) y *ccrC* (en *SCCmec* tipo V).

Las regiones que poseen *mec* y los complejos *ccr* son designados regiones J (junkyard) (Katayama *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2004; Daum *et al.*, 2002; Hiramatsu *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2001). Todos los elementos *SCCmec* son divididos dentro de tres regiones.

La región J1 se extiende de la unión derecha del cromosoma a los genes *ccr*, mientras la región J2 se extiende de los genes *ccr* al complejo *mec*. La región J3 está localizada entre el complejo *mec* y la extremidad izquierda de *SCCmec* (Shore *et al.*, 2005; Chongtrakool *et al.*, 2006).

Además de los cinco principales tipos de *SCCmec*, varias variantes de *SCCmec* han sido descritas (IA, IIA, IIB, IIC, IID, IIE, IIb, IIIA, IIIB, IVa/IVb, IVc, IVd, IVA, IVE, IVF, IVg, Vt) (Oliveira *et al.*, 2001; Shore *et al.*, 2005; Hisata *et al.*, 2005; Ma *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2002; Boyle-Vavra *et al.*, 2005; Kwon *et al.*, 2005).

A continuación se describen los diferentes tipos de *SCCmec* (Ito *et al.*, 2001) (Figura 2):

A) El *SCCmec* Tipo I tiene un tamaño de 34.3 Kb, está formado por el complejo de genes *ccr* tipo 1 y el complejo *mec* clase B.

B) *SCCmec* Tipo II posee un tamaño de 53 Kb, comprende el complejo de recombinasas tipo 2 (*ccr*), el complejo *mec* clase A, la inserción *IS431*, el plásmido pUB110 y el transposón Tn554.

c) El SCC*mec* Tipo III mide 66.9 Kb, comprende el complejo de recombinasas tipo 3, el complejo *mec* clase A, Tn554, pT181 y la secuencia de inserción. También contiene una copia cortada de genes *ccr* situada entre dos elementos IS431, esto sugiere la posibilidad de que el tipo III SCC*mec* pueda derivar de la fusión de dos elementos SCC

d) SCC*mec* Tipo IV tiene un tamaño de 20.9-24.3 KB, contiene el complejo de genes *ccr* tipo 2, el complejo *mec* clase B y la inserción *IS1272*. Es el elemento más pequeño, lo que le confiere mayor movilidad genética (Ma, 2002).

e) El SCC*mec* V también llamado "New Type", tiene un tamaño de 28 Kb y el complejo *ccrC*.

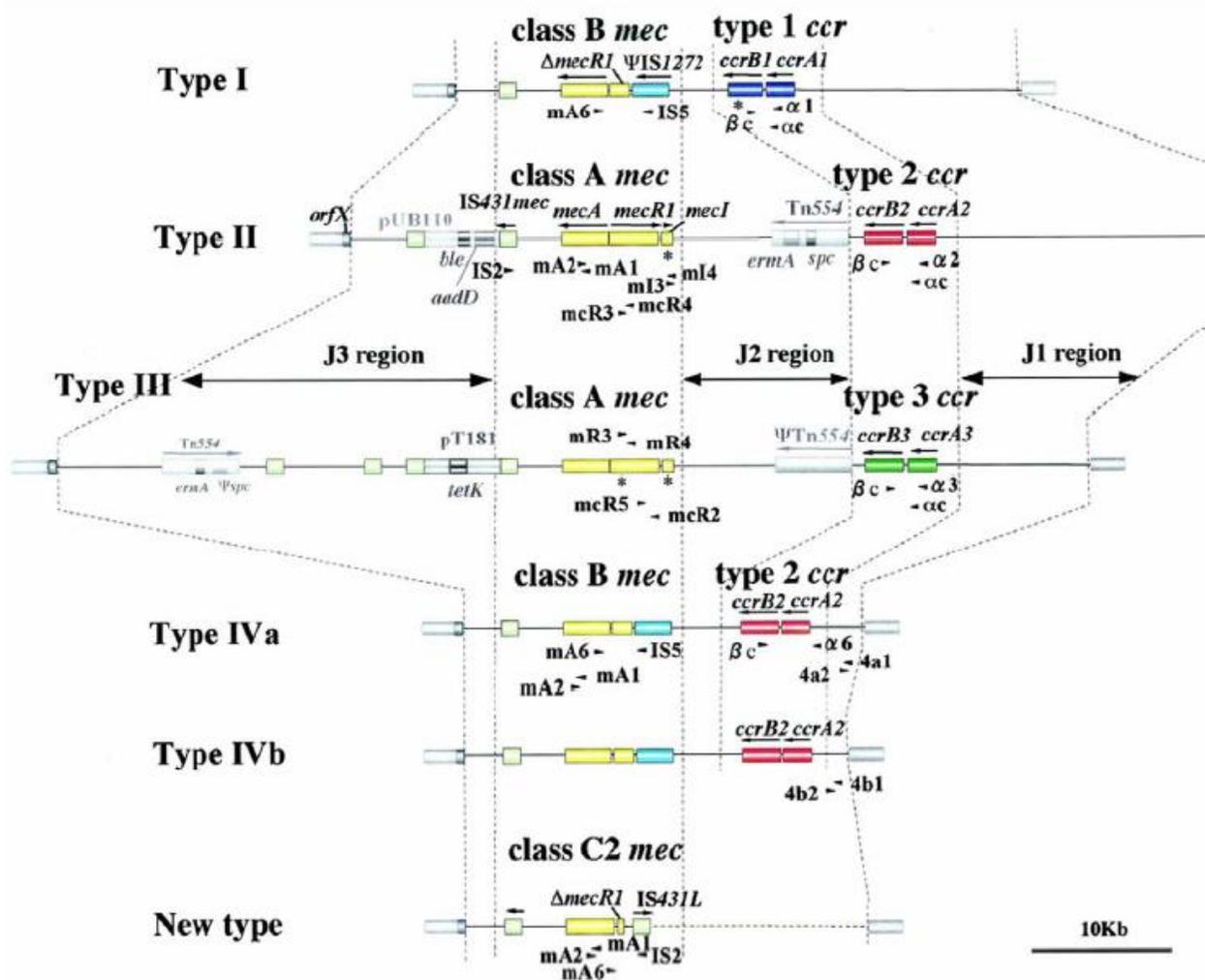


Figura 2. Representación de los diferentes tipos de SCC*mec*. Los distintos tipos de SCC*mec* se diferencian por las características del complejo *ccr* y del complejo *mec*. El SCC*mec* tipo I está formado por la asociación del *ccr* tipo 1 con el complejo *mec* clase B (*mecI-mecR1-mecA*); tipo III: *ccr* tipo 3 y complejo *mec* clase A; tipo IV: *ccr* tipo 2 y complejo *mec* clase B (Ito, 2004)

Desde la introducción de la metililina para uso clínico en 1959, la ocurrencia de cepas clínicas de de MRSA se ha incrementado de manera constante y las infecciones nosocomiales se han convertido en un serio problema de salud mundial (Barber 1961; Panlilio *et al*; 1992; Voss *et al*; 1994).

El Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales de EUA determinó que en pacientes hospitalizados, la prevalencia de cepas MRSA se incrementó del 4% en 1980 al 31.9% en 1996. En el 2001 se tenía un 55% de prevalencia y para el 2004 llegó al 60.7%. En algunos hospitales se han reportado incidencias hasta el 80% (National Nosocomial Infectious Surveillance Sistem (NNIS) 2004).

ANTECEDENTES

Debido al incremento de las infecciones ocasionadas por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina en México y en el mundo, en los últimos años se han realizado estudios para establecer la frecuencia de los diferentes tipos de SCC*mec*, así como también la de los determinantes de virulencia en esta bacteria.

- Stewart en 1963 describió el primer brote epidémico de infección nosocomial en el reino unido.
- Enright y cols. en el 2002 y Ko y cols. en el 2005 trabajaron con cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, llegando a la conclusión de que estos microorganismos son un grave problema de salud a nivel mundial.
- Jefferys y cols. en el 2003 describieron que cepas MRSA, MRSE, *Enterococcus spp*, *E. coli*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas spp*, entre otras, se encontraron asociadas a infecciones en catéteres.
- Katayama y cols. en el 2003 realizaron un estudio sobre la organización cromosomal alrededor del gen *mecA* en cepas de *S. aureus*.
- Ito y cols. en el 2004 estudiaron a nivel molecular el SCC*mec* Tipo IV.
- En el 2004 Beenken y cols. estudiaron la expresión de los genotipos de virulencia involucrados en el bofilm en cepas de *S. aureus*.
- Parameswaran y cols. en el 2010 realizaron un estudio sobre infecciones asociadas a catéteres intravasculares, y reportaron que *S. aureus* fue la bacteria responsable de la mayoría de las infecciones.

- Hanssen y cols. en el 2004 analizaron las variantes locales del SCC*mec* en cepas MRSA y en cepas Meticilina resistentes coagulasa negativas, además de la transferencia horizontal.
- Wannet y cols. en el 2004 estudiaron la diseminación de una clona de *S. aureus* resistente a la meticilina con bajos niveles de resistencia a la oxacilina.
- van Duikeren y cols. en el 2004 analizaron la transmisión de MRSA de humanos a perros
- Corkill y cols. en el 2004 realizaron la delección del SCC en una cepa meticilina susceptible (*mecA* negativa)
- Francois y cols. en el 2007 compararon tres ensayos para la identificación rápida de 93 cepas clínicas de *S. aureus* resistentes a la meticilina donde la detección de gen *mecA* resulto ser la mejor opción en la detección de cepas resistentes a la meticilina.
- Deurenberg y cols. en el 2007 realizaron estudios sobre los tipos de SCC*mec*. identificaron 5 tipos, de los cuales el tipo I, IV y V codifican exclusivamente para resistencia a β - lactámicos y los tipo II y III confieren resistencia a mas antibióticos.
- Ibrahim y cols. en el 2009 compararon la estructura de SCC*mec* en cepas de *S. epidermidis* (MRSE) y en cepas de *S. aureus* (MRSA) aisladas de las fosas nasales de la misma persona, bajo la sospecha de la transferencia horizontal de SCC*mec in vivo*.
- Larsen y cols. en el 2009 describieron la aparición y caracterización de infecciones por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina asociadas a la comunidad (MRSA-CA).

OBJETIVO GENERAL

- Identificar los diferentes tipos de *SCCmec* en un grupo de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), recuperadas de los catéteres de pacientes de hemodiálisis.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer la frecuencia de infecciones asociadas a los catéteres en pacientes de hemodiálisis.
- Detectar por PCR el gen *mecA* que confiere la resistencia a meticilina
- Establecer la frecuencia de los diferentes tipos de *SCCmec* en las cepas analizadas.

METODOLOGÍA

Selección de pacientes y toma de muestras.

Se seleccionó un grupo de pacientes con infección en el sitio de inserción del catéter tipo Mahurkar durante su asistencia al servicio de hemodiálisis de las siguientes instituciones: Hospital General Regional 72 del Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad Médica de Atención Ambulatoria (UMAA) N° 199, Hospital General Regional N° 196 Aragón y del Instituto de Seguridad Social del Estado de México y Municipios (ISSEMyM) (Satélite), ubicados en el municipio de Tlalnepantla, Edo. de México. El tamaño de muestra se eligió de acuerdo a lo establecido por el teorema central del límite (Scheaffer *et al.*, 1987). Los signos de infección se caracterizaron como; eritema, inflamación, dolor y supuración de color amarillo-verdoso, en algunos casos. Las cepas pertenecientes al género *Staphylococcus* se identificaron por morfología colonial y microscópica utilizando la tinción de Gram, y por pruebas bioquímicas.

Después de obtener el consentimiento informado de cada paciente, la toma del inóculo se realizó de la parte exterior terminal del catéter mediante hisopos estériles. Las muestras se depositaron en el medio de transporte Stuart y se trasladaron al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FESI), UNAM. Posteriormente las muestras se inocularon en el medio líquido de Infusión-Cerebro-Corazón (BHI) (Bioxon, México) y se incubaron a 37°C por 24 h. Al término, el crecimiento bacteriano se cultivó en placas de agar nutritivo (Bioxon, México) suplementadas con 5% de sangre de carnero y en agar S110 (Bioxon, México) las cuales se incubaron a 37°C por 24 h.

Extracción de ADN bacteriano para la identificación de *S. aureus*

La extracción del ADN se realizó por el método de ebullición. Para lo cual cada una de las cepas del género *Staphylococcus* fueron crecidas en agar S-110 a 37° C por 24 horas. Al término y por medio de asas estériles se tomaron varias colonias del crecimiento y se depositaron en tubos de rosca de 16 x 150 ml, que contenían 1 ml de agua desionizada estéril. Posteriormente los tubos fueron llevados a ebullición por 20 minutos, e incubados a 0° C durante 10 minutos. Al término los tubos se centrifugaron a 13 000 rpm/ 10 minutos. El sobrenadante fue transferido a otro tubo y guardado a -20°C hasta su utilización para PCR.

Identificación de *Staphylococcus aureus* por PCR.

Las cepas de *S. aureus* se identificaron por PCR de punto final mediante la detección de los marcadores cromosómicos *femA*, *femB* (Kobayashi *et al.*, 1994) y *nuc* (Nashev *et al.*, 2004) (Tabla 3). Para la amplificación por PCR de cada gen por separado se utilizaron las perlas PuRetaq™ Ready-To-Go™ PCR (GE Healthcare), que contenían 1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs, para un volumen final de 25 µl por mezcla de reacción; 1 µl de cada oligonucleótido (Integrated DNA Technologies) a las concentraciones de 180 pmol para *femA* y *femB*, y de 10 pmol para *nuc*, 20 µl de agua estéril libre de nucleasas y 3 µl (100 ng) de ADN molde. La amplificación del ADN se realizó en un Termociclador modelo CGI-96, bajo las siguientes condiciones para *femA* y *femB*: desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos, 25 ciclos (desnaturalización a 94°C por 1 minuto, alineación a 57°C por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto). Finalmente la extensión se prolongó por 10 minutos a 72°C. Para *nuc* las condiciones fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos, 37 ciclos (desnaturalización a 94°C por 1 minuto, alineación a 55°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos). Finalmente la extensión final fue de 10 minutos a 72°C. Como control positivo se utilizó la cepa de *S. aureus* ATCC 33592 y como control negativo la cepa de *S. epidermidis* ATCC 35984.

Nombre del primer	Secuencia 5´-3´	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
FemAF	AGACAAATAGGAGTAATGAT.	509	Kobayashi <i>et al.</i> , 1994
FemAR	AAATCTAACACTGAGTGATA.		
FemBF	TTACAGAGTTAACTGTTACC.		
FemBR	ATACAAATCCAGCACGCTCT.		
NucF	GCGATTGATGGTGATACGGTT.	279	Nashev <i>et al.</i> , 2004
NucR	ACGCAAGCCTTGACGAAC TAAAGC.		

Tabla 3. Oligonucleótidos utilizados en la identificación de *S. aureus*.

Susceptibilidad de las cepas de *S. aureus* a la meticilina

Una vez identificadas las cepas de *S. aureus* se determinó la susceptibilidad a la meticilina con discos impregnados con 1 microgramo de oxacilina (NCCLS, 2003).

Detección del gen que confiere resistencia a meticilina (*mecA*)

Para detectar *mecA* por PCR se utilizaron las perlas PuReTaq™ Ready-To-Go™ PCR (GE Healthcare) (1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs), en un volumen final de 25 µl por mezcla de reacción; 1 µl de cada oligonucleótido (Integrated DNA Technologies; Tabla 4) a la concentración de 5 pmol (Geha *et al.*, 1994), 20 µl de agua estéril libre de nucleasas y 3 µl (100 ng) de ADN. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 10 ciclos (desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineación a 66°C por 45 segundos y extensión a 72°C por 60 segundos). Posteriormente 5 ciclos (desnaturalización a 94°C por 45 segundos, alineación a 64°C por 45 segundos y extensión a 72°C por 60 segundos) y 25 ciclos (desnaturalización a 94°C, 45 segundos, alineación a 50°C, 45 segundos y extensión a 72°C, 60 segundos). Finalmente la extensión se prolongó por 10 minutos a 72°C.

Nombre del oligonucleótido	Secuencia 5´- 3´	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
MecAF 5 MecAR 5	GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	310	Geha <i>et al.</i> , 1994

Tabla 4. Oligonucleótidos utilizados para amplificar el marcador *mecA*.

Identificación de los diferentes tipos de SCCmec por PCR multiplex.

Para detectar los diferentes tipos de SCCmec por PCR se utilizaron las perlas PuRetaq™ Ready-To-Go™ PCR (GE Healthcare) (1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs), en un volumen final de 25 µl por mezcla de reacción; 1 microlitro de cada oligonucleótido (Tabla 5), 2 microlitros de agua esteril, y 3 µl de ADN. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 94 ° C durante 4 minutos, 30 ciclos de 94 ° C durante 30 segundos, 53 ° C durante 30 segundos, y 72 ° C durante 1 minuto, y una extensión final a 72 ° C durante 4 minutos.

Primer	Secuencia 5'-3'	Tipo de SCCmec	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
CIF2 F2 CIF2 R2	TTCGAGTTGCTGATGAAGAAGG ATTTACCACAAGGACTACCAGC	I, J1 region	495	Oliveira <i>et al.</i> , 2006
ccrC F2 ccrC R2	GTAATCGTTACAATGTTTGG ATAATGGCTTCATGCTTACC	V, ccr complex	449	Milheirico <i>et al.</i> , 2007
RIF5 F10 RIF5 R13	TTCTTAAGTACACGCTGAATCG ATTGGAGATGAATTACACAAGGG	III, J3 region	414	Oliveira <i>et al.</i> , 2006
SCCmec V J1 F SCCmec V J1 R	TTCTCCATTCTTGTTTCATCC AGAGACTACTGACTTAAGTGG	V, J1 region	377	Milheirico <i>et al.</i> , 2007
dcs F2 dcs R1	CATCCTATGATAGCTTGGTC CTAAATCATAGCCATGACCG	I, II, IV y VI, J3 region	342	Oliveira <i>et al.</i> , 2006
ccrB2 F2 ccrB2 R2	AGTTTCTCAGAATTCGAACG CCGATATAGAAGGGTTAGC	II y IV, ccr complex	311	Milheirico <i>et al.</i> , 2007
Kdp F1 Kdp R1	AATCATCTGCCATTGGTGATGC CGAATGAAGTGAAAGAAAGTGG	II, J1 region	284	Oliveira <i>et al.</i> ,; 2006
SCCmec III J1 F SCCmec III J1 R	CATTTGTGAAACACAGTACG GTTATTGAGACTCCTAAAGC	III, J1 region	243	Milheirico <i>et al.</i> , 2007
mecl P2 mecl P3	ATCAAGACTTGCATTCAGGC GCGGTTTCAATTCATTGT	II y III, mec complex	209	Oliveira <i>et al.</i> , 2006
mecA P4 mecA P7	TCCAGATTACAACCTTCACCAGG CCACTTCATATCTTGTAACG	Control positive interno	162	Oliveira <i>et al.</i> , 2006

Tabla 5. Oligonucleótidos utilizados para la detección de SCCmec.

Análisis de las muestras amplificadas por electroforesis en geles de agarosa.

Después de la amplificación de ADN, 10 μ l de cada muestra fue analizada por electroforesis en geles de agarosa al 2% bajo las siguientes condiciones: 120 volts, 94 miliampers por 120 minutos. Los geles fueron tenidos con BrEt y fotografiados bajo luz UV utilizando el sistema de fotodocumentacion modelo GEL LOGIC 100 (KODAK).

RESULTADOS

Población estudiada

Se analizaron microbiológicamente los catéteres de 112 pacientes infectados durante su asistencia al servicio de hemodiálisis de Hospitales públicos ubicados en el Estado de México, México. Los signos de infección se caracterizaron como; eritema, inflamación, dolor y supuración de color amarillo-verdoso, en algunos casos. El 43% fueron mujeres (n = 48) y el 57% hombres (n = 64) (Figura 3). La edad de los pacientes se encontró en el intervalo de 17-77 años. El 56% (n = 61) de los pacientes presentó menos de 50 años de edad.

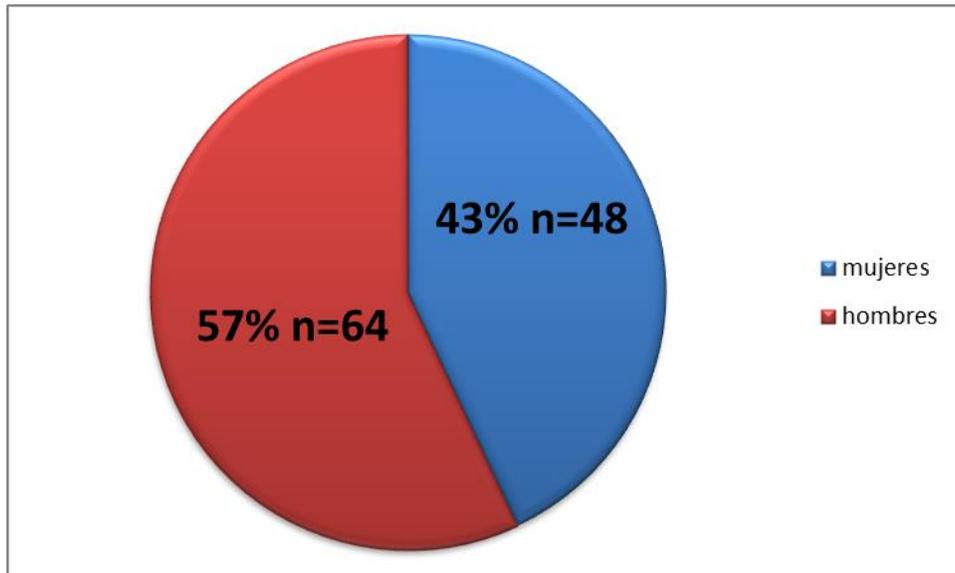


Figura 3. Distribución de pacientes analizados por sexo.

Identificación de *S. aureus* por PCR convencional.

Staphylococcus aureus fue identificado por PCR en el 50.5% (n=55) de los cultivos obtenidos de los catéteres mediante la detección de los marcadores genéticos *femA*, *femB* y *nuc*. El 49.5% (n=54) restante correspondió a *Staphylococcus epidermidis* (Figura 4).

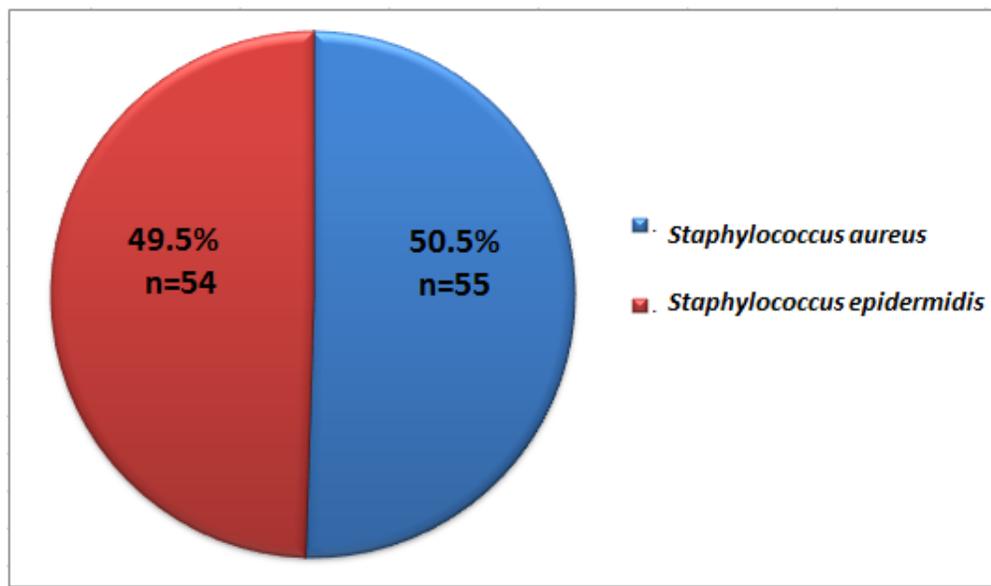


Figura 4. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* identificados en los catéteres de pacientes de hemodiálisis.

Origen de la Insuficiencia Renal Cronica en los Pacientes.

Las causas del origen de la insuficiencia renal cronica en los pacientes fue de 39.4% para Diabetes Mellitus, seguido de enfermedad no determinada con el 29.3%,glomerulonefritis con el 13.7% e hipertension arterial con el 10%. Las menos frecuentes fueron hipertiroidismo, hiperuricemia, malformacion congenita, nefritis lupica, poliquistosis renal, preclampsia y riñones poliquisticos con el 7.3% (Figura 5).

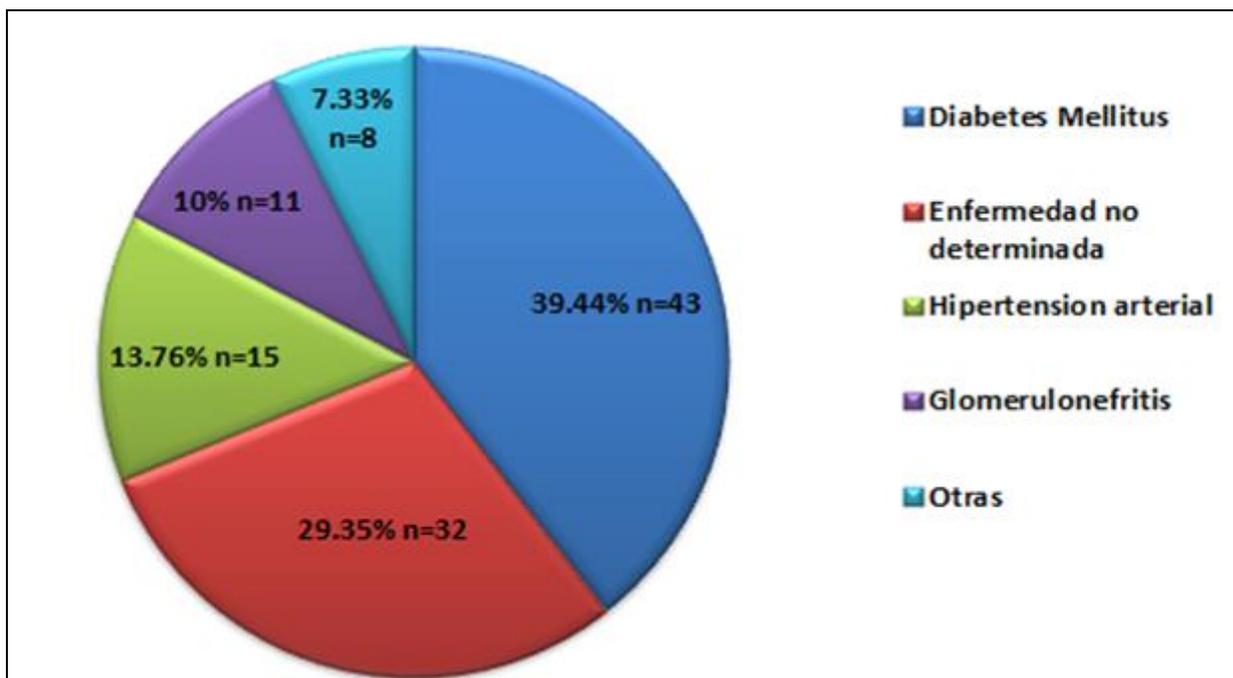


Figura 5. Porcentaje del origen de la IRC en pacientes

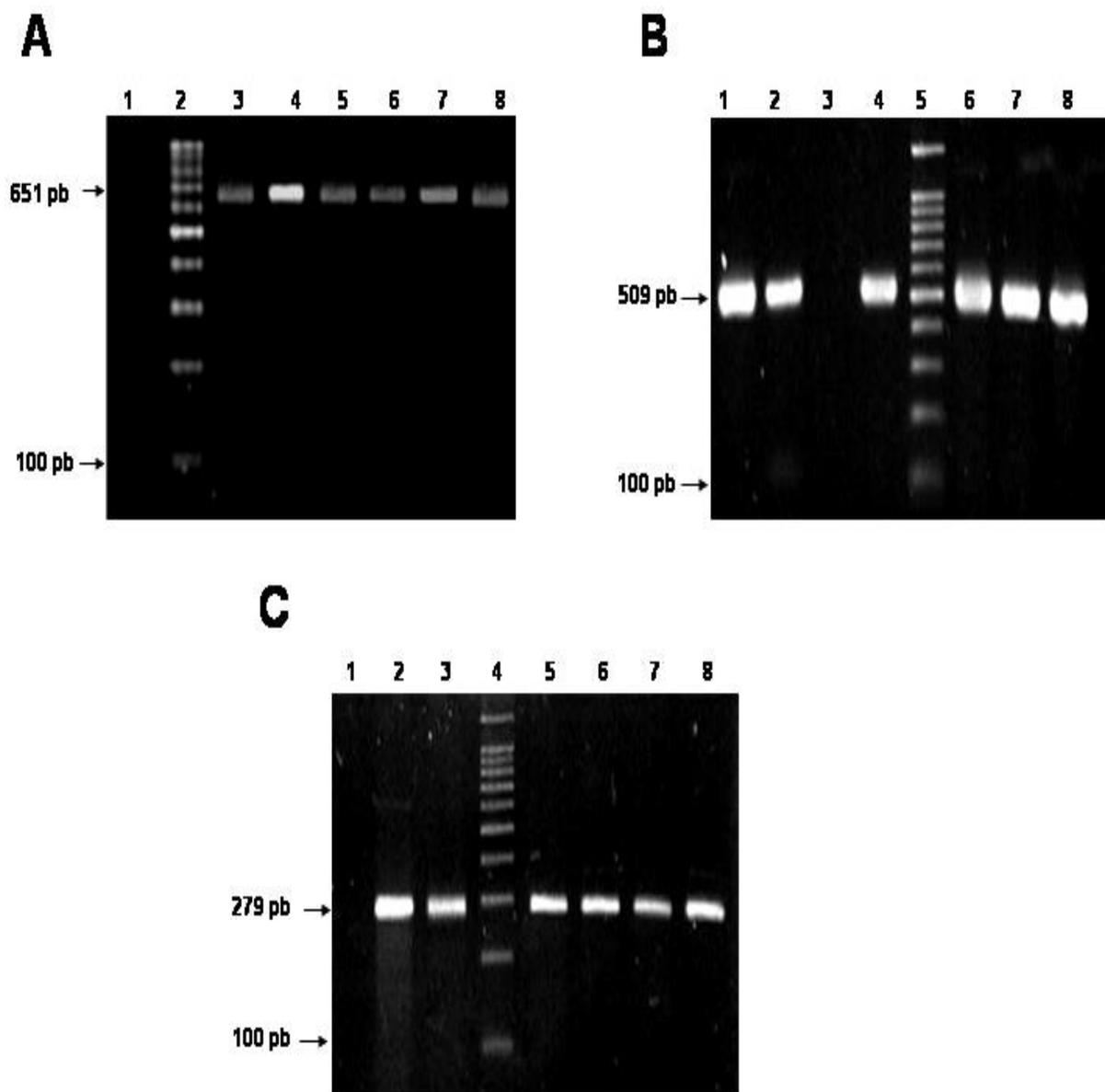


Figura 6. Identificación de *S. aureus* por PCR de punto final mediante la amplificación de los marcadores cromosómicos *femA*, *femB* y *nuc*. A (*femA*): Carril 1, control negativo *S. epidermidis* ATCC 35984; Carril 2, MPM 100 bp-ladder (Promega); Carril 3, control positivo *S. aureus* ATCC 33592; Carriles 4-8, cepas de *S. aureus* aisladas de catéteres (amplicón de 651 pb). B (*femB*): Carril 2, control positivo *S. aureus* ATCC 33592; Carril 3, control negativo *S. epidermidis* ATCC 35984; Carril 5, MPM 100 bp-ladder; Carriles 1,4, 6-8 cepas de *S. aureus* aisladas de catéteres (amplicón de 509 pb). C (*nuc*): Carril 1, Control negativo *S. epidermidis* ATCC 35984; Carril 2, control positivo *S. aureus* ATCC 33592; Carril 4, MPM 100 bp-ladder; Carriles 3,5-8, cepas de *S.aureus* aisladas de catéteres (amplicón de 279 pb).

Determinación de la resistencia a la meticilina y del gen *mecA* en las cepas de *S. aureus*.

El 81.8% (n=45) de las cepas fue resistente a la meticilina, y el mismo porcentaje fue *mecA*+ (MRSA) (Figura 7)

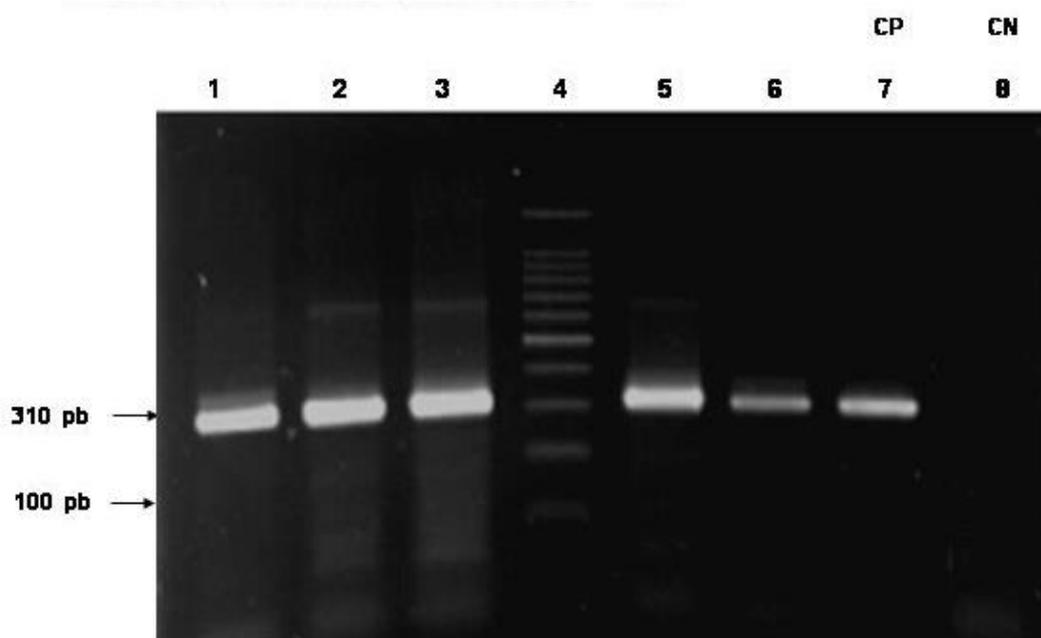


Figura 7. Identificación por PCR *mecA* en las cepas de *S. aureus* aisladas de los catéteres. Carriles 1-3 y 5-6; (amplicón de 310 pb) en las cepas de *S. aureus*; Carril 4, MPM 100 bp-ladder; Carril 7, control positivo *S. aureus* ATCC 33592; Carril 8, control negativo sin ADN molde.

Identificación de los diferentes tipos de SCCmec en las cepas de *S. aureus* por PCR multiplex

En la tabla 6 se observan los diferentes tipos de SCCmec identificados en las cepas de *S. aureus mecA+*. El SCCmec tipo I fue detectado en el 51.1% (n=23) de las cepas estudiadas (figura 9), seguido de SCCmec tipo II con el 33.3% (n=15) (Figura 10) y SCCmec tipo IV con el 15.5% (n=7) (figura 11).

Tipo SCCmec	No. de cepas	Porcentaje
SCCmec tipo I	23	51.1
SCCmec tipo II	15	33.3
SCCmec tipo IV	7	15.5
Total	45	100

Tabla 6. Porcentaje de los diferentes Tipos de SCCmec en las cepas de *S. aureus*.

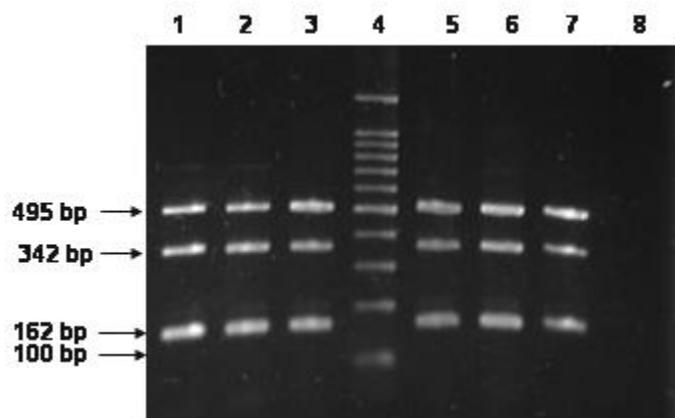


Figura 8. Identificación por PCR de SCCmec Tipo I: Líneas 1-3 y 5-6, SCCmec Tipo I en cepas de *Staphylococcus aureus* de catéteres (162, 342 y 495 pb los amplicones); Línea 4, MWM 100 bp-ladder; Línea 7, cepa de referencia Sa19; Línea 8, Control negativo sin ADN molde.

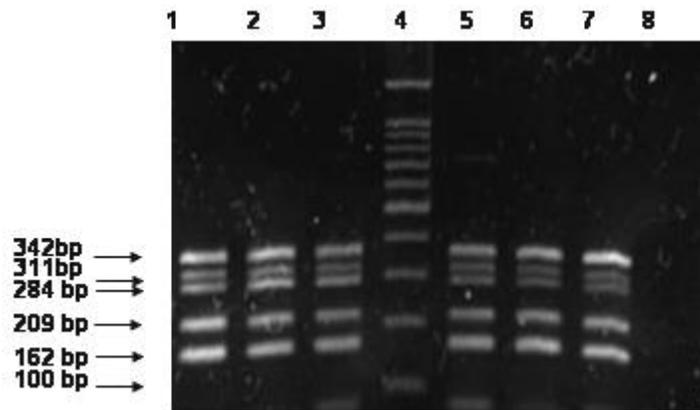


Figura 9. Identificación por PCR de SCCmec Tipo II: Líneas 1-3 y 5-6 SCCmec Tipo II en cepas de *Staphylococcus aureus* de catéteres (162, 209, 284, 311 y 342 pb los amplicones); Línea 4, MWM 100 bp-ladder. Línea 7, cepa de referencia Sa32; Línea 8, Control negativo sin ADN molde.

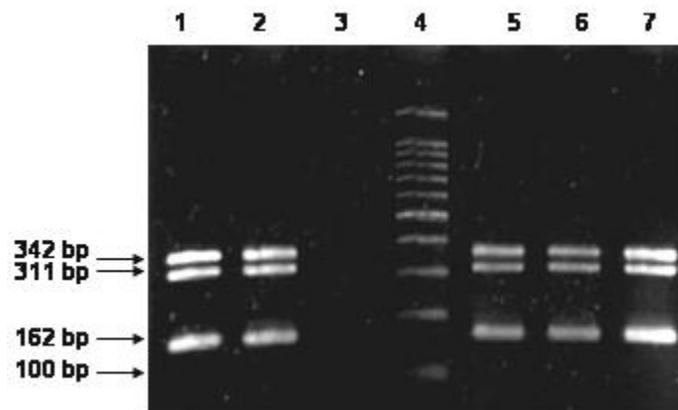


Figura 10. Identificación por PCR SCCmec Tipo IV: Líneas 1, 5-7, SCCmec Tipo IV en cepas de *Staphylococcus aureus* de catéteres (162, 311 y 342 pb los amplicones); Línea 2, cepas de referencia Sa58; Línea 3, Control negativo sin ADN molde; Línea 4, MWM 100 bp-ladder.

DISCUSIÓN

Pacientes analizados

El propósito del presente trabajo fue Identificar los diferentes tipos de SCCmec en un grupo de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), las cuales fueron recuperadas de los catéteres de 112 pacientes con Insuficiencia Renal Crónica en tratamiento de hemodiálisis, de los cuales 43% (n=43) fueron mujeres y 57% (n=64) hombres (figura 3), estos con un intervalo de edad de 17 a 77 años. En México la IRC constituye un problema de salud frecuente en la población, que genera un alto costo social y económico, en la actualidad existen más de 100 mil personas que padecen insuficiencia renal crónica y es una de las principales causas de atención hospitalaria (Bernardo, 2001). El origen de la insuficiencia renal en el 39.4% de los pacientes estudiados fue la Diabetes Mellitus, seguido de enfermedades no determinadas con el 29.3%, glomerulonefritis con el 13.7% e hipertension arterial con el 10.0% (Figura 5). Estos datos coinciden con los reportados por Soriano (2004), quien ha descrito que existen diversos factores de riesgo para desarrollar IRC, entre los cuales se encuentra la edad, la hipertension arterial y la Diabetes Mellitus como algunas de las causas principales.

Contaminación de los catéteres por *Staphylococcus aureus*

Dentro de las enfermedades que afectan al ser humano se encuentran las de las vías respiratorias superiores que pueden ser causadas por *Staphylococcus aureus*.

La infección relacionada a catéteres constituye una de las principales complicaciones y la principal causa de bacteriemia nosocomial, siendo *Staphylococcus aureus* la bacteria que con mayor frecuencia contamina los catéteres de pacientes sometidos a hemodiálisis (Fica, 2003). En este estudio *S. aureus* se identificó por PCR en el 50.5% de los cultivos obtenidos de los catéteres mediante la detección de los marcadores genéticos *femA*, *femB* y *nuc*, el otro 49.5% correspondió a *S. epidermidis* (Figura 4) estos resultados concuerdan con

los estudios realizados por Parameswaran *et al* en el 2010 quienes describieron que *S. aureus* fue la bacteria aislada con mayor frecuencia en infecciones asociadas a los catéteres, seguida por *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* y *Candida* spp. El alto porcentaje de contaminación por *Staphylococcus aureus* se puede explicar debido a que esta bacteria pertenece a la flora normal de la piel y las membranas mucosas de la nariz (portadores asintomáticos), en cuyo caso la contaminación de los catéteres pudo haber venido de la misma flora de los convalecientes. La contaminación del catéter por *S. aureus* es un gran problema de salud ya que puede originar complicaciones como shock séptico, endocarditis, osteomielitis y bacteremias comprometiendo la vida de los pacientes (Nassar *et al*, 2001). El *S. aureus* provoca enfermedad a través de las toxinas o por invasión y destrucción de los tejidos. El hombre es portador asintomático entre un 40 y un 60% de los adultos sanos y forma parte de la flora normal de muchos sitios del organismo como piel y nasofaringe y tracto gastrointestinal, causando diversas manifestaciones clínicas (Toshkova *et al*, 2001). Se ha reportado que MRSA (*Staphylococcus aureus* meticilina resistente), MRSE (*Staphylococcus epidermidis* meticilina resistente), *Enterococcus* spp, *Escherichia coli*, entre otras, pueden ocasionar infecciones asociadas a los catéteres. Tal como lo indica Jefferys *et al* en el 2003. La contaminación de catéteres por cepas de *S. aureus* representan un grave problema de salud. Debido al incremento de la resistencia de las cepas de *S. aureus* a los antibióticos, ha dificultado el tratamiento médico en estos pacientes (Tokards, 2000; Reddan, 2002)

La inserción de catéteres vasculares en los pacientes con IRC representa la principal alternativa de tratamiento sin embargo constituye un factor de riesgo de contraer bacteremia. (Allon, 2004).

Detección de *mecA* en las cepas de *Staphylococcus aureus*

En el presente trabajo describimos que el gen *mecA* se identificó en el 82% de las cepas de *S. aureus* aisladas de los catéteres de los pacientes en tratamiento. (Figura 7). Este gen *mecA* se encuentra localizado en un elemento genético móvil

llamado Staphylococcal cassette chromosome *mec* (*SCCmec*) que le confiere resistencia frente a la mayoría de los antibióticos beta-lactámicos, debido a la baja afinidad que posee para estos agentes (Chambers, 1997). En este trabajo describimos que la resistencia de *S. aureus* a la meticilina se debe a la presencia del gen *mecA*, que codifica la penicillin-binding protein PBP2a de 78 kDa. Los antibióticos beta-lactámicos se unen a las PBPs en la pared celular, lo que interrumpe la síntesis de la capa de péptidoglicano y causa la muerte de la bacteria. Como los antibióticos beta-lactámicos no pueden unirse a la PBP2a, la síntesis de la capa de péptidoglicano y de la pared celular continúa y la bacteria no es exterminada. (Sharma VK. 1998). Actualmente el International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) ha clasificado 11 diferentes tipos de *SCCmec* (I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X y XI) (www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html).

La epidemiología de infecciones por cepas MRSA ha cambiado por todo el mundo, de ser estrictamente nosocomial, ahora con frecuencia se encuentran MRSA asociadas a la comunidad (CA) (Larsen *et. al*; 2009).

Por otro lado, Geha *et. Al*, (1994) describió que el gen *mecA* no se expresa constantemente, y hay evidencia que sugiere que ciertos genes auxiliares tales como *femA*, *mecR1*, entre otros, pueden participar en el control de su expresión.

Detección de los tipos de *SCCmec* en *Staphylococcus aureus*

Se identificaron los diferentes tipos de *SCCmec* de un grupo de cepas de *Staphylococcus aureus* que mostraron resistencia a la meticilina (MRSA), las muestras fueron recuperadas de los catéteres de pacientes de hemodiálisis los cuales se analizaron microbiológicamente.

La identificación de los tipos de *SCCmec* se realizó mediante la amplificación por PCR de acuerdo a lo descrito por Oliveira *et al*, (2002).

El gen *mecA* (2.1 kb) está localizado en un elemento genético móvil llamado el Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (*SCCmec*). En este estudio describimos que el 81% de las cepas de *S. aureus* recuperadas de los catéteres

fue *mecA*+ (MRSA) y el 18.2% *mecA*- (MSSA). El SCC*mec* tipo I fue detectado con mayor frecuencia en el 42% de las cepas estudiadas, seguido por el tipo II con el 27.3% y finalmente el tipo IV con el 12.7% (Tabla 3). Los SCC*mec* tipo I (34.3 kb), IV (20.9-24.3 kb) y V (28 kb) codifican exclusivamente para resistencia a b-lactámico y los tipo II y III confieren resistencia a más antibióticos (kanamicina, tobramicina, bleomicina, tetraciclina). Nuestros datos coinciden con lo descrito por Deurenberg et al., . (2007), quienes encontraron los SCC*mec* tipo I, II y IV.

Además de los cinco principales tipos de SCC*mec*, varias variantes de SCC*mec* han sido descritas (IA, IIA, IIB, IIC, IID, IIE, IIb, IIIA, IIIB, IVa/IVb, IVc, IVd, IVA, IVE, IVF, IVg, Vt) (Oliveira et al., 2001; Shore et al., 2005; Hisata et al., 2005; Ma et al., 2002; Oliveira et al., 2002; Boyle-Vavra et al., 2005; Kwon et al., 2005).

A lo largo de estos años se han descrito trabajos sobre cepas MRSA con resistencia múltiple, ello puede deberse a una sucesiva adquisición de plásmidos y transposones con determinantes de resistencia, o bien a la diseminación de algunas líneas clonales resistentes (Oliveira, 2002). Los resultados mostraron la elevada resistencia de las cepas de *S. aureus* a la meticilina, así como la amplia distribución de los diferentes tipos de SCC*mec*, por lo que se considera necesaria la prescripción del tratamiento médico apropiado en los pacientes estudiados para evitar complicaciones médicas más severas.

CONCLUSIONES

1. *Staphylococcus aureus* fue responsable de la mitad de las infecciones asociadas en los catéteres de los pacientes analizados del servicio de hemodiálisis.
2. La frecuencia del gen *mecA* evidencio el incremento de las cepas MRSA en las infecciones asociadas a los catéteres.
3. La mayoría de las cepas de *S. aureus* estudiadas presentó el SCC*mec* tipo I, seguido por el tipo II y finalmente el tipo IV.
4. El estudio de las cepas de *S. aureus*, permitió a los médicos de los servicios de hemodiálisis, prescribir el tratamiento médico oportuno, para erradicar la bacteria, y evitar probables complicaciones a los portadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar EM, García LB, Hernández TI, Rosas R, Maria T. 2004. Las infecciones nosocomiales: registrar para prevenir. Instituto Nacional de Salud Pública de México. Rev Enferm IMSS 12:89-92.
2. Allon M. 2004. Dialysis catheter-related bacteremia: Treatment and Prophylaxis. Am J Kidney Dis: 5:779-791.
3. Barber M. 1961. Methicillin-resistant staphylococcus. J Clin Pathol 14:385-393.
4. Beenken EK, Dunman MP, McAleese F, Macapagal D, Murph E, Projan JS, Blevins SJ, Smeltzer SM. 2004. Global Gene Expression in *Staphylococcus aureus* Biofilms. J Bacteriol 186:4665-4684.
5. Bernardo DJ, 2001. Insuficiencia Renal Crónica. Facultad de Medicina. UNNE.
6. Boyle-Vavra S, Ereshefsky B, Wang CC, Daum RS. 2005. Successful multiresistant community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* lineage from Taipei, Taiwan, that carries either the novel staphylococcal chromosome cassette mec (SCCmec) type VI or SCCmec type IV. J Clin Microbiol 43: 4719–4730.
7. Bustos M, Aída HP, Marcia GC. 2006. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed 17:287-305.
8. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chavalit T, Song JH, Hiramatsu K. 2006. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother 50: 1001– 1012.
9. Corkill JE, Anson JJ, Griffith P, Anthony Hart C. 2004. Detection of elements of the staphylococcal cassette chromosome (SCC) in a methicillin-susceptible (mecA gene negative) homologue of a fucidin-resistant MRSA. J Antimicrob Chemother 54:229-231.

10. Daugirdas TJ, Bkake PG. 2003. Manual de diálisis. Ed Todd S. ling. 2 edición, Masson.
11. Daum RS, Ito T, Hiramatsu K, Hussain F, Mongkolrattanothai K, Jamklang M, Boyle-Vavra S. 2002. A novel methicillin resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. *J Infect Dis* 186: 1344–1347.
12. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. 2007. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 13: 222–235.
13. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. 2007. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 13: 222–235.
14. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. 2002. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci. USA.* 99:7687–7692.
15. Fica AC. 2003. Consenso nacional sobre infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. *Rev Chil Infect* 20: 39-40
16. Francois P, Bento M, Renzi G, Harbarth S, Pittet D y Schrenzel J. 2007. Evaluation of three molecular assays for rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 45:2001-2013.
17. Fundación Mexicana del Riñón, <http://www.fundrenal.org.mx>. Visitado en septiembre del 2011
18. Geha DJ, Uhl JR, Gustaferró CA, Persing DH. 1994. Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant staphylococci in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 32:1768–1772.
19. Hanssen AM, Kjeldsen G, Sollid JU. 2004. Local variants of staphylococcal cassette chromosome *mec* in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci: evidence of horizontal gene transfer? *Antimicrob Agents Chemother.* 48:285-296.
20. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. 2001 The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 9: 486–493.

21. Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamamoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, Baba T, Terasawa M, Sotozono C, Kinoshita S, Yamashiro Y, y Hiramatsu K. 2005; Dissemination of methicillin-resistant staphylococci among healthy Japanese children. *J Clin Microbiol* 43: 3364– 3372.
22. <http://pathmicro.med.sc.edu/Spanish/chapter13.htm>
23. <http://www.diabetes.org/2010>
24. http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html.
25. Ibrahim S, Salmenlinna S, Virolainen A, Kerttula AM, Lyytikäinen O, Jägerroos H, Broas M y Varkila VJ. 2009. Carriage of methicillin-resistant staphylococci and their SCCmec types in a long-term-care facility. *J Clin Microbiol.* 47:32-37.
26. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements. 2011.
27. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, Hiramatsu K. 2001; Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1323– 1336.
28. Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. 1999. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of premethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 1449– 1458.
29. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. 2004. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase *ccrC*. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 2637– 2651.
30. Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. 2003. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Update* 6:41-52.
31. Jeffrys A, Chow JSF, SURanyi MG. 2003. Acute vascular access catheters for hemodialysis complications limiting technique survival. *Nephrology* 8:16-20.

32. Kanafani ZA, Fowler VG. 2006. *Staphylococcus aureus* infections: new challenges from an old pathogen. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 24:182-193.
33. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. 2001. Genetic organization of the chromosome region surrounding *mecA* in clinical staphylococcal strains: role of IS431-mediated *mecl* deletion in expression of resistance in *mecA*-carrying, lowlevel methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus*. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1955–1963.
34. Ko K, Lee JSY, Shu JY, Oh WS, Peck KR, Lee N y Song JH. 2005. Distribution of major genotypes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Asian countries. *J Clin Microbiol*. 43:421-426.
35. Kobayashi N, Wu H, Kojima K, Taniguchi K, Urasawa S, Uehara N, Omizu Y, Kishi Y, Yagihashi A, Kurokawa I. 1994. Detection of *mecA*, *femA* and *femB* genes in clinical strains of staphylococci using polymerase chain reaction. *Epidemiol Infect* 113:259–266.
36. Kwon NH, Park KT, Moon JS, Jung WK, Kim SH, Kim JM, Hong SK, Koo HC, Joo YS, Park YH. 2005. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) characterization and molecular analysis for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and novel SCC*mec* subtype IVg isolated from bovine milk in Korea. *J Antimicrob Chemother* 56: 624–632
37. Larsen AR, Stegger M, Böcher S, Sørnum M, Monnet DL y Skov RL. 2009. Emergence and characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Denmark. *J Clin Microbiol*. 47:73-78.
38. Leclercq R. 2002 Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis* 34: 482–492
39. Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-V S, Daum R, Hiramatsu K. 2002. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 1147–1152.

40. Marschall J. 2008. Catheter-associated bloodstream infections: Looking outside of the ICU. *Am J Infect Control*. 36:S172. e5-8
41. Nashev D, Toshkova K, Salasia ISO, Hassan AA, Lämmler C, Zschöck M. 2004. Distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from stable nasal carriers. *FEMS Microbiol Lett* 233:45–52.
42. Oliveira DC, de Lencastre H. 2002. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 2155–2161.
43. Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. 2001. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements. *Microb Drug Resist* 7: 349–361
44. Panlilio AL, Culver DH; Gaynes RP, Benerjrr S, Henderson TS, Tolson JS y Martone WJ. 1992. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 13:582-586
45. Parameswaran R, Sherchan J, Varma M, Chiranjay M, Mukhopadhyay C, Vidyasagar S. 2010. Intravascular catheter-related infections in an Indian tertiary care hospital. *J Infect Dev Ctries* 5:452-458.
46. Poole CV, Carlton D, Bimbo L, Allon M. 2004. Treatment of catheter-related bacteremia with an antibiotic lock protocol: effect of bacterial pathogen. *Nephrol Dial Transplant*. 19;1237-1244.
47. Reddan D, Klassen p, Frankenfield DL. 2002. National profile of practice patterns for hemodialysis vascular acces in the United States. *J AM Soc Nephrol*. Resist 7: 349–361.
48. Sharma VK. 1998. Interaction of native and mutant Mecl repressors with sequences that regulate *mecA*, the gene encoding penicillin binding protein 2a in methicillin-resistant staphylococci. *J Bacteriol*. 180:2160–2166.
49. Shore A, Rossney AS, Keane CT, Enright MC, Coleman DC. 2005. Seven novel variants of the staphylococcal chromosomal cassette mec in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Ireland. *Antimicrob Agents Chemother*; 49: 2070–2083.

50. Soriano CS. 2004. Clasificación de los estudios de la enfermedad crónica, prevalencia, claves para el diagnóstico precoz, factores de riesgo de la enfermedad renal crónica. *Nefrología*; 24:16
51. Stolić R, Trajković G, Perić V, Jovanović A, Stolić D, Sovtić S, Lazarević T, Živićš Z. 2008. Central venous catheters in hemodialysis: to accept recommendations or to stick to own experience. *Clinic Urol Nefrol* 65: 21–26.
52. Tokards JI, Miller ER, Alter MJ, Arduino MJ. 2001 National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States. *Sem Dial.* 17310-319.
53. Toshkova K, Annemu C, Akineden O, Lammler CH. 2001. The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as risk factor for human skin infections. National Center of Infectious and Parasitic Diseases. *FEMS Microbiol Lett* 202:17-24.
54. Treviño BA. 2004. Insuficiencia Renal Crónica: Enfermedad emergente, catastrófica y por ello prioritaria. *Academia Mexicana de Cirugia* 72:3
55. van Duijkeren E, Wolfhagen MJ, Box AT, Heck ME, Wannet WJ, Fluit AC. 2004. Human-to dog transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 54:229-231.
56. Voss AD, Milatovic C, Wallrauch-Schwarz V, Rosdahl T y Brsveny I. 1994. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 13:50-55.
57. Wannet WJ, Spalburg E, Heck ME, Pluister GN, Willems RJ, De Neeling AJ. 2004. Widespread dissemination in The Netherlands of the epidemic Berlin methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone with low-level resistance to oxacillin. *J Clin Microbiol* 42:3077-3082.