

Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación

Guadalupe Socorro Zendejas-Manzo, Héctor Avalos-Flores, Marisela Yadira Soto-Padilla

Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, México

RESUMEN

Staphylococcus aureus es un microorganismo que se encuentra ampliamente diseminado en el ambiente ya que posee características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos, lo cual representa un grave problema de salud, esto es, gracias a que su distribución se extiende a nivel mundial y el impacto en la morbi-mortalidad es considerable a nivel comunitario e intrahospitalario. En los humanos, causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas y su principal impacto es ocasionado por las cepas de *S. aureus*, que son sumamente resistentes a la meticilina (MRSA) y otros antibióticos que antes eran eficaces contra el tratamiento de las infecciones. Desde el punto de vista genómico, la resistencia se produce por selección natural a través de mutaciones producidas al azar; sin embargo, también se pueden inducir artificialmente mediante la aplicación de una presión selectiva a una población, como sería el abuso o la utilización de antibióticos; asimismo, *S. aureus* tiene características genéticas que le han permitido convertirse en una de las bacterias más importantes en la clínica y en las enfermedades transmitidas por alimentos. Se mencionan también algunas características principales para el aislamiento y el estudio del patógeno, utilizando procedimientos microbiológicos. Finalmente, se hace referencia a la situación del

patógeno tanto en México como a nivel mundial. I

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, intoxicación alimentaria estafilocócica (IAE), evolución genética, resistencia, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA)

ABSTRACT

General microbiology *Staphylococcus aureus*: Characteristics and methods of identifying pathogenicity

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a microorganism that is widespread in the environment and has significant virulence factors and antibiotic resistance, which makes it a serious health problem. Because its distribution extends worldwide, its impacts on morbidity and mortality are considerable on both community and inpatient levels via intrahospitalary dissemination. In humans *Staphylococcus aureus* causes a wide variety of infectious diseases, but its main impact is caused by MRSA strains of *S. aureus*, which are extremely resistant to methicillin and other antibiotics that were once effective against the treatment of *S. aureus* infections. From a genomic perspective, resistance is caused by natural selection through random mutations; however mutations can also

Autor para correspondencia: Marisela Yadira Soto-Padilla, Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Av. Universidad # 3000, colonia centro, Sahuayo, Michoacán E-mail: *mysoto@ucienegam.edu.mx

Recibido: el 14 de febrero de 2014. **Aceptado para publicación:** el 16 de junio de 2014

Este documento está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142534.pdf>

be artificially induced by the applications of selective pressure on a population, as occurs with the abuse of antibiotics. Likewise *S. aureus* has genetic characteristics that have allowed it to become one of the most important bacteria in causing both clinical and foodborne disease, because food handling by carriers is a common pathway for the organism to be transferred among humans. This work also evaluates the key features of laboratory isolation, study, and identification of the pathogen using microbiological assays. Finally, we analyzed the situations caused by *S. aureus* in both Mexico and on worldwide levels.

Key words: *Staphylococcus aureus*, Staphylococcal Alimentary Intoxication Staphylococcal Food Poisoning, genetic evolution, resistance, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

ASPECTOS GENERALES

Los estafilococos son un amplio grupo de bacterias Gram-positivas, cuyo diámetro oscila entre 0.5 y 1.5 micras. Se caracterizan porque se dividen en agrupaciones que asemejan racimos de uva (1) y, a la fecha, se han reportado 35 especies conocidas con 17 subespecies en el género *Staphylococcus*. Dicho género tiene una gran capacidad de adaptación, por lo cual afectan a todas las especies conocidas de mamíferos, incluyendo a los roedores comunes de laboratorio. Es por ello que, gracias a su fácil propagación, pueden transmitirse de una especie a otra, siendo frecuentes los casos humano-animales y viceversa (2). De aquí surge la importancia de conocer más acerca de este patógeno, ya que, además de los animales, los mecanismos de invasión abarcan también fomites y el contacto de persona a persona.

En los últimos años, la incidencia de bacteriemia por *Staphylococcus* (BS) ha aumentado significativamente, ya que una especie de esta familia bacteriana ha aumentado su frecuencia de aparición; se trata de la especie

Staphylococcus aureus, que se ha convertido en la principal causa de infecciones en el torrente circulatorio (BSI) e intoxicaciones ocasionadas por alimentos. Estos brotes están surgiendo de manera alarmante en la mayoría de los países industrializados (3) y dicho aumento puede ser debido a la gran cantidad de personas que habitan en dichos países. De esta manera, al ser una especie bacteriana relativamente común, es natural que surjan investigaciones para mantenerse al tanto de la evolución de este patógeno. Una de las interrogantes, que antes consternaba mucho a los científicos, era cómo podía ser tan fácil la diseminación de esta bacteria. La respuesta está en la gravedad de su virulencia. La patogenicidad de las infecciones por *Staphylococcus aureus* se relaciona con diversos componentes de la superficie bacteriana (4); de manera general, los componentes del microbio son peptidoglicanos y ácidos teicoicos, además de la proteína A. Así pues, la patogenia provocada por este microorganismo surge cuando se produce la combinación de los factores de virulencia con la disminución de las defensas del huésped (5); estas condiciones propician que *Staphylococcus aureus* posea características de virulencia y daño bastante particulares (6); aunado a esto, la situación se ve agravada debido a que el patógeno ha ido desarrollando múltiple resistencia contra los antibióticos, propiciando que cada vez sea mucho más difícil el tratamiento y la curación de las enfermedades ocasionadas por esta bacteria (7).

Sin embargo, *Staphylococcus aureus* es importante no solo porque ocasiona infecciones en diversas partes del organismo humano, sino porque es una de las principales bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Tales enfermedades son causadas por diversas acciones, incluyendo la capacidad del patógeno de producir toxinas, siendo esto relativamente común en determinados sectores de la población y en algunas regiones geográficas desfavorecidas por la falta de sistemas de salud y de control de

infecciones adecuados. Así, las infecciones ocurren por la ingesta de alimentos contaminados con las toxinas. Lo preocupante del caso es que estas se encuentran presentes en el aire, la leche, el agua potable, las aguas residuales y, desde luego, la comida o en el equipo donde los alimentos han sido elaborados; así pues y aunado a esto, a partir de la década de los 80, se ha incrementado el número de bacteriemias producidas por *Staphylococcus aureus*, tanto adquiridas en la comunidad como hospitalarias, fenómeno explicado por el aumento de la supervivencia de la población general (8).

EL PATÓGENO Y LOS ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por alimentos son originadas por consumir alimentos contaminados con toxinas microbianas o con una o varias bacterias patógenas. Dicha contaminación generalmente se presenta por el contacto del alimento con los manipuladores que se encargan de producirlos, es decir, con las personas que están en contacto directo con los alimentos. Sin embargo, las enfermedades entéricas no solo se contagian de esta manera, sino que la gravedad del problema se pone en evidencia al considerar que los agentes patógenos potenciales se encuentran en diversos ambientes, incluyendo la presión osmótica elevada y la humedad reducida, lo que explica por qué pueden sobrevivir y desarrollarse en las secreciones nasales (9) del portador. Además, la contaminación del alimento puede ser endógena o, de lo contrario, el alimento se contaminó en algún punto de su transformación (10).

Respecto de la intoxicación provocada por *S. aureus*, se sabe que la mayoría de los brotes son originados por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, ya que muy pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas (intoxicación alimentaria estafilocócica, IAE). Por ello, es importante mencionar que las enterotoxinas estafilocócicas son de las pocas toxinas bacterianas de naturaleza proteica, que presentan termorresistencia (11). Esto explica por qué las IAE

son relativamente comunes, ya que las toxinas no se destruyen tan fácilmente. Asimismo, se ha sabido que existe una amplia variedad de alimentos capaces de albergar al estafilococo, pero cabe destacar que los más susceptibles son aquellos que tienen contacto con la piel del animal, tal es el caso de la leche, el huevo, los productos cárnicos como el jamón e, incluso, la carne de pollo; este último es muy susceptible a la contaminación bacteriana, porque tiene características fisicoquímicas que permiten que su superficie se contamine fácilmente, especialmente en la etapa de evisceración (12). Aun así, no solo la carne de pollo es ideal para la proliferación de *Staphylococcus aureus* sino también el chorizo, ya que las materias primas con que se elabora, de las que destacan la carne y la tripa, tienen excesiva manipulación por parte del productor (13). También es importante considerar la influencia de la temperatura inadecuada a la que se expenden los productos o se almacenan las materias de elaboración.

Así, los alimentos se ven expuestos a contaminación posproceso, ya que tienen un exceso de manipulación directa con las manos del ser humano, donde puede haber distintos tipos de cepas enterotoxigénicas. Además, *Staphylococcus aureus* representa un doble riesgo debido a la ausencia de flora competitiva que normalmente restringe el crecimiento de este (14).

De manera general, se tiene la creencia que los alimentos que son vendidos en la calle ofrecen un mayor índice de enfermedades transmitidas por alimentos; pero se ha encontrado que, en los establecimientos cerrados que distribuyen alimentos, también existe esta problemática, dado que los estándares para cocinar y manejar los alimentos son prácticamente los mismos. Sin embargo, la venta de alimentos en la calle y la imagen frecuente de malas condiciones higiénicas en el procesamiento del alimento señalan la

Zendejas-Manzo *et al.*

importancia de mantener el control sanitario a dicha actividad (15). Así pues, analizando las diferencias entre ambos productores de comida, se aprecia que los alimentos vendidos en la calle sí cuentan con mayor índice de contaminación bacteriana por el simple hecho de ser cocinados al aire libre y expuestos a diferentes tipos de contaminación.

Para saber si somos víctimas de una intoxicación alimentaria enterotoxigénica, es necesario saber cuáles son los síntomas que cada microorganismo produce en el organismo humano. De esta manera, se facilita el diagnóstico y se sabe en qué alimentos proliferan los microorganismos. Así, se encuentra una relación de estos con los que el paciente ha consumido. Los síntomas que presenta una persona que ha sido afectada por una Intoxicación Alimentaria Estafilocócica son muy particulares; así, los daños provocados por la toxina de *Staphylococcus aureus* tienen características específicas que las diferencian de otras IAE ocasionadas por agentes patógenos tales como *Bacillus cereus* o *Escherichia coli* enterotoxigénica. Tales manifestaciones clínicas abarcan: náuseas, dolor abdominal, emesis, diarrea y postración. En los casos más graves se pueden presentar cefalea y choque. Cabe destacar que la intensidad de los síntomas depende de la cantidad de alimento contaminado ingerido, de la concentración de la toxina y de la susceptibilidad individual, la cual está mediada por la edad y por el estado inmunológico de la persona (16).

PRODUCCIÓN DE TOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

Staphylococcus aureus es un microorganismo capaz de producir componentes superficiales llamados toxinas y producir enzimas extracelulares. En general, estos componentes son capaces de provocar severas intoxicaciones alimentarias dependiendo de la cantidad ingerida de alimento (17).

Las toxinas están divididas de acuerdo con los efectos biológicos que producen en las células

así como con su localización dentro de la célula bacteriana. De esta forma quedarían estructuradas como se muestra en el **Cuadro 1**.

Por otra parte, cabe señalar que diversos autores reportan la virulencia de *Staphylococcus*

Cuadro 1
Staphylococcus aureus: toxinas y efectos biológicos

Toxinas	Efecto biológico
Citotoxinas (α , β , δ y γ leucocidina de PV)	Mecanismo poro-perforador sobre las membranas de leucocitos, eritrocitos, macrófagos, plaquetas y fibroblastos
Toxina exfoliativa (ETA y ETB)	Proteasas, que rompen los puentes intercelulares en el estrato granuloso de la epidermis
Enterotoxinas (A-E, G-I)	Super antígenos (estimula la proliferación de células T y la liberación de citosinas): estimula la liberación de mediadores químicos en los mastocitos, aumentando el peristaltismo
Toxina del síndrome del choque tóxico TSST-1	Super antígenos (estimulan la proliferación de células T y la liberación de citosinas); produce extravasación o la destrucción de las células endoteliales

aureus (**Cuadro 2**) con base en tres factores, basados en la actividad biológica: primero, el factor que media la adhesión de la bacteria a la célula hospedadora; segundo, el factor que promueve el daño y la diseminación tisular y, por último, los factores que protegen a la bacteria del sistema inmune del hospedador.

Sin embargo, para detallar de manera global el papel que desempeñan los factores en la patogénesis, utilizaremos la clasificación clásica (17), como se muestra en el **Cuadro 3**.

Respecto de la prevalencia, cabe resaltar que una de las toxinas que comúnmente ha estado implicada en los brotes de intoxicación alimentaria es la enterotoxina A, ya que es extremadamente potente y con una cantidad tan pequeña como 100 ng es suficiente para causar síntomas de intoxicación (18). Este hecho radica en la enorme susceptibilidad que las plaquetas y los monocitos de los seres humanos presentan a dicha toxina (19).

Las enterotoxinas estafilocócicas son una

Staphylococcus aureus: patogenicidad e identificación

Cuadro 2
Factores de virulencia asociados a
Staphylococcus aureus

Factores de virulencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	
Componentes de la estructura	Efecto biológico
Cápsula	Es una adhesina; además, impide la quimiotaxis y la fagocitosis, inhibe la proliferación de células mononucleares
Peptidoglicano	Proporciona estabilidad osmótica y estimula la producción de pirógenos endógenos y es quimioatrayente leucocitario
Ácido teicoico	Regula la concentración catiónica de la membrana celular, se une a la fibronectina
Proteína A	Altera función ciliar, estimula respuesta inflamatoria, media en el daño tisular con producción de radicales tóxicos de oxígeno
Enzimas	
Coagulasa	Convierte el fibrinógeno en fibrina
Catalasa	Cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno
Hialuronidasa	Hidroliza los ácidos hialurónicos en el tejido conectivo, facilitando la diseminación de los estafilococos en los tejidos
Fibrolisina	Disuelve los coágulos de fibrina
Lipasa	Hidroliza los lípidos
Nucleasa	Hidroliza el ADN
Penicilinasas	Hidroliza la penicilina

familia de proteínas estructuralmente relacionadas que, además de su papel en la patogenicidad por intoxicación alimentaria, tienen actividad de superantígenos, los cuales afectan de manera notable el sistema inmune del huésped (20). Otra toxina que acarrea múltiples complicaciones médicas, inclusive hasta la muerte, es la toxina asociada al síndrome del choque tóxico (TSST-1), antes conocida como exotoxina pirogénica C (5). Dicho síndrome se caracteriza por una respuesta inflamatoria exacerbada que semeja mucho la sepsis bacteriana (21). Así como la toxina TSST-1 puede provocar una serie de reacciones,

Cuadro 3
Factores relacionados en patogénesis
de *Staphylococcus aureus*

Componentes superficiales	Toxinas y enzimas extracelulares
1. Polisacárido capsular	1. Toxinas con actividad sobre membranas
2. Polisacárido extracelular	<ul style="list-style-type: none"> • Toxinas o hemolisinas α, β, γ, σ • Leucocidina
3. Proteínas superficiales	2. Toxinas con actividad de superantígenos
<ul style="list-style-type: none"> • Proteínas de unión a colágeno, Cna • Proteínas de unión a fibronectina, FnBPA, FnBpB • Proteínas de unión a fibrinógeno, ClfA y ClfB • Proteína A, Spa 	<ul style="list-style-type: none"> • Enterotoxinas, A-E y G-J • Toxina del síndrome del choque tóxico 1, TSST-1 • Toxinas epidermolíticas o exfoliativas, A y B
	3. Enzimas extracelulares
	<ul style="list-style-type: none"> • Estafiloquinasa • Coagulasa • Hialuronidasa • Lipasa • Proteasa • ADNasa termoestable o termonucleasa • Catalasa

también la exotoxina proteica dermatropa o toxina exfoliativa tiene efectos sobre el cuerpo humano, la cual a partir de una lesión local se difunde por la sangre y llega a la piel produciendo una exfoliación que se extiende; esta toxina es la causante del síndrome de la piel escaldada (21).

PORTADORES Y MANIPULADORES

Los alimentos son de gran importancia para la adquisición de una ETA, ya que las personas deben tener contacto directo con ellos para poder contaminarlos. Los alimentos contaminados con patógenos juegan un papel importante en la transmisión de las ETA. Dicho contacto lo llevan a cabo los manipuladores o cocineros donde, según el Real Decreto español 202/2000 del 11 de febrero de 2000, los manipuladores de alimentos se definen como: “todas aquellas personas que, por su actividad laboral, tienen contacto directo con los alimentos durante su preparación, fabricación, transformación, elaboración, envasado, almacenamiento,

transporte, distribución, venta, suministro y servicio”. Los manipuladores de mayor riesgo son aquellos cuyas prácticas de trabajo o acciones en ciertos procesos de producción pueden ser determinantes en relación con la seguridad y la salubridad de los alimentos (22).

No obstante, cabe mencionar que existen determinadas características fisicoquímicas, como el pH, el grado de humedad o la tensión atmosférica, que son fundamentales para el desarrollo y la colonización en el ser humano. Las fosas nasales son el principal hábitat de la bacteria, aunque también se encuentra presente en heridas infectadas, quemaduras, tracto urogenital, gastrointestinal y casi cualquier secreción corporal. En este punto, aproximadamente la totalidad de la población humana podría ser portadora del microorganismo en algún momento de su vida (23).

En adición a lo anterior, también existen otros sitios de concurrencia que albergan al microorganismo; por ejemplo, la piel, el perineo y la faringe (24). Así, el porcentaje de personas portadoras de *Staphylococcus aureus* puede abarcar aproximadamente 20-50% de la población en general, siendo las manos de los manipuladores las principales vías de contaminación (25).

En este aspecto, se debe tener un nivel de conocimiento suficiente acerca de las prácticas preventivas para evitar la contaminación de la comida. Este conocimiento debe empezar a adquirirse en las aulas (26) o en el mismo establecimiento donde el trabajador va a prestar su servicio y reforzarlo en el campo laboral mediante capacitación constante; ya que, si los individuos que tienen bajo su responsabilidad la elaboración de los alimentos no entienden su responsabilidad como productores de alimento, entonces ponen en riesgo el establecimiento para el que trabajan y, sobre todo, la salud de las personas.

Epidemiología y patología clínica de *S. aureus*.

De acuerdo con el estudio SENTRY Programa de Vigilancia Antimicrobiana, en el que se examinaron 181,000 casos aislados durante el período 1997-2002, se demostró que *Staphylococcus aureus* fue la causa más común de bacteriemia nosocomial en América del Norte, con una prevalencia de 26.0 %, y en América Latina con 21.6 %; fue también la segunda causa más común de bacteriemia nosocomial en Europa, con una prevalencia de 19.5 %. Además, se encontró que *Staphylococcus aureus* era la causa más común de bacteriemia en un estudio de inicio temprano, que incluyó a 6,697 pacientes los cuales contaban con infecciones del torrente sanguíneo que fueron identificados en 59 Hospitales de Estados Unidos durante 2002-2003 (27). En 2012, en el Laboratorio de Microbiología del Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sao Paulo, Brasil, se notificó a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y a la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el primer hallazgo de SARV en Brasil, siendo también el primer caso en América Latina; se trata de una cepa que es resistente contra la metilina y la vancomicina (28).

En México, la situación de infecciones ocasionadas por *Staphylococcus aureus* es desconocida, ya que no existe un registro referente al número de casos asociados que atenten contra la vida del paciente, sobre todo a nivel de las infecciones graves provocadas por HA-MRSA (*Hospital-Acquired Meticilin-Resistance Staphylococcus aureus*) y CA-MRSA (*Comunity-Adquired Meticilin-Resistance Staphylococcus aureus*) (29). Sin embargo, en un estudio realizado en el Hospital General Regional de León, Guanajuato (HGRL), durante el periodo 2000-2007, se encontró que las infecciones por MRSA han ido en aumento. Esto podría deberse a que es un hospital general y maneja pacientes con diversas necesidades médicas. En contraste, dichos resultados no correlacionan con la situación de los hospitales especializados (30), en los cuales la tendencia de aumento en las tasas de

colonización se incrementa debido a que muchos de sus pacientes están sometidos a hemodiálisis y otros han presentado intervenciones quirúrgicas. También, los pacientes con diabetes que ya son insulino-dependientes presentan riesgo (31).

Para ilustrar mejor este hecho, se menciona el reporte de algunos casos en la unidad de cuidados intensivos de adultos (UCIA) del Hospital de Especialidades La Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social (HER IMSS), donde se notificó un brote de NAV (neumonía asociada al ventilador) por MRSA, lo cual indicó que el contagio se debió a la contaminación de los tubos reutilizables de ventiladores mecánicos (32). Sin embargo, el hecho de que comúnmente no se informen los casos graves ni las complicaciones médicas de estos casos en México no implica que este sea un país exento de las patologías provocadas por los estafilococos. Como sabemos, estas bacterias son huéspedes naturales del ser humano y, por ende, tienen que formar parte de la flora natural del mexicano.

Análisis microbiológico. Para la identificación de *S. aureus* es necesario utilizar algunas pruebas bioquímicas y medios de cultivo especiales que permitan su fácil determinación. Esta identificación se basa en las enzimas y las toxinas que produce el microorganismo. Aprovechando estas características se han diseñado medios para aislar esta bacteria, que son Baird-Parker, agar salado manitol, agar estafilococos N° 110, agar DNAsa.

Agar Baird-Parker. Es un medio excelente para el recuento de *Staphylococcus aureus*, incluso, aunque se trate de células que sufrieron un daño subletal (33). Además, es el medio moderadamente selectivo más corrientemente usado. Su composición consta de piruvato sódico el cual ayuda a recuperar las bacterias lesionadas; su poder selectivo se debe a la presencia de telurito, cloruro de litio y glicina. En el medio,

la característica positiva de la presencia de *Staphylococcus aureus* es la presencia de un aspecto negro, debido a la reducción del telurito (34), con un halo transparente que revela la actividad lipolítica sobre la yema de huevo; sin embargo, las colonias deben confirmarse mediante un examen de frotis teñido con coloración de Gram (33).

Agar Salado Manitol. Se emplea para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus aureus*. El agar sal manitol contiene una concentración de cloruro sódico de 7.5%, el cual es el agente activo (34) del medio e inhibe parcial o completamente a los organismos bacterianos diferentes de los estafilococos. Los estafilococos coagulasa (+) (*Staphylococcus aureus*) producen colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo, mientras que los estafilococos negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo y no provocan cambios en el color del indicador rojo fenol (35).

Agar estafilococos N° 110. Es un medio selectivo para aislar estafilococos patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas, basado en la fermentación de manitol, la formación de pigmento y la actividad gelatinasa. Este medio también se utiliza para el aislamiento de estafilococos que contaminan una amplia variedad de alimentos y producen una intoxicación alimentaria.

Los estafilococos coagulasa (+) patógenos crecen en altas concentraciones de NaCl y forman colonias amarillas y doradas. Por otra parte, la fermentación de manitol se detecta por medio de la adición de unas gotas de azul de bromotimol a la placa, buscando las colonias con un halo amarillento alrededor.

Los estafilococos licúan la gelatina produciendo zonas claras alrededor de las colonias. Para esta prueba, se le agrega a la caja Petri 5 ml de una solución saturada de sulfato

de amonio o adicionando una gota de ácido sulfosalicílico al 20% e incubando 12 minutos para observar la hidrólisis de la gelatina. Una zona clara-transparente alrededor de la colonia constituye una hidrólisis (+) (*Stone's reaction*) (36).

Agar DNAsa. Es utilizado para identificar estafilococos potencialmente patógenos; manifiesta la actividad de la desoxirribonucleasa, la cual es indicadora de su patogenicidad (34). Asimismo, se investiga la capacidad del microorganismo de producir enzimas que hidrolicen el ADN. La aparición de halos transparentes alrededor del área de crecimiento se considera resultado positivo, ya que estas corresponden a zonas de hidrólisis del ADN. La prueba es considerada negativa en caso de que los halos característicos no estén presentes (37). De manera complementaria a lo anterior, se emplean pruebas bioquímicas como coagulasa y catalasa entre otras.

Catalasa. Se utiliza para probar la capacidad del microorganismo para producir la enzima catalasa, la cual facilita la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, siendo de utilidad para evitar la formación de radicales tóxicos por el sistema de la mieloperoxidasa en las células fagocíticas (38). La prueba es positiva cuando la bacteria reacciona produciendo la liberación de burbujas, que es la característica dada por la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (39).

Coagulasa. Esta prueba se emplea para determinar y diferenciar especies dentro del género *Staphylococcus*, así como para probar la existencia de *Staphylococcus aureus*. Dicho microorganismo tiene la capacidad de coagular dicha enzima (38). La coagulasa es un factor de agregación y constituye una prueba muy sensible y específica para esta bacteria. Esta proteína

representa un importante factor de virulencia. La coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble, la cual tiende a formar depósitos donde los estafilococos pueden agregarse (38). La prueba puede hacerse de dos maneras: en portaobjeto, en la cual la solución se ha tratado previamente con ácido etilendinitrilo tetraacético (EDTA) y plasma de conejo. Por otra parte, la prueba se puede realizar en tubo, para lo cual se inoculan 0.5 ml de una dilución de plasma de conejo con la colonia sospechosa (39).

Perfil bioquímico para el aislamiento y la caracterización de *Staphylococcus aureus*. Para el estudio del patógeno es necesario hacer una serie de comparaciones que permitan identificar concretamente la presencia de la bacteria en la muestra que se analiza, ya sea de procedencia clínica o de alimentos.

Análisis molecular y resistencia. La importancia patogénica de *Staphylococcus aureus* en humanos ha sufrido un sensible incremento desde el siglo pasado, debido a la resistencia bacteriana contra los agentes antimicrobianos clásicos y a los deficientes cuidados médicos intensivos (40), los cuales se presentan en los hospitales a los que el enfermo ha sido canalizado.

Por ello, es esencial destacar, desde el punto de vista genómico, la importancia de estudiar y conocer más acerca de los factores de virulencia, de resistencia o de adaptación, que *Staphylococcus aureus* ha estado desarrollando en el curso natural de su evolución. En este aspecto, cabe señalar la relevancia de los elementos genéticos móviles (EGM), los cuales son mecanismos empleados en la transferencia de información genética, por lo que permiten determinar la resistencia contra antimicrobianos, así como la adquisición o flujo de factores de virulencia (41).

Se sabe que el alto grado de daño que este microorganismo puede provocar no solamente se

debe a los EGM, sino también a la producción de enzimas extracelulares que permiten la penetración y la invasión de los diferentes tejidos. En adición a esto último, se menciona la capacidad que tiene la bacteria de adherirse no solo a los tejidos del huésped sino también a los materiales protésicos, donde *Staphylococcus aureus* es capaz de crecer y persistir, llegando a formar biopelículas (42). Esto permite a la bacteria aumentar su sobrevivencia en plásticos, por ejemplo, catéteres intravasculares. Para poder comprender un poco más acerca de la tolerancia de *Staphylococcus aureus* a una gran cantidad de antibióticos, Kuroda y colaboradores efectuaron diversos estudios enfocados hacia análisis de los genes implicados en resistencia así como de los genes de virulencia. Estos genes se estudiaron a partir de elementos genéticos móviles, tales como plásmidos, transposones y profagos. Además, se encontró que existe una transferencia horizontal de genes con otras bacterias (43).

Por otra parte, los primeros datos genéticos sobre la secuencia completa del genoma de *Staphylococcus aureus* datan de 2001 y proceden de las cepas Mu50 y N315. Actualmente, existen otras diez secuencias genómicas completas provenientes de otras cepas de *Staphylococcus aureus*.

Cabe destacar que el cromosoma bacteriano de este patógeno es circular y comprende 2.8-2.9 Mbp de tamaño, con un contenido de G+C de aproximadamente 33%. Razón por la cual se le agrupa de la siguiente manera: sección XXIV, clase 'Bacilli', orden II 'Lactobacillaceae', familia VIII, especie 47 (44).

Respecto de las características patogénicas moleculares de la bacteria, se conoce que toda la familia de estafilococos cuenta con islas de patogenicidad, las cuales son genes que codifican para las toxinas con capacidad de superantígenos; por ejemplo, TSST-1 y la enterotoxina estafilocócica.

Estas toxinas poseen semejanza estructural y comparten secuencias génicas parecidas, además

de que tienen un bajo peso molecular, el cual oscila entre 26,900-29,600 Da. Por otro lado, se conocen otras 23 diferentes toxinas estafilocócicas que incluyen a las SEA (enterotoxina estafilocócica A), a SEV (enterotoxina estafilocócica V) (40), así como las islas de patogenicidad (SAPI) que son elementos constantes en el cromosoma con un peso de 15-20 kbp (43). Interesantemente, existen cepas de *Staphylococcus aureus* que provocan más daño que otras; en este caso se encuentra *S. aureus* meticilino-resistente (MRSA). MRSA está presente en 30-50% de los aislados intrahospitalarios alrededor del mundo; es la causa de brotes nosocomiales, sobre todo en adultos y salas de cuidados intensivos (45). MRSA ha sido estudiado minuciosamente a nivel genético, ya que en los últimos años se ha perfilado como una cepa que aparece de manera recurrente y notable también en la comunidad; por lo que se le cataloga como patógeno emergente que va siguiendo una transferencia horizontal de *mecA*, entre las dos especies de estafilococos más importantes: *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

En el MRSA, se sabe que la resistencia está generada por la producción de proteínas de unión a penicilina tipo 2a (PBP2a) (47), que presentan baja afinidad para unirse a aquellos betalactámicos con actividad frente a los estafilococos, en condiciones normales (48). Dichos betalactámicos se unen a las PBP (proteínas de unión a la penicilina) nativa, que se encuentran en la pared estafilocócica, inhibiendo así la biosíntesis contra peptidoglicano. Pero, lo que realmente determina la resistencia a la meticilina es la adquisición del gen *mecA*, el cual codifica la PBP2a; dicho gen se localiza en una isla genómica móvil llamada Cassette Cromosómico Estafilocócico (CCE). Este cassette, además del gen *mecA*, contiene genes reguladores y secuencias de inserción que flanquean al *mecA*. Adicional a ello, contienen el complejo genético denominado *ccr* que codifica para las recombinasas *ccrA*, *ccrB* y *ccrC*, que son

sitios específicos que permiten la movilidad del SCCmec entre las cepas estafilocócicas (41).

Debido a esto, se han desarrollado estrategias empleadas para prevenir la distribución de MRSA utilizando conocimiento acerca de la diseminación y la epidemiología; además, se han puesto en marcha diversas técnicas de tipificación molecular, las cuales se encaminan a detectar los fenotipos o características moleculares específicas de la cepa en cuestión. Estas técnicas incluyen electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), tipificación de secuencias multilocus (MLST), tipificación SCCmec y la denominada tipificación *Staphylococcus* proteína A spa, la cual consiste en un estudio multilocus de análisis de secuencias de repetición variable localizadas en el gen de la proteína spa de *Staphylococcus aureus*.

A continuación, se señalan algunas de las técnicas más empleadas en el estudio de cepas MRSA.

PFGE (electroforesis en gel de campo pulsado).

Actualmente, se considera el estándar de referencia para tipificar aislamientos de MRSA y ha demostrado ser uno de los métodos para estudiar epidemias e infecciones tipo hospital-hospital. La tipificación PFGE de MRSA se fundamenta en la digestión de DNA cromosomal purificado con la enzima de restricción SmaI, para un posterior corrimiento y visualización en geles de agarosa. Posteriormente, los patrones de corrimiento se analizan con el coeficiente de datos y se realiza una búsqueda de compatibilidades (UPGMA), según los esquemas de Tenover (49). A pesar de ello, se han realizado numerosos esfuerzos en los protocolos PFGE con el fin de establecer una nomenclatura que permita uniformar criterios de identificación y lograr mayor éxito a nivel de la reproducibilidad, el costo y la rapidez del análisis (50).

MLST (tipificación de secuencias multilocus).

Constituye una excelente herramienta para investigar la evolución de las clonas de MRSA.

La técnica se basa en el análisis de siete secuencias de fragmentos de 0.5 kbp de genes *Housekeeping* (Genes constitutivos), arc, aro, glp, gmk, yqi, pta y tpi (52). Se asignan diferentes secuencias a los alelos de cada gen *housekeeping* y cada aislamiento de secuencias se define por los alelos de 7 genes. Esto resulta en un perfil alélico o secuencia tipo (ST). Por ejemplo, la clona reconocida como Ibérica tiene un perfil MLST 3-3-1-12-4-4-16, el cual se ha definido como ST247. Actualmente, la nomenclatura de las cepas MRSA se basan en el ST y en el tipo SCCmec (Cinta estafilocócica de cromosomas mec); por ejemplo, ST247-MRSA-I, que es la clona que alberga el esquema SCCmec tipo I. Por otra parte, la principal desventaja que posee el MLST es que su ejecución es laboriosa y requiere mucho tiempo comparado con otras técnicas (51).

Tipificación SSCmec. En la actualidad, se cuenta con cuatro distintos métodos para la caracterización de SCCmec. Oliveira y de Lencastre (53) desarrollaron una PCR múltiple para los tipos I-IV SCCmec. En esta técnica, se detectaban los loci mecA y otros seis diferentes. Por otra parte, se ha desarrollado otro método en el cual se amplifica la estructura de los complejos mec y los genes ccr (54). Sin embargo, estos métodos han dado resultados diferentes cuando se estudia un mismo tipo de SCC en una cepa de MRSA (55).

Asimismo, se ha empleado el análisis de PCR en tiempo real para caracterizar los tipos I-IV de SCCmec, con base en los genes del complejo mec y el ccr. En el año 2005, Zhang y colaboradores desarrollaron una PCR múltiple para analizar todos los anteriores tipos de SCCmec. Este método detecta mecA y otros locus en la secuencia SCCmec (51). No obstante, sus esfuerzos distan de ofrecer una alternativa importante en la tipificación y, sobre todo, en la unificación de un método universal que ofrezca mayor homogeneidad a la hora de estudiar dicho cassette cromosómico.

En este aspecto, Chongtrakool y colaboradores han propuesto una novedosa clasificación para la nomenclatura de SCCmec, basada en los genes *ccr* (indicando el número) y los complejos *mec* (indicados por una letra mayúscula). La aplicación de esta nomenclatura se observa en la propuesta que agrupa a los SCCmec en los tipos 1a (tipo I), tipo 2a (tipo II), tipo 3a (tipo III), tipo 2B (tipo IV) y tipo 5C (tipo V) (56).

Esto se basa también en las diferencias de la región J1 y las regiones J2-J3 y se designan con nombres. Ejemplo: SCCmec tipo 2B 2.1 (tipo IV b). Finalmente, los genes *ccr* y las regiones J se numeran en orden cronológico según sus descubrimientos.

Métodos de tipificación SCCmec. Esta propuesta facilitaría de cierta manera la tipificación y los estudios actuales podrían centrarse en una caracterización más exacta, puesto que la creación de categorías podría denotar la divergencia entre distintos tipos de microorganismos que se relacionen con su SCCmec (48). Por desgracia para el ser humano, *Staphylococcus aureus* presenta resistencia contra otros antimicrobianos diferentes de los betalactámicos.

Existen reportes de resistencia contra vancomicina (57), tetraciclina, eritromicina y dicloxacilina, los cuales son ejemplos de resistencias dependientes del aislamiento, y contra ampicilina, ceftazidima, penicilina, gentamicina y ampicilina (58), solo por mencionar algunos. Esto se vuelve alarmante, pues se tenían registros de que eran antibióticos más eficaces que la penicilina en el tratamiento para las infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus*.

Lo que ahora se sabe es que la resistencia contra estos medicamentos está mediada por la adquisición de plásmidos. La resistencia a la metilicilina guarda relación con el gen *mecA* mientras que la resistencia contra la vancomicina se adquirió a través del gen *vanA* (59).

La resistencia contra la metilicilina es generada por una beta-lactamasa que hidroliza el anillo betalactámico inactivando la acción antibiótica de la penicilina. La beta-lactamasa se encuentra codificada en el gen *blaZ*, que está sujeto a una estrecha regulación por los genes *blal* y *blaR*. Todos estos genes los podemos encontrar a nivel cromosómico o de transposones, lo cual les permite la transferencia horizontal (60).

Por otra parte, se han reportado dos tipos de resistencia contra la vancomicina, SARV y VISA (*Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus*) (61); se documentó en Japón en 1997, pero no fue hasta el año 2002 que apareció la primera cepa de *Staphylococcus aureus* resistente. Hasta la fecha, se han documentado 9 cepas de SARV en Estados Unidos y 2 cepas adicionales, provenientes de Irán e India, que están aún por confirmarse (62). Dicha resistencia se ha adquirido a partir de *Enterococcus* spp por medio de un plásmido de conjugación que porta un transposón (Tn1546) y que contiene el operón *VanA*, el cual se compone por genes *VanA*, *VanH*, *VanX*, *VanS*, *VanR*, *VanY* y *VanZ*, los cuales generan que el dipéptido terminal de los precursores de peptoglicano, en lugar de terminar d-Ala-d-Ala, termine en d-Ala-d-Lac, lo que disminuye la afinidad de los glucopéptidos, interfiriendo así en su sitio de acción, frenando la síntesis de la pared bacteriana (62-64). Asimismo, la resistencia tipo *VanA* puede ofrecer resistencia tanto para teicoplanina como para vancomicina, y es de alta resistencia contra esta última (41).

CONCLUSIÓN

Staphylococcus aureus es una bacteria que tiene un amplio grado de diseminación, ya que pertenece a la flora comensal del cuerpo humano, ubicándose principalmente en fosas nasales. Por ello, los portadores juegan un papel esencial en la transmisión del patógeno. En este aspecto, es importante identificar de manera correcta la presencia del microorganismo en los alimentos

contaminados y en el desarrollo de la bacteria en diversas infecciones clínicas. Para esto, se utilizan distintos medios de detección, basados en el metabolismo de la bacteria así como en la producción de las toxinas estafilocócicas.

Asimismo, *S. aureus* es un organismo oportunista que puede colonizar los objetos con los que comúnmente tenemos contacto, además de los alimentos que consumimos ocasionando graves estragos en la salud del afectado. Esto incluye infecciones epidérmicas, septicemia, choque tóxico, entre otras; es también una de las bacterias más comúnmente aisladas en infecciones adquiridas en la comunidad, así como en las infecciones nosocomiales, ya que el microorganismo también presenta una notable capacidad invasiva.

Sin embargo, cabe destacar que la susceptibilidad del huésped al patógeno no solo depende de la cantidad de toxina que se ha ingerido o con la cual se ha tenido contacto, sino también del tipo de cepa que se ha adquirido, ya que diversas especies presentan resistencia contra antibióticos (cepa MRSA). Esto último ocurre debido a la adquisición de plásmidos y a las modificaciones adaptativas que alberga en su genoma.

Ante este panorama, solo queda como alternativa la prevención y la aplicación de prácticas de higiene personal a la hora de cocinar los alimentos, así como para manejar los instrumentos hospitalarios importantes; todo esto para evitar futuras infecciones y enfermedades provocadas por este patógeno.

REFERENCIAS

1. **Harris LG, Foster SJ, Richards RG.** An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review. *Eur Cells Mater.* 2002 jul-dec; 4(2): 39-60.
2. **Fox J, Barthold S, Davisson M, Newcomer C, Quimby F, Smith A editors.** *The Mouse in Biomed Research: Diseases.* 2nd Ed. New York: Academic Press; 2007.
3. **Rasmussen RV, Fowler VG Jr, Skov R, Bruun NE.** Feature challenges and treatment of *Staphylococcus aureus* bacteremia with emphasis in the MRSA. *Future microbiol.* 2011 ene; 6(1): 43-56.
4. **Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J.** Involvement of Panton-Valentine Involvement of Panton-Valentine Leukocidin-Producing *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 1999 jun; 29(5):1128-32.
5. **Borraz Ordás C.** Epidemiología de la resistencia a metilicina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en Hospitales españoles. Tesis, para obtener el grado de doctor. Universidad de Barcelona. Barcelona, España. Mayo 2006. En línea Consultado el 30 mayo 2014). Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/2513>
6. **Bustos-Martínez JA, Hamdan-Partida A, Gutiérrez-Cárdenas M.** *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev Biomed.* 2006 oct-dic; 17(4): 287-305.
7. **Perazzi B, Camacho M, Bombicino K, Flores Z, Vay C, Famiglietti A.** *Staphylococcus aureus*: nuevos y antiguos antimicrobianos. *Rev. Arg Microbiol.* 2010 jul; 42(3): 199-202.
8. **Tibavizco D, Rodríguez JY, Silva E, Cuervo SI, Cortés JA.** Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. *Biomedica.* 2007 apr-jun; 27(2): 294-307.
9. **Tortora GJ, Funke BR.** Introducción a la microbiología. Editorial Médica Panamericana. Buenos aires, Argentina; 2007.
10. **Parrilla-Cerrillo MC, Vazquez Castellanos JL, Saldate EO, Castañeda Nava Hernández LM.** Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. *Salud pública de Méx.* 1993 sep; 35(5): 456-463.
11. **Perdomo IL, Meléndez P.** Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigénicos a partir de alimentos. *Rev Col Cienc Quím Farm.* 2004 may; 33(1): 59-69.
12. **Mercado M, Ávila J, Rey M, Montoya M, Gamboa A, Carrascal AK, Correa DX.** Brotes por *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. *Biomedica.* 2012 sep; 32(3):375-85.
13. **Ruiz-Quezada SL, Orozco Anguiano AE, Martínez Acosta DG, López Sandoval MG, Rodríguez M. OA, Flores Calzada SC, Salazar García PR.** Estudio piloto sobre la frecuencia en chorizo de *Staphylococcus aureus* en la zona metropolitana de Guadalajara. *RESPYN.* 2010 may; 9(13):1-3.
14. **Borbolla Sala ME, Vidal Pérez MR, Piña**

- Gutiérrez OE, Ramírez Messner I, Vidal Vidal JJ.** Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, Coliformes fecales, Salmonella, Hongos, Levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante el 2003. *Salud en Tabasco*. 2004 ago; 10(2): 221-232.
15. **Caballero Torres A, Carrera Vara JA, Lengomín Fernández MA.** Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles. *Rev Cubana Alimen Nutr*. 1998 ago; 12(1):7-10.
 16. **Alejo-Riveros JC, Cortes-Muñoz MS, Correa-Lizarazo DX, Klotz-Ceberio B, Herrera-Arias FC, Martínez-Galán JP, et al.** Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. Bogotá: Imprenta Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 2011
 17. **Martinez-Pulgarín S.** Influencia de la catalasa y de la β -toxina en la patogénesis de *Staphylococcus aureus*. Memoria de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. 2005
 18. **Suarez MJ, Arias ML, Gamboa MM.** Detección de la enterotoxina A de *Staphylococcus aureus* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su correlación con las pruebas de coagulasa y termonucleasa. *Arch Latinoam Nutr*. 2008 ene; 58(1): 59-63.
 19. **Bhatia A, Zahoor S.** *Staphylococcus Aureus* Enterotoxins: A Review. *J Clin Diag Res*. 2007 abr; 3(1):188-197
 20. **Howard M, Johnson J, Russel K, Carol H. Pontzer.** Staphylococcal enterotoxin microbial superantigens. *FASEB J*. 1991 sep; 5(12): 2706-2712.
 21. **Quisberth-Barrera SR.** Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en niños menores a 5 años, en el Hospital del niño "Dr. Ovidio Aliaga Uria" durante los meses de enero a marzo 2007. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Farmaceuticas y Bioquímicas. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz. Bolivia. 2008.
 22. **Suárez-Marrero A.** Manual de formación básica para manipuladores de alimentos. Control canario de calidad y seguridad y FECAO. Ediciones: Federación Empresarial Canaria de Ocio y Restaurantes FECAO. Canarias. España. 2007.
 23. **Achón FF, Cabral PL, Walde LJ.** Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del Mercado N° 4 de Asunción, Paraguay. *Rev. ANACEM*. 2012 mar; 6(1): 14-17.
 24. **Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al.** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005 dic; 5(12): 751-762.
 25. **Muñoz AB.** La infección nosocomial y los trabajadores de la salud portadores de *Staphylococcus aureus* meticilo-resistente. *Semillas Rev Invest*. 2008 ene; 10(3): 59-62.
 26. **Anaya-Flores VE, Gómez-González DJ, Martínez-García Nizme J, Galán Custodio A, Galicia-Bautista, et al.** Nivel de conocimiento de los trabajadores de la salud sobre infecciones nosocomiales y su prevención. *Enf Infec Micro*. 2009 ene; 29(1): 20-28.
 27. **Naber CK.** *Staphylococcus aureus* bacteremia: Epidemiology, pathophysiology, and management strategies. *Clin Infect Dis*. 2009 may; 48 (suppl 4):s231-s237.
 28. **Alerta epidemiológica.** Organización Panamericana de la Salud. 2013 junio 27. En línea, Consultado el 30 mayo. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/publica/ED/Paginas/centro-nacional-enlace-alertas-internacionales-seccion-dos.aspx>
 29. **Novalés-Miranda MG.** Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in Mexico. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2011 jun; 68(4):242-249.
 30. **Villaseñor-Martínez R, Fariás-Flores G, Carrillo-Macías ME, Jáuregui-Lomelí JJ, Castañeda-Rico FE, Lepe-Cruz BE, et al.** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en un Hospital Pediátrico, comunidad urbana y rural. *Enf Infec Micro*. 2012 ene; 32(1): 6-10.
 31. **Bamberger DM, Boyd SE.** Management of *Staphylococcus aureus* Infections. *Am Fam Physician*. 2005 dic; 72(12): 2474-2481.
 32. **Garay UA, Zacate-Palacios Y, López-Herrera JR, Hernández-Sánchez EA, Jarill-Quijada MD, Alcantar-Curiel MD.** Brote de neumonía asociada al ventilador (NAV) por *Staphylococcus aureus* meticilo-resistente (SARM) en unidad de cuidados intensivos de adultos. *Enf Infec Micro*. 2011 mar; 31(1): 17-25.
 33. **Fernández-Escartín E.** Microbiología e inocuidad de los alimentos. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro. ISBN 9709263005, 9789709263008. Querétaro, México: 2000.
 34. **Forsythe SJ.** Alimentos seguros: Microbiología. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA S. A. 2000.
 35. **Chapman, GH.** The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. *J Bacteriol*. 1945 mar; 50(2): 201-203.
 36. **Chapman, GH.** A single culture medium for selective isolation of plasma coagulating staphylococci and for improved testing of chromogenesis, plasma coagulation, mannitol fermentation and the Stone reaction. *J Bacteriol*. 1946; 51:409-410.

37. **Silva-García MC, García-Bermejo MJ, Castillo-Torres L, Ania-Palacio JM, Gómez-Martínez D.** Técnico Especialista en Laboratorio del Servicio Vasco de Salud-Osakidetza 2da Edición. Editorial MAD. S.L. Sevilla, España. 2006.
38. **MacFaddin JF.** Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica, 3era edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 2003.
39. **Núñez-Martínez JP.** “Detección de *Staphylococcus aureus* y su resistencia antibacteriana en niños portadores asintomáticos de Pachuca, Hidalgo”. Tesina Médico Cirujano. Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. México. 2007.
40. **Vasconcelos NG, de Souza da Cunha MLR.** Staphylococcal enterotoxins: Molecular aspects and methods. *J Public Health Epidemiol.* 2010 jun; 2(3): 29-42.
41. **de Colsa-Ranero A.** *Staphylococcus aureus*: De la genómica a la clínica. *Rev Enf Infec Pediatr.* 2011 mar; 24(95): 91-94.
42. **Gordon RJ, Lowry FD.** Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2008 jun; 48 (suppl 5): s350-s359.
43. **Chambers HF, De Leo FR.** Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J. Clin Inv.* 2009 sep; 119(9): 2464–2474.
44. **Michael T. Madigan JM.** Biología de los microorganismos. Madrid, España: Editorial Pearson Practice Hall. 2003.
45. **Velázquez-Guadarrama N., Viguera-Galindo JC, Escalona-Venegas G, Arellano-Galindo J, Giono-Cerezo S, Nava-Frías M.** Resistencia a linezolid en *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y enterococos con elevada resistencia a aminoglucósidos en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2010 ene; 67(1): 19-26.
46. **Plata K, Rosato AE, Węgrzyn G.** *Staphylococcus aureus*: as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochim Pol.* 2009 dic; 56(4): 597-612.
47. **Llarrull LI, Fisher JF, Mobashery S.** Molecular Basis and Phenotype of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Insights into New β -Lactams that Meet the Challenge. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009 May; 53(10): 4051-4063.
48. **Velázquez-Meza ME.** Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* metiliciliorresistente. *Salud Pública de Méx.* 2005 ago; 47(5): 381-387.
49. **Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B.** Interpreting Chromosomal DNA restriction patterns produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995 sep; 33(9): 2233-2239.
50. **Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE.** The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2007 Mar; 13(3): 222–235
51. **Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG.** Multilocus Sequence Typing for Characterization of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Clones of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin Microbiol.* 2000 mar; 38(3): 1008-1015.
52. **Duarte CO, Tomasz A, de Lencastre H.** The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements. *Microb Drug Resist.* 2001; 46(7): 349–361.
53. **Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori NI, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, et al.** Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 may; 45(12): 1323–1336.
54. **Shore A, Rossney AS, Keane CT, Mark C, Enright MC, David C, et al.** Seven Novel Variants of the Staphylococcal Chromosomal Cassette mec in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Ireland. *Antimicrob Agents Chemothe* 2005 may; 49(5): 2070-2082.
55. **Chongtrakool P, Ito T, Xiao XM, Kondo Y, Trakulsomboon S, Chuntima et al.** 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.* 2006 mar; 50(6): 1001-10012.
56. **Martins A, Moraes-Rivoli DF, Pereira DC, de Souza de Cuna MLR.** Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a Brazilian university hospital. *Braz J Infect Dis.* 2014 may-jun; 18(3): 331-335.
57. **Morales-Meza MG, Ruiz de Chávez-Ramos CG.** Diferencias en la resistencia a los antimicrobianos de cepas *Staphylococcus aureus* obtenidas de diversas fuentes de aislamiento. *Universidad La Salle. Rev. del Centro de Investigación.* 2006 ene; 25(7): 45-64.
58. **Lowy FD.** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2003 may; 111(9): 1265-1273.

59. **Malachowa N, DeLeo F.** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci.* 2010 sep; 67(18): 3057–3071.
60. **Hiramatsu K.** Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis.* 2001 oct; 1(3): 147-155.
61. **Bayer LC, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, Kaplan SL, et al.** Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis.* 2011 ene; 52(3):18-55.
62. **Périchon B, Courvalin P, Van A.** Type Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemothe.* 2009 nov; 53(11): 4580–4587.
63. **Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML.** Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. *Clin Microbiol Rev.* 2010 ene; 23(1):99-139.
64. **Rong SL, Leonard SN.** Heterogeneous Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*: A review of epidemiology, diagnosis and clinical significance. *Ann Pharmacother.* 2010 May; 44(5): 844-50.