



Artículo original

Relación entre superantigenicidad, resistencia antimicrobiana y origen de aislamientos de *Staphylococcus aureus*

Relationship between super antigenicity, antimicrobial resistance and origin of *Staphylococcus aureus* isolated

Luisa Fernanda Corredor Arias¹, Jenna Samara Luligo Espinal², José Ignacio Moncayo Ortiz², Jorge Javier Santacruz Ibarra³, Adalucy Álvarez Aldana³

¹ Montana State University. Montana USA.

² Centro de Biología Molecular y Biotecnología. Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.

³ Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.

Corredor ALF, Luligo EJS, Moncayo OJI, Santacruz JJJ, Álvarez AA. Relationship between super antigenicity, antimicrobial resistance and origin of *Staphylococcus aureus* isolated. *Colomb Med (Cali)*. 2016; 47(1):15-20.

© 2016 Universidad del Valle. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License, que permite el uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el autor original y la fuente se acreditan.

Historia:

Recibido: 26 noviembre 2014
Revisado: 15 septiembre 2015
Aceptado: 27 enero 2016

Palabras clave:

Staphylococcus aureus, infección hospitalaria, toxina, resistencia antibiótica, sensibilidad microbiana, genotipo, variación genética

Keywords:

Staphylococcus aureus, hospital infection, toxin, antibiotic resistance, microbial sensitivity, genotype, genetic variation

Resumen

Introducción: *Staphylococcus aureus*, es un patógeno que causa intoxicación alimentaria e infecciones hospitalarias y comunitarias.

Objetivo: Establecer el perfil de genes de superantígenos en aislamientos hospitalarios correlacionándolos con el tipo de muestra clínica, susceptibilidad antimicrobiana y origen hospitalario o comunitario.

Métodos: Se analizaron 81 aislamientos de *S. aureus* de pacientes de un hospital colombiano. Fueron clasificadas por susceptibilidad antimicrobiana, tipo de muestra clínica y origen hospitalario o comunitario. Se detectó por PCR individual y múltiple 22 genes de superantígenos (18 enterotoxinas, una toxina del choque tóxico-1 y tres toxinas exfoliativas).

Resultados: El 95.1% albergaban uno o más genes de superantígenos con un promedio de 5.6 genes. La prevalencia individual fue variable y el gen con mayor prevalencia fue *seg* (51.9%). Se obtuvieron 39 genotipos, y el genotipo *gimnou* (cluster *egc* completo) fue el de mayor frecuencia (16.0%) y asociado con otros genes (13.6%). La correlación de superantígenos frente a tipo de muestra clínica y susceptibilidad antimicrobiana no mostró diferencia estadística significativa, pero hubo diferencia significativa con el tipo de aislamiento hospitalario o comunitario ($p=0.049$).

Conclusiones: Los resultados muestran la diversidad genética en los aislados hospitalarios respecto a la presencia de superantígenos y no muestra una relación concluyente con el tipo de muestra clínica y susceptibilidad antimicrobiana pero sí con origen de los aislamientos comunitarios y hospitalarios. Un análisis de la interrelación entre la virulencia, epidemividad y resistencia antimicrobiana de las poblaciones bacterianas es necesario para predecir el futuro de las enfermedades infecciosas.

Abstract

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a pathogen that causes food poisoning as well as hospital and community acquired infections.

Objective: Establish the profile of superantigen genes among hospital isolates in relation to clinical specimen type, susceptibility to antibiotics and hospital or community acquisition.

Methods: Eighty one isolates obtained from patients at Colombian hospital, were classified by antimicrobial susceptibility, specimen type and hospital or community acquired. The PCR uniplex and multiplex was used for detection of 22 superantigen genes (18 enterotoxins, 1 *tsst-1* and 3 exfoliative toxins).

Results: Ninety five point one percent of isolates harbored one or more of the genes with an average of 5.6 genes. Prevalence of individual genes was variable and the most prevalent was *seg* (51.9%). Thirty nine genotypes were obtained, and the genotype *gimnou* (complete *egc* cluster) was the most prevalent alone (16.0%) and in association with other genes (13.6%). The correlation between presence of superantigens and clinical specimen or antimicrobial susceptibility showed no significant difference. But there was significant difference between presence of superantigens and the origin of the isolates, hospital or community acquired ($p=0.049$).

Conclusions: The results show the variability of the superantigen genes profile in hospital isolates and shows no conclusive relationship with the clinical sample type and antimicrobial susceptibility, but there was correlation with community and hospital isolates. The analysis of the interplay between virulence, epidemic and antibiotic resistance of bacterial populations is needed to predict the future of infectious diseases.

Autor de correspondencia:

José Ignacio Moncayo Ortiz. MSc. Microbiología. Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Ciencias de la Salud. La Julita, Apartado Aéreo 097. Teléfono: 57- 6 - 3215393 extensión 15. Fax: 57- 6 - 3215393 extensión 12. Pereira, Risaralda, Colombia. E-mail: jimo@utp.edu.co

Introducción

Staphylococcus aureus es el principal patógeno humano capaz de causar un amplio rango de infecciones, incluyendo infecciones de tejidos blandos y la piel, infecciones asociadas a la atención en salud (infecciones nosocomiales), intoxicación alimentaria e infecciones más severas como el síndrome del choque tóxico, endocarditis, osteomielitis, meningitis y neumonía^{1,2}.

La patogenicidad de *S. aureus* es muy compleja, involucrando numerosos productos bacterianos y sofisticadas vías de regulación³. Han sido descritos muchos factores de virulencia, resistencia a los antibióticos, producción de enzimas y exotoxinas que contribuyen a su habilidad para colonizar y causar enfermedad^{1,4}.

Algunas cepas producen una o más exoproteínas, incluyendo enterotoxinas (SE, Staphylococcal Enterotoxins), toxina del síndrome del choque tóxico (TSST-1, Toxic Shock Syndrome Toxin-1), toxinas exfoliativas (TE, Toxin Exfoliative) y leucocidinas⁴.

La superantigenicidad es una de las propiedades más estudiadas de estas exoproteínas, las cuales incluyen su capacidad para activar entre el 20% y 30% de los linfocitos T (LT) con una producción masiva de citocinas y quimiocinas pro-inflamatorias que pueden causar fiebre, hipotensión, y otros desórdenes que pueden conducir a un potencial choque tóxico letal^{1,5,6}.

Se conocen cinco enterotoxinas clásicas (SEA a SEE), otras enterotoxinas de más reciente descripción, denominadas enterotoxinas no clásicas (SEG to SEU)^{1,4,7-10}. Una nueva enterotoxina ha sido detectada y denominada SEIX (gen *selx*) que contribuye a la letalidad de algunas cepas de SARM-AC en una neumonía necrozante¹¹.

Muchas de las enterotoxinas son codificadas en elementos genéticos móviles localizados en islas de patogenicidad, transposones, plásmidos, fagos o regiones genéticas altamente variables (vSaβ)^{6,11}.

Existe un grupo de genes de enterotoxinas (*cluster egc*) que asocia los genes *seg-sei-sem-seo-sen* y algunas veces *seu*, los cuales han sido relacionados a una virulencia incrementada en cepas de *S. aureus* y está localizada en la isla de patogenicidad vSA^{9,12,13}. Otros genes de enterotoxinas son detectados en el casete cromosómico de resistencia a meticilina (SCCmec)¹⁴.

Las toxinas exfoliativas producidas por *S. aureus* son responsables del síndrome de piel escaldada, con manifestaciones ampollas en la piel. Los niños y jóvenes son los más afectados^{15,16}. Las ETs son clasificadas como ETA, ETB y ETD, siendo ETB la más frecuente y ETD la menos frecuente¹⁷⁻¹⁹.

Estudios recientes muestran la prevalencia de los genes de superantígenos (SAGs) en aislamientos de *S. aureus* de diferentes fuentes y regiones geográficas. Algunos estudios clínicos han intentado establecer una correlación entre la detección de los genes de superantígenos con la infección del paciente, pero estas relacionadas no han sido plenamente esclarecidas^{5,20,21}.

El objetivo del estudio fue establecer la relación entre el perfil de genes de superantígenos (SEs, ETs and TSST-1) con la resistencia a los antibióticos, tipo de espécimen clínico (sangre, secreciones y otros), y origen de las cepas hospitalarias o comunitarias en

aislamientos de *S. aureus* (AH: Adquiridas en el Hospital o AC: Adquiridas en la Comunidad) con el propósito de establecer la virulencia potencial de los aislamientos de *S. aureus* de un hospital colombiano.

Materiales y Métodos

Estudio prospectivo llevado a cabo con 81 aislamientos de *S. aureus* obtenidos en el período de febrero de 2009 a marzo de 2011. Únicamente aislamientos de *S. aureus* de pacientes de ambos sexos y adultos con diagnóstico de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) fueron incluidos en el estudio y se excluyeron pacientes con infecciones polimicrobianas y los niños. Se analizó solamente el primer aislamiento cultivado y donado por el laboratorio clínico del hospital.

El estudio fue aprobado y supervisado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Tecnológica de Pereira.

La identificación de los aislados clínicos y la susceptibilidad antibiótica fueron llevadas a cabo por un sistema automatizado (Automated Systems for Susceptibility Testing, WalkAway/Microscan(r), Dade Behring) en el laboratorio clínico del Hospital Universitario San Jorge (Pereira-Colombia), este hospital presta servicios de II, III y IV niveles de atención en salud con 402 camas y un promedio mensual de ingresos y egresos de 2,100 y 1,700 pacientes respectivamente.

Los aislados fueron confirmados como *S. aureus* por PCR usando los iniciadores (*Primers*): *Sa442-1* 5'-AAT CTT TGT CGG TAC ACG ATA TTC TTC ACG -3' and *Sa442-2* 5'-CGT AAT GAG ATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA -3', para amplificar una porción del gen *Sa442* de *S. aureus* específico de especie²².

Clasificación de los aislamientos de *S. aureus*

Los aislados fueron clasificados de acuerdo con el tipo de espécimen clínico (sangre, secreciones y otros). Las secreciones procedían de oídos, ojos, músculo, quemaduras, articulaciones, abscesos y heridas. En otros se incluyeron catéteres, aspirados traqueobronquiales, líquido peritoneal, pleural, cefalorraquídeo y orina.

Los aislamientos también fueron clasificados como resistentes a uno o más antibióticos y finalmente, los aislados fueron clasificados por el Hospital San Jorge como AH o AC.

Extracción de ADN

La extracción del ADN genómico fue realizado por el método de CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide) modificado para el uso de lisostafina y metodología descrita por Johnson *et al*²³. El ADN extraído fue almacenado a -20° C en alícuotas de 20 ng/μL para posterior análisis por PCR.

Identificación de los genes de los superantígenos

Todos los aislamientos fueron examinados para los 22 genes (*sea* a *see*, *tsst-1*, *seg* a *ser*, *seu*, *eta*, *etb* y *etd*) por PCR. Cinco cepas de referencia fueron usadas como control positivo, conteniendo uno o más genes de superantígenos: ATCC 700699, ATCC BAA-1707, ATCC 13565, ATCC 13566 y ATCC 19095 (FRI137). La secuencia nucleotídica para todos los iniciadores usados en el estudio y sus respectivos productos de amplificación fueron descritos por otros autores^{10,18,24} (Tabla 1).

Tabla 1. Secuencia de los primers, los nucleótidos y el tamaño del producto amplificado por PCR.

Gene	Secuencia primer (5'-3')	Tamaño (pb)	Referencia
<i>sea</i>	GGT TAT CAA TGT GCG GGT GG CGG CAC TTT TTT CTC TTC GG	102	24
<i>seb</i>	GTA TGG TGG TGT AAC TGA GC CCA AAT AGT GAC GAG TTA GG	164	24
<i>sec</i>	AGA TGA AGT AGT TGA TGT GTA TGG CAC ACT TTT AGA ATC AAC CG	451	24
<i>sed</i>	CCA ATA ATA GGA GAA AAT AAA AG ATT GGT ATT TTT TTT CGT TC	278	24
<i>see</i>	AGG TTT TTT CAC AGG TCA TCC CTT TTT TTT CTT CGG TCA ATC	209	24
<i>tst</i>	ACC CCT GTT CCC TTA TCA TC TTT TCA GTA TTT GTA ACG CC	326	24
<i>eta</i>	GCA GGT GTT GAT TTA GCA TT AGA TGT CCC TAT TTT TGC TG	93	24
<i>etb</i>	ACA AGC AAA AGA ATA CAG CG GTT TTT GGC TGC TTC TCT TG	226	24
<i>etd</i>	AAC TAT CAT GTA TCA AGG CAG AAT TTC CCG ACT CAG	376	18
<i>seg</i>	AAGTAGACATTTTGGCGTTCC AGAACCATCAAACCTCGTATAGC	287	25
<i>seh</i>	GTCTATATGGAGGTACAACACT GACCTTTACTTATTTTCGCTGTC	213	25
<i>sei</i>	GGTGATATTGGTGTAGGTAAC ATCCATATTCTTTGCCTTTACCAG	454	25
<i>sej</i>	ATAGCATCAGAACTGTTGTTCGG CTTTCTGAATTTTACCACCAAAGG	152	25
<i>sek</i>	TAGGTGTCTTAATAATGCCA TAGATATTCCGTTAGTAGCTG	293	25
<i>sel</i>	TAACGGCGATGTAGGTCCAGG CATCTATTTCTTGTGCGGTAAC	383	25
<i>sem</i>	GGATAATTCGACAGTAACAG TCCTGCATTAATCCAGAAC	379	25
<i>sen</i>	TATGTTAATGCTGAAGTAGAC ATTTCCAAAATACAGTCCATA	282	25
<i>seo</i>	TGTGTAAGAAGTCAAGTGTAG TCTTTAGAAATCGCTGATGA	214	25
<i>sep</i>	TGATTTATTAGTAGACCTTGG ATAACCAACCGAATCACCAG	396	25
<i>seq</i>	AATCTCTGGTCAATGGTAAGC TTGTATTTCGTTTGTAGGTATTTTCG	122	25
<i>ser</i>	GGATAAAGCGGTAATAGCAG GTATTCCAAAACACATCTAAC	166	25
<i>seu</i>	ATTTGCTTTTATCTTCAT GGACTTTAATGTTGTTTCTGAT	167	10
<i>fem A</i>	AAAAAAGCACATAACAAGCG GATAAAGAAGAAACCAGCAG	132	24
<i>fem B</i>	TTACAGAGTTAACTGTTACC ATACAAATCCAGCAGCTCT	651	25

PCR múltiple

Dos series de PCR múltiple fueron utilizadas para amplificar los genes de las enterotoxinas clásicas (*sea* a *see*), toxina del síndrome del choque tóxico (*tsst-1*) y toxinas exfoliativas (*eta* y *etb*). El control interno de reacción se efectuó con la pareja de iniciadores *femA*, que amplifica un fragmento de 132 pb del gen *femA* (componente estructural del peptidoglicano, asociado a resistencia a meticilina)^{10,18,24}. Las cepas de referencia ATCC fueron usadas como control positivo y como control negativo agua destilada estéril.

La PCR múltiple serie A incluyó iniciadores para los genes *sea* a *see* y *femA*. La reacción de amplificación fue llevada a cabo en un volumen final de 25 µL, conteniendo *buffer* 1X (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 9.0), 3 mM MgCl₂, 200 µM dNTPs, 20 pmol de cada iniciador *sea*, *seb*, *sec* y *see*, 40 pmoles de iniciador *sed*, 1 U de Taq polimerasa (Invitrogen) y 1 µL de ADN a una concentración de 20 ng/µL. La amplificación fue efectuada en un termociclador (Perkin Elmer GeneAmp 9700), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94° C por un min, anillamiento a 61° C por 30 segundos y extensión a 72° C por un min, para 35 ciclos²⁴.

La PCR múltiple serie B incluyó iniciadores para los genes de las toxinas exfoliativas A y B y el *gentsst-1*. La reacción de amplificación tuvo las mismas condiciones que la serie A, excepto, para la concentración del iniciador *eta* con 50 pmoles como lo describe Mehrotra *et al*²⁴. Para *tsst-1* y *etb* fue 20 pmoles. La temperatura de amplificación y ciclos como se describe en la serie A.

PCR individual

Nosotros utilizamos para detectar los genes de las enterotoxinas no clásicas: *seg* a *ser*, *seu*, y la toxina exfoliativa *etd* la PCR individual. Los iniciadores para el gen *femB* fueron usados como control interno de reacción, el cual es también un factor esencial de la resistencia a meticilina²⁵. Cepas de referencia ATCC fueron usadas como control positivo y agua destilada estéril como control negativo.

La mezcla de reacción (25 µL) contenía 20 pmol de cada iniciador, 2.5 mM MgCl₂, 200 µM de cada oligonucleótido, 1 U of Taq DNA polimerasa and *buffer* 1X. Las condiciones del termociclador fueron: desnaturalización a 94° C por 30 s, anillamiento a 55° C por 30 s, y una extensión a 72° C por 60 s para 30 ciclos²⁵.

La detección y análisis de todos los productos de amplificación fueron efectuados por electroforesis en gel de agarosa al 2% coloreado con Bromuro de Etidio.

Análisis estadístico

Se elaboraron Tablas de contingencia y se analizaron diferentes tipos de correlaciones entre la presencia o ausencia de los genes de superantígenos frente a la resistencia antibiótica, tipo de espécimen clínico, origen hospitalario o comunitario de *S. aureus*. Se aplicó la prueba exacta de Fisher y $p \leq 0.05$ con un intervalo de confianza de 95% fueron considerados estadísticamente significativos.

Resultados

Ochenta y un aislamientos de *S. aureus* fueron identificados por el sistema automatizado y confirmados por la amplificación del gen *Sa442* (100%). La distribución de los aislamientos por género fue del 51.9% (42/81) para sexo masculino con un promedio de genes del 6.2 y 48.1% (39/81) para sexo femenino con un promedio de genes de 4.9, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.37$).

Clasificación de los aislamientos de *S. aureus* de acuerdo al tipo de espécimen clínico

Los aislados clínicos de *S. aureus* en 23 muestras de sangre (28.4%), 39 de secreciones (48.1%) y 19 fueron clasificados como otros (23.5%).

Tabla 2. Susceptibilidad de los grupos antimicrobianos en aislados de *S. aureus*. N= 81.

Grupo antimicrobiano	S	%	R	%
Beta-Lactam	6	7.4	75.0	92.6
Chloranphenicol	81	100	0	0.0
Quinolones	54	66.7	27.7	33.3
Clindamycin	54	66.7	27.7	33.3
Macrolide	43	53.1	38.1	46.9
Fusidic acid	81	100	0	0.0
Aminoglycoside	56	69.1	25.1	30.9
Nitrofurantoin	81	100	0	0.0
Rifamycin	80	98.8	1	1.2
Tetracycline	59	72.8	22.8	27.2
Trimethoprim/Sulfonamide	81	100	0	0.0
Glycopeptide	81	100	0	0.0

S= sensibilidad
R= resistencia

La susceptibilidad antibiótica en *S. aureus* mostró que 6 aislados (7.4%) fueron sensibles a todos los 12 grupos de antibióticos probados (26 antibióticos) y 75 (92.6%) fueron resistentes a uno o más antibióticos. El rango de resistencia varió entre 92.6% (75/81) para Beta-Lactámicos a 1.2% (1/81) para rifampicina. Adicionalmente, 31 aislamientos fueron resistentes a oxacilina (38.7%) fenotípicamente clasificados como MRSA (Tabla 2).

La prevalencia de los 22 genes detectados por PCR en los 81 aislamientos de *S. aureus* fue de 95.1% (77/81) y en 4.9% (4/81) no fueron detectados los genes. El rango de genes detectados fue de 2 genes en 11 aislamientos (13.6%) y 13 genes en 6 aislamientos (7.5%), para un promedio de 5.9 genes.

La distribución de los genes mostró 39 genotipos y el genotipo *gimnou* (*Cluster egc* completo) fue el más prevalente (16.0%) y asociado con otros genes (13.6%), seguido por el genotipo *sek-seg* con 18.4% y 42.0% de los otros genotipos presentaron diferentes combinaciones de genes.

La prevalencia individual de los genes fue variable y el gen *seg* fue

Tabla 3. Perfil de los genes superantígeno distribuidos como clásicos, no clásicos, toxina del síndrome del choque tóxico y toxinas exfoliativas en aislados clínicos de *S. aureus*.

Variabes	Gene	NP	%
Superantígenos Clásicos	<i>sea</i>	9	11.1
	<i>seb</i>	8	9.9
	<i>sec</i>	13	16.0
	<i>sed</i>	3	3.7
	<i>see</i>	3	3.7
Toxina del síndrome del choque tóxico	<i>tsst-1</i>	5	6.2
Superantígeno no clásico	<i>seg</i>	42	51.9
	<i>seh</i>	29	35.8
	<i>sei</i>	36	44.4
	<i>sej</i>	3	3.7
	<i>sek</i>	25	30.9
	<i>sel</i>	18	22.2
	<i>sem</i>	27	33.3
	<i>sen</i>	36	44.4
	<i>seo</i>	30	37.0
	<i>seq</i>	37	45.7
	<i>seu</i>	41	50.6
Toxinas exfoliativas	<i>eta</i>	2	2.5
	<i>etd</i>	34	42.0

NP= número positivo

el de mayor prevalencia (51.9%), seguido de *seq* (45.7%) y el de menor prevalencia fue el gen *eta* (2.5%). Los genes *sep*, *ser* y *etb* no fueron detectados. Hubo una diferencia marcada entre los genes clásicos con un promedio de genes de 0.44 y 4.0 para no clásicos (Tabla 3).

Los Beta-Lactámicos fue el único grupo que mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar la presencia de los superantígenos y la susceptibilidad a los antibióticos del grupo en los aislamientos de *S. aureus*.

Correlación entre la presencia de los genes de superantígenos y el tipo de aislamiento hospitalario o comunitario

La Tabla 4 muestra los resultados de la detección de los genes de superantígenos de acuerdo al origen AH o AC, donde 43.2% (35/81) de los aislados AH tuvieron uno o más genes de SAGs y 59.9% (42/81) de AC con uno o más genes de SAGs con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.049$).

Correlación entre la presencia de los genes de superantígenos y el tipo de muestra clínica

De los 23 aislamientos de los especímenes de sangre, 21 (25.9%) tuvieron uno o más genes de SAGs con un promedio de 5,2 genes. Para secreciones, de los 39 aislamientos, en 37 (45.7%) se detectó los genes con promedio de 5.8 de genes, y para los 19 aislados clasificados como otros, todos tuvieron uno o más genes de los superantígenos (23.5%) con un promedio de 6.9 genes. El análisis estadístico por la prueba exacta de Fisher no mostró diferencia significativa ($p = 0.566$) (Tabla 4).

Discusión

Staphylococcus aureus es el segundo patógeno más aislado de infecciones en el Hospital Universitario San Jorge de Pereira al igual que otros hospitales de Colombia²⁶. El 95.1% de todos los aislamientos contenían al menos un gen de superantígeno. Esta alta prevalencia también ha sido reportada por Varshney *et al.*, con el 99% 5, Chiang, *et al.*, con el 91.8% 10, Xie *et al.*, con el 90.7% 27 y Omoe *et al.*, con el 77.4%²⁵.

La prevalencia de genes individuales varió como los reportados por otros autores^{5,6,10}. El gen individual más detectado en el estudio fue *seg* (51.9%) el cual también ha sido reportado en otros estudios^{6,10,25}. En Colombia, Portillo *et al.*²⁸, encontró *seg* en un 94% de aislados de MRSA. Para otros genes, en contraste a Portillo, nosotros detectamos *tsst*, *sea*, *seb*, *sec*, *seh* y *sel* pero no *sep*, *ser* y *etb*, esto indica la heterogeneidad genética de *S. aureus* en un mismo país. Los genes individuales o sus asociaciones indican la diversidad en todos los aislamientos de *S. aureus* sin importar el origen.

El número de genotipos detectados fue de 39, similar a lo reportado por Omoe *et al.*²⁵, y superior al reportado por Kuroda *et al.*⁹, lo cual nos permite inferir que el número de genotipos es variable y dependiente del tipo de cepa y área geográfica de procedencia del aislamiento.

La presencia del *cluster egc* completo o asociado con otros SAGs en el estudio es consistente con otros reportes en su prevalencia^{5,6,12,29} y más bajo que lo reportado por Portillo *et al.*²⁸. Un hallazgo

Tabla 4. Relacion entre genes superantígeno con la susceptibilidad antimicrobial, origen hospitalario o comunitarios y tipo de muestras clínicas.

Superantígenos	Susceptibilidad antimicrobial				Lugar adquisición				Tipo de espécimen clínico					
	S	%	R	%	AH	%	AC	%	Sangre	%	Secreción	%	Otro	%
SAg ⁺	5	6.2	75	92.6	35	43.2	42	51.9	21	25.9	37	45.7	19	23.5
SAg ⁻	1	1.2	0	0.0	4	4.9	0	0.0	2	2.5	2	2.5	0	0.0
Total	6	7.4	75	92.6	39	48.1	42	51.9	23	28.4	39	48.1	19	23.5
<i>p</i>				0.074				0.049						0.566

SAg: superantígeno. S: susceptible; R: resistante. AH: Adquirido Hospital; AC: Adquirido Comunidad. *p*: Test exacto de Fisher's

interesante fue la detección de la pareja de genes *sek-seq* (18.5%) que se ha asociado al fago ϕ -3, seguido en frecuencia por el *cluster egc*; la pareja *sed-sej* que es codificado en el plásmido pIB485 y reportado por Varshney *et al.*⁵, no fue detectado en el estudio.

Conclusiones

La alta detección y la variedad de arreglos de genes superantígenos en aislados hospitalarios de *S. aureus* demuestran su virulencia, y su presencia permite la diferenciación entre aislados AC y AH.

No se pudo establecer una correlación entre los superantígenos y los genes de resistencia a antibióticos y con el tipo de muestra clínica. Para estudios futuros en el tema será importante establecer si la agrupación *egc* es un posible marcador de virulencia en aislados de *S. aureus*.

Es importante tener en cuenta que una limitación del estudio fue que no se pudo establecer la expresión génica superantígeno *in vitro*. La detección de proteínas superantígenos se deberá realizar en futuras investigaciones para determinar la verdadera virulencia en los aislamientos hospitalarios de *S. aureus*.

Actualmente, se necesita tener un análisis entre la interacción de la virulencia y resistencia a los antibióticos de las poblaciones de bacterias para predecir mejor futuras epidemias de enfermedades infecciosas.

Agradecimientos:

A la Universidad Tecnológica de Pereira, por su financiación (código de proyecto 05-09-8) y el apoyo al desarrollo de la investigación. También expresamos nuestro agradecimiento al grupo de bacteriólogos y directivas del Hospital San Jorge, ESE Pereira por donar los aislados de *S. aureus*.

Conflicto de interés:

Ninguno de los autores tiene un conflicto de interés

Referencias

- Larkin EA, Carman RJ, Krakauer T, Stiles BG. *Staphylococcus aureus*: The toxic presence of a pathogen extraordinaire. *Current Medicinal Chemistry*. 2009; 16: 4003–19.
- Bronner S, Monteil H, Prévost G. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiology Reviews*. 2004; 28: 183–200.
- François P, Scherl A, Hochstrasser D, Schrenzel J. Proteomic approaches to study *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *J Proteomics*. 2010; 73: 701–8.

4. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*. 2000; 13: 16–34.

5. Varshney AK, Mediavilla JR, Robiou N, Guh A, Wang X, Gialanella P, *et al.* Diverse enterotoxin gene profiles among clonal complexes of *Staphylococcus aureus* isolates from the Bronx, New York. *Appl Environ Microbiol*. 2009; 75(21): 6839–49.

6. Holtfreter S, Grumann D, Schudde M, Nguyen H, Eichler P, Strommenger B, *et al.* Clonal distribution of superantigen genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol*. 2007; 45: 2669–80.

7. McCormick JK, Yarwood JM, Schlievert PM. Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. *Ann Rev Microbiol*. 2001; 55: 77–104.

8. Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougél C, *et al.* *egc*, a highly prevalent operon of enterotoxin gene forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 2001; 166: 669–77.

9. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I, *et al.* Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2001; 357: 1225–39.

10. Chiang YC, Liao WW, Fan CM, Pai WY, Chiou CS, Tsen HY. PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. *Int J Food Microbiol*. 2008; 121(1): 66–73.

11. Wilson G, Seo KS, Cartwright RA, Connelley T, Chuang-Smith ON, Merriman J, *et al.* A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia. *PLoS Pathog*. 2011; 7(10): e1002271.

12. Blaiotta G, Fusco V, von Eiff C, Villani F, Becker K. Biotyping of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* by enterotoxin gene cluster (*egc*) polymorphism and spa typing analyses. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(9): 6117–23.

13. Lindsay JA, Holden MT. Understanding the rise of the superbug: investigation of the evolution and genomic variation of *Staphylococcus aureus*. *Funct Integr Genomics*. 2006; 6: 186–201.

14. Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A, *et al.* Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet*. 2002; 359: 1819–27.

15. Ladhani S, Joannou CL, Lochrie DP, Evans RW, Poston SM. Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12: 224–42.
16. Plano LR. *Staphylococcus aureus* exfoliative toxins: how they cause disease. *J Invest Dermatol.* 2004; 122: 1070–77.
17. Kondo I, Sakurai S, Sarai Y, Futaki S. Two serotypes of exfoliation and their distribution in staphylococcal strains isolated from patients with scalded-skin syndrome. *J Clin Microbiol.* 1975; 1: 397–400.
18. Ruzicková V, Voller J, Pantucek R, Petrás P, Doskar J. Multiplex PCR for detection of three exfoliative toxin serotype genes in *Staphylococcus aureus*. *Folia Microbiol.* 2005; 50: 499–502.
19. Yamaguchi T, Hayashi T, Takami H, Ohnishi M, Murata T, Nakayama K. *et al.* Complete nucleotide sequence of *Staphylococcus aureus* exfoliative toxin B plasmid and identification of a novel ADP-ribosyltransferase, EDIN-C. *Infect Immun.* 2001; 69: 7760–71.
20. Ferry T, Thomas D, Perpoint T, Lina G, Monneret G, Mohammedi I, *et al.* Analysis of superantigenic toxin Vbeta T-cell signatures produced during cases of staphylococcal toxic shock syndrome and septic shock. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14: 546–54.
21. Fleischer B, Schrezenmeier H. T cell stimulation by staphylococcal enterotoxins. Clonally variable response and requirement for major histocompatibility complex class II molecules on accessory or target cells. *J Exp Med.* 1988; 167: 1697–707.
22. Martineau F, Picard JR, Roy PR, Ouellette M, Bergeron MG. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 1998; 36: 618–23.
23. Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Pollard DR, Rozee KR. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(3): 426–30.
24. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 1032–5.
25. Omoe K, Hu DL, Takahashi-Omoe H, Nakane A, Shinagawa K. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. *FEMS Microbiol Lett.* 2005; 246: 191–8.
26. Briceño DF, Correa A, Torres JA, Pacheco R, Grupo de Resistencia Bacteriana Nosocomial de Colombia Actualización de la resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de nivel III de Colombia: años 2006, 2007 y 2008. *Biomédica;* 2010; 30: 371–81.
27. Xie Y, He Y, Gehring A, Hu Y, Li Q, Tu S, Shi X. Genotypes and toxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from China. *PLoS One.* 2011; 6(12): e744–9.
28. Portillo B, Moreno J, Yomayusa N, Alvarez C, Castro B, Escobar J, *et al.* Molecular epidemiology and characterization of virulence genes of community- acquired and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Colombia. *Int J Inf Dis.* 2013; 17: e744–9.
29. van Belkum A, Melles DC, Snijders SV, van Leeuwen WB, Wertheim HF, Nouwen JL, *et al.* Clonal distribution and differential occurrence of the enterotoxin gene cluster, egc, in carriage- versus bacteremia-associated isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 1555–7.