

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELAS DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

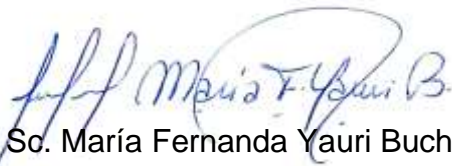
Susceptibilidad antimicrobiana de aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA)

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA
EN MICROBIOLÓGIA

STEPHANY DEL ROSARIO MURILLO BORJA

Quito, 2023

Certifico que la disertación de Licenciatura en Microbiología de Stephany del Rosario Murillo Borja ha sido concluida en conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



M. Sc. María Fernanda Yauri Bucheli

Directora de la disertación

Quito, 23 de junio de 2023

A Dios, a mi abuelita, a mis padres, amigos y a todas las personas que me acompañaron a lo largo de la carrera.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por estar siempre a mi lado y nunca dejarme sola en los momentos más difíciles de mi vida, ya que gracias a él he conocido a las personas correctas en el momento correcto para alcanzar este logro tan anhelado.

Quiero agradecer a mi directora de tesis, M. Sc. María Fernanda Yauri Bucheli por su guía, orientación, gran paciencia a lo largo de todo el proceso. Sus conocimientos, compromiso y dedicación han sido fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a la Dra. Iliana Alcocer por abrirme las puertas a su laboratorio, por creer en mí, por autorizarme el uso de los materiales y equipos necesarios para el estudio, por orientarme en el camino de la microbiología.

A mis profesores y mentores de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por su inspiración y enseñanzas a lo largo de mi formación académica. Sus conocimientos y experiencia han sido una gran influencia en mi desarrollo como investigadora.

A mi abuelita Angelica Villacrés, en el cielo que me ha brindado grandes consejos y sé que siempre me cuida.

A mi padre Segundo Murillo, mi madre Guadalupe Borja y mi tía Marcia Borja quienes me han brindado su amor, comprensión y aliento durante todo este tiempo. Su apoyo incondicional ha sido mi mayor motivación para superar los desafíos que se presentaron en el camino.

A Camila Ortiz, por su amistad verdadera de años, por siempre estar para mí y nunca dejarme sola en los momentos más difíciles, ser una hermana más para mí, y mi confidente que siempre llevaré en el corazón.

A Jerram Pozo, por ser una gran persona, gracias por ser mi mejor amigo y siempre acompañarme a lo largo de la carrera, espero siempre contar contigo.

A Jhordan Caiza, por tu apoyo incondicional, amor y cariño que siempre me brindaste en todo momento.

Agradezco a mis amigos y colegas, Kevin Gallo, Camila Nuñez, José Yanéz, Juanfer Bayas, Francis Herrera, Micaela Yépez, Jonattan Tobar, Dylon Ramos, y Francisco Yanéz, por brindarme una gran compañía, apoyo, cariño y momentos únicos mi proceso de formación como Microbióloga, siempre serán mi segunda familia.

A Isaac Ñacata, Paul Vargas y Jazive Esparza por su grandiosa amistad y compañía durante la realización de la parte experimental de este trabajo siempre voy a tener una gran parte de ustedes conmigo.

Doy gracias a la Dirección General Financiera de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, al Decanato de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, y a los Coordinadores de la Carrera de Microbiología por financiar este estudio mediante los fondos para Trabajos de Titulación.

A todos y cada uno de ustedes, muchas gracias por su contribución y por formar parte de este importante logro en mi vida académica. Su apoyo ha sido fundamental y siempre lo llevaré en mi corazón.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	8
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
4.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO	9
4.2. REACTIVACION DE LAS BACTERIAS	9
4.3. IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE <i>Staphylococcus aureus</i>	10
4.4. MANTENIMIENTO DE LAS CEPAS	11
4.5. DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE <i>Staphylococcus aureus</i>	11
4.6. ESTADÍSTICA	12
5. RESULTADOS	13
5.1. IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE <i>Staphylococcus aureus</i>	13
5.2. DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE <i>Staphylococcus aureus</i>	19
6. DISCUSIÓN	23
7. CONCLUSIONES.....	27
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
9. ANEXOS	36

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Identificación bioquímica de los aislados bacterianos de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Tabla 2. Tabla de frecuencias porcentuales de la susceptibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
Tabla 3. Susceptibilidad antibiótica en <i>Staphylococcus aureus</i>	20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de campo óptico de Tinción Gram por microscopía óptica (100X).....	13
Figura 2. Crecimiento de <i>S. aureus</i> en placas de agar sangre	13
Figura 3. Crecimiento bacteriano de <i>S. aureus</i> en agar manitol salado.....	14
Figura 4. Prueba de catalasa	15
Figura 5. Prueba de coagulasa	15
Figura 6. Prueba de DNasa.....	16
Figura 7. Prueba de oxidasa	16
Figura 8. Prueba de ureasa.....	17
Figura 9. Porcentaje de la susceptibilidad antibiótica de los aislados bacterianos de <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Figura 10. Antibiogramas de tres aislados de <i>Staphylococcus aureus</i>	22

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Evolución de la Resistencia en <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Anexo 2. Aislados bacterianos de <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Anexo 3. Antibióticos empleados en el desarrollo del Antibiograma de <i>Staphylococcus aureus</i>	37

1. RESUMEN

Staphylococcus aureus es un coco Gram positivo que causa diferentes tipos de infecciones que circulan en centros hospitalarios y también en la comunidad. El presente estudio evaluó la susceptibilidad antibiótica de 18 aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA). Se reactivaron los aislados y se utilizaron pruebas bioquímicas en la identificación de la especie de *S. aureus* mediante tinción Gram, pruebas de catalasa, coagulasa, oxidasa, DNAasa, ureasa y crecimiento en manitol salado. Para determinar el perfil de susceptibilidad antibiótica se empleó el método de difusión por disco Kirby-Bauer. A los aislamientos confirmados como *S. aureus* se identificó su perfil de susceptibilidad a los siguientes antibióticos: penicilina, eritromicina, gentamicina, cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, linezolid, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, rifampicina y cefoxitina. La evaluación de respuestas se llevó a cabo en la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton donde una suspensión bacteriana fue sembrada en 3 planos rotando la placa 180°. Se colocaron cinco discos por placa utilizando una pinza estéril, en la superficie del agar y se incubó a 37 °C por 24 horas exactamente. Del total de aislados analizados de *S. aureus* el 100% (18/18) fue resistente a penicilina, el 67% (12/18) fue resistente a cefoxitina, el 33% (6/18) a eritromicina y el 11% (2/18) a tetraciclina. Se observó sensibilidad a rifampicina, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazole, linezolid del 100% (18/18). La sensibilidad a cloranfenicol, clindamicina y gentamicina mostró un 94% (17/18) de efectividad, por tanto, los aislados analizados podrían ser controlados mediante este tipo de antibióticos. El estudio enfatizó la importancia de la evaluación correcta de la susceptibilidad antibiótica. El análisis permitió establecer la dinámica de la resistencia en *S. aureus*. Esta información podría ser usada en la implementación de medidas rigurosas de prevención y control de la diseminación de la resistencia para reducir el riesgo de fracaso terapéutico en el tratamiento de infecciones.

Palabras claves: *Staphylococcus aureus*, susceptibilidad antibiótica, resistencia antibiótica, difusión por disco.

2. ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a Gram positive coccus that causes different types of infections that circulate not only in the community but also in hospitals. The present study evaluated the antibiotic susceptibility of 18 bacterial isolates of *Staphylococcus aureus* from the Bacterial Collection - Quito Católica (CB-QCA). The isolates were reactivated, and biochemical tests were used to identify the *S. aureus* species by means of Gram staining, tests for catalase, coagulase, oxidase, DNAase, urease, and growth in salty mannitol. To determine the antibiotic susceptibility profile, the Kirby-Bauer disk diffusion method was used. Isolates confirmed as *S. aureus* were identified for their susceptibility profile with the following antibiotics: penicillin, erythromycin, gentamicin, chloramphenicol, ciprofloxacin, clindamicide, linezolid, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, rifampicin. The evaluation of responses was carried out on Mueller-Hinton agar where the suspension was seeded in 3 planes, rotating the plate 180°, five discs per plate were placed using a sterile forceps, on the surface of the agar and incubating them at 37 °C for 24 hours exactly. Of the total *S. aureus* samples analyzed, 100% (18/18) turned out to be resistant to penicillin, 33% (6/18) to erythromycin and 11% (2/18) to tetracycline, also 67% (12/18) was resistant to cefoxitin, so it is of great importance to evaluate its prevalence and establish rigorous measures to prevent and control its spread, to reduce the risk of new infections. A 100% (18/18) sensitivity to rifampin, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, linezolid and 94% (17/18) to chloramphenicol, clindamycin and gentamicin were observed, so the analyzed isolates can be controlled by these antibiotics.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, antibiotic susceptibility, antibiotic resistance, disk diffusion.

3. INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus fue descrito en 1880 por el cirujano-bacteriólogo Alexander Ogston durante su investigación sobre infecciones en heridas; denominándolos con el término griego *staphyle*=racimo y *kokkos* = granos (Nina, 2019). Esta bacteria forma parte del filo *Firmicutes*, familia *Staphylococcaceae*, del género *Staphylococcus* y especie *aureus*. Es la bacteria con mayor relevancia clínica, pero también forma parte de la microbiota comensal de la mucosa nasal humana de la población general (Gonzales, 2019).

Es una bacteria Gram positiva y mide aproximadamente 0.8 μm de diámetro. Su forma característica es de cocos agrupados en racimos. No forman esporas, es un anaerobio facultativo, inmóvil, que crece en condiciones óptimas a 37 °C y pH 7.4 (Sato, et al., 2019). Las colonias de *S. aureus* desarrolladas sobre placas de agar sangre se presentan gruesas, brillantes y redondas, de diámetro de 1 a 2 mm. La mayoría de ellas son β -hemolíticas, es decir, forman un anillo hemolítico transparente alrededor de las colonias, producto de la ruptura de los glóbulos rojos. Poseen una cápsula de naturaleza polisacárida y son capaces de descomponer el manitol para emplearlo como fuente de carbono y resistir considerables concentraciones de sal, haciendo a *S. aureus* un microorganismo halotolerante (Guo, et al., 2020).

S. aureus tiene la capacidad de habitar la piel, las membranas mucosas y otras áreas del cuerpo humano como la parte frontal de las fosas nasales, el área perineal, la ingle, el área orofaríngea, las axilas, las manos e incluso la vagina (Hernández et al., 2018).

La presencia de *S. aureus* en la nasofaringe conduce a la condición de portador asintomático, lo que significa que el individuo alberga el microorganismo sin mostrar síntomas clínicos, y esto representa una fuente de propagación de la

bacteria a través del contacto directo con otras personas u objetos que pueden contaminarse (Hernández et al., 2020).

Staphylococcus aureus presenta un gran repertorio de infecciones cutáneas que se clasifican según la estructura anatómica involucrada, así: impétigo: asociado a la epidermis, foliculitis: asociado a la dermis superficial, fascitis: asociada al tejido celular subcutáneo, mastitis: asociada a la dermis profunda, forúnculos, hidrosadenitis supurada, erisipela y celulitis (Lee, et al., 2018).

La entrada de *S. aureus* en el torrente sanguíneo ocurre frecuentemente por la colonización de catéteres intravenosos o heridas. *S. aureus* también se caracteriza por producir infecciones secundarias en prácticamente cualquier tejido, produciendo una amplia variedad de infecciones como endocarditis, abscesos tisulares, meningitis, osteomielitis, neumonía necrotizante, bacteriemia, síndrome del shock tóxico, artritis séptica, etc (Lakhundi, et al., 2018).

El genoma de *S. aureus* es circular, con un tamaño aproximadamente de 2.8 millones de bases (Mb). El genoma core contiene información genética relacionada con el metabolismo celular y la replicación, comprende aproximadamente el 75% del genoma de *S. aureus* y está muy conservado. El genoma accesorio comprende el 25% y es responsable de la diversidad genética y alberga genes responsables de regular la virulencia, la evasión del sistema inmune y de la resistencia antibiótica (Turner, et al., 2019).

El genoma accesorio está formado por elementos genéticos móviles MGEs (por sus siglas en inglés, Mobile Genetic Elements) como islas de patogenicidad, bacteriófagos, casetes cromosómicos, transposones y plásmidos, que se adquieren por transferencia horizontal genética (THG) entre aislados y desempeñan un papel muy importante en la adaptación, virulencia y supervivencia bacteriana (Turner, et al., 2019).

La resistencia a los antimicrobianos ocurre cuando microorganismos como bacterias, hongos, virus y parásitos experimentan alteraciones debido a la exposición constante a los antimicrobianos, como antibióticos, antifúngicos, antivirales, antipalúdicos o antihelmínticos. Esto provoca que los medicamentos pierdan su eficacia y las infecciones persistan en los organismos, aumentando así el riesgo de propagación a otras personas (OPS, 2021).

Los antibióticos son fármacos empleados en la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos surge cuando las bacterias sufren mutaciones en respuesta al uso constante de dichos medicamentos. Esta resistencia está incrementando en todo el mundo a niveles preocupantes. Nuevos mecanismos de resistencia aparecen y se propagan por todo el planeta y pone en peligro nuestra capacidad para tratar enfermedades infecciosas comunes (ONU, 2021).

S. aureus fue el primer microorganismo de poner en manifiesto la resistencia a antibióticos y desarrollar mecanismos, intrínsecos y adquiridos, a diferentes antibióticos (Lacueva, 2017). Fleming descubrió la penicilina en el año de 1940 y fue pionero en el tratamiento de las infecciones con antibióticos; sin embargo, en 1950 la resistencia a la penicilina ya se había extendido entre los aislados de *S. aureus* (Guo, et al., 2020).

La resistencia a la penicilina se debe a la producción de una enzima (penicilinasas) que puede hidrolizar el anillo β -lactámico del antibiótico penicilina, inactivándolo. Esto promovió el desarrollo de una nueva penicilina semisintética capaz de resistir a la enzima penicilinasas. Este nuevo antibiótico fue la meticilina y controló eficazmente las infecciones por *S. aureus* resistentes a la penicilina. Sin embargo, su constante uso provocó el surgimiento de resistencia a este nuevo antibiótico (Lee, et al., 2018).

La meticilina es una penicilina semisintética estable a la acción de las β -lactamasas producidas por *S. aureus*. Fue desarrollada específicamente para el tratamiento de infecciones causadas por productores de β -lactamasas. Los aislados resistentes a este antibiótico se denominan SARM (*S. aureus* resistentes a la meticilina). Otras penicilinas semisintéticas son la oxacilina, nafcilina, cloxacilina y dicloxacilina (Hernández et al., 2020).

Entre los principales mecanismos de resistencia antibiótica que exhibe *S. aureus* se reportan elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones o el casete estafilocócico cromosoma SCCmec (por sus siglas en inglés *staphylococcal cassette chromosome mec*). Mutaciones en el cromosoma se encuentran también entre los principales mecanismos de resistencia a los antibióticos en *S. aureus*; entre los que se pueden citar: modificación enzimática del fármaco e inactivación, modificación enzimática del sitio de unión del fármaco y expulsión del fármaco (Foster, 2017).

S. aureus resistentes a meticilina (SARM) contiene un gen se encuentra inserto en un elemento genético móvil, llamado casete cromosómico estafilocócico o SCCmec (por sus siglas en inglés *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) (Lakhundi, et al., 2018). Esta resistencia está dada por la síntesis de una proteína supernumeraria de unión a penicilina llamada PBP2a, codificada por el gen *mecA* (Wang, et al., 2021).

En términos generales, el mecanismo de resistencia a la meticilina en *S. aureus* está relacionado con la producción de una nueva proteína fijadora de penicilina (PBP) de 78 kDa, la cual presenta una afinidad reducida hacia la meticilina y otros β -lactámicos. Este cambio en la PBP es determinado por un gen de naturaleza cromosómica llamado gen *mec*. Este gen contiene loci distintos, el *mecA*, que codificaría la PBP2a, y el *mecR* o gen regulador (Abdelazeem, 2020).

Existen al menos tres mecanismos de resistencia de *S. aureus* a los β -lactámicos que han sido descritos. Estos incluyen la producción de β -lactamasas, fenómenos de tolerancia y resistencia causados por modificaciones o presencia adicional de proteínas fijadoras de penicilina (PBP), que se conocen como resistencia intrínseca a la meticilina. Las penicilinas resistentes a la penicilinasas, como oxacilina, meticilina y cloxacilina, junto con las cefalosporinas, tienen una estructura molecular que las protege de la acción de la β -lactamasa (Abdelazeem, 2020).

S. aureus tiene una gran capacidad de adquirir resistencia a múltiples clases de antibióticos, complicando así su tratamiento. La vancomicina es el fármaco de elección para el tratamiento de la infección severa causada por SARM (Lee, et al., 2018).

Aunque la mayoría de los aislados de SARM son sensibles a la vancomicina y a los antibióticos introducidos más recientemente como daptomicina, linezolid, tedizolid, ceftarolina y ceftobiprol, existe riesgo de aparición de nuevas cepas resistentes a estos antibióticos. Las infecciones estafilocócicas deben tratarse inicialmente con cloxacilina (o cefazolina) si la cepa es sensible a meticilina, con vancomicina si es resistente, o también pueden tratarse con cloxacilina y daptomicina intravenosas en ambos escenarios (Lade, 2021).

En una segunda fase de tratamiento por fallas terapéuticas se desarrollará una combinación de rifampicina, idealmente con una fluoroquinolona. Si las fluoroquinolonas no pudieran ser usadas se recomienda una combinación de rifampicina con cotrimoxazol, linezolid, clindamicina, ácido fusídico o daptomicina. Si la rifampicina no pudiera usarse se recomiendan las combinaciones de daptomicina con fosfomicina, cloxacilina, linezolid, cotrimoxazol o levofloxacino; o combinaciones de dos antibióticos orales o monoterapia con levofloxacino, o moxifloxacino, cotrimoxazol, o linezolid (Watkins, 2019).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Analizar la susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Reactivar aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* obtenidos de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA).
- Confirmar mediante pruebas bioquímicas la identidad de los aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* que pertenecen a la colección CB-QCA.
- Determinar los perfiles de susceptibilidad antibiótica mediante el método de difusión por disco Kirby-Bauer.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se analizaron aislados bacterianos de *S. aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA) y que se caracterizaron a través de pruebas bioquímica. Los aislados fueron procesados y analizados en el Laboratorio de Microbiología, de la Escuela de Ciencias Biológicas en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Los aislados se mantienen almacenados a temperatura ambiente y congelación (-20 °C y -80 °C respectivamente).

4.2. REACTIVACION DE LAS BACTERIAS

La reactivación de los aislados seleccionados en la presente investigación inició transfiriendo de manera aséptica 20 µL de bacteria crioconservada (-20 °C) a tubos que contenían 5 ml de infusión cerebro-corazón estéril BHI (por sus siglas en inglés Brain Heart Infusion). Los tubos fueron incubados a baño María con agitación a 37 °C por 24 horas.

Luego de la activación, cada aislado bacteriano fue sembrado por estría continua sobre placas de Agar Sangre de Cordero al 5 % e incubadas a 37 °C por 18 - 24 horas. Posterior a la incubación, fueron revisadas y seleccionadas únicamente colonias con las siguientes características: redondas, pequeñas, blancas, brillantes, de borde liso y cuyo crecimiento sobre la placa de agar sangre haya reportado β-hemólisis. Estas colonias fueron transferidas a placas de Agar Manitol Salado BD® e incubadas a 35 °C por espacio de 18 - 24 horas.

4.3. IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE *Staphylococcus aureus*

Después del crecimiento y observación de la fermentación en Agar Manitol Salado BD® de las colonias de *S. aureus* se procedió a realizar la tinción Gram de las colonias fermentadoras de manitol. A continuación, se realizaron las pruebas bioquímicas confirmatorias para *Staphylococcus aureus*:

Prueba de Catalasa

Esta prueba permitió detectar la producción de *S. aureus* de la enzima catalasa. Se colocó en un portaobjetos una gota de solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3%, sobre la cual se aplicó, con ayuda de un palillo, una cantidad moderada de colonias bacterianas aisladas en agar nutriente (Jawetz, Melnick y Adelberg, 2010).

Prueba de coagulasa

Para esta prueba se utilizó plasma de conejo citratado y diluido. En una proporción de 1:5 fueron suspendidas colonias de *S. aureus* en tubos que contenían 3 ml de plasma de conejo. La suspensiones fueron incubadas a 37 °C por espacio de 2 – 4 horas (Jawetz, Melnick y Adelberg, 2010).

Prueba de DNAsa

A partir de un cultivo puro de *S. aureus* en agar sangre se realizó una transferencia de colonias, con un asa, al centro de una caja Petri conteniendo DNasa agar. Luego de la transferencia se incubó a 35 °C por 18 a 48 horas. Para realizar la lectura se observó el crecimiento microbiano y se cubrió con ácido clorhídrico (Britania, 2015).

Prueba de Oxidasa

En un portaobjetos se colocó un disco de papel filtro impregnado con reactivo para-amino-N-dimetil-anilina (discos de oxidasa). Con ayuda de un

palillo, se transfirió una cantidad considerable de bacteria en la superficie del disco de oxidasa. *S. aureus* estaba sembrada en la superficie de una caja de agar nutriente (Expósito, 2019).

Prueba de Ureasa

Se transfirió al microorganismo sospechoso con crecimiento en agar nutriente a un medio de cultivo líquido (caldo urea) y se incubó a 37 °C durante 24 horas.

4.4. MANTENIMIENTO DE LOS AISLADOS

De acuerdo con el protocolo interno del Laboratorio de Microbiología de la PUCE, los aislados confirmados como *Staphylococcus aureus* fueron conservados a través del método de congelación estandarizado. Los aislados fueron suspendidos en 5 ml de caldo infusión cerebro corazón (BHI) e incubados a 37 °C por 18 horas. Los cultivos fueron adicionados de 30% de glicerol estéril y correctamente homogenizados con ayuda de una micropipeta. Se transfirieron alícuotas a microtubos estériles para su congelación y mantenimiento a -20 °C.

4.5. DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *Staphylococcus aureus*

A partir de colonias de *Staphylococcus aureus* aisladas en placas de agar nutriente se desarrolló el método cualitativo de difusión en disco Kirby–Bauer siguiendo la normativa dictada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023).

Las pruebas de susceptibilidad antibiética fueron realizadas a partir de los aislados conservados a -20 °C y transferidos a tubos conteniendo 5 ml de caldo BHI para posterior incubación a 37 °C por 24 horas. A partir del crecimiento

microbiano obtenidos, éste fue transferido a placas de agar nutriente que fueron incubadas a 37°C por 24 horas.

Se transfirieron 4 a 5 colonias a caldo Mueller-Hinton estéril hasta obtener la turbidez de 0.5 en la escala de McFarland, verificada en el equipo "Eppendorf BioPhotometer Plus" y así alcanzar un inóculo de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Obtenida la suspensión bacteriana ésta fue sembrada, con ayuda de un hisopo estéril, en una caja Petri desechable de 18x150 mm conteniendo agar Mueller-Hinton estéril. Este proceso se realizó en los primeros 15 minutos después de ajustado el inóculo. La suspensión fue sembrada en 3 planos rotando la placa 180°, para asegurar la distribución del inóculo. Los discos de antibióticos fueron colocados en la superficie del agar con ayuda de una pinza estéril y de manera equidistante. Finalmente, las placas fueron incubadas a 37 °C por 18 - 24 horas.

Los discos de antibióticos probados fueron: Penicilina (P) 10 µg, Eritromicina (E) 15 µg, Gentamicina (CN) 10 µg, Cloranfenicol (C) 30 µg, Ciprofloxacina (CIP) 5 µg, Clindamicida (CC) µg, Linezolid (LZD) 30 µg, Tetraciclina (TE) 30 µg, Trimetoprim 23.75 µg-Sulfametoxazol 1.25 µg (STX), Rifampicina (RA) 5 µg y Cefoxitina (FOX) 30 µg. Los diámetros de los halos de inhibición obtenidos, en milímetros, fueron interpretados siguiendo los parámetros establecidos por el CLSI 2023.

4.6. ESTADÍSTICA

Los datos obtenidos fueron analizados a través de una hoja de cálculo de Microsoft Excel. Los porcentajes de resistencia, sensibilidad intermedia y sensibilidad fueron calculados tomando el total de aislados analizados frente a cada antibiótico utilizado. Con estos datos se armaron tablas y gráficas.

5. RESULTADOS

5.1. IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE *Staphylococcus aureus*

Los 18 aislados que fueron analizados por tinción Gram se mostraron como cocos Gram positivos agrupados en racimos (Figura 1) (Tabla 1).



Figura 1. Fotografía del campo óptico de Tinción Gram por microscopía óptica (100X). Se observa la presencia de células procariotas redondas (cocos), Gram positivos y agrupados en racimos.

El crecimiento de *S. aureus* sobre las placas de agar sangre mostró la presencia de colonias blancas, ligeramente amarillas y generalmente β -hemolíticas (Figura 2).

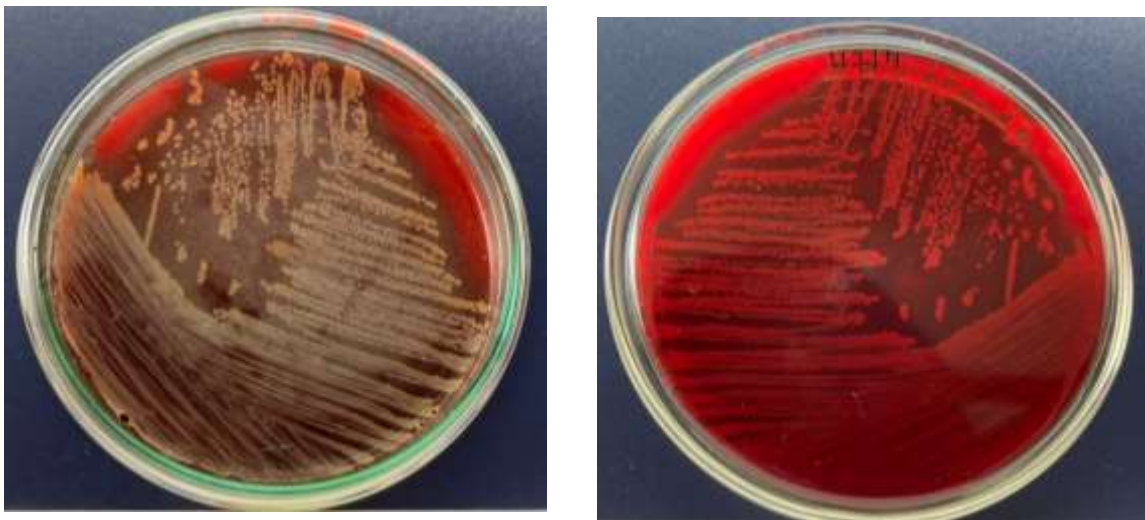


Figura 2. Crecimiento de *S. aureus* en placas de agar sangre. Se evidencia la β -hemólisis (lisis total de glóbulos rojos) generado por la bacteria, como halos transparentes alrededor del crecimiento bacteriano.

S. aureus fue capaz de crecer sobre manitol salado al tolerar las altas concentraciones de sal y utilizar la única fuente de carbono (manitol) por medio de procesos de fermentación. Esto acidificó el medio y viró el pH del color rojo indicador a amarillo (Figura 3) (Tabla 1).

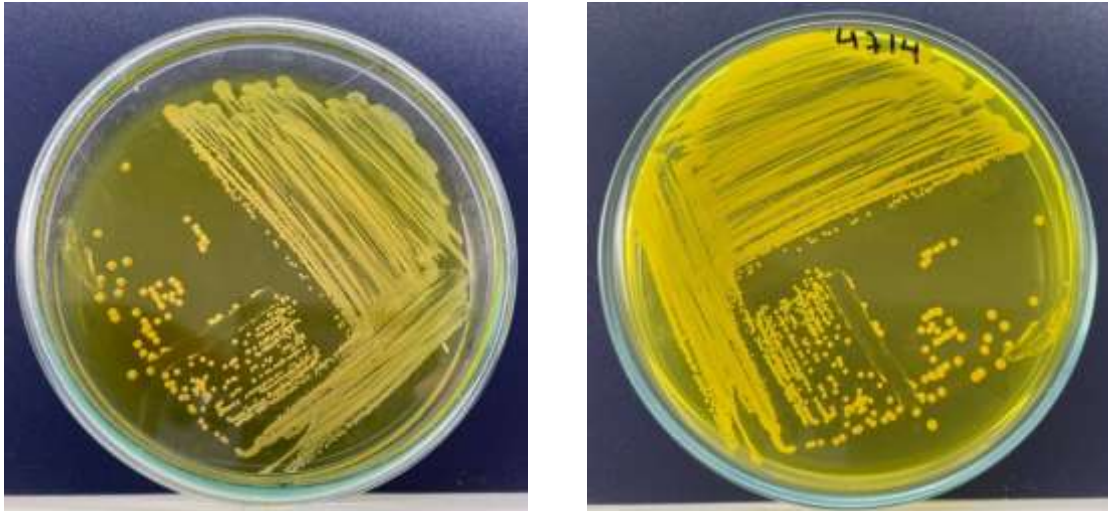


Figura 3. Crecimiento bacteriano de *S. aureus* en agar manitol salado. El medio confirmó la capacidad halotolerante de la bacteria, así como su capacidad para fermentar el manitol (única fuente de carbono del medio). La fermentación se registra con el cambio de coloración del medio de rojo a amarillo.

Los aislamientos confirmados por medio de tinción Gram y crecimiento en agar sangre y crecimiento en agar manitol salado fueron sometidas a 5 pruebas definitivas en la confirmación de la identidad de *S. aureus*: catalasa, coagulasa, ADNasa, oxidasa y ureasa.

La presencia de la enzima catalasa producida por *S. aureus* se evidenció gracias a la formación de burbujas producidas por la degradación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua (H_2O) y oxígeno (O_2) (Figura 4) (Tabla 1).



Figura 4. Prueba positiva de catalasa. La presencia de burbujas luego del contacto de las colonias de *S. aureus* con el peróxido de hidrógeno, demuestran la liberación de oxígeno debido a la presencia de la enzima catalasa producida por la bacteria.

La prueba de coagulasa mostró como la enzima proteasa producido por *S. aureus* convierte el fibrinógeno, presente en el plasma sanguíneo, en fibrina dando como resultado la formación de un coágulo (Figura 5) (Tabla 1).

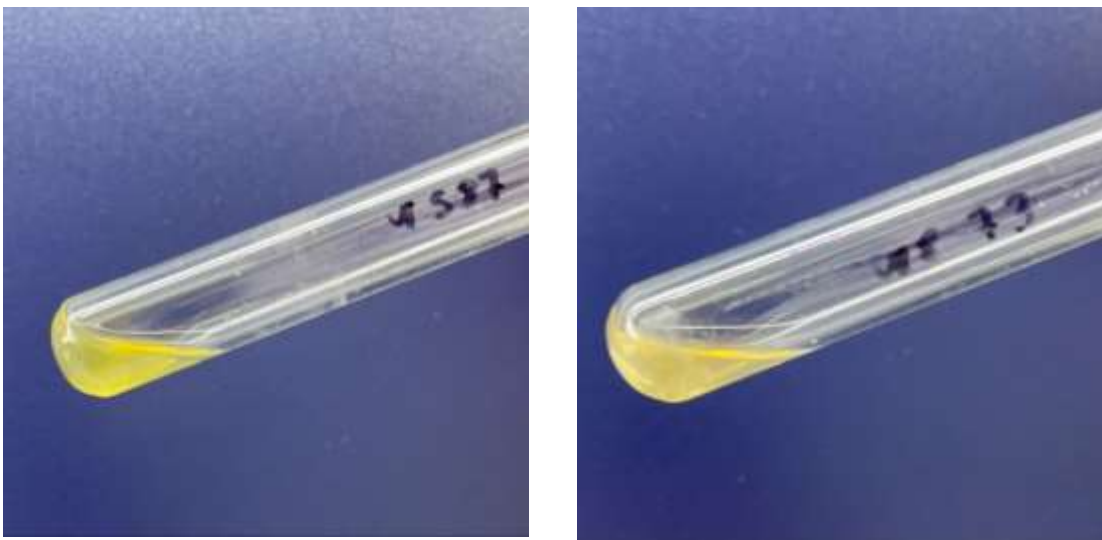


Figura 5. Prueba de coagulasa positiva en la identificación de *S. aureus*. El tubo con plasma de conejo muestra la formación de un coágulo revelando que el microorganismo produce la enzima coagulasa.

La prueba de DNasa mostró la presencia de la enzima desoxirribonucleasa producida por *S. aureus* que se evidenció por la formación de un halo alrededor del crecimiento bacteriano en agar ADN luego de agregar ácido clorhídrico 1N (Figura 6) (Tabla 1).

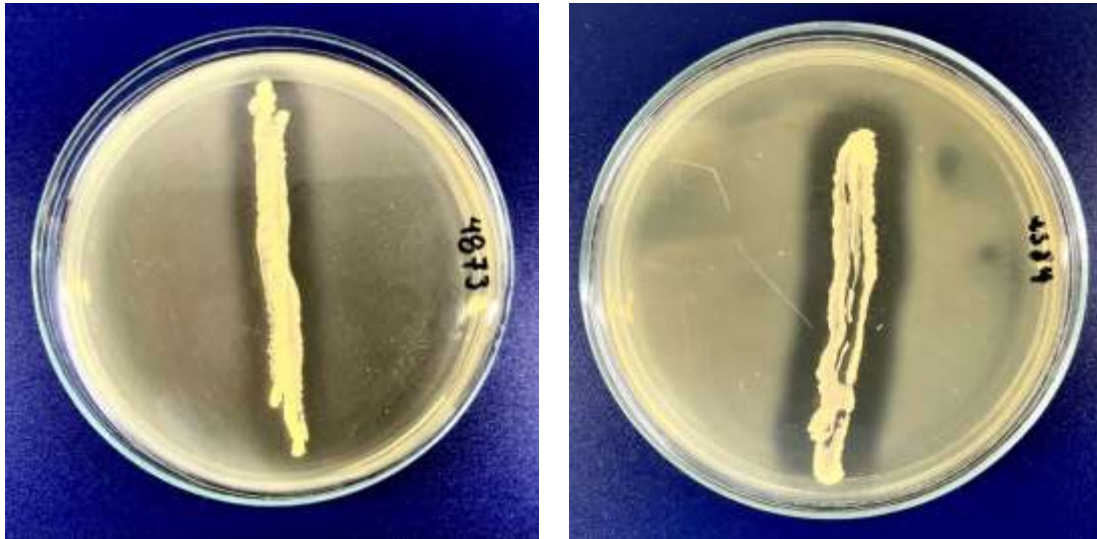


Figura 6. Prueba de DNasa positiva. Producción de DNasa de *S. aureus* revelado por la formación de una zona transparente alrededor del área de crecimiento de *S. aureus*.

La prueba de oxidasa determinó la ausencia de la enzima oxidasa en *S. aureus*. Esta enzima activa la oxidación del citocromo que es reducido por la acción del oxígeno molecular y se pone en evidencia por el viraje de color del disco de oxidasa de blanco a morado (Figura 7) (Tabla 1).

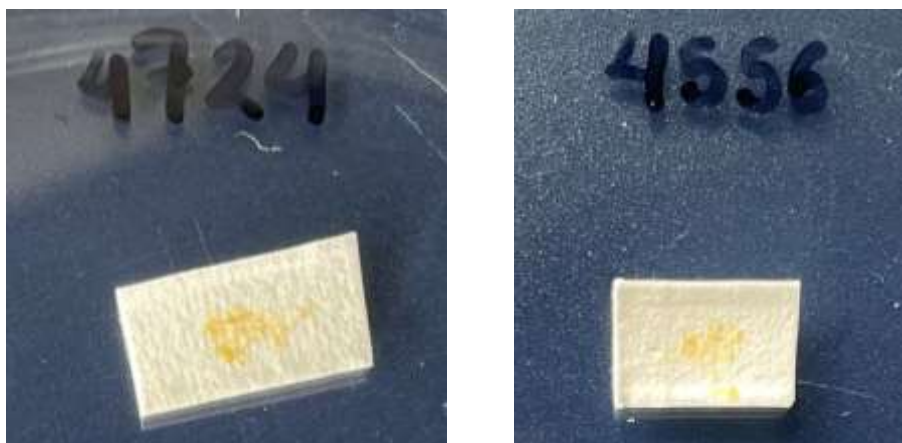


Figura 7. Prueba de oxidasa negativa para *S. aureus*. El papel filtro con reactivo muestra la ausencia de la enzima oxidasa en *S. aureus*. Se observa la ausencia de cambio de color del papel de prueba de blanco a morado, revelando una prueba negativa.

La prueba de ureasa determina la capacidad de un organismo de hidrolizar la urea. Se observó que el medio de cultivo líquido toma un color fucsia, debido a la alcalinización de éste por la producción de amonio (Figura 8) (Tabla 1).

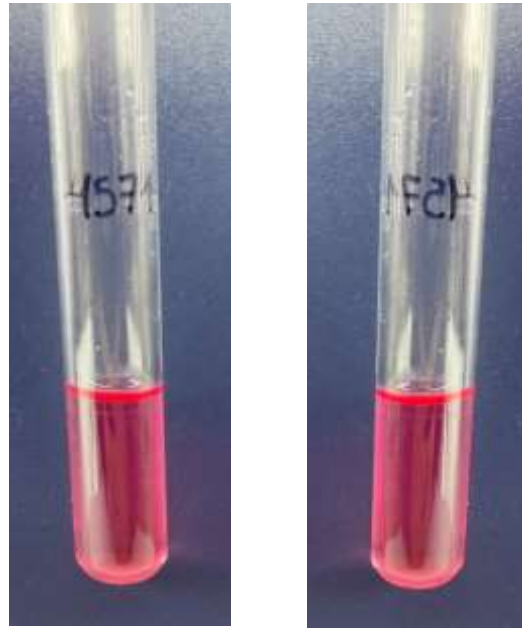


Figura 8. Prueba de ureasa positiva para *S. aureus*. Presencia de *S. aureus* capaces de hidrolizar la urea revelado por la coloración fucsia que adquiere el medio debido a su alcalinización.

Tabla 1. Identificación bioquímica de los aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus*

Código PUCE	Tinción Gram	Pruebas Bioquímicas de Identificación					Identificación
		Catalasa	Coagulasa	Oxidasa	DNAasa	Ureasa	
CB-QCA 4524	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4556	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4571	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4576	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4583	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4584	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4587	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4634	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4655	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4714	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4722	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4723	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4724	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4749	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4784	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4839	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4873	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB-QCA 4874	Cocos Gram +	+	+	-	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>

(CB-QCA), Colección Bacteriana – Quito Católica; (+), reacción positiva; (-) reacción negativa.

5.2. DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *Staphylococcus aureus*

Todos los 18 aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA) mostraron resistencia a la Penicilina 100% (18/18). El 94% (17/18) de los aislados fueron sensibles a la gentamicina y el 6% (1/18) de los aislados mostró sensibilidad intermedia. El 67% (12/18) de los aislados fueron sensibles a la eritromicina y el 33% (6/18) fueron resistentes. El 67% (12/18) de los aislados fueron resistentes a cefoxitina y el 33% (6/18) fueron sensibles (Tabla 2).

El porcentaje de sensibilidad de la tetraciclina fue del 83% (15/18) entre los aislados, de sensibilidad intermedia fue de 6% (1/18) y de resistencia del 11% (2/18). La clindamicina mostró una sensibilidad del 94% (17/18) de los aislados y un porcentaje de sensibilidad intermedia del 6% (1/18). Los antibióticos rifampicina, linezolid, trimetoprim-sulfametoxazole y ciprofloxacina mostraron sensibilidad en el 100% (18/18) de los aislados analizados (Tabla 2).

Tabla 2. Tabla de frecuencias porcentuales de la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA).

Antibióticos	N° aislados	Sensibilidad		Resistencia		Intermedio	
		N°	%	N°	%	N°	%
Rifampicina	18	18	100	0	0	0	0
Ciprofloxacina	18	18	100	0	0	0	0
Cloranfenicol	18	17	94	0	0	1	6
Clindamicina	18	17	94	0	0	1	6
Eritromicina	18	12	67	6	33	0	0
Trimetoprim-sulfametoxazole	18	18	100	0	0	0	0
Linezolid	18	18	100	0	0	0	0
Gentamicina	18	17	94	0	0	1	6
Tetraciclina	18	15	83	2	11	1	6
Penicilina	18	0	0	18	100	0	0
Cefoxitina	18	6	33	12	67	0	0

N°, número de aislado; %, porcentaje

Tabla 3. Susceptibilidad antibiótica en *Staphylococcus aureus* de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA)

Código PUCE	Identificación	Diámetro de las zonas de inhibición (mm) e interpretación (S, R, I)										
		RA	CIP	C	CC	E	SXT	LZD	CN	TE	P	FOX
CB-QCA 4524	<i>Staphylococcus aureus</i>	30 (S)	25 (S)	27 (S)	26 (S)	25 (S)	29 (S)	29 (S)	21 (S)	28 (S)	9 (R)	14 (R)
CB-QCA 4556	<i>Staphylococcus aureus</i>	29 (S)	34 (S)	22 (S)	24 (S)	33 (S)	18 (S)	38 (S)	21 (S)	33 (S)	9 (R)	20 (R)
CB-QCA 4571	<i>Staphylococcus aureus</i>	40 (S)	39 (S)	30 (S)	32 (S)	9 (R)	36 (S)	39 (S)	28 (S)	21 (S)	8 (R)	14 (R)
CB-QCA 4576	<i>Staphylococcus aureus</i>	32 (S)	25 (S)	25 (S)	26 (S)	25 (S)	22 (S)	25 (S)	20 (S)	26 (S)	9 (R)	20 (R)
CB-QCA 4583	<i>Staphylococcus aureus</i>	30 (S)	24 (S)	22 (S)	25 (S)	24 (S)	19 (S)	30 (S)	22 (S)	18 (I)	9 (R)	17 (R)
CB-QCA 4584	<i>Staphylococcus aureus</i>	30 (S)	27 (S)	20 (S)	25 (S)	25 (S)	20 (S)	28 (S)	21 (S)	27 (S)	8 (R)	14 (R)
CB-QCA 4587	<i>Staphylococcus aureus</i>	40 (S)	33 (S)	24 (S)	25 (S)	24 (S)	32 (S)	31 (S)	21 (S)	31 (S)	15 (R)	34 (S)
CB-QCA 4634	<i>Staphylococcus aureus</i>	30 (S)	22 (S)	25 (S)	25 (S)	9 (R)	30 (S)	32 (S)	22 (S)	33 (S)	15 (R)	32 (S)
CB-QCA 4655	<i>Staphylococcus aureus</i>	33 (S)	24 (S)	25 (S)	30 (S)	13 (R)	31 (S)	32 (S)	24 (S)	32 (S)	15 (R)	32 (S)
CB-QCA 4714	<i>Staphylococcus aureus</i>	40 (S)	39 (S)	30 (S)	32 (S)	9 (R)	36 (S)	39 (S)	28 (S)	21 (S)	8 (R)	32 (S)
CB-QCA 4722	<i>Staphylococcus aureus</i>	36 (S)	28 (S)	21 (S)	22 (S)	19 (S)	32 (S)	38 (S)	32 (S)	38 (S)	9 (R)	18 (R)
CB-QCA 4723	<i>Staphylococcus aureus</i>	34 (S)	33 (S)	20 (S)	25 (S)	25 (S)	25 (S)	28 (S)	23 (S)	24 (S)	16 (R)	35 (S)
CB-QCA 4724	<i>Staphylococcus aureus</i>	29 (S)	29 (S)	14 (I)	27 (S)	19 (S)	30 (S)	28 (S)	22 (S)	33 (S)	11 (R)	16 (R)
CB-QCA 4749	<i>Staphylococcus aureus</i>	31 (S)	27 (S)	19 (S)	18 (I)	29 (S)	29 (S)	28 (S)	23 (S)	30 (S)	9 (R)	17 (R)
CB-QCA 4784	<i>Staphylococcus aureus</i>	32 (S)	23 (S)	22 (S)	26 (S)	25 (S)	30 (S)	30 (S)	23 (S)	35 (S)	23 (R)	30 (S)
CB-QCA 4839	<i>Staphylococcus aureus</i>	34 (S)	22 (S)	20 (S)	25 (S)	27 (S)	28 (S)	29 (S)	21 (S)	28 (S)	14 (R)	35 (S)
CB-QCA 4873	<i>Staphylococcus aureus</i>	32 (S)	30 (S)	22 (S)	27 (S)	6 (R)	29 (S)	30 (S)	17 (S)	8 (R)	10 (R)	15 (R)
CB-QCA 4874	<i>Staphylococcus aureus</i>	34 (S)	30 (S)	24 (S)	29 (S)	6 (R)	29 (S)	29 (S)	13 (I)	9 (R)	11 (R)	16 (R)

Colección Bacteriana - Quito Católica (CB-QCA); milímetros (mm); S, Sensible; R, Resistente; I, Intermedio; Rifampicina (RA); Ciprofloxacina (CIP); Cloranfenicol (C); Clindamicina (CC); eritromicina (E); Trimetoprim/sulfametoxazol (STX); Linezolid (LZD); Gentamicina (CN); Tetraciclina (TE); Penicilina (P), Cefoxitina (FOX).

Se utilizó un calibrador “Truper (Vernier caliper)” para calcular el diámetro de las zonas de inhibición (en milímetros) formado por cada uno de los 11 antibióticos probados en cada una de las placas. Se utilizó la hoja de cálculo Microsoft Excel para el análisis de datos obtenidos y se registraron en tablas con sus respectivas cantidades y porcentajes (Figura 9) (Tabla 3).

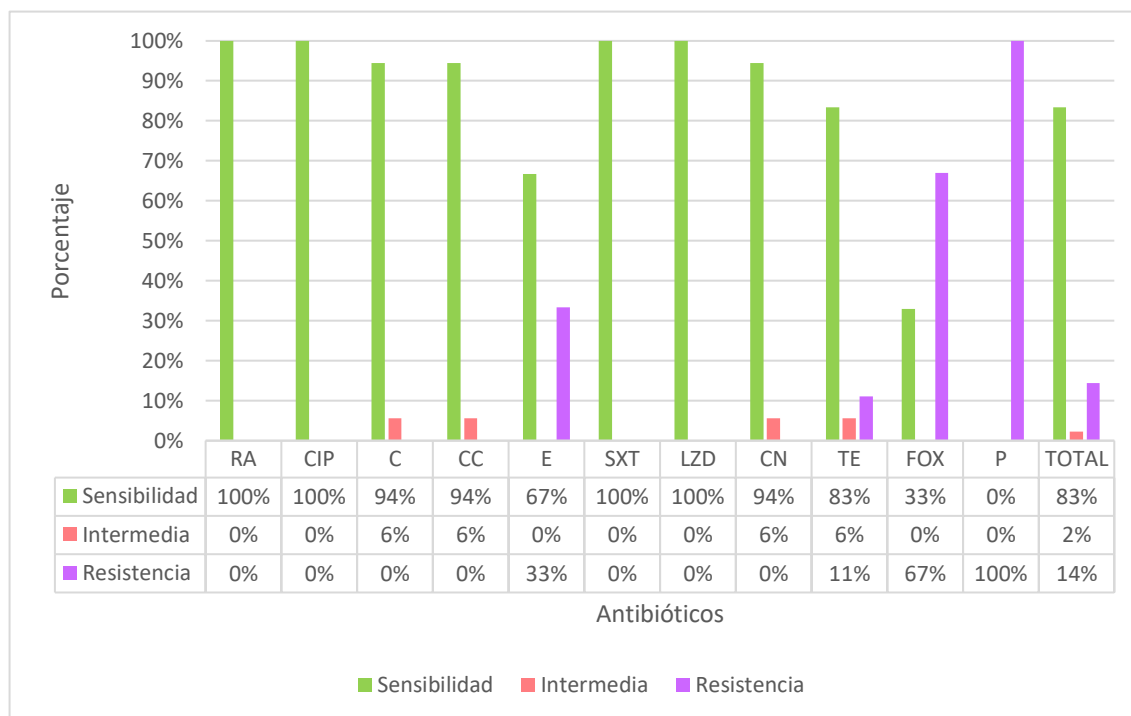


Figura 9. Porcentaje de la susceptibilidad antibiótica de los aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA).

Leyenda: Rifampicina (RA); Ciprofloxacina (CIP); Cloranfenicol (C); Clindamicina (CC); eritromicina (E); Trimetoprim-sulfametoxazole (STX); Linezolid (LZD); Gentamicina (CN); Tetraciclina (TE); Penicilina (P), Cefoxitina (FOX). S, Sensible; R, Resistente; I, Intermedio.

Los diámetros observados de los halos de inhibición obtenidos se compararon según los parámetros establecidos por el CLSI, 2023, después de la incubación a 37 °C por 18 horas (Figura. 10).

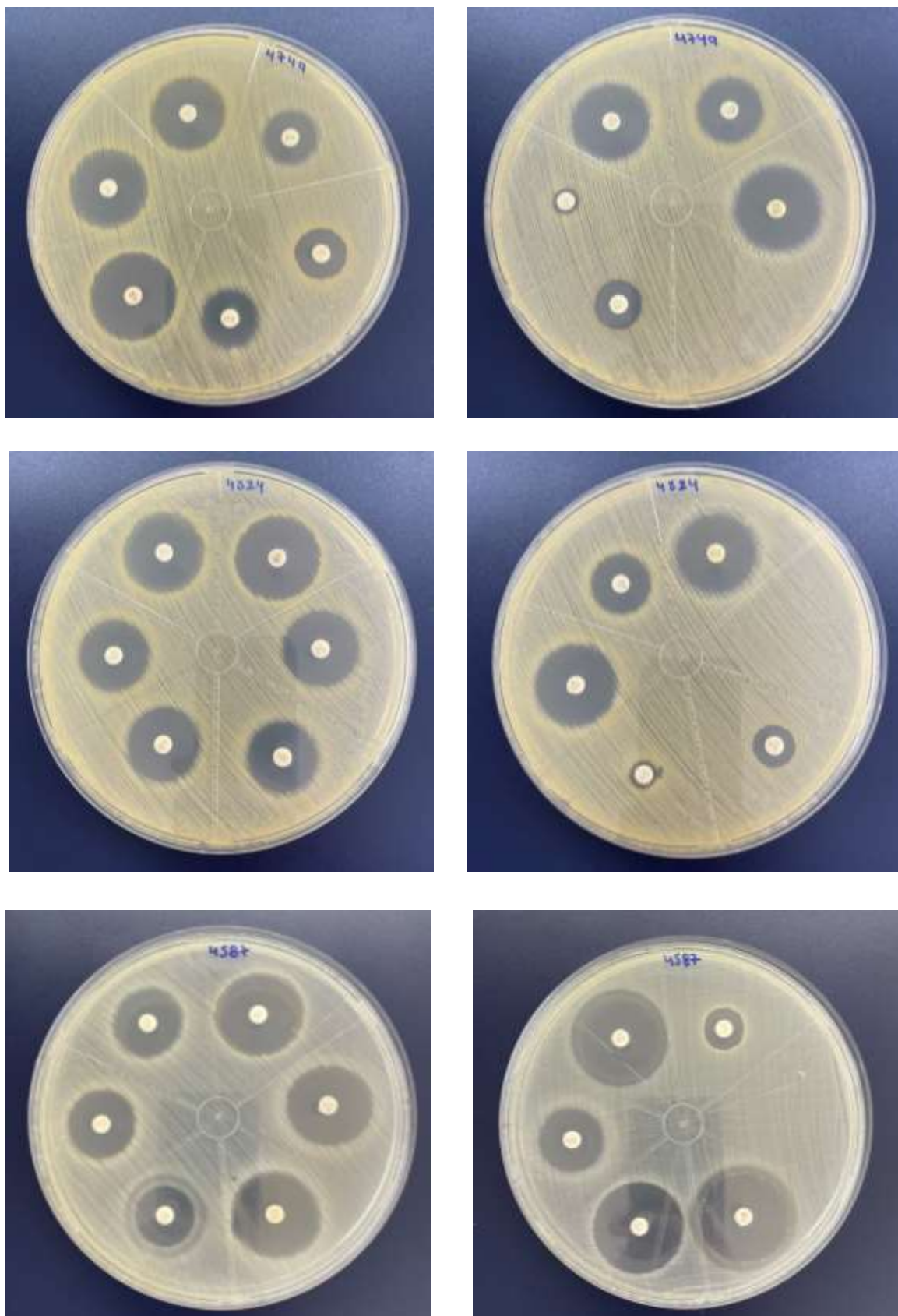


Figura 10. Antibiogramas de tres aislados de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana-Quito Católica (CB-QCA).

6. DISCUSIÓN

El análisis de la susceptibilidad a los antibióticos en los 18 aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA) correspondieron a la especie bacteriana incluida en la lista mundial de amenazas urgentes y de gran interés clínico de la OMS (Organización Mundial de la Salud) (Ross et al., 2020).

En este estudio se observó que todos los aislados de *S. aureus* evaluados son resistentes a la penicilina. En Ecuador, otros estudios también han evaluado la susceptibilidad de *S. aureus* frente a penicilina, demostrando que el 100% de los aislados evaluados fueron resistentes (Vallejo, Andrade, Orellana & Ortiz, 2022). Este hecho demuestra la enorme dispersión de la resistencia a penicilina dentro de *S. aureus* debido a la exposición excesiva al antibiótico durante años.

En el presente trabajo se observó que el 33% de los aislados evaluados presentaron resistencia a eritromicina con resistencia a penicilina. A esto se suma la existencia de resistencia cruzada a otros agentes macrólidos (claritromicina, azitromicina, telitromicina), que convertirían a *S. aureus* en un microorganismo multirresistente. Esta capacidad se da gracias a la plasticidad del genoma de *S. aureus* para adquirir características genotípicas que le confieren resistencia a varios antibióticos. Esto limita el uso de varios agentes antibióticos como alternativa a la penicilina para tratar infecciones causadas por esta especie. Sin embargo, el 67% de los aislados evaluados no presentaron resistencia a eritromicina, concordando con el estudio de González et al., 2021 que obtuvo una sensibilidad del 61.2% de los 193 aislamientos de la cavidad oral sana que analizó en la ciudad de Cali.

Resultados obtenidos a partir de estudios sobre vigilancia epidemiológica de *Staphylococcus aureus* en la Ciudad de Cuenca - Ecuador, demostraron alta sensibilidad a tetraciclina (Zambrano et al., 2022) que coincide con los resultados obtenidos en este trabajo donde se evidencia bajo porcentaje de resistencia a tetraciclina dentro de los aislados evaluados.

Estudios realizados por Orbe et al., 2022 obtuvieron 6 aislados de *S. aureus* que registraron el 50% de sensibilidad a la gentamicina y 16% de sensibilidad intermedia a gentamicina. Comparando con los resultados obtenidos en este trabajo donde el 94% es sensible a gentamicina y el 6% tiene sensibilidad intermedia al mismo. Se constata que el resultado intermedio en ambos estudios es igual, indicando que la bacteria está adquiriendo resistencia.

El trabajo mostró que el 100% de los aislados evaluados presentaron sensibilidad a rifampicina. Resultados que coinciden con la investigación de Uttarakhand, Gwalior & Karnataka, del año 2019, demostrando que el 100% de los aislados de *S. aureus* eran sensibles a rifampicina. Ambos estudios demuestran una efectividad y la eficacia de rifampicina frente a *S. aureus*.

La presente investigación registró que el 100% de los aislados analizados fueron sensibles a ciprofloxacina. Según Bartolomé & Solves en el año 2020, se encontró un considerable resultado de sensibilidad, por parte de *S. aureus*, a la ciprofloxacina. Los resultados obtenidos se presentaron en infecciones osteoarticulares, cutáneas y de tejidos blandos.

La investigación realizada por Corina, 2019, analizó la actividad antibiótica de trimetoprim-sulfametoxazol frente a *S. aureus* en infecciones de la piel, registrando 92% de sensibilidad. Los resultados reportados en el presente trabajo fueron del 100% de sensibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol. Por tanto, este antibiótico también se convierte en una importante opción terapéutica contra infecciones de *S. aureus*.

Los resultados de la investigación de Burbano et al., 2020 sobre infecciones cutáneas en el Hospital Provincial de Ambato-Ecuador, reportó una sensibilidad del 100% a linezolid en aislados de *S. aureus*. Coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo que también reportó 100% de sensibilidad a linezolid.

Una investigación realizada en Chile por Aravena et al., 2021 indicó que el 98,4% de los aislados fue sensible a cloranfenicol. La presente investigación obtuvo el 94% de los aislados sensible a cloranfenicol. Sin embargo, comparándolo con reportes recientes de Giacoboni et al., 2022 no tienen ninguna similitud. En éste se evidenció resistencia del 100% a cloranfenicol en la circulación de *S. aureus* resistentes a meticilina y multirresistente para Argentina.

Los análisis desarrollados por el Complejo Asistencial Universitario de León en el año 2022 mostraron que aislados de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) obtuvieron el 68% de sensibilidad a clindamicina. En relación con los resultados obtenidos en el presente trabajo se obtuvo el 94% de sensibilidad a clindamicina. En ambos casos la sensibilidad a clindamicina es alto y se traduce en un buen empleo de este antibiótico ante *S. aureus*.

Dentro del CLSI 2023 se ha recomendado parámetros alternativos en la prueba de susceptibilidad de disco de cefoxitina, siendo un método más preciso para evidenciar la resistencia a meticilina mediada por el gen *mecA* en estafilococos implicando la resistencia a todos los betalactámicos (CLSI, 2023).

Según Vergara, 2021 su investigación en infecciones asociadas a *Staphylococcus aureus* en un hospital de Montería, Córdoba, reportó resistencia del 90% a cefoxitina. Esto demuestra el considerable aumento de la resistencia a este antibiótico, en consecuencia, un número considerable de aislados SARM. El estudio de Suarez et al., 2020 de la susceptibilidad antibiótica de *S. aureus* obtenidos de muestras nasales, registró el 34,8% de resistencia a Cefoxitin.

7. CONCLUSIONES

Los procesos de almacenamiento de los aislados bacterianos estudiados fueron óptimos y garantizaron la supervivencia del aislado al almacenamiento. Esto se constató al momento de la activación, donde el 100% de los aislados fueron viables para la ejecución del presente estudio.

Las características bioquímicas propias de *Staphylococcus aureus* permitieron el planteamiento de un proceso sistemático de identificación eficiente. Las pruebas bioquímicas empleadas confirmaron la identidad de la bacteria a nivel de especie de manera óptima, sin la necesidad de complementar la identificación con métodos más costosos por Biología Molecular.

Las cepas de *Staphylococcus aureus* almacenadas en la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA) presentan sensibilidad a la mayoría de los antibióticos, con excepción de la penicilina y cefoxitina. Los aislados evaluados pueden ser controlados clínicamente mediante el empleo de antibióticos de uso rutinario.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelazeem M Algammal, Helal F Hetta, Amr Elkelish, Dalal Hussien H Alkhalifah, Wael N Hozzein, Gaber El-Saber Batiha, Nihal El Nahhas & Mahmoud A Mabrok (2020) Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): One Health Perspective Approach to the Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, and Zoonotic Impact, *Infection and Drug Resistance*, 13, 3255-3265, DOI: 10.2147/IDR.S272733
- Aravena, C., Cáceres, J., Bastías A., Adolfo, Opazo, Juan Francisco, Magna, Yasna, Saralegui, Claudia, Quintana, Camila, & Del-Campo, Rosa. ("Rev. chil. infectol. - vol.38 número6 - SciELO") (2021). "Portación nasal, antibiograma y genotipo de cepas de Staphylococcus aureus aisladas en estudiantes de Medicina y de Enfermería Campus San Felipe, Universidad de Valparaíso, Chile, durante el año 2017." ("Portación nasal, antibiograma y genotipo de cepas de ... - SciELO") *Revista chilena de infectología*, 38(6), 774-782. <https://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182021000600774>
- Bartolomé-Álvarez J, Solves-Ferriz V. (2020) Aumento de Staphylococcus aureus resistente a meticilina y sensible a ciprofloxacino en infecciones osteoarticulares, de piel y tejidos blandos [Increase in methicillin-resistant and ciprofloxacin-susceptible Staphylococcus aureus in osteoarticular, skin and soft tissue infections]. *Rev Esp Quimioter*. 143-144. Spanish. doi: 10.37201/req/082.2019. Epub 2020 Mar 11. PMID: 32157857; PMCID: PMC7111237.
- Burbano, L., Gonzales, A., Araujo, L., Cruz, R. (2020). "Microorganismos más frecuentes en infecciones cutáneas en el Hospital Provincial General Ambato." ("Microorganismos más frecuentes en infecciones cutáneas en ... - Redalyc") Universidad Nacional de Chimborazo. <https://doi.org/10.37135/ee.04.09.05>

- Butrico CE, Cassat JE. (2020) Quorum sensing and toxin production in staphylococcus aureus osteomyelitis: Pathogenesis and paradox. *Toxins* (Basel). 12(8):1-22.
- Centers for Disease Control and Prevention. (5 de Octubre de 2022). About Antimicrobial Resistance. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>
- Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. (1 de Noviembre de 2020). Eritromicina. Recuperado el 22 de Junio de 2023, de Asociación Española de Pediatría: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/eritromicina>
- Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. (2020) *Pediamécum*. Edición 2015. ISSN 2531-2464. Disponible en: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/trimetoprim>
- Complejo Asistencial Universitario de León. (2022). Estudio de sensibilidad antibiótica Informe anual 2022. Servicio de Microbiología Clínica. Comisión de Infecciones, Profilaxis y Política Antibiótica. CAULE. Recuperado de: <https://www.saludcastillayleon.es/CHLeon/es/carteraservicios/servicios-centrales/microbiologia-clinica/informe-sensibilidad-antibiotica-2022.ficheros/2448828-2022-ESA%20evolutivo%20CAULE.pdf>
- Craft, K. M., Nguyen, J. M., Berg, L. J., and Townsend, S. D. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *Medchemcomm* 10, 1231–1241. doi: 10.1039/C9MD00044E
- Giacoboni, G., Moredo, F., Gagetti, P. (2022). Circulación de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y multirresistente, en granjas de cría porcina de Argentina- Universidad Nacional de la Plata. (“Circulación de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y ...”) DOI: <https://doi.org/10.24215/15142590e063>

- González, N., Zapata, A., Sánchez-Henao, D., & Chávez-Vivas, M. (2021). Resistencia a antibióticos β -lactámicos y eritromicina en bacterias de la cavidad oral. *Nova*, 18(34). doi:10.22490/24629448.3928.
- Gonzalez-Perez, C. J., Tanori-Cordova, J., Aispuro-Hernandez, E., Vargas-Arispuro, I., and Martinez-Tellez, M. A. (2019). Morphometric parameters of foodborne related pathogens estimated by transmission electron microscopy and their relation to optical density and colony forming units. ("Morphometric parameters of foodborne related-pathogens estimated by ...") ("Morphometric parameters of foodborne related-pathogens estimated by ...") ("Morphometric parameters of foodborne related pathogens estimated by ...") *J. Microbiol. Methods* 165:105691 doi: 10.1016/j.mimet.2019.105691
- Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. (2020). Prevalence and Therapies of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol*:1–11.
- Haseeb, A., Ajit Singh, V., Teh, C. S. J., and Loke, M. F. (2019). Addition of ceftaroline fosamil or vancomycin to PMMA: an in vitro comparison of biomechanical properties and anti-MRSA efficacy. *J. Orthop. Surg.* 27:2309499019850324. doi: 10.1177/2309499019850324
- Hernández, V., García, M., García, J., Pérez, L., Rodríguez, C. (2020). *Staphylococcus aureus* en escolares portadores asintomáticos del estado Aragua, Venezuela, *Revista Biomedica. Universidad Autónoma de Yucatán*. Vol. 31, Núm. 1. <https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/issue/view/80>
- Hernández, W. Padrón, J., E. Pérez, A., González, J., Riesgo, L., Barrabí, I., Boligan, G., López, O., Álvarez, M., Camejo, Y., López, O., Díaz, D., Sánchez, J. y Sánchez, L. (2018). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 70(2), 1-9.
- Khoshnood, S., Heidary, M., Asadi, A., Soleimani, S., Motahar, M., Savari, M., et al. (2019). ("Indirect costs associated with skin infectious disease in children: a ...") ("The Current State of Topical Burn Treatments: a

Review”) "A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*." ("A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical ...") ("A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical ...") Biomed. Pharmacother. 109, 1809–1818. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.131

Lakhundi S, Zhang K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. Clin Microbiol Rev. 1–103

Lade H, Kim JS. (2021). Bacterial targets of antibiotics in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antibiotics. 10(4):1–29.

Lee AS, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. (2018). ("Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - Universidade NOVA de Lisboa") ("Comparison of virulence-related determinants between the ST59-t437 and ...") ("Comparison of virulence-related determinants between the ST59-t437 and ...") Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Prim :1–23.

Martínez, H., Valderrama, S., Hernández, A. C., Pinedo, S. K., Correa, J. R., Ríos, É. G., Rojas, J. J., Hernández, Y.Y. y Hidalgo, M. (2020). "Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en pacientes sometidos a cirugía cardiovascular en un hospital universitario de Bogotá, Colombia." ("(PDF) Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* resistente a la ...") ("Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* resistente a la ... - SciELO") Biomedica: revista del Instituto Nacional de Salud, 40(1), 37–44. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4791>

Nakaminami, H., Takadama, S., Okita, M., Sasaki, M., and Noguchi, N. (2019). "Fast-acting bactericidal activity of olanexidine gluconate against qacA/B-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." ("Fast-acting bactericidal activity of olanexidine gluconate against qacA/B-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ") ("Propensity-matched

analysis of the efficacy of olanexidine gluconate ...”) J. Med. Microbiol. 68, 957–960. doi: 10.1099/jmm.0.000979

Negi V, Pal S, Juyal D, Sharma MK, Sharma N. (2019). Perfil bacteriológico de las infecciones del sitio quirúrgico y su antibiograma: un estudio del entorno rural con recursos limitados del estado de Uttarakhand, India. J Clin Diagnóstico Res. 9 :17–20.

Nina, H. (2019). "Presencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus y su patrón de sensibilidad, en personal asistencial de uci, hospitalización y laboratorio de la "clínica Arequipa" noviembre 2018." ("Presencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus y su patrón de ...") ("UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA FACULTAD DE ... - UNSA") Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa Facultad de Ciencias Biológicas escuela profesional de Biología. ("Practica N°14 Helechos | PDF | Helecho | Hoja - Scribd") ("Practica N°14 Helechos | PDF | Helecho | Hoja - Scribd") Recuperado de:

<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/9909/BIinitawh.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Orbe MLS, Tacuri CFA, Bravo PPO. (2021). Susceptibilidad de cepas de S. aureus aisladas en superficies hospitalarias. Rev Vive 4 de mayo de 2021;4(11):345-57.

<https://revistavive.org/index.php/revistavive/article/view/115>

Organización Mundial de la Salud. (2020). Resistencia a los antibióticos. Organización Mundial de la Salud (OMS). Recuperado de:

<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>

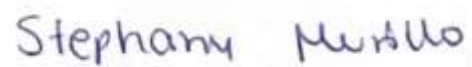
Organización Panamericana de la Salud. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. Organización Panamericana de la Salud (OPS).

Recuperado de: <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20es%20la%20resistencia%20a,%2C%20bacterias%2C%20hongos%20y%20par%C3%A1sitos.>

- Pal, S., Sayana, A., Joshi, A., Juyal, D. (2019) *Staphylococcus aureus*: A predominant cause of surgical site infections in a rural healthcare setup of Uttarakhand. *J Family Med Prim Care*. 2019 Nov 15;8(11):3600-3606. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_521_19. PMID: 31803660; PMCID: PMC6881946.
- Rodríguez, H. (2022). En 2050 la resistencia a los antibióticos será responsable de 10 millones de muertes anuales. *National Geographic España Ciencia*. Recuperado de: https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/2050-resistencia-a-antibioticos-sera-responsable-10-millones-muertes-anuales_18090
- Romero, F., Jossep, R., Aveiro, F., Alba C. (2020). Características clínicas, bacteriológicas y demográficas de las endocarditis infecciosas. *Revista del Nacional (Itauguá)*, 12(1), 42-54. Epub June 00, 2020. <https://doi.org/10.18004/rdn2020.0012.01.042-054>
- Salcedo, L., Ponce, M., Ortegón, M., Bravo, L., Velásquez, A., Torres, C., & Talat, M. (2020). *Staphylococcus aureus* y susceptibilidad de un hospital Nivel II en Palmira-Colombia. ("Staphylococcus aureus y susceptibilidad de un hospital Nivel II en ...") *Revista Colombiana Salud Libre*, 15(2), e237188. <https://doi.org/10.18041/1900-7841/rcslibre.2020v15n2.7188>
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., et al. (2019). Morphological and biological characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma. ("Morphological and Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma.") ("Morphological and Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma.") *Microb. Drug. Resist.* 25, 668–676. doi: 10.1089/mdr.2019.
- Schulte, R. H., and Munson, E. (2019). "Staphylococcus aureus resistance patterns in wisconsin: 2018 surveillance of wisconsin organisms for trends in antimicrobial resistance and epidemiology (SWOTARE) program report." ("Staphylococcus aureus Resistance Patterns in Wisconsin: 2018 ...") ("Staphylococcus aureus Resistance Patterns in Wisconsin: 2018 ...") *Clin. Med. Res.* 17, 72–81. doi: 10.3121/cmr.2019.1503

- Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, et al. (2019). ("Molecular characterization of healthcare and community-associated ...") ("Influence of the COVID-19 pandemic on Staphylococcus aureus bloodstream ...") "Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview of basic and clinical research." ("Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview of basic and ...") ("Methicillin-resistant staphylococcus aureus infectious disease (Concept ...)") Nat Rev Microbiol.17(4):203–18.
- Vallejo, G., Andrade, C., Orellana, P., & Ortiz, J. (2022). Resistencia de cepas de Staphylococcus aureus aislados en ambientes. VIVE Revista de Investigación en Salud, 5(13), 22-34. doi:10.33996/revistavive.v5i13.127
- Vestergaard, M., Frees, D., and Ingmer, H. (2019). Antibiotic resistance and the MRSA problem. Microbiol. Spectr. 7:GPP3-0057-2018. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018
- Vicente, D., & Pérez-Trallero, E. (2010). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 28(2), 122-130.
- Wang J, Wang L. (2021). Novel therapeutic interventions towards improved management of septic arthritis. BMC Musculoskelet Disord. 22(1):1–18
- Watkins RR, Holubar M, David MZ. (2019). Antimicrobial Resistance in MethicillinResistant Staphylococcus aureus to Newer Antimicrobial Agents. Antimicrob Agents Chemother. 63(12):1–14.
- Werth, B. J. (1 de Mayo de 2022). Penicilinas. Recuperado el 22 de Junio de 2023, de Manual MSD, versión para profesionales: <https://www.msdmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-farmacos-antibacterianos/penicilinas>
- Zambrano, A., Orellana, P., & Andrade, C. (2022). "Vigilancia epidemiológica de Staphylococcus aureus y resistencia antibiótica en ambientes nosocomiales." ("Vigilancia epidemiológica de Staphylococcus aureus y resistencia ...") Vive Revista de Salud, 5(13), 233-244. Epub 27 de mayo de 2022. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v5i13.144>.

Firma del (la) estudiante y fecha:



Stephany del Rosario Murillo Borja

Quito, 27 de junio de 2023

Firma del director (a) de disertación y fecha:



Mtr. Fernanda Yauri

Quito, 27 de junio de 2023

Firma del cordinador (a) de la Escuela y fecha:

Mtr. Sonia Margarita Estrella Vásquez

Quito, 27 de junio de 2023

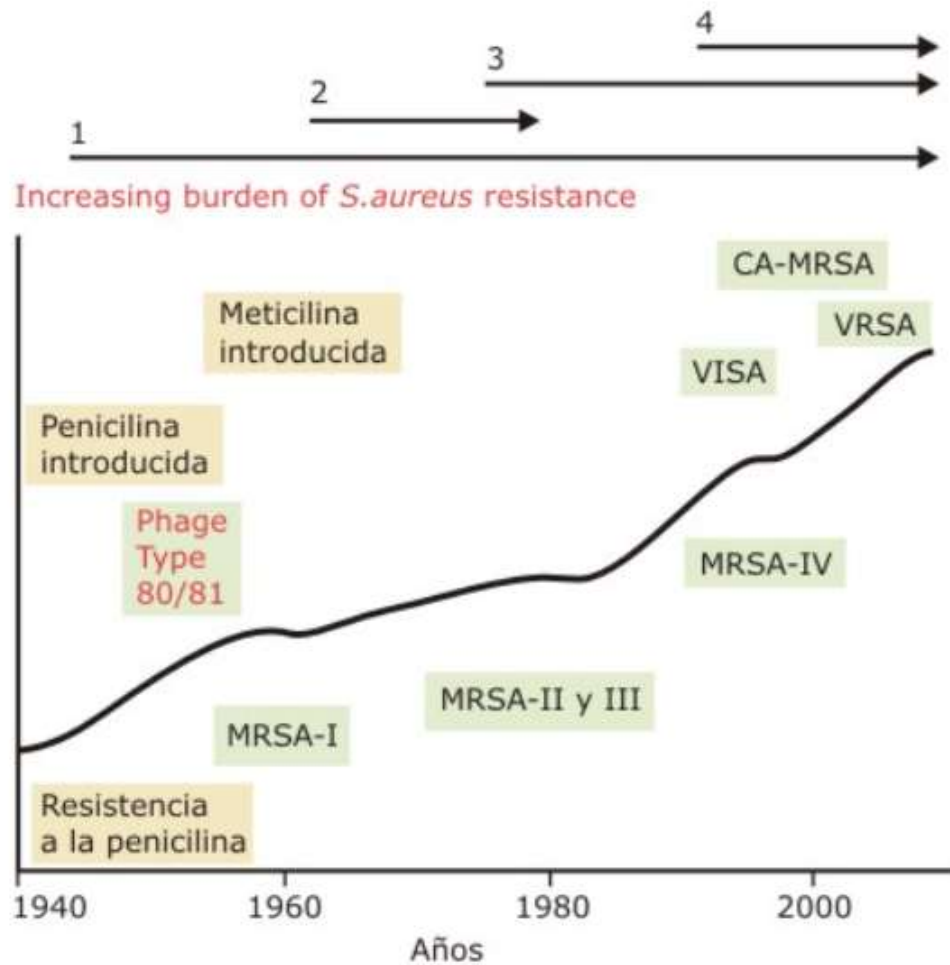
Firma del decano (a) y fecha:

Mgtr. Diego Guevara

Quito, 27 junio de 2023

9. ANEXOS

Anexo 1. Evolución de la Resistencia en *Staphylococcus aureus*



MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, VISA: *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a la vancomicina, VRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a la vancomicina, CA-MRSA: MRSA adquirida en la comunidad.

Fuente: Chambers HF, DeLeo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Review Microbiology*. 2009; 7:629-41

Anexo 2. Aislados bacterianos de *Staphylococcus aureus* provenientes de la Colección Bacteriana – Quito Católica (CB-QCA).



Aislados de *S. aureus* de la Colección Bacteriana – Quito Católica utilizados en el presente estudio: CB-QCA 4524, CB-QCA 4556, CB-QCA 4571, CB-QCA 4576, CB-QCA 4583, CB-QCA 4584, CB-QCA 4587, CB-QCA 4634, CB-QCA 4655, CB-QCA 4714, CB-QCA 4722, CB-QCA 4723, CB-QCA 4724, CB-QCA 4749, CB-QCA 4784, CB-QCA 4839, CB-QCA 4873, CB-QCA 4874

Anexo 3. Antibióticos empleados en el desarrollo del Antibiograma de *Staphylococcus aureus*



Antibióticos: Penicilina (P) 10 µg, Eritromicina (E) 15 µg, Gentamicina (CN) 10 µg, Cloranfenicol (C) 30 µg, Ciprofloxacina (CIP) 5 µg, Clindamicida (CC) µg,

Linezolid (LZD) 30 µg, Tetraciclina (TE) 30 µg, Trimetoprim 23.75 µg - sulfametoxazole 1.25 µg (STX), Rifampicina (RA) 5 µg, Cefoxitina (FOX) 30 µg.