

ARTÍCULO ORIGINAL

## Cambios a lo largo del tiempo en la distribución de los complejos de clones dominantes de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en Medellín, Colombia

Ana M. Ocampo<sup>1,2</sup>, Lázaro A. Vélez<sup>3</sup>, Jaime Robledo<sup>4,5</sup>, Judy Natalia Jiménez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada, MICROBA, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Grupo Investigador de Problemas en Enfermedades Infecciosas, GRIPE, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Unidad de Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

**Introducción.** Parte del éxito de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) como patógeno se debe a la rápida diseminación de linajes pandémicos con perfiles variables de virulencia y sensibilidad antimicrobiana. En Colombia se han identificado clones asociados al hospital como el pediátrico (CC5-ST5-SCC*meclV*), el brasilero (CC8-ST239-SCC*meclIII*) y el chileno/cordobés (CC5-ST5-SCC*mecl*). Asimismo, se describió el USA300 (CC8-ST8-SCC*meclV*), tradicionalmente asociado a la comunidad, causante de infecciones hospitalarias.

**Objetivo.** Describir el comportamiento en el tiempo de los clones de SARM provenientes de un hospital universitario de Medellín en aislamientos recolectados con una década de diferencia.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 398 aislamientos de SARM, 67 recolectados en 1994 y 331 recolectados entre 2008 y 2010. La identificación y la sensibilidad a la meticilina se confirmaron mediante los genes *nuc* y *mecA*. La caracterización molecular incluyó la tipificación de *spa*, SCC*mec*, la electroforesis en gel de campo pulsado (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*, PFGE), y la tipificación por secuenciación de locus múltiples (*Multilocus Sequence Typing*, MLST).

**Resultados.** Al analizar los aislamientos de SARM de 1994 se encontró que pertenecían a un único linaje, el CC5-SCC*meclV*, mientras que los aislamientos de 2008 a 2010 presentaron dos linajes dominantes: el CC8-SCC*meclVc*, con cepas de los tipos *spa* t008 y t1610, estrechamente relacionadas con el clon USA 300, y el CC5-SCC*mecl*, con las de tipo *spa* t149, relacionadas con el clon chileno; no se detectaron cepas del linaje encontrado en 1994.

**Conclusiones.** En este estudio se demuestra una dinámica en el tiempo de las cepas de *S. aureus*, y se señala la importancia de la vigilancia local y la difusión de los resultados, sobre todo en países como el nuestro, donde SARM es prevalente y la comprensión de su epidemiología es limitada.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1657>

### Changes over time in the distribution of dominant clonal complexes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Medellín, Colombia

**Introduction:** Part of the success of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as a pathogen responds to the rapid spread of pandemic lineages with diverse virulence and antimicrobial susceptibility profiles. In Colombia, several healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) clones have been found, including the pediatric clone (CC5-ST5-SCC*meclV*), the Brazilian clone (CC8-ST239-SCC*meclIII*), and the Chilean/Cordobés clone (CC5-ST5-SCC*mecl*). Moreover, the community-associated MRSA (CA-MRSA) clone USA300 has been reported as causing hospital-acquired infections.

**Objective:** To describe the changes over time in the distribution of MRSA clones from a university hospital in Medellín collected at two time points a decade apart.

**Materials and methods:** A total of 398 MRSA strains were analyzed. Of these, 67 strains were collected in 1994, while the remaining 331 strains were collected between 2008 and 2010. Species identification

#### Contribución de los autores:

Judy Natalia Jiménez y Ana M. Ocampo: realización de los experimentos, análisis de los datos.

Todos los autores participaron en el diseño de los experimentos, la recolección de los datos y la elaboración del manuscrito.

and methicillin resistance were confirmed by detection of *nuc* and *mecA* genes, respectively. Molecular characterization included *spa* typing, *SCCmec* typing, PFGE and MLST.

**Results:** Analysis of the MRSA strains collected in 1994 revealed that they belonged to a single clone, the CC5-*SCCmecIV*, whereas among the isolates from 2008-2010, two dominant clones were identified: CC8-*SCCmecIVc*, which included *spa* types t008 and t1610 and is closely related to the USA 300 clone, and CC5-*SCCmecI* (*spa* type t149), related to the Chilean clone. The ST5-*SCCmecIV* clone from 1994 was not detected.

**Conclusions:** This study identifies temporal dynamics in MRSA clone diversity, and highlights the importance of local surveillance and dissemination of results, especially in countries like Colombia where MRSA is prevalent and knowledge regarding its epidemiology is still insufficient.

**Key words:** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1657>

*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) es un patógeno de gran importancia en salud pública debido a la rápida diseminación y diversificación de linajes pandémicos que presentan perfiles variables de virulencia y sensibilidad antimicrobiana. Entre los clones más importantes asociados al ambiente hospitalario (SARM-AH) se encuentran el clon arcaico (CC8-ST250-*SCCmecI*), el clon ibérico (CC8-ST247-*SCCmecI*), el brasilero (CC8-ST239-*SCCmecIII*), el pediátrico (CC5-ST5-*SCCmecIV*), el Nueva York/Japón (CC5-ST5-*SCCmecII*) y el EMRSA-15 (CC22-ST22-*SCCmecIV*). En estos clones se han observado cambios en el tiempo entre países, regiones, e incluso dentro de una misma institución hospitalaria (1,2).

Asimismo, cinco clones de SARM asociados a la comunidad (SARM-AC), se han diseminado por todo el mundo: el ST1 reportado en Asia, Europa y Estados Unidos, el ST8, en Europa y en Estados Unidos, el ST30, en Australia, Europa y Suramérica, el ST59, en Asia y Estados Unidos y el ST80, en Asia, Europa y Medio Oriente (2,3).

Recientemente, en el ámbito hospitalario, cepas asociadas a SARM-AC han comenzado a reemplazar las cepas tradicionales de SARM-AH, especialmente en Estados Unidos y Taiwán, donde la prevalencia de SARM-AC es alta (4-7).

Por otra parte, en Suramérica los linajes encontrados con mayor frecuencia son el clon pediátrico (CC5-ST5-*SCCmecIV*), el clon chileno/cordobés (CC5-ST5-*SCCmecI*), el clon Oceanía-*South West Pacific* (CC30-ST30-*SCCmecIV*), el clon brasilero

(CC8-ST239-*SCCmecIII*) y el clon Nueva York/Japón (CC5-ST5-*SCCmecII*) (8). En Colombia se han identificado clones de SARM-AH como el pediátrico, el brasilero y el chileno/cordobés, principalmente en hospitales de tercer nivel en Bogotá (9-11). Asimismo, el clon de SARM-AC USA300 (CC8-ST8-*SCCmecIV*) se ha descrito como causante de infecciones hospitalarias (12-14).

Considerando la naturaleza cambiante de los clones de SARM y la importancia de la vigilancia local, en este trabajo nos propusimos describir el comportamiento en el tiempo de los clones de SARM recolectados con más de una década de diferencia en un hospital universitario de alto nivel de complejidad localizado en Medellín, en el cual SARM es prevalente.

## Materiales y métodos

### Población de estudio

El estudio se llevó a cabo en un hospital universitario de alto nivel de complejidad de 700 camas ubicado en Medellín. Se incluyeron aislamientos de SARM obtenidos de pacientes hospitalizados con infección, y recolectados en dos periodos diferentes: 67 aislamientos recolectados de forma prospectiva, obtenidos durante el año 1994, y 331 aislamientos recolectados de forma prospectiva y obtenidos entre febrero de 2008 y junio de 2010. Estos últimos aislamientos hacían parte de un estudio reportado previamente (14). En ambos periodos de estudio se incluyó una muestra por paciente correspondiente al primer aislamiento clínico de SARM obtenido durante el proceso infeccioso.

### Consideraciones éticas

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Bioética para Investigación en Humanos de la Sede de Investigación Universitaria de la Universidad de Antioquia (CBEIH-SIU), así como por el comité de ética de la institución hospitalaria.

#### Correspondencia:

Judy Natalia Jiménez, Universidad de Antioquia,  
Calle 67 N° 53-108, bloque 5, oficina 135, Medellín, Colombia  
Teléfonos: (574) 219 5497 y 219 5485; fax: 219 5498  
[judynatalia@yahoo.com](mailto:judynatalia@yahoo.com)

Recibido: 17/05/13; aceptado: 23/08/13

### **Identificación de *Staphylococcus aureus* y determinación de la sensibilidad a meticilina**

La identificación de *S. aureus* se realizó morfológica y bioquímicamente de la siguiente manera: a las colonias con morfología típica de *Staphylococcus* se les practicaron las pruebas de catalasa y de coagulasa en tubo para confirmar la presencia de *S. aureus* (15). La evaluación de la sensibilidad a meticilina (oxacilina) se hizo en el equipo automatizado Vitek 2® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), de acuerdo con los estándares del *Clinical Laboratory and Standards Institute* (CLSI) (16).

### **Confirmación molecular de la especie, de la resistencia a la meticilina y tipificación del casete cromosómico *mec* (*SCCmec*)**

La presencia de los genes específicos de especie *nuc* y *femA*, así como del gen *mecA* que determina la resistencia a la meticilina, se determinó empleando protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) previamente descritos (17,18). Los tipos y subtipos del *SCCmec* se determinaron mediante la estrategia de PCR descrita por Kondo, *et al.* (19). Las siguientes son las cepas SARM empleadas como controles positivos, las cuales fueron donadas por Teruyo Ito (Universidad de Juntendo, Japón): NCTC10442 (*SCCmec* I), N315 (*SCCmec* II), 85/2082 (*SCCmec* III), JCSC4744 (*SCCmec* IVa), JCSC2172 (*SCCmec* IVb), 81/108 (*SCCmec* IVc), KSC4469 (*SCCmec* IVd), JCSC4796 (*SCCmec* IVg), y WIS (*SCCmec* V).

### **Tipificación de la región polimorfa de la proteína A (tipo *spa*) y tipificación por secuenciación de locus múltiples**

La región polimorfa X de la proteína A (*spa*) se amplificó y secuenció en el total de las muestras siguiendo la metodología de Shopsis, *et al.* (20). El análisis de los tipos de secuencias de *spa* se realizó utilizando el *software* eGenomics (20,21). Posteriormente, los tipos *spa* se asignaron de acuerdo con el sitio web Ridom (<http://www.spaserver.ridom.de/>) desarrollado por Ridom GmbH® bajo la curaduría de SeqNet.org (<http://www.SeqNet.org/>) (22). Además, en un subconjunto de aislamientos se aplicó la tipificación por secuenciación de locus múltiple (*Multilocus Sequence Typing*, MLST) empleando la metodología descrita por Enright, *et al.* (23). Los alelos y los tipos de secuencia se asignaron por medio de la base de datos del sitio web de MLST (<http://saureus.mlst.net/>), mientras que los complejos 'clonales' se determinaron mediante el algoritmo eBURST (24).

### **Electroforesis en gel de campo pulsado**

Se empleó el método descrito por Mulvey, *et al.* (25), el cual utiliza la enzima *Sma* I. La electroforesis en gel de campo pulsado (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*, PFGE) se realizó en el sistema CHEF-DRIII™ (Bio-Rad, Hercules, California, USA). Para normalizar los fragmentos de ADN y permitir la comparación entre los diferentes geles, se empleó la cepa de referencia *S. aureus* NCTC8325. La asignación de las bandas se hizo de forma automática y luego se ajustó manualmente; para el análisis se consideraron bandas entre 36 y 600 kb. El análisis de conglomerado se realizó empleando el coeficiente de Dice en el *software* Bionumerics, versión 6.0 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica). Los dendrogramas se generaron mediante el promedio aritmético de los grupos de pares no ponderados (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*, UPGMA) con 1 % de tolerancia y 0,5 % de optimización. Los puntos de corte empleados para el coeficiente de similitud fueron de 80 y 95% para definir tipos y subtipos, respectivamente (25).

### **Análisis estadístico**

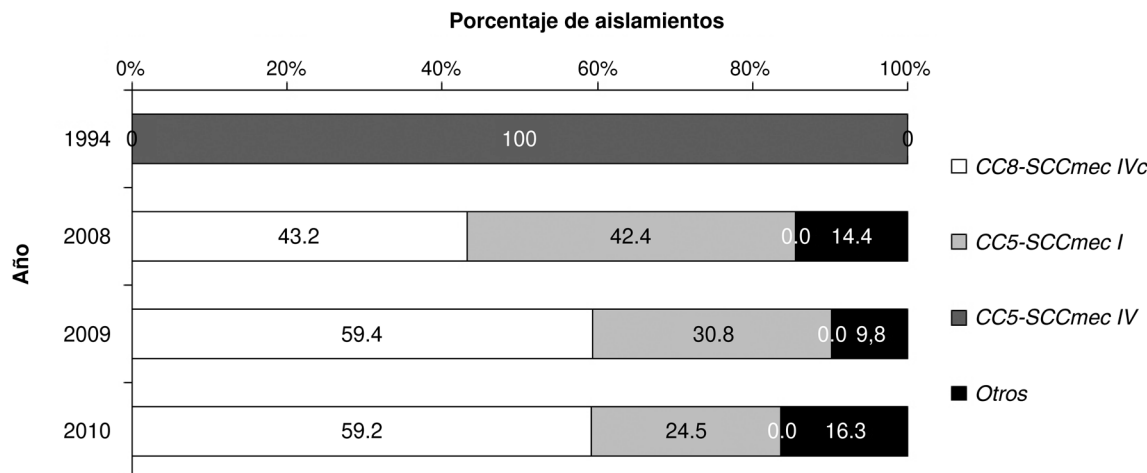
Las frecuencias de los linajes encontrados por año se compararon usando la prueba de ji al cuadrado o la prueba exacta de Fisher y estableciendo valores de  $p \leq 0,05$  como estadísticamente significativos. Los análisis se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico SPSS®, versión 15.0.

### **Resultados**

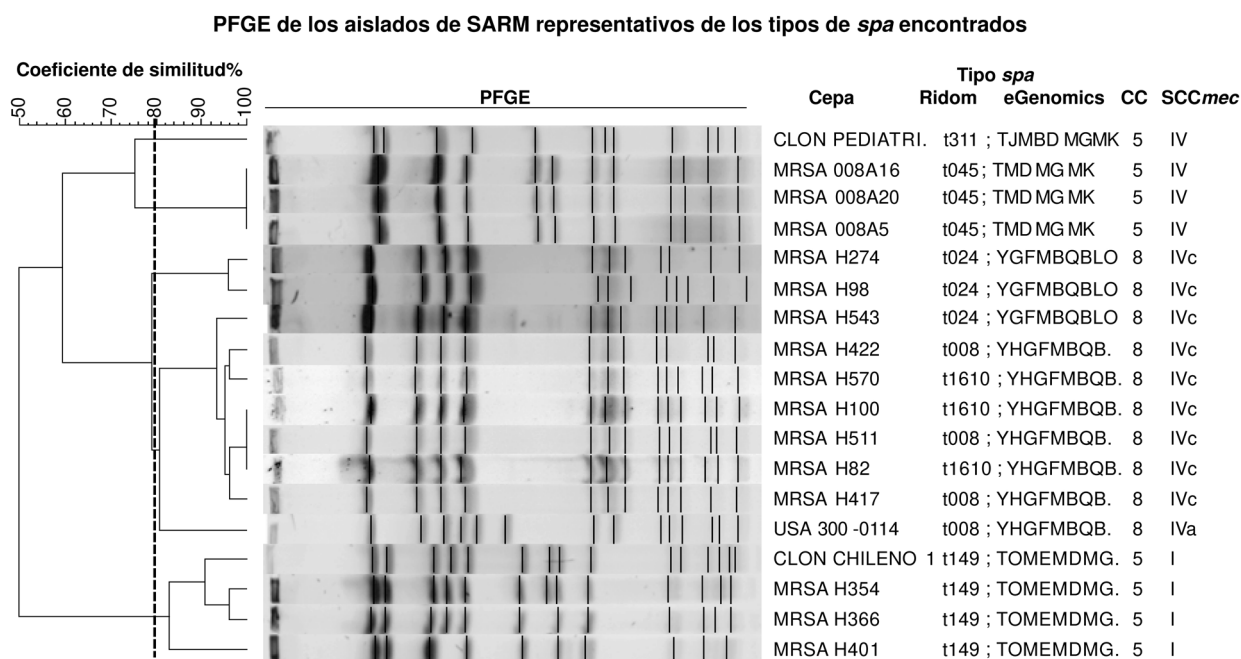
Al analizar los aislamientos recolectados durante el año 1994 se encontró que 100 % de las cepas (67) pertenecían al CC5 y presentaban el tipo *spa* t045 (eGenomics 47, TMDMGMK), asimismo, todos portaban un *SCCmec* tipo IV, pero el subtipo no pudo determinarse (figura 1).

En los análisis de la PFGE se encontró que estos aislamientos presentaban un coeficiente de similitud de 75,4 % con el clon pediátrico (CC5-ST8-*SCCmec*IV, actualmente clasificado como VI) (26) (figura 2).

Al analizar los aislamientos SARM de los años 2008 a 2010, se encontraron 10 complejos 'clonales' de MLST; sin embargo, 96 % de las cepas pertenecía a los complejos 'clonales' CC5 (ST5) y CC8 (ST8) (37,4 y 58,6 %, respectivamente). Asimismo, los tipos *spa* más comunes fueron los siguientes: *spa* t1610 (eGenomics 814, YHGFMBQBBLO, 25,4 %), t149 (eGenomics 442, TO2MEMDMGMGMK,



**Figura 1.** Cambios en la frecuencia de los linajes 'clonales' de SARM CC5-SCCmecIV, CC5-SCCmecI y CC8-SCCmecIVc durante los años 1994, 2008, 2009 y 2010. Otros: aislamientos de SARM con diferentes tipos de complejo 'clonal' o tipo SCCmec.



**Figura 2.** Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) que muestra la relación genética entre los aislamientos representativos de SARM encontrados en los años de estudio. La línea discontinua corresponde a un coeficiente de similitud de 80 % que se utiliza para definir clones relacionados por PFGE. Cepas: CC8-SCCmecIVc (spa t1610; spa t008 y spa t024); ST 5-SARM-I (spa 149); CC5-SCCmecIV (spa t045). Cepas control: USA 300- 0114 (CC8-SCCmecIVa); clon chileno (CC5-SCCmecI); clon pediátrico (CC5-SCCmecIV).

20,8 %), t008 (eGenomics 1, YHGFMBQBLO, 13 %), y t024 (eGenomics 363, YGFMBQBLO, 9,7 %). Los aislamientos con spa t1610, t008, y t024, pertenecientes al complejo 'clonal' 8 (ST8), albergaban con gran frecuencia el SCCmecIVc (99,2 %), mientras que los aislamientos con tipo spa t149 del complejo 'clonal' 5 (ST5) portaban el SCCmec tipo I exclusivamente.

Al comparar las frecuencias de estos linajes entre los años de estudio se encontraron cambios en su distribución. Los aislamientos del CC8 que portaban el SCCmecIVc (tipos spa t1610, t008, y t024, principalmente) incrementaron su frecuencia de 43,2 % en el 2008 a 59,2 % en el 2010 (p<0,05). Por el contrario, los aislamientos del ST5 que portaban el SCCmec de tipo I, disminuyeron su frecuencia

de 42,4 % en el 2008 a 24,5 % en el 2010 ( $p < 0,05$ ) (figura 1). Los resultados de la electroforesis en gel de campo pulsado evidenciaron que los tipos *spa* t1610 y t008 estaban estrechamente relacionados con el clon SARM-AC USA300-0114 (CC8-ST8-SCC*mec*IVa), con un coeficiente de similitud del 80,65 %, mientras que con los aislamientos del tipo *spa* t024 fue de 78 % (figura 2).

De acuerdo con lo esperado, los aislamientos pertenecientes al tipo *spa* t149 estaban estrechamente relacionados (coeficiente de similitud de 83 %) con el clon chileno (CC5-ST5-SCC*mec*I).

Ninguna de las cepas recolectadas del 2008 al 2010 mostró relación con las obtenidas en 1994 ni con el clon pediátrico (ST5-SARM-IV, actualmente clasificado como VI).

### Discusión

La realización de este trabajo permitió evidenciar el cambio en el tiempo de los clones de SARM responsables de las infecciones en un hospital universitario de alto nivel de complejidad de Colombia. En este estudio se muestra la expansión de cepas del CC8-SCC*mec*IVc, el desplazamiento de cepas del CC5-SCC*mec*I y la desaparición de las cepas del CC5-SCC*mec*IV. Igualmente, se evidencian diferencias con relación a lo reportado previamente en el país y en Suramérica.

El primer estudio publicado en el país sobre caracterización molecular de SARM se realizó entre los años 1996 y 1998 como parte de una estrategia global de vigilancia de la resistencia con muestras de hospitales de Bogotá y Manizales (9). En dicho trabajo, la tipificación molecular mostró que todos los aislamientos compartían propiedades idénticas de un solo clon denominado "clon pediátrico", que había sido previamente descrito en los años 90 en Europa, Estados Unidos y Suramérica. Sin embargo, los aislamientos de Colombia diferían del clon pediátrico por su amplia resistencia a múltiples medicamentos y por haberse aislado de pacientes de todas las edades. En 2005, Cruz, *et al.* (10), evaluaron 200 muestras de SARM recolectadas entre 1996 y 2003 que provenían en su mayoría de hospitales de Bogotá y Cali (48 y 45 %, respectivamente); los autores no detectaron el clon pediátrico, solo encontraron el denominado clon chileno. Este fue el primer reporte de tal clon en Colombia, lo cual, según los autores, indicaba un cambio en la población genética de SARM en el país. Álvarez, *et al.* (27), presentaron en el 2006 el primer reporte de SARM-AC en Colombia;

posteriormente, Reyes, *et al.*, en 2009 (12) y Álvarez, *et al.*, en 2010 (13) reportaron el clon USA 300 (CC8-ST8-SCC*mec*IV) como causante de infecciones hospitalarias y Jiménez, *et al.*, en 2012 (14) documentaron el predominio de cepas de SARM del CC8 con SCC*mec* IVc como causantes de infecciones en hospitales de Medellín.

Los resultados de este trabajo evidencian hallazgos importantes con relación a las cepas previamente reportadas en el país. Las cepas recolectadas en 1994 presentaron un coeficiente de similitud de 75 % con el clon pediátrico (CC5-ST5-SCC*mec*-IV), el cual había sido reportado con alta prevalencia entre 1996 y 1998 (9), y que no fue detectado en las cepas recolectadas entre los años 2008 y 2010. Por otra parte, el clon chileno (CC5-ST5-SCC*mec*I) ocupó el segundo lugar en frecuencia entre los años 2008 y 2010, a diferencia de lo informado en estudios realizados en hospitales, principalmente de Bogotá, entre 2001 y 2003 y entre 2006 y 2007, donde fue el clon dominante (10,11).

Los resultados de este trabajo concuerdan con los reportes actuales que muestran un desplazamiento de las cepas de SARM que portan el SCC*mec* tipo IVc, tradicionalmente asociadas a la comunidad, hacia el ambiente hospitalario, habiéndose convertido en las principales responsables de las infecciones asociadas a la atención en salud ocasionadas por *S. aureus* (7,12-13,28,29). Es interesante anotar que estas cepas difieren del prototipo de cepas USA 300-0114 en que albergan el SCC*mec* IVc en lugar del IVa, y, por el contrario, comparten esta característica con la USA 300, variante latinoamericana (USA 300-LV), recientemente descrita (30).

El predominio de las cepas con SCC*mec* IV puede deberse a que presentan varias ventajas: i) un SCC*mec* de menor tamaño, que les permite transmitirse más fácilmente y tener una velocidad de replicación mayor; ii) un menor número de genes de resistencia a antibióticos comparado con el de las cepas que portan el SCC*mec* tipo I, II o III, lo cual constituye una ventaja para el costo de la eficacia biológica, y iii) una tasa de crecimiento mayor, que significa una ventaja frente a otras bacterias en cuanto a la colonización exitosa (31,32).

Los linajes encontrados con mayor frecuencia en el estudio mostraron diferencias con los linajes de SARM reportados con mayor prevalencia en Suramérica, como el CC5-ST5-SCC*mec*II, el CC5-

ST5-SCC*mec*IV, el CC5-ST5-SCC*mec*I, el CC30-ST30-SCC*mec*IV (Oceania South West Pacific) y el CC8-ST239-SCC*mec*III (8).

La combinación de diferentes metodologías de tipificación molecular como la MLST, la PFGE y la tipificación de *spa* y del SCC*mec*, permitieron contar con un mayor poder de discriminación y, de esta manera, alcanzar una mejor comprensión del comportamiento de las cepas de SARM-AH (33).

En conclusión, los cambios constantes en la epidemiología de las infecciones ocasionadas por *S. aureus* reafirman que este microorganismo sigue siendo una importante amenaza para la salud pública humana, de allí la importancia de la vigilancia local y la difusión de los resultados, sobre todo en países en desarrollo como el nuestro, donde la comprensión de la epidemiología y la dinámica de la transmisión de *S. aureus* todavía es limitada.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Esta investigación fue financiada por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias, proyecto 1115-459-21442, y por el Comité para el Desarrollo de la Investigación, CODI, Universidad de Antioquia, del proyecto CIMB-032-11. Judy Natalia Jiménez recibió apoyo financiero de Colciencias para su formación doctoral.

### Referencias

- Aires de Sousa M, de Lencastre H. Bridges from hospitals to the laboratory: Genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. *Fems Immunol Med Microbiol*. 2004;40:101-11. [http://dx.doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00370-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00370-5)
- Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol*. 2008;8:747-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2008.07.007>
- Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7:629-41. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2200>
- Huang YH, Tseng SP, Hu JM, Tsai JC, Hsueh PR, Teng LJ. Clonal spread of SCC*mec* type IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between community and hospital. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:717-24. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01718.x>
- Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007;298:1763-71. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.298.15.1763>
- Moran GJ, Amii RN, Abrahamian FM, Talan DA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired skin infections. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:928-30. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1106.040641>
- Popovich KJ, Weinstein RA, Hota B. Are community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains replacing traditional nosocomial MRSA strains? *Clin Infect Dis*. 2008;46:787-94. <http://dx.doi.org/10.1086/528716>
- Rodríguez-Noriega E, Seas C, Guzmán-Blanco M, Mejía C, Álvarez C, Bavestrello L, et al. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America. *Int J Infect Dis*. 2010;14:e560-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2009.08.018>
- Gomes AR, Sanches IS, Aires de Sousa M, Castañeda E, De Lencastre H. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Colombian hospitals: Dominance of a single unique multidrug-resistant clone. *Microb Drug Resist*. 2001;7:23-32. <http://dx.doi.org/10.1089/107662901750152729>
- Cruz C, Moreno J, Renzoni A, Hidalgo M, Reyes J, Schrenzel J, et al. Tracking methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Colombian hospitals over 7 years (1996-2003): Emergence of a new dominant clone. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;26:457-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.08.013>
- Yomayusa N, Álvarez CA, Hernández PA, Ibáñez M, Sossa MP, Suárez IC, et al. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina son un problema de salud pública. *Revista Medica Sanitas*. 2009;12:8-16.
- Reyes J, Rincón S, Díaz L, Panesso D, Contreras GA, Zurita J, et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. *Clin Infect Dis*. 2009;49:1861-7. <http://dx.doi.org/10.1086/648426>
- Álvarez CA, Yomayusa N, Leal AL, Moreno J, Méndez-Álvarez S, Ibáñez M, et al. Nosocomial infections caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Colombia. *Am J Infect Control*. 2010;38:315-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2009.05.013>
- Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodríguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. CC8 MRSA strains harboring *sccmec* type ivc are predominant in Colombian hospitals. *Plos One*. 2012;7:e38576. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0038576>
- Becker K, von Eiff C. *Staphylococcus, micrococcus* and other catalase-positive cocci. In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Lanchy ML, Warnock DW, editors. *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C.: ASM Press; 2011. p. 308-30.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement. CLSI Document m100-s19. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
- Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J Clin Microbiol*. 1992;30:1654-60.
- 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.

19. **Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al.** Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: Rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:264-74. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00165-06>
20. **Shopsin B, Gómez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al.** Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 1999; 37:3556-63.
21. **Mathema B, Mediavilla J, Kreiswirth BN.** Sequence analysis of the variable number tandem repeat in *Staphylococcus aureus* protein A gene: spa typing. *Methods Mol Biol.* 2008;431:285-305.
22. **Harmsen D, Claus H, Witte W, Rothgänger J, Claus H, Turnwald D, et al.** Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5442-8. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.12.5442-5448.2003>
23. **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;38:1008-15.
24. **Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, Hanage WP, Spratt BG.** eBURST: Inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J Bacteriol.* 2004;186:1518-30.
25. **Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al.** Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 2001;39:3481-5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.39.10.3481-3485.2001>
26. **Oliveira DC, Milheiro C, de Lencastre H.** Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome mec, SCCmec type VI. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:3457-9. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00629-06>
27. **Álvarez CA, Barrientes OJ, Leal AL, Contreras GA, Barrero L, Rincón S, et al.** Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:2000-1. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1212.060814>
28. **Donnio PY, Preney L, Gautier-Lerestif AL, Avril JL, Lafforgue N.** Changes in staphylococcal cassette chromosome type and antibiotic resistance profile in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a French hospital over an 11 year period. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:808-13. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkh185>
29. **Denis O, Deplano A, De Ryck R, Nonhoff C, Struelens MJ.** Emergence and spread of gentamicin-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgian hospitals. *Microb Drug Resist.* 2003;9:61-71. <http://dx.doi.org/10.1089/107662903764736355>
30. **Nimmo GR.** USA300 abroad: Global spread of a virulent strain of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:725-34. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03822.x>
31. **D'Agata EM, Webb GF, Horn MA, Moellering RC Jr, Ruan S.** Modeling the invasion of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* into hospitals. *Clin Infect Dis.* 2009;48:274-84. <http://dx.doi.org/10.1086/595844>
32. **Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, et al.** Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *J Clin Microbiol.* 2002;40:4289-94.
33. **Larsen AR, Goering R, Stegger M, Lindsay JA, Gould KA, Hinds J, et al.** Two distinct clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with the same USA300 pulsed-field gel electrophoresis profile: a potential pitfall for identification of USA300 community-associated MRSA. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3765-8. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00934-09>