

ARTÍCULO  
ORIGINAL

Dra. Mabel González Alemán.<sup>1\*</sup>  
 Dra. Itzel Juárez Gámez.<sup>2</sup>  
 Dra. Leonora González Mesa.<sup>3</sup>  
 Dra. Loreta Nadal Becerra.<sup>4</sup>

- 1 Especialista de primer grado en pediatría, Master en Infectología, profesor ISCM-H, Jefe del Grupo Nacional de Infectología Pediátrica. Hospital Pediátrico Universitario "William Soler".
- 2 Especialista de primer grado en pediatría.
- 3 Licenciada en Biología, especialista en microbiología clínica.
- 4 Técnico medio en procesos biológicos.

## \*Correspondencia

Dra. Mabel González Alemán  
 Hospital Pediátrico  
 Universitario William Soler  
 Departamento de Infectología.  
 Calle 100 y Perla.  
 Ciudad de la Habana, Cuba.  
 Apartado postal 10 800.  
 Teléfono 443521.

## Frecuencia de colonización de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un grupo de niños en edad escolar

## RESUMEN

**Introducción:** el *Staphylococcus aureus* coloniza la piel y las fosas nasales en niños y en adultos del 20% al 30%; alrededor del 1% de los portadores nasales son meticilino resistentes.

**Objetivos:** identificar las cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas en los exudados nasales; determinar el porcentaje de portadores nasales de *S. aureus*, la frecuencia de colonización por cepas de *S. aureus* meticilino resistentes (SAMR), la resistencia cruzada de los aislados a diferentes grupos de antibióticos, la susceptibilidad *borderline* y la presencia del gen *mecA* como mecanismos de resistencia, así como la frecuencia de factores de riesgo que se relacionan con el estado de portador de SAMR.

**Diseño:** se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal, en 512 escolares en la Escuela Primaria República Popular de Angola, de junio a julio del año 2006. Se utilizó el método estandarizado de Kirby-Bauer para determinar la susceptibilidad a los diferentes antimicrobianos. Asimismo, se usó la reacción múltiple en cadena de la polimerasa para la detección del gen *mecA*.

**Resultados:** encontramos 188 niños colonizados por *S. aureus* (36.7%) y sólo nueve (4.7%) presentaron resistencia al disco de oxacilina. La hospitalización previa y el convivir con alguna persona que trabaje en un hospital, mostraron una relación estadísticamente significativa con el estado de portador del SAMR. Las cepas aisladas mostraron índices altos de resistencia para la penicilina (97.9%), eritromicina (39.6%) y clindamicina (21.8%). Se detectó entre las cepas de *S. aureus* que sólo una portaba el gen *mecA*, las restantes no crecieron en las placas de agar con oxacilina, lo que indicó la presencia del fenotipo de resistencia *borderline*.

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus*, portador nasal, factores de riesgo.

## ABSTRACT

**Introduction:** *Staphylococcus aureus* colonizes the skin and the nose from 20% to 30% of children and adults, around 1% of the nasal carrier are methicillin resistant.

**Objectives:** to identify the stumps of *Staphylococcus* spp isolated in those perspired nasal, to determine the percentage of nasal carrier of *S. aureus*, the colonization frequency for stumps of *S. aureus* resistant to methicilin (SAMR), the crossed resistance of the isolated ones to different groups of antibiotics, the susceptibility *borderline* and the witnesses of the gene *mecA* like resistance mechanisms, the frequency of factors of risk that you/they are related with the state of payee of SAMR.

**Design:** a traverse and descriptive study carried out in 512 scholars in the School Primary Popular Republic of Angola, from June to July, 2006. The standardized method of Kirby-Bauer was used to determine the susceptibility to the different antimicrobianos. For the detection of the gene *mecA*, the multiple polymerase chain reaction was used.

**Results:** we find 188 children colonized by *S. aureus* (36.7%) and only nine (4.7%) of they presented resistance to the oxacillina disk. Previous hospitalization and coexist with a hospital worker showed relationship statistically significant with the state of payee of the SAMR. The isolated stumps showed high indexes of resistance for penicillin (97.9%), erythromycin (39.6%) and clindamycin (21.8%). It was detected among the stumps of *S. aureus* that alone one behaved of the gene *mecA*, the remaining ones didn't grow in the agar badges with oxacillin, indicating the presence *borderline* phenotype resistance.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, nasal payee, factors of risk.

## Introducción

Los estafilococos producen muy diversos síndromes, con manifestaciones clínicas que van desde una simple pústula hasta la sepsis y la muerte.<sup>1</sup> Esta bacteria coloniza la piel y las fosas nasales en niños y en adultos del 20% al 30%. La mayor parte de las infecciones por *S. aureus* adquiridas en la comunidad son autoinfecciones con cepas que el individuo ha portado en la nariz, la piel o en ambas.<sup>2,4</sup> El germen está presente en estos sitios sin causar síntomas, sin embargo, cuando se pierde la solución de continuidad de la piel y de las mucosas por traumas, cirugía, dispositivos o en situaciones que causen alteraciones de la inmunidad del huésped, puede ocurrir la infección.<sup>5</sup>

Pocos años después de la introducción de la penicilina en 1942, aparecieron cepas de *S. aureus* resistentes a la misma.<sup>6</sup> En 1960, se introdujo la meticilina, antibiótico semisintético resistente a penicilinasas; sólo dos años después, se describió el primer aislamiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (SAMR).<sup>7</sup> En la década de los noventa, las infecciones por SAMR se extendieron a todos los hospitales del mundo.<sup>8</sup>

La detección de la resistencia a la meticilina en el laboratorio es difícil, ya que se expresa en dos fenotipos, homogéneo y heterogéneo. La resistencia heterogénea se evidencia en unas pocas células ( $1 \times 10^4$  ó  $10^6$ ). Cuando es homogénea es debido a la presencia del gen *mecA*.<sup>9</sup> *S. aureus* tiene concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) a meticilina que se encuentran cerca del límite de interpretación de resistencia y se conocen como resistencia *borderline*. A diferencia de los SAMR, éstas pueden ser tratadas mediante combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasa, no portan el gen *mecA* y usualmente no tienen resistencia múltiple ni tampoco crecen en oxacilina-agar salino.<sup>10</sup>

Hasta finales de la década de los 90, las infecciones por SAMR eran exclusivamente adquiridas en hospitales, pero a partir de esta fecha, comienzan a aparecer en la comunidad en individuos que no tenían factores de riesgo reconocidos (SAMR-AC).<sup>11-13</sup> Éstos presentan como forma clínica más frecuente la infección de la piel y el tejido celular subcutáneo,<sup>14-16</sup> aunque existen referencias aisladas de infecciones graves como neumonía necrotizante,<sup>17</sup> fascitis necrotizante<sup>18</sup> y síndrome de choque tóxico.<sup>19</sup> Cabe señalar que las referencias de infecciones por SAMR-AC en niños aumenta cada vez más.<sup>20</sup>

En este sentido, se describe la asociación que existe entre algunos factores de riesgo y la colonización por SAMR, tales como la hospitalización reciente, el antecedente de procedimientos invasores como la cirugía, el cateterismo venoso, la diálisis, la intubación endotraqueal, la hospitalización prolongada, la presencia de sonda nasogástrica, el uso previo de antibióticos (fundamentalmente fluoroquinolonas) y la condición de convivir con personas que trabajan en una institución hospitalaria.<sup>21-24</sup>

Con este estudio se pretende realizar un acercamiento al problema de la resistencia antimicrobiana del *S. aureus* en portadores sanos del Municipio Boyeros en una escuela de nivel primario y comparar los resultados respecto a lo que sucede en el mundo. Asimismo, se describirá el porcentaje de cepas encontradas y se profundizará en los mecanismos de resistencia, así como en la asociación entre el estado de portador de SAMR y la presencia de factores de riesgos reconocidos en la literatura.

## Materiales y métodos

Estudio descriptivo, de corte transversal. El grupo de estudio lo constituyeron 512 niños matriculados en la Escuela Primaria República Popular de Angola, situada en la Ciudad de La Habana, entre los meses de junio y julio del año 2006.

A todos los niños se les realizó una encuesta y el hisopado proveniente de los exudados nasales donde se sembró de manera directa al medio de aislamiento Agar Sangre e inmediatamente trasladados al Laboratorio de Microbiología ubicado en el Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Las muestras fueron estriadas e incubadas a 37°C durante 24 horas, al cabo de este tiempo, los aislamientos que resultaron positivos mediante la prueba de la coagulasa fueron identificados como *S. aureus*.

Las cepas se conservaron en glicerol en 30% a -70°C, utilizando caldo Mueller-Hinton. Se usó el método estandarizado de Kirby-Bauer para determinar la susceptibilidad de los aislados clínicos a la penicilina G (P), oxacilina (OX), ciprofloxacina (CIP), eritromicina (E), clindamicina (DA), gentamicina (CN), sulfametoxazol/trimetoprim (SXT), cloranfenicol (C) y vancomicina (VA).

### *Ensayo de crecimiento en placas de oxacilina para S. aureus.*

Las cepas de *S. aureus* fueron sembradas en medio Mueller-Hinton agarizado que contenía oxacilina (Smithkline Beecham Pharmaceuticals) a 6 µg/mL más 4% NaCl e incubada a 35°C por 24 h.

### *Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)*

Las cepas de *S. aureus* resistentes al disco de oxacilina se les determinó la CMI por el método de microdilución en caldo, con una concentración inicial de células de aproximadamente  $5 \times 10^5$  ufc/mL en un rango de concentración de los antibióticos entre 0.5 y 256 µg/mL de acuerdo con los lineamientos establecidos en las guías internacionales NCCLS.<sup>25</sup> Para la detección de la presencia del gen *mecA*, se utilizó la metodo-

logía descrita por Steven M. Salisbury y cols<sup>26</sup> de reacción múltiple en cadena de la polimerasa con el uso de los oligonucleótidos descritos por Predari y cols<sup>27</sup> y los oligonucleótidos universales modificados por Relman y cols<sup>28</sup> para la identificación del RNA 16S ribosomal. Los reactivos utilizados para la reacción fueron obtenidos de Amershan, Inglaterra.

Se analizaron las siguientes variables de interpretación: estado de portador nasal, antecedentes de enfermedades crónicas, ingresos hospitalarios y procedimientos invasores en el último año, tales como cirugías, intubación endotraqueal y cateterismos. El antecedente de usos de antibióticos en los últimos seis meses y la convivencia con personas que trabajan en instituciones hospitalarias, también fueron variables consideradas. Toda la información se recogió en una base de datos que se hizo en Microsoft Excel versión 2003. Se utilizaron como medidas descriptivas, las frecuencias absolutas y porcentajes. Realizamos el cálculo de los factores de riesgo y la prueba no paramétrica de independencia, Ji cuadrado ( $X^2$ ) con un nivel de significación del 5%. Se calculó la razón de productos cruzados (OR = Odds Ratio).

## Resultados

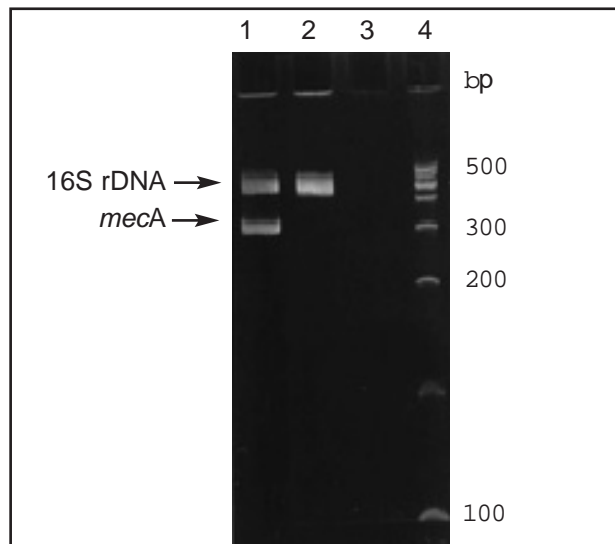
La muestra estudiada fue de 512 niños y se aisló el *S. aureus* del exudado nasal en 188 (36.7%). En las pruebas de susceptibilidad a los aislados clínicos, encontramos que 179 (95.2%) fueron sensibles a oxacilina y sólo nueve presentaron resistencia, lo que representa 4.7% del total (Tabla 1).

**Tabla 1. Resultados obtenidos en las cepas de *S. aureus* analizadas.**

Aislamiento	Total	Porcentaje (%)
SAMS	179	95.2
SAMR	9	4.7
Total	188	100

SAMS: *Staphylococcus aureus* meticilina sensible, SAMR: *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes.

De las nueve cepas de *S. aureus* resistentes a oxacilina por el método de Kirby-Bauer, solamente una creció en las placas de agar con oxacilina y fue portadora del gen *mecA*, lo que representa 0.53% (Gráfica 1). Las ocho cepas restantes no presentaron crecimiento en las placas de agar con oxacilina y mostraron valores de CMI entre 1 y 8 µg/ml, lo que indica la presencia del fenotipo de resistencia *borderline* (Tabla 2).



**Gráfica 1.** Resultados de la determinación de la presencia del gen *mecA*, mediante RCP. Línea 1 cepa resistente, Línea 2 cepa sensible de referencia, Línea 3 cepa control negativo, Línea 4 marcador molecular.

La resistencia más elevada fue a la penicilina con 97.9%, seguida por la eritromicina con 39.6%, con un fenotipo inducible a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas de 9.31%. En orden descendente, se encontró que la resistencia a clindamicina fue de 21.8%; cloranfenicol, 12.55%; ciprofloxacina, 11.7%; gentamicina, 2.8%, y cotrimoxazol, 1.61%. Asimismo, no se encontraron cepas resistentes a la vancomicina (Gráfica 2).

No existe relación estadísticamente significativa entre el estado de portador de SAMR y los antecedentes de padecer enfermedades crónicas ( $p=0.8523$ ), procedimientos invasores ( $p=0.8006$ ), ni con el de uso de antibióticos en los últimos seis meses anteriores a la toma de muestra, ( $p = 0.3477$ ) (Tabla 3).

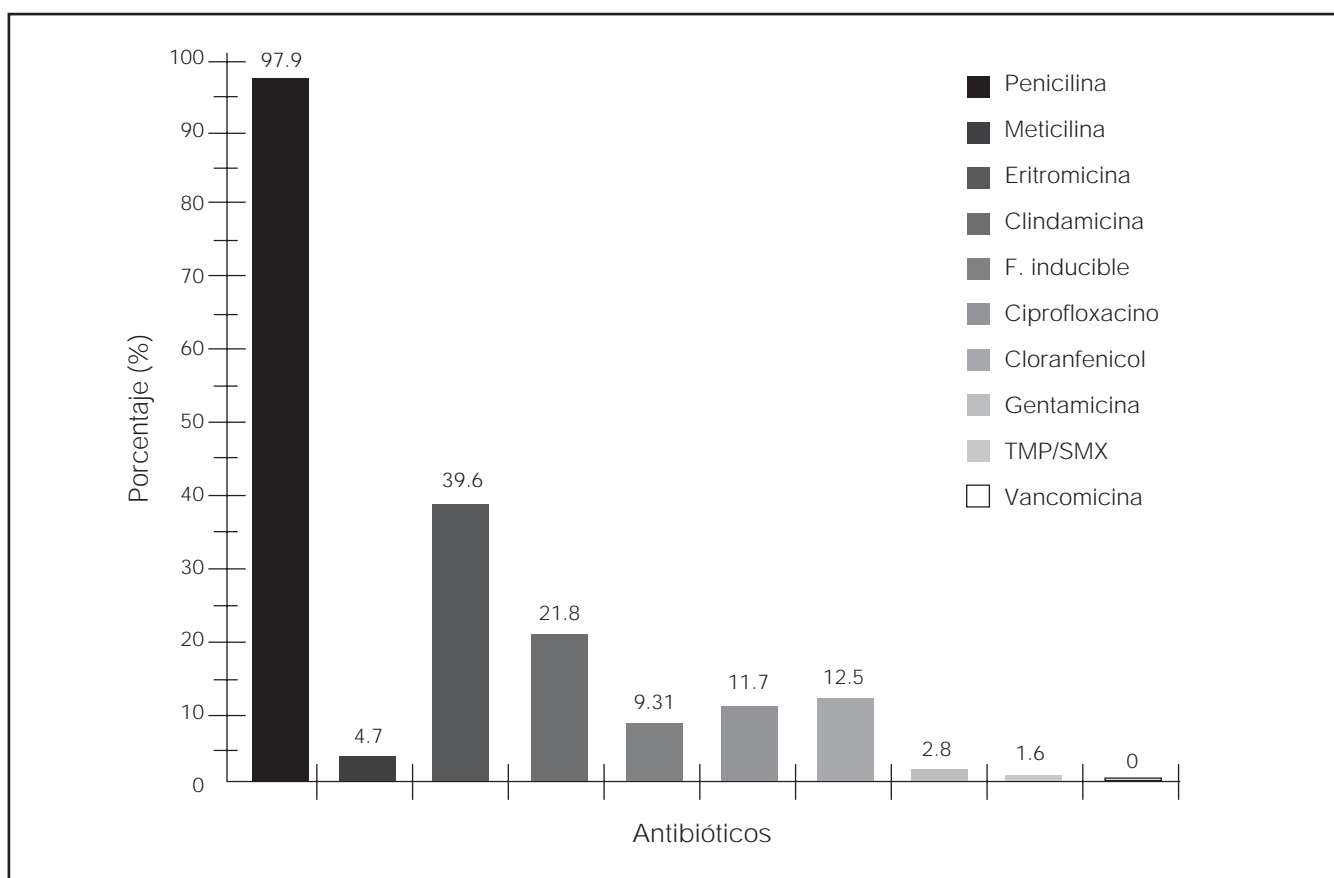
Por otro lado, existe una relación estadísticamente significativa entre el estado de portador de SAMR y el antecedente de hospitalización en el último año antes de la toma de la muestra ( $p = 0.0030$  y  $OR = 5.6825$ ). También es estadísticamente significativa la relación entre estado de portador y el antecedente de la convivencia con personas que trabajan en una institución hospitalaria, se encontró una ( $p = 0.0132$ ), para una razón de productos cruzados (OR) de 2.8413.

## Discusión

Éste es el primer estudio realizado en Cuba en niños escolares sanos con el objetivo de conocer la frecuencia de portadores de *S. aureus*; se registró 36.7%. Estudios realizados anteriormente, los cuales incluyeron niños sanos preescolares, reportaron porcentajes inferiores al nuestro: 18.7% y 20%, respectivamente.<sup>29,30</sup>

**Tabla 2. Características de los *S.aureus* resistentes a oxacilina por el método de difusión en discos.**

No. aislado	R OXA K-B (mm)	OSP	CMI (oxa µg/mL)	Gen <i>mecA</i>	Disco de amoxicilina/ácido clavulánico	Interpretación de los resultados
127 B	12	-	8	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
79 <sup>a</sup>	12	-	2	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
249 <sup>a</sup>	12	-	4	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
63B	12	-	1	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
35B	11	-	2	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
27B	10	-	2	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
45B	12	-	4	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
285x	10	-	1	-	S	Resistencia <i>borderline</i>
7 <sup>a</sup>	0	+	128	+	R	Resistencia intrínseca
SARM-171	0	+	>256	+	R	Control positivo
SASM-172	20	-	0.5	-	S	Control negativo



**Gráfica 2.** Resistencia *in vitro* de *S. aureus* a otros antibióticos.

**Tabla 3. Relación entre el estado de portador de SAMR y los factores de riesgo seleccionados.**

Factores de riesgo reconocidos	OR	p
Antecedente de enfermedad crónica	1.3561	0.8523
Hospitalización previa	5.6825	0.0030
Uso previo de antibióticos	1.4917	0.3477
Conviviente que trabaje en hospital	2.8413	0.0132
Maniobras invasoras	1.6574	0.8006

Estados Unidos reporta porcentajes de aislamientos entre 20% y 50% de *S. aureus* en niños menores de seis años y escolares.<sup>31</sup> En Japón, encontraron el estado de portador de *S. aureus* en 28.2% de 818 preescolares estudiados.<sup>32</sup>

Del total de *S. aureus*, 4.7% resultaron resistentes a meticilina por el método de Kirby-Bauer, que es la técnica con la que se determina la resistencia antimicrobiana *in vitro* en la mayoría de los laboratorios de instituciones médicas. Estas cepas pueden ser resistentes a todos los betalactámicos, incluyendo los carbapénicos y en algunos de los casos sólo sensibles a glicopéptidos, lo que dificulta el manejo terapéutico; generalmente en los hospitales no se profundiza en los mecanismos de resistencia y se toma la decisión del tratamiento con vancomicina. Según las pruebas que se recomiendan para la confirmación de los SAMR, se encontró que solamente 0.53% creció en placas de agar con oxacilina y fue portador del gen *mecA*, es decir, mostró la verdadera resistencia a todos los betalactámicos. El resto de las cepas, que por el método de Kirby-Bauer fueron resistentes a oxacilina, se les determinó la CMI y obtuvieron como resultados valores entre 1 y 8 µg/ml, las cuales se clasifican *borderline*. Estas cepas no son verdaderamente resistentes a todos los betalactámicos,<sup>33</sup> podemos utilizar combinaciones de betalactámicos con inhibidores (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam) y antibióticos de otros grupos. En este caso, la mayoría fueron sensibles a ciprofloxacina, gentamicina, cotrimoxazol y cloranfenicol.

En los estudios de portadores anteriormente realizados en Cuba,<sup>34</sup> no se han reportado cepas de *S. aureus* con presencia del gen *mecA*. El CDC de Atlanta registra un estado de portador de SAMR de 0.8%, similar al encontrado en el presente estudio.<sup>35</sup> En Japón, refieren 4.3% de los *S. aureus* resistentes a la meticilina en niños sanos.<sup>32</sup> En Europa, la prevalencia de SAMR varía considerablemente según los países. Sin embargo, el porcentaje de colonización en personas sanas en la comunidad es bastante baja, incluso en las áreas en las que la prevalencia de SAMR en los hospitales es elevada.<sup>36</sup>

La resistencia fue muy alta en el caso de la penicilina (97.9%), sin mostrar variación con respecto a estudios realizados en Cuba<sup>30</sup> y comparado a otros reportes en el ámbito mundial.<sup>37,38</sup> En el caso

de la eritromicina, los porcentajes de resistencia también fueron elevados (39.6%), lo que demuestra la indicación indiscriminada de este antimicrobiano en pediatría. Asimismo, 9.31% de las cepas resistentes a eritromicina fueron portadoras del fenotipo inducible de resistencia a todos los antibióticos macrólidos, lincosamidas y estreptograminas. La resistencia a clindamicina fue de 21.8% a diferencia del estudio cubano del 2003 que no encontró cepas de *S. aureus* resistentes a este antibiótico. En cuanto a la gentamicina y al cotrimoxazol muestran valores muy bajos, 2.83% y 1.61%, respectivamente. No encontramos cepas con resistencia a vancomicina en este trabajo ni en los anteriores realizados en Cuba, tanto en la comunidad como en el hospital.<sup>29-30,39</sup>

Se llevaron a cabo pruebas estadísticas para determinar la relación entre el estado de portador por SAMR y algunos factores de riesgo seleccionados. En este caso, los antecedentes de hospitalización previa y la convivencia con personas que trabajan en instituciones hospitalarias resultaron estadísticamente significativos.

La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas publica en el año 2004 un trabajo que se realizó en San Francisco, similar al nuestro y encontraron relación estadísticamente significativa solamente entre el antecedente de ingreso en el último año y el estado de portador (OR 1.7; 95% CI 1.5 -2.0; p<0.0001). Este resultado coincide con el nuestro.<sup>40</sup>

## Conclusiones

El estado de portador de *S. aureus* fue elevado en la muestra de casos estudiados. Asimismo, el método estandarizado de Kirby-Bauer, fue útil como *screening* para detectar los *S. aureus* meticilino resistentes, pero es indispensable la prueba definitiva agar con oxacilina y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para clasificarlo definitivamente como resistentes a todos los betalactámicos.

Por otro lado, la resistencia encontrada a la penicilina y macrólidos fue alta en las cepas de *S. aureus* estudiadas y los antecedentes de hospitalización previa a la toma de la muestra y la convivencia con personas que trabajan en una institución hospitalaria son factores que están relacionados con el estado de portador de SAMR.

## Referencias

1. Borer A, Gilad J, Yagupsky P. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in institutionalised adults with developmental disabilities. *Emerg Infect Dis*. 2002;8:966-70.
2. Herrera H, Ochoa U, Padilla L. Infecciones estafilocócicas: estafilococos positivos y negativos a coagulasa. En: González N, Torales N, Gómez D. *Infectología clínica pediátrica*. 7a ed. México. McGraw Hill 2003. p.423-52.
3. Bennett JV, Brachman PS. Infecciones hospitalarias 1982:366-84.
4. Boyce J. Update on Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Clin Upd in Infect Dis* 2003;6(2):354-60.
5. Roca J, Ferrer S, Romanos A. Infecciones estafilocócicas. En: Cruz M, et al. *Tratado de Pediatría*. 8a ed. Madrid. Ergon 2001;1.p.459-65.
6. Turnidge J, Chang FY, Fowler VG. *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Therapy and Vaccines* 2002;2:631-58.
7. Service RF. Antibiotic that resist resistance. *Science* 1995;270:724-27.
8. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP, et al. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: A three year analysis. *Clin Infect Dis* 2001;29:239-44.
9. Tomas A, Drugeon HB, de Lencastre HM. New mechanism for methicillin-resistant in *S. aureus*: clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1869-74.
10. Cavalieri S, Harbeck R, McCarter Y, Ortez J, Rankin I, Soutter R, et al. *Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana*. American Society for Microbiology. 2005.
11. Hussain FM, Boyle-Vavra S, Daum RS. Community acquired methicillin resistant *S. aureus* colonization in healthy children attending in outpatient pediatric clinic. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:763-67.
12. Salgado CD, Farr BM, and Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin. Infect. Dis* 2003;36:131-39.
13. Mandell GL, Dolin R. *Principles and Practice on Infectious Diseases* Churchill Livingstone Chemotherapy London 2000;5(1):199-0.
14. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabeti K, Jernigan JA, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Engl J Med* 2005;352(14):1436-44.
15. Baggett HC, Hennessy TW, Leman R, Rudolph K. An outbreak of community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections in southwestern Alaska. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24(6):397-02.
16. Fergie JE, Purcell K. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in south Texas Children. *Pediatr Infect Dis* 2001;20(9):860-63.
17. Monaco M, Antonucci R, Falange P, Venditti M, Pantosti A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Necrotizing Pneumonia. *Emerg Infect Dis CDC* 2005;11:11-2.
18. Miller LG, Perdreaux-Remington F, Rieg G, et al. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin resistant *S. aureus* in Los Angeles. *N Engl J Med* 2005;352(14):1445-53.
19. Gonzalez BE, Hulten KG, Dishop MK, et al. Pulmonary manifestations in children with invasive community-acquired *S. aureus* infection. *Clin Infect Dis* 2005; 41(5):583-90.
20. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabeti K, et al. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *S. aureus* infection. *JAMA* 2003;290(22):2976-84.
21. Graffunder E, Venecia R. Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection including previous use of antimicrobials. *J Antimicro Chemother* 2002;49:999-1005.
22. Baggett H, Hennessy T, Rudolph K, Bruden D, Reasonover A, Parkinson A, et al. Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with antibiotic use and the Cytotoxin Pantone-Valentine Leukocidin during a Furunculosis outbreak in rural Alaska. *J Infect Dis* 2004;18:1565-73.
23. Shopsis B, Mathews B, Martínez J, et al. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* in the community. *J Infect Dis* 2000;182(1):359-62.
24. Hershov RC, Khayr W, Smith N. A comparison of clinical virulence of nosocomially acquired methicillin resistant and methicillin-sensitive *S. aureus* infections in a university hospital. *Infect Contr and Hosp Epidemiol* 1992;13:587-93.
25. National Commitees for Clinical Laboratory Standards. Approved Standard M2-A5, M7-A3. NCCLS. Villanova, PA. 2000, 13 No 24 and 25.
26. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S, et al. Identification of methicillin-resistant staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;29:2240-44.
27. Predari SC, Ligozzi M, Fontana R. Genotypic identification of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci by polymerase chain reaction. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:2568-73.
28. Relman DA, Schmit TM, MacDermott RP. Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med* 1992;327:293-0.
29. Toraño G, Quiñones D, Hernández I, Hernández T, Tamargo I, Borroto S, et al. Portadores nasales de *S. aureus* resistente a la meticilina entre niños cubanos que asisten a círculos infantiles. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2001;19:367-70.
30. Hernández I, Toraño G, González M, González I. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina: Detección de portadores entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad. *Rev Cubana Med Trop* 2003; 55(3):153-61.
31. Bedell M, Cohn D, Dolan S, Gershman K, Harrigan J, Nyquist Ch, et al. Recommendations for Placement of children with methicillin resistant *S. aureus* in School and child care settings. Developed by the Colorado Department of Public Health and Environment and the MRSA in School-Childcare Settings Working Group. 2003.
32. Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamanoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, et al. Dissemination of Methicillin-Resistant Staphylococci among Healthy Japanese Children. *J Clin Microbiol* 2005; 43(7):3364-72.
33. Mendoza CA, Velásquez R, Mercado L, Ballón J, Maquía C. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "borderline" y resistentes a la meticilina. *Rev Med Hered* 2003;14(4).
34. Toraño G, Quiñones D, Hernández I, Hernández T, Tamargo I, Borroto S, et al. Portadores nasales de *S. aureus* resistente a la meticilina entre niños cubanos que asisten a círculos infantiles. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2001;19:367-70.
35. Graham III PL, Lin SX, Larson EL. A US population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization. *Ann Intern Med* 2006;144:318-25.
36. Vuopio-Varkila JK. Community-acquired MRSA in Europe. *Abstr Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother* 2003;14-17;43: abstract no.516.
37. Merino L, Ronconi MC. Perfiles de susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina. *Boletín de Medicina Regional* 1999; 52-53.
38. Nyquist Ach, Dowell E. Community Acquired MRSA in Children. *The Child Hosp* 2004;19(7):298-9.
39. González L, Morfí J, Nadal L, Vallín C, Contreras R, Roura G, et al. Frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* metilino resistente y *Enterococcus* spp vancomicina resistentes en hospitales de Cuba. *Rev Cubana Farm* 2005; 39(3).
40. Charlebois E, Perdreaux-Remington F, Kreiswirth B, Bangsberg D, Ciccarone D, Diep B, et al. Origins of Community Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2004;39:47-54.