

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

**Caracterización genómica de *Staphylococcus aureus*
resistente a meticilina aislado del personal de salud del
Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024.**

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:
Bach. Sayda Luz CANCHO PACOTAYPE

ASESORA:
Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA

COASESORA:
Mg. Alexandra Antonieta URRUTIA ZEGARRA

AYACUCHO - PERÚ

2026

Con todo mi amor a mi madre, por ser mi abrazo seguro, mi palabra de aliento y la razón por la que nunca dejé de creer en mí.

A quienes, cuando la duda tocó mi puerta, me ayudaron a no rendirme y a quienes hoy me acompañan desde el cielo, cuya luz silenciosa iluminó cada paso de este camino.

AGRADECIMIENTOS

A mi querida casa de estudios, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por brindarme la oportunidad de adquirir conocimientos y fortalecer las competencias que hoy sustentan mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Escuela Profesional de Biología, por acogerme en sus aulas y laboratorios, espacios donde construí no solo mi aprendizaje académico, sino también mi crecimiento personal.

A la plana docente de la Escuela Profesional de Biología, cuyo compromiso, dedicación y entrega fueron una guía constante en mi formación universitaria.

Agradezco profundamente a la Dra. Nilda Áurea Apayco Espinoza, mi asesora, y a la Mg. Alexandra Antonieta Urrutia Zegarra, mi coasesora, por su orientación, sus consejos y su apoyo durante cada etapa de la planificación, ejecución y presentación del presente trabajo de investigación.

Al Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA), por el financiamiento otorgado mediante el Contrato N.º PE501099462-2025-PROCIENCIA, en el marco del concurso "Tesis de Pregrado y Postgrado en Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica", cuyo apoyo hizo posible la ejecución y culminación de la presente investigación.

A mi familia, por su acompañamiento permanente, su comprensión en los momentos de ausencia y su motivación para seguir avanzando.

A mis mascotas, por su compañía silenciosa e incondicional en los días más complejos y por recordarme la importancia de continuar con calma y esperanza.

Gracias a todos quienes, de una u otra forma, fueron parte de este proceso. Este trabajo también les pertenece.

RESUMEN

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) constituye un patógeno prioritario para la salud pública debido a su plasticidad genómica y capacidad para adquirir determinantes de resistencia y virulencia. El objetivo del estudio fue caracterizar genómicamente aislamientos de SARM del personal de salud mediante secuenciación del genoma completo y análisis bioinformático. Se realizó un estudio no experimental y descriptivo con 16 aislamientos de *Staphylococcus aureus* clasificados fenotípicamente como resistentes a meticilina mediante prueba de cefoxitina. El ADN genómico se obtuvo mediante columnas de sílica y se secuenció en la plataforma Oxford Nanopore MinION (R10.4.4). Los genomas ensamblados fueron analizados para identificar genes de resistencia antimicrobiana, factores de virulencia y tipos de secuencia multilocus (MLST).

El análisis genómico evidenció la presencia de genes asociados con la resistencia a múltiples clases de antimicrobianos, con predominio de genes relacionados con sistemas de eflujo y resistencia a β -lactámicos, destacando la presencia de *mepA*, *mepR*, *ImrS* y *tet(38)* en el 100 % de los aislamientos, y *blaZ* en el 93,75 %. En cuanto a virulencia, se identificaron diversos genes asociados a la formación de biopelículas, adhesión, evasión inmune, producción de enzimas y toxinas. Destacó la presencia de los genes del operón *ica* (*icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD* e *icaR*) en el 100 % de los aislamientos, así como de múltiples hemolisinas (*hld*, *hly* y el operón *hlyABC*) y factores de evasión inmune como *adsA* y *sbi* (100 %). Asimismo, se detectaron genes de leucocidina de Panton-Valentine (*lukS-PV* y *lukF-PV*) en el 56,25 % y 75,00 % de los aislamientos, respectivamente, evidenciando la diversidad de factores de virulencia.

El análisis MLST reveló heterogeneidad clonal, con predominio de ST398 (31,25 %), junto a otros linajes previamente descritos en contextos hospitalarios y comunitarios.

En conjunto, los resultados evidencian una elevada diversidad genómica de SARM en aislamientos de personal de salud, con potencial de actuar como reservorio de genes de resistencia y virulencia. Estos hallazgos destacan la importancia de implementar estrategias integradas de vigilancia genómica para el monitoreo y control de la resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; genómica; resistencia antimicrobiana; virulencia; MLST.

ÍNDICE GENERAL

	Página.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	vi
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	4
2.1.3. Antecedentes locales	5
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	6
2.2.3. Resistencia antimicrobiana	6
2.2.4. Factor de virulencia	7
2.2.5. Secuenciación por nanoporos	7
2.2.6. Tipificación por secuencias multilocus	7
2.2.7. Complejo clonal	8
2.3. Base teórica	8
2.3.1. Características microbiológicas de <i>S. aureus</i>	8
2.3.2. Bases genéticas de la resistencia en SARM	8
2.3.2.1. Genes de resistencia: impacto clínico y vigilancia genómica	9
2.3.3. Determinantes de virulencia y su impacto en la patogénesis	10
2.3.4. Epidemiología molecular y evolución clonal del SARM	11

2.3.4.1.	MLST: fundamentos y aplicación en la tipificación de linajes	11
2.3.4.2.	De SARM hospitalario y comunitario a la evolución de clones pandémicos	11
2.3.5.	Genómica de <i>Staphylococcus aureus</i> en la vigilancia de patógenos	12
2.3.5.1.	Evolución de las tecnologías de secuenciación genómica	12
2.3.5.2.	Aplicaciones de ONT en genómica, vigilancia y diagnóstico	14
2.3.5.3.	Herramientas bioinformáticas para la identificación de genes de resistencia y virulencia	15
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1.	Área de estudio	16
3.1.1.	Ubicación geográfica	16
3.2.	Tipo y nivel de investigación	16
3.3.	Población y muestra	16
3.3.1.	Población	16
3.3.2.	Unidad muestral	17
3.3.3.	Criterios de selección	17
3.4.	Metodología	17
3.4.1.	Reactivación e identificación presuntiva	17
3.4.2.	Confirmación del fenotipo SARM mediante antibiograma	17
3.4.3.	Conservación de las cepas	18
3.4.4.	Extracción de ADN genómico	18
3.4.5.	Análisis de calidad y pureza del ADN	20
3.4.6.	Análisis de integridad de ADN	20
3.4.7.	Secuenciamiento de ADN mediante tecnología Nanopore (MinION R10.4.1)	21
3.4.8.	Análisis bioinformático	24
3.4.9.	Análisis filogenético y epidemiológico	25
IV.	RESULTADOS	27

V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	54
VII.	RECOMENDACIONES	55
VIII.	REFERENCIAS	56
IX.	LISTA DE ABREVIATURAS	67
IX.	ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

		Página.
Tabla 1	Distribución de genes de resistencia antimicrobiana y proteínas codificadas en aislados de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina.	27
Tabla 2	Distribución de genes asociados a virulencia y productos codificados en aislados de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina.	29
Tabla 3	Distribución de tipos de secuencia en aislamientos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página.
Figura 1 Evolución tecnológica y características comparativas de las plataformas de secuenciación de ADN.	13
Figura 2 Principio fisicoquímico de los nanoporos de Oxford Nanopore Technologies.	14
Figura 3 Representación circular del genoma del aislamiento <i>S. aureus</i> SA-3N (ST22) con anotación de genes de resistencia.	28
Figura 4 Representación lineal del genoma del aislamiento <i>S. aureus</i> SA-16Y (ST5) con anotación de genes de virulencia.	32
Figura 5 Mapa de calor de genes de virulencia en aislados de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina, organizado según filogenia derivada del análisis MLST.	34
Figura 6 Mapa de calor de genes de resistencia antimicrobiana en aislados de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina, organizado según filogenia derivada del análisis MLST.	35
Figura 7 Red de relaciones clonales entre tipos de secuencia inferida mediante análisis MLST.	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Autorización para el uso de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	70
Anexo 2. Constancia de aprobación del Comité de Ética de Investigación	71
Anexo 3. Reactivación de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	72
Anexo 4. Determinación de resistencia a meticilina en <i>Staphylococcus aureus</i> mediante la prueba de difusión en disco con cefoxitina	73
Anexo 5. Conservación a corto plazo de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina	74
Anexo 6. Extracción de ADN genómico de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	75
Anexo 7. Control de calidad del ADN genómico mediante espectrofotometría	76
Anexo 8. Evaluación de la integridad del ADN genómico mediante electroforesis en gel de agarosa	76
Anexo 9. Secuenciación del genoma de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina mediante tecnología Oxford Nanopore (MinION)	77
Anexo 10. Monitoreo y verificación del inicio de la corrida de secuenciación en MinION	78
Anexo 11. Flujo bioinformático para el procesamiento de las secuencias de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina	79
Anexo 12. Matriz binaria de genes de resistencia en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina	80
Anexo 13. Matriz binaria de genes de virulencia en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina	81
Anexo 14. Proporción de cepas que presentan al menos un	

	determinante genético de resistencia según clase de antimicrobianos	84
Anexo 15.	Proporción de cepas que presentan al menos un determinante genético de virulencia según el grupo funcional	84
Anexo 16.	Diversidad genética de las cepas analizadas según los tipos de secuencia identificados mediante MLST	85
Anexo 17.	PCR <i>in silico</i> de los cebadores del esquema MLST	85
Anexo 18.	Modelo matemático	86
Anexo 19.	Matriz de consistencia	87

I. INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) constituye un importante problema de salud pública por su capacidad para adquirir resistencia a diferentes antimicrobianos y producir infecciones de gravedad variable. En el ámbito hospitalario puede estar asociado con infecciones de piel y tejidos blandos, neumonía, bacteriemia, endocarditis y otras infecciones invasivas (García et al., 2023; Hofstetter et al., 2024). Una de las principales bases de la resistencia a los β -lactámicos es la adquisición de *mecA*, generalmente localizado en el elemento genético móvil SCCmec, que codifica la proteína de unión a penicilina 2a (PBP2a), cuya baja afinidad por estos antibióticos permite mantener la síntesis de la pared celular en su presencia (Lade y Kim, 2023). La expansión de distintos linajes de SARM, tanto hospitalarios como comunitarios, ha favorecido su circulación en diferentes contextos y ha dificultado una separación estricta entre ambos escenarios epidemiológicos (Holden et al., 2013; Pardos de La Gándara et al., 2016).

En América Latina se ha descrito una diversidad de linajes de SARM, con diferencias en sus perfiles de resistencia y virulencia. En Perú se han identificado aislamientos asociados con resistencia a β -lactámicos y otros grupos de antimicrobianos, así como diferentes tipos de secuencia (ST) de importancia epidemiológica (García et al., 2023). Estudios realizados en otros países también han evidenciado la circulación de linajes genéticamente diversos y la presencia de determinantes asociados con virulencia e invasividad (Guillén et al., 2024; H. Liu et al., 2023). Estos hallazgos muestran que la población de SARM no es genéticamente homogénea y que su caracterización requiere considerar tanto los determinantes de resistencia como los linajes bacterianos.

Además de la resistencia antimicrobiana, *S. aureus* posee diversos factores relacionados con la colonización y la patogenicidad, entre ellos hemolisinas, proteasas, sortasas, leucocidinas y proteínas implicadas en la adhesión y formación de biopelículas

(Haddad et al., 2018; Hart et al., 2009; Lin et al., 2025). La distribución de estos determinantes puede variar entre aislamientos y linajes, por lo que su identificación mediante secuenciación genómica permite describir el repertorio de virulencia presente en las cepas estudiadas (Kim et al., 2024; Lin et al., 2025).

A pesar de los avances en la caracterización molecular de SARM, en Perú son todavía limitados los estudios genómicos realizados en aislamientos procedentes de personal de salud. Esta situación dificulta conocer la diversidad de los linajes presentes en este grupo y establecer qué determinantes de resistencia y virulencia se encuentran asociados con ellos. El estudio de estos aislamientos resulta relevante para la vigilancia epidemiológica, especialmente porque el personal de salud mantiene contacto frecuente con pacientes y ambientes hospitalarios y puede participar en la circulación de microorganismos resistentes.

En este contexto, el presente estudio caracterizó genómicamente aislamientos de SARM obtenidos de personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno, Ayacucho. Se analizaron sus determinantes genéticos de resistencia antimicrobiana y virulencia, así como sus tipos de secuencia, con el propósito de describir la diversidad genética de los aislamientos y generar información que contribuya a la vigilancia molecular de SARM en el ámbito hospitalario.

OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar genómicamente cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analizar los genes de resistencia antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno.
- Determinar los factores de virulencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno.
- Identificar los linajes genéticos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Cimera et al. (2010) estudiaron la colonización nasal asintomática por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en personal de salud del Hospital General de las Fuerzas Armadas de Venezuela. De los participantes evaluados, el 12 % presentó colonización por *S. aureus* y el 1 % por SARM. El estudio también identificó factores asociados con la colonización, entre ellos algunas características individuales y prácticas relacionadas con el uso y limpieza del mandil. Estos resultados evidenciaron la presencia de SARM entre trabajadores de salud asintomáticos y la importancia de las medidas de higiene en este grupo.

Arteaga et al. (2016) evaluaron la presencia de *S. aureus* en 30 trabajadores de salud de un hospital de Cali, Colombia, mediante muestras de mucosa nasal y piel. La mayor frecuencia de colonización se observó en el personal del área quirúrgica. Los aislamientos mostraron diferentes perfiles de resistencia antimicrobiana y el 36,4 % presentó resistencia a cefotaxima. Los autores señalaron la necesidad de mantener controles periódicos en el personal hospitalario debido a la circulación de *S. aureus* con diferentes perfiles de resistencia.

Ferreira et al. (2021) desarrollaron un protocolo de secuenciación rápida mediante tecnología de nanoporos para la identificación de bacterias resistentes a los antimicrobianos. El procedimiento permitió obtener el tipo de secuencia (ST) de los aislamientos en menos de 30 horas después de la extracción del ADN. Los autores plantearon que esta tecnología puede ser útil para la vigilancia epidemiológica y la investigación de brotes, debido a la rapidez con la que permite obtener información genómica de los aislamientos.

Alkuraythi et al. (2023) compararon genómicamente cepas de *S. aureus* de origen humano y de carne comercializada, considerando determinantes relacionados con resistencia y virulencia. Se identificaron algunos determinantes compartidos entre los aislamientos de ambos orígenes, lo que llevó a los autores a plantear la posibilidad de intercambio de elementos de resistencia entre diferentes reservorios. El estudio destacó la utilidad de incorporar información genómica en la vigilancia de la resistencia antimicrobiana.

Guillén et al. (2024) describieron en Paraguay diferentes linajes de *S. aureus* asociados con infecciones cutáneas y respiratorias en población pediátrica. El análisis genómico permitió identificar linajes relacionados con características de virulencia y transmisión, algunos de ellos previamente descritos en Norteamérica y Europa. Estos resultados aportaron evidencia sobre la circulación de linajes de SARM en Sudamérica y sobre la utilidad de la vigilancia molecular para su seguimiento.

Campaña et al. (2025) analizaron los cambios recientes en la epidemiología de SARM en hospitales de España y observaron un incremento del clon SARM-CC398, previamente relacionado con reservorios animales. El análisis genómico permitió identificar características asociadas con su adaptación al entorno hospitalario. Los autores señalaron que la vigilancia genómica permite detectar cambios en la distribución de determinados linajes y seguir su evolución dentro del ámbito clínico.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Córdova et al. (2011) estudiaron la presencia de *S. aureus* en 131 trabajadores del Hospital Regional de Ica, mediante muestras obtenidas de las manos y fosas nasales. La frecuencia de portadores asintomáticos fue de 12,98 %, con mayor proporción en las manos que en las fosas nasales. Aunque las cepas fueron sensibles a varios de los antimicrobianos evaluados, se identificó resistencia a oxacilina, dicloxacilina, claritromicina y cloranfenicol en algunos aislamientos nasales. El estudio evidenció la presencia de *S. aureus* entre trabajadores de salud y permitió identificar perfiles variables de susceptibilidad antimicrobiana.

García et al. (2012) caracterizaron molecularmente aislamientos clínicos de *S. aureus* procedentes de hospitales peruanos. El análisis permitió identificar patrones de resistencia y tipos de secuencia compatibles con linajes asociados al ámbito hospitalario. Estos resultados constituyeron evidencia de la circulación de determinados linajes de importancia clínica en hospitales del país.

Neyra et al. (2015) evaluaron la colonización nasal por *S. aureus* en población general de cuatro ciudades del Perú y encontraron diferencias en la frecuencia de portadores

entre las regiones estudiadas. Sus resultados aportaron información sobre la distribución de *S. aureus* en la población peruana y sobre la presencia de portadores asintomáticos fuera del ámbito hospitalario.

Urbina et al. (2016) estudiaron la composición bacteriana de muestras respiratorias de niños con fibrosis quística en Perú mediante secuenciación del gen 16S ARNr. Se identificaron 25 especies, pertenecientes a 10 géneros y 11 familias, entre las cuales *Pseudomonas aeruginosa* fue la especie predominante, seguida de *S. aureus* con 12,6 %. El estudio mostró la presencia frecuente de *S. aureus* en este grupo de pacientes y su participación dentro de la comunidad bacteriana asociada con las infecciones respiratorias crónicas.

Aquino et al. (2017) caracterizaron molecularmente bacterias patógenas asociadas con pacientes con fibrosis quística y encontraron a *S. aureus* como uno de los microorganismos más frecuentes, con el 12,6 % de los aislamientos. Aunque no identificaron aislamientos de SARM en el estudio, los autores señalaron la importancia de *S. aureus* en las infecciones respiratorias de esta población.

Cabrejos et al. (2021) estudiaron la frecuencia de SARM adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel del Perú. El 8,7 % de las cepas analizadas presentó genes asociados con la producción de leucocidina de Pantón-Valentine (PVL), con mayor frecuencia entre las cepas sensibles a meticilina. Los resultados mostraron que los determinantes asociados con PVL no se restringen necesariamente a un único grupo epidemiológico, aspecto que debe considerarse al interpretar su utilidad como marcador de SARM adquirido en la comunidad.

Bustamante et al. (2023) evaluaron la frecuencia del gen *mecA* en aislamientos de un hospital peruano de referencia y confirmaron su presencia en cepas de SARM. Sus resultados aportaron evidencia sobre la circulación de este determinante de resistencia en el ámbito hospitalario peruano y reforzaron la importancia de su vigilancia.

2.1.3. Antecedentes locales

Ccorimanya y Apayco (2024) evaluaron muestras obtenidas de personal de salud asintomático e identificaron 17 aislamientos de *S. aureus*. De ellos, cuatro (23,53 %) fueron clasificados como SARM mediante la prueba de cefoxitina, mientras que los restantes fueron sensibles a la meticilina. Considerando el total de muestras analizadas, los aislamientos de SARM representaron el 4,49 %. El estudio permitió demostrar la presencia de SARM en personal de salud de la localidad; sin embargo, se limitó a la caracterización fenotípica y no abordó los linajes ni los determinantes genéticos de

resistencia y virulencia. Estos aspectos constituyen un punto de partida para profundizar en la caracterización genómica de los aislamientos circulantes en este grupo.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva de morfología cocácea que suele disponerse en racimos. Forma parte de la microbiota de la piel, las fosas nasales y las mucosas de humanos y animales, aunque también puede comportarse como un patógeno oportunista. Las infecciones producidas por esta especie pueden variar desde afecciones cutáneas localizadas hasta cuadros graves como neumonía, endocarditis, osteomielitis y sepsis (Lowy, 1998; Murray et al., 2017).

Su capacidad para colonizar diferentes sitios del hospedero y adaptarse a condiciones ambientales diversas se relaciona con la producción de enzimas, toxinas y otros factores que favorecen la colonización y el daño tisular. Asimismo, *S. aureus* puede formar biopelículas y adquirir determinantes genéticos de resistencia y virulencia, lo que contribuye a su persistencia tanto en el ámbito comunitario como hospitalario (Cueto et al., 2009; Foster, 2019).

2.2.2. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

El *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) corresponde a los aislamientos de *S. aureus* que presentan resistencia a los antibióticos β -lactámicos, debido principalmente a la adquisición de determinantes del sistema *mec*. El gen *mecA* codifica la proteína de unión a penicilina 2a (PBP2a), cuya baja afinidad por estos antibióticos permite mantener la síntesis de la pared celular en su presencia (Hiramatsu et al., 2014). El sistema *mec* se encuentra asociado al elemento genético móvil SCCmec, cuya diversidad ha contribuido a la aparición y distribución de diferentes linajes de SARM (Hiramatsu et al., 2014; Lakhundi y Zhang, 2018).

Desde el punto de vista epidemiológico, el SARM se ha estudiado tradicionalmente en dos contextos: el asociado a la atención sanitaria y el adquirido en la comunidad. Sin embargo, esta división no es absoluta, ya que determinados linajes pueden encontrarse en ambos escenarios y cambiar su distribución con el tiempo (Lakhundi y Zhang, 2018; Pados de La Gándara et al., 2016)

2.2.3. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana es la capacidad de un microorganismo para sobrevivir o multiplicarse frente a concentraciones de un antimicrobiano que normalmente inhibirían su crecimiento o producirían su muerte (Blanco et al., 2016).

En *S. aureus*, los mecanismos de resistencia comprenden la modificación de las estructuras diana, la inactivación enzimática de los antimicrobianos, la protección del sitio blanco y la expulsión de los compuestos mediante sistemas de eflujo (Hamady et al., 2024; Kwak et al., 2013). Estos mecanismos pueden coexistir en un mismo aislamiento y generar resistencia frente a diferentes grupos de antimicrobianos.

2.2.4. Factor de virulencia

Los factores de virulencia son estructuras, moléculas o productos bacterianos que favorecen la colonización, la evasión de las defensas del hospedero y el desarrollo de daño tisular (Foster, 2019). En *S. aureus* se incluyen proteínas de adhesión, enzimas extracelulares, componentes relacionados con la formación de biopelículas y diferentes toxinas (Haddad et al., 2018; Makris et al., 2004).

La expresión de estos factores está regulada por sistemas de control global, entre ellos *agr* y *sarA*, cuya actividad permite coordinar diferentes funciones bacterianas de acuerdo con las condiciones del entorno (Bien et al., 2011).

2.2.5. Secuenciación por nanoporos

La secuenciación por nanoporos es una tecnología de lectura larga que permite determinar la secuencia de moléculas de ADN mediante cambios en la corriente eléctrica producidos cuando estas atraviesan un nanoporo. Las señales obtenidas son procesadas mediante algoritmos de *basecalling* para establecer la secuencia de nucleótidos (Jain et al., 2016; Lu et al., 2016).

Su capacidad para generar lecturas largas y producir datos durante el proceso de secuenciación ha favorecido su aplicación en estudios de genómica bacteriana y vigilancia microbiológica (Ferreira et al., 2021).

2.2.6. Tipificación por secuencias multilocus

La tipificación por secuencias multilocus (MLST) permite clasificar aislamientos bacterianos mediante el análisis de secuencias de genes constitutivos. A partir de la combinación de los alelos identificados se obtiene un perfil alélico que permite asignar un tipo de secuencia (ST) cuando este se encuentra registrado en una base de datos especializada (Jolley et al., 2018; Tenover et al., 1994).

En *S. aureus*, el esquema de MLST utiliza siete genes: *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* y *yqiL*. La identificación del ST facilita la comparación de aislamientos procedentes de diferentes lugares y periodos y permite estudiar la distribución de determinados linajes (Enright et al., 2000).

2.2.7. Complejo clonal

El complejo clonal (CC) agrupa tipos de secuencia que presentan una relación genética cercana según sus perfiles de MLST. Su identificación permite reconocer grupos de aislamientos relacionados y analizar la distribución de determinados linajes en diferentes poblaciones y regiones (Lakhundi y Zhang, 2018).

En *S. aureus* se han descrito complejos clonales de importancia epidemiológica, entre ellos CC5, CC8 y CC398, asociados con diferentes contextos de infección y reservorios (Campaña et al., 2025; Holden et al., 2013).

2.3. Base teórica

2.3.1. Características microbiológicas de *S. aureus*

El género *Staphylococcus* pertenece actualmente a la familia Staphylococcaceae, dentro del orden Bacillales. Su denominación deriva del término griego *staphylé*, que hace referencia a la disposición de las células en forma de racimo (Parte, 2014).

Las células de *S. aureus* son inmóviles, no esporuladas y anaerobias facultativas, con un diámetro aproximado de 0,5 a 1 μm . Pueden crecer en concentraciones elevadas de sal y fermentar el manitol. Su pared celular está constituida principalmente por peptidoglucano y ácidos teicoicos, mientras que entre sus componentes superficiales se encuentra la proteína A (Murray et al., 2017).

En agar sangre, las colonias suelen ser circulares, opacas y de coloración dorada, y pueden presentar β -hemólisis. La producción de coagulasa y DNasa constituye además una característica utilizada para diferenciar *S. aureus* de otras especies de estafilococos (Lowy, 1998; Murray et al., 2017).

2.3.2. Bases genéticas de la resistencia en SARM

La resistencia antimicrobiana de *S. aureus* resulta de la adquisición y expresión de diferentes determinantes genéticos. Estos pueden actuar mediante modificación del sitio blanco, inactivación del antimicrobiano, protección de la estructura diana o expulsión del compuesto mediante bombas de eflujo (Duijkeren et al., 2018; Lakhundi y Zhang, 2018).

En SARM, el mecanismo de mayor importancia corresponde al sistema *mec*. El gen *mecA* codifica PBP2a, una proteína con baja afinidad por los β -lactámicos, permitiendo que la bacteria continúe sintetizando su pared celular pese a la presencia de estos antimicrobianos. (Hartman y Tomasz, 1981; Lim y Strynadka, 2002). *mecA* se encuentra habitualmente dentro del elemento SCCmec, cuya integración en el cromosoma bacteriano está relacionada con las recombinasas del complejo *ccr* (*cassette chromosome recombinase*) (Hiramatsu et al., 2014). También se han descrito otros

genes del sistema *mec*, como *mecC*, que pueden conferir resistencia a los β -lactámicos (Hess et al., 2023; Hiramatsu et al., 2014).

Además del sistema *mec*, existen otros mecanismos que amplían el perfil de resistencia de *S. aureus*. El gen *blaZ* codifica una β -lactamasa capaz de hidrolizar penicilinas, mientras que los genes *ermA*, *ermB* y *ermC* codifican metilasas que modifican el sitio de unión de los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (MLSB) en el ARN ribosomal 23S (Becker et al., 2018; Brdová et al., 2024; Duijkeren et al., 2018).

En los aminoglucósidos, la resistencia puede producirse mediante enzimas modificadoras de antibióticos (AMEs), entre ellas *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* y *ant(4')-Ib*, capaces de inactivar estos compuestos mediante diferentes modificaciones químicas (Brdová et al., 2024). Para las tetraciclinas, los genes *tetK* y *tetL* se relacionan principalmente con mecanismos de eflujo, mientras que *tetM* y *tetO* codifican proteínas de protección ribosomal (Brdová et al., 2024).

La disminución de la susceptibilidad a glicopéptidos también ha sido descrita en *S. aureus*, especialmente en los fenotipos de susceptibilidad intermedia a vancomicina (VISA) y heterorresistencia (hVISA). En estos casos, los cambios observados se relacionan principalmente con modificaciones en la pared celular y en el metabolismo del peptidoglucano, más que con la adquisición de genes como *vanA* o *vanB* (Howden et al., 2010).

Otros determinantes, como *dfrA* y *dfrG*, *cat*, *fosB* y *msrA*, se relacionan con resistencia a trimetoprima, cloranfenicol, fosfomicina y algunos macrólidos, respectivamente. La coexistencia de varios de estos genes puede generar perfiles de resistencia más amplios dentro de un mismo aislamiento (Brdová et al., 2024).

2.3.2.1. Genes de resistencia, impacto clínico y vigilancia genómica

El análisis de los genes de resistencia permite complementar los resultados obtenidos mediante pruebas fenotípicas de susceptibilidad. Mientras estas últimas muestran el comportamiento del aislamiento frente a un antimicrobiano, la caracterización genómica permite identificar algunos de los determinantes que pueden estar relacionados con dicho fenotipo (Aanensen et al., 2016; García et al., 2023).

Para este análisis pueden utilizarse herramientas como ABRicate, que compara las secuencias genómicas con bases de datos de referencia y proporciona valores de identidad y cobertura. Entre estas bases se encuentra la Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD), especializada en genes y mecanismos de resistencia antimicrobiana (Alcock et al., 2023).

La identificación conjunta de diferentes determinantes en un mismo aislamiento permite describir su repertorio genético de resistencia y establecer comparaciones entre cepas. Esta información puede ser especialmente útil en estudios de vigilancia molecular, donde el interés no se limita a determinar si una bacteria es resistente, sino también a conocer los mecanismos genéticos presentes (Aanensen et al., 2016; García et al., 2023).

2.3.3. Determinantes de virulencia y su participación en la patogénesis

La capacidad de *S. aureus* para colonizar tejidos y producir enfermedad depende de la interacción de diferentes factores de virulencia. Entre ellos se encuentran las proteínas de adhesión, enzimas extracelulares y toxinas. Las proteínas de superficie MSCRAMMs (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*) reconocen componentes de la matriz extracelular, como fibrinógeno, fibronectina y colágeno, facilitando la adhesión bacteriana a los tejidos y a determinadas superficies biomédicas (Foster, 2019; Lowy, 1998; Tam y Torres, 2019).

Las enzimas extracelulares también participan en la interacción de la bacteria con los tejidos. Las lipasas, proteasas y hialuronidasas pueden favorecer procesos de invasión y diseminación, mientras que la coagulasa interviene en la formación de fibrina alrededor del sitio de infección (Cueto et al., 2009; Hart et al., 2009; Makris et al., 2004; Murray et al., 2017).

Entre las toxinas producidas por *S. aureus* se encuentran las hemolisinas, leucocidinas, enterotoxinas, toxina del síndrome de shock tóxico (TSST-1) y toxinas exfoliativas (Lowy, 1998; Tam y Torres, 2019). La hemolisina α , codificada por *hla*, forma poros en las membranas celulares, mientras que las hemolisinas γ incluyen componentes codificados por *hlgA*, *hlgB* y *hlgC*. Por su parte, *hlyB* codifica la β -hemolisina, relacionada con la lisis de eritrocitos (Hurtado et al., 2021; Lin et al., 2025).

La leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) está constituida por los componentes codificados por *lukS-PV* y *lukF-PV*. Esta toxina afecta células del sistema inmunitario, principalmente neutrófilos, y se ha relacionado con determinadas infecciones cutáneas y cuadros pulmonares graves (Dufour et al., 2002; Vandenesch et al., 2003). Su presencia, sin embargo, no constituye por sí sola un marcador exclusivo de SARM adquirido en la comunidad.

La adhesión y formación de biopelículas involucran diferentes proteínas de superficie, entre ellas ClfA, ClfB, FnBPA, FnBPB y Cna. También participan los genes del operón *icaADBC*, relacionados con la producción del polisacárido intercelular de adhesión. La formación de biopelículas favorece la persistencia bacteriana y puede dificultar la acción

de los antimicrobianos y de los mecanismos de defensa del hospedero (Aboelnaga et al., 2024; Alibegli et al., 2025; Bamneshin et al., 2024; Foster, 2019; Hurtado et al., 2021).

La expresión de estos determinantes está influenciada por sistemas reguladores globales, como *agr* y *sarA*. Además, elementos genéticos móviles, entre ellos plásmidos y profagos, pueden contribuir a la adquisición y distribución de genes relacionados con resistencia y virulencia (Åvall-Jääskeläinen et al., 2021; Foster, 2019; Haddad et al., 2018).

En conjunto, la identificación de estos determinantes permite describir el repertorio de virulencia de los aislamientos y comparar su distribución entre diferentes linajes de *S. aureus*.

2.3.4. Epidemiología molecular y evolución clonal del SARM

El estudio de la diversidad genética de *S. aureus* permite identificar los linajes presentes en una población y comparar su distribución entre diferentes regiones y periodos. En este análisis, el ST constituye una unidad de clasificación obtenida mediante MLST, mientras que los CC reúnen ST genéticamente relacionados (Åvall-Jääskeläinen et al., 2021).

2.3.4.1. MLST: fundamentos y aplicación en la tipificación de linajes

En *S. aureus*, el esquema de MLST se basa en siete genes constitutivos: *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* y *yqiL*. La combinación de los alelos de estos genes determina el perfil alélico y permite asignar el ST correspondiente (Åvall et al., 2021; Lakhundi y Zhang, 2018).

La comparación de los ST facilita el reconocimiento de linajes que circulan en diferentes poblaciones y regiones. Esta información puede complementarse con otros marcadores, como *spa* y *SCCmec*, que aportan características adicionales para el estudio de la estructura poblacional de *S. aureus* (Haddad et al., 2018).

2.3.4.2. De SARM hospitalario y comunitario a la evolución de clones pandémicos

Desde el punto de vista epidemiológico, el *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) se ha descrito tradicionalmente en dos contextos principales: el hospitalario (SARM-H) y el adquirido en la comunidad (SARM-AC). El primero se relaciona principalmente con pacientes hospitalizados y con factores como la exposición a procedimientos sanitarios o la presencia de dispositivos médicos. En cambio, el SARM-AC se ha asociado con personas sin una hospitalización reciente y con cuadros de infección de piel y tejidos

blandos, aunque esta separación no es absoluta y los mismos linajes pueden encontrarse en ambos escenarios (Pardos de la Gándara et al., 2016; Rodríguez y Seas, 2010; Silva et al., 2022; Tam y Torres, 2019).

Entre los linajes ampliamente estudiados se encuentran ST5, asociado con el complejo clonal CC5 y con aislamientos como USA100; ST8, perteneciente a CC8 y relacionado con USA300; y ST398, inicialmente vinculado con animales de producción y posteriormente identificado también en aislamientos humanos (Åvall et al., 2021; Lakhundi y Zhang, 2018; Pardos De La Gandara et al., 2016).

La distribución de estos linajes puede cambiar como consecuencia de la adquisición y pérdida de material genético. La transferencia horizontal de genes, junto con la presencia de elementos móviles, puede modificar los perfiles de resistencia y otros determinantes asociados con la virulencia. Por ello, la identificación del ST junto con el análisis de estos determinantes permite obtener una descripción más completa de la diversidad de los aislamientos de SARM (Aboelnaga et al., 2024; García et al., 2023; Haddad et al., 2018; Hofstetter et al., 2024).

2.3.5. Genómica de *Staphylococcus aureus* en la vigilancia de patógenos

El genoma de *S. aureus* está constituido principalmente por un cromosoma circular de aproximadamente 2,8–2,9 Mb y un contenido de G+C cercano al 32–33 % (Lakhundi y Zhang, 2018). Además del cromosoma, la bacteria puede contener elementos genéticos móviles que contribuyen a la variabilidad de sus características genéticas. La transferencia horizontal de genes constituye uno de los mecanismos que favorecen la adquisición de nuevos determinantes, incluidos aquellos relacionados con resistencia antimicrobiana (Frost et al., 2005; Köser et al., 2014).

El análisis del genoma completo permite identificar genes y otras regiones presentes en cada aislamiento y estudiar las diferencias existentes entre ellos. En *S. aureus*, esta información puede utilizarse para la caracterización de determinantes de resistencia y virulencia, la asignación de linajes y el análisis de relaciones genéticas entre aislamientos (Aanensen et al., 2016; García et al., 2023).

2.3.5.1. Evolución de las tecnologías de secuenciación genómica

La secuenciación del genoma completo (WGS, *Whole Genome Sequencing*) permite analizar el material genético de un microorganismo en una sola estrategia de secuenciación. Las plataformas de segunda generación, como Illumina, producen un gran número de lecturas cortas con elevada precisión. Posteriormente, las tecnologías de lectura larga, como Pacific Biosciences (PacBio) y Oxford Nanopore Technologies (ONT), ampliaron las posibilidades de ensamblaje al generar fragmentos de ADN de

mayor longitud (Aanensen et al., 2016; Jain et al., 2016; Köser et al., 2014; Rhoads y Au, 2015).

Figura 1

Evolución tecnológica y características comparativas de las plataformas de secuenciación de ADN.



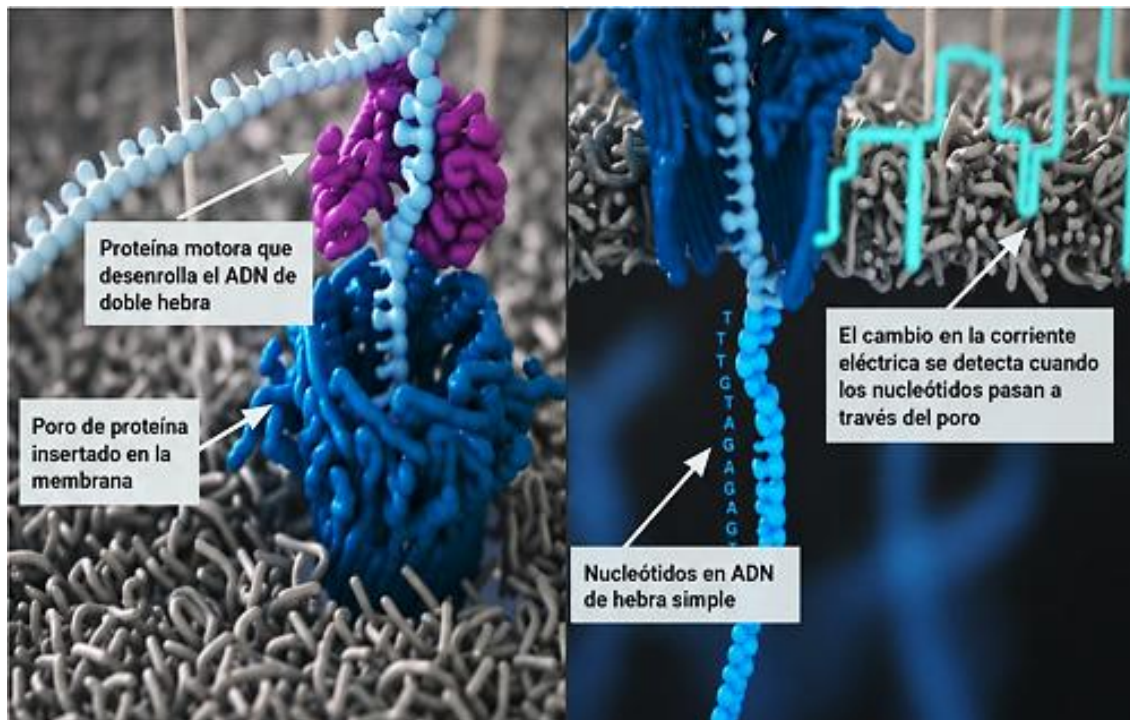
Tomado de *Sequencing 101: The evolution of DNA sequencing tools* (PacBio, 2020)

En la secuenciación por nanoporos, las moléculas de ADN atraviesan un poro y generan cambios en la corriente iónica. Estas señales son registradas y posteriormente interpretadas mediante algoritmos de *basecalling* para obtener la secuencia de nucleótidos (Garalde et al., 2018; Ip et al., 2015).

Las plataformas de ONT han incorporado diferentes mejoras en la química y en los poros utilizados para la secuenciación. Entre ellas se encuentran las versiones R10.4.1 y las químicas de Kit 14, orientadas a mejorar el desempeño y la precisión de las lecturas (Oxford Nanopore Technologies, 2024; Sanderson et al., 2024; Wick, 2023).

Figura 2

Principio fisicoquímico de los nanoporos de Oxford Nanopore Technologies.



Tomado de Oxford Nanopore Technologies (2024).

2.3.5.2. Aplicaciones de ONT en genómica, vigilancia y diagnóstico

La secuenciación por nanoporos puede utilizarse para caracterizar genomas bacterianos y estudiar diferentes elementos genéticos presentes en ellos. Las lecturas largas pueden facilitar el ensamblaje de regiones complejas y el análisis de elementos genéticos móviles. En aislamientos clínicos, los datos obtenidos también pueden emplearse para identificar genes relacionados con resistencia y virulencia y para comparar genéticamente diferentes aislamientos (Ferreira et al., 2021; Heiden, 2019).

Otra aplicación de esta tecnología es la vigilancia de microorganismos de importancia sanitaria. La generación de datos durante el proceso de secuenciación permite disponer de información antes de finalizar la corrida completa, lo que puede ser aprovechado en determinados estudios epidemiológicos y en la investigación de brotes (Ferreira et al., 2021; Oxford Nanopore Technologies, 2024).

Los equipos portátiles, como MinION, han ampliado las posibilidades de utilizar esta tecnología en laboratorios con diferentes niveles de infraestructura. Esta característica, junto con la generación de lecturas largas, ha favorecido su incorporación en estudios de genómica bacteriana (Latorre et al., 2022; Oxford Nanopore Technologies, 2024).

2.3.5.3. Herramientas bioinformáticas para la identificación de genes de resistencia y virulencia

Después de la secuenciación, los datos genómicos requieren diferentes etapas de procesamiento y análisis para obtener información interpretable. En los estudios de resistencia y virulencia, una estrategia frecuente consiste en comparar las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia que contienen genes previamente descritos (Ferreira et al., 2021; Köser et al., 2014).

Entre las herramientas utilizadas se encuentra ABRicate, que permite realizar búsquedas de genes en secuencias genómicas y comparar las coincidencias encontradas con diferentes bases de datos. Los resultados incluyen valores de identidad y cobertura que pueden utilizarse para establecer criterios de selección de los determinantes identificados.

PubMLST reúne bases de datos para diferentes esquemas de tipificación por secuencias multilocus. En *S. aureus*, permite consultar los perfiles alélicos correspondientes a los siete genes del esquema de MLST y asignar el ST de cada aislamiento cuando existe una coincidencia registrada (Jolley et al., 2018).

La Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD) es una base de datos especializada en resistencia antimicrobiana que reúne información sobre genes, proteínas y mecanismos asociados con este fenómeno. Su organización mediante la *Antibiotic Resistance Ontology* (ARO) facilita la clasificación de los determinantes identificados en los genomas bacterianos (Alcock et al., 2023).

Por su parte, la *Virulence Factor Database* (VFDB) contiene información sobre factores de virulencia descritos en diferentes especies bacterianas. Incluye determinantes relacionados con adhesión, invasión, evasión de la respuesta inmunitaria, producción de toxinas y formación de biopelículas, por lo que puede utilizarse como referencia para identificar estos genes en secuencias genómicas (Chen et al., 2005; Yang et al., 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunología y Microbiología, perteneciente a la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH).

3.1.1. Ubicación geográfica

El laboratorio se encuentra ubicado en la Ciudad Universitaria de la UNSCH, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, Perú. Coordenadas:

Latitud Sur: 13°08'44.68" S

Longitud Oeste: 74°13'15.73" O

Altitud: 2791 m s. n. m.

3.2. Tipo y nivel de investigación

La investigación es de tipo básica y de nivel descriptivo, con un diseño no experimental, de corte transversal, orientada a la caracterización molecular de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

Estuvo constituida por cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, conservadas en agar Tripticasa Soya (TSA) suplementado con 5 % de cloruro de sodio y almacenadas a 4 °C, pertenecientes a la colección del Laboratorio de Inmunología y Microbiología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.3.2. Unidad muestral

La unidad muestral estuvo conformada por 16 cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Estas cepas procedieron de estudios previos, en los cuales fueron identificadas y caracterizadas fenotípicamente como SARM. Para el presente trabajo, se gestionó y obtuvo la autorización formal para su utilización con fines de caracterización genómica (**Anexo 1 y 2**).

Dado que el número de cepas disponibles fue limitado y correspondió a la totalidad de aislamientos disponibles, no se realizó cálculo de tamaño muestral. En este sentido, el estudio corresponde a un enfoque censal, al incluir todas las cepas disponibles en la colección del laboratorio que cumplieron con los criterios de selección.

3.3.3. Criterios de selección

Para la conformación definitiva de la unidad muestral, se aplicaron los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión: Cepas de *S. aureus* con perfil de resistencia a meticilina confirmado previamente mediante pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos.
- Criterios de exclusión: Cepas cuya identificación bacteriana no fue confirmada mediante pruebas fenotípicas confirmatorias, cultivos que presentaron contaminación durante el proceso de reactivación, y cepas que no contaban con registros completos de origen, fecha de aislamiento o código de identificación en el laboratorio.

3.4. Metodología

3.4.1. Reactivación e identificación presuntiva

Las cepas *S. aureus* se reactivaron mediante inoculación en 5 mL de caldo tripticasa de soya (TSB) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. A partir de este cultivo líquido, se realizó una siembra por estría de agotamiento en agar manitol salado, incubándose nuevamente a 37 °C por 24 horas para obtener colonias aisladas. Tras la incubación, se consideró como presuntivas de *S. aureus* aquellas cepas que desarrollaron colonias típicas con un cambio del color del medio a amarillo debido a la fermentación del manitol (Murray et al., 2017) (**Anexo 3**).

3.4.2. Confirmación del fenotipo SARM mediante antibiograma

El perfil de resistencia a meticilina se confirmó para cada cepa presuntiva mediante la prueba de difusión en disco de Kirby-Bauer, siguiendo las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023) (**Anexo 4**). El procedimiento se realizó de la siguiente manera:

- Preparación del inóculo: A partir de colonias aisladas de 24 horas en agar Manitol Salado, se preparó una suspensión bacteriana en 5 mL de solución salina estéril (0,85 % NaCl), ajustando su turbidez al estándar 0,5 de McFarland.
- Siembra e incubación: La suspensión se inoculó de forma uniforme sobre placas de agar Mueller-Hinton. Se dispusieron los discos de antibióticos, utilizando cefoxitina (30 µg) como marcador para la detección de SARM. Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 horas.
- Interpretación: Las cepas se clasificaron como SARM al presentar un halo de inhibición ≤ 21 mm alrededor del disco de cefoxitina.

3.4.3. Conservación de las cepas

Para garantizar la viabilidad y estabilidad fenotípica de las cepas de SARM confirmadas, se implementó un protocolo de conservación a corto plazo. Las cepas se mantuvieron en agar TSA suplementado con cloruro de sodio al 5 % en viales estériles con el medio inclinado solidificado, y se conservaron a 4 °C. Durante el periodo previo al análisis, los cultivos se renovaron periódicamente mediante resiembra en medio fresco bajo condiciones de esterilidad, con el fin de preservar su viabilidad. Este procedimiento se mantuvo hasta el momento de la extracción de ADN genómico, favoreciendo la obtención de células viables para una extracción eficiente del ADN (Campaña, 2021). El procedimiento se muestra en el **Anexo 5**.

3.4.4. Extracción de ADN genómico

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de cultivos puros de cada cepa de SARM, siguiendo el protocolo del kit de extracción ADN GRISP. De acuerdo con las recomendaciones del fabricante, se utilizó una cantidad de biomasa equivalente a aproximadamente 1×10^9 células bacterianas. Para ello, se preparó una suspensión bacteriana ajustada al estándar 3,0 de McFarland como método de estimación de la concentración celular. A partir de esta suspensión, se obtuvo el sedimento bacteriano (*pellet*) para la extracción de ADN, siguiendo el protocolo indicado (**Anexo 6**).

Preparación del reactivo de lisis:

- Se alicuotaron 200 µL de tampón G+ en tubos de microcentrífuga de 1,5 mL.
- El tampón fue suplementado con 0,8 mg de lisozima para alcanzar una concentración final de 4 mg/mL.
- La mezcla se homogeneizó mediante agitación en vórtex hasta su completa disolución.

Preparación del lisado:

- Se centrifugó 1 mL de cultivo bacteriano a 15 000 × g durante 1 minuto en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL.
- Se descartó el sobrenadante y el *pellet* se resuspendió en 200 µL de tampón G+ con lisozima, mezclando cuidadosamente hasta obtener una suspensión homogénea.
- La suspensión se incubó a 37 °C durante 30 minutos.
- Posteriormente, se añadieron 20 µL de proteinasa K y se incubó a 60 °C durante 15 minutos.
- Se agregaron 200 µL de tampón BL, se mezcló vigorosamente y se incubó a 70 °C durante 10 minutos.
- Luego de enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se añadieron 5 µL de ARNasa A (10 mg/mL) y se incubó durante 15 minutos.

Finalmente, se agregaron 200 µL de etanol al 96 % y la mezcla se homogeneizó inmediatamente.

Unión y lavado del ADN:

- La mezcla completa se transfirió a una columna de centrifugación y se centrifugó a 15 000 × g durante 2 minutos.
- Se descartó el líquido eluido (*flow-through*) y se colocó la columna en un nuevo tubo de recolección.
- Se realizó un primer lavado con 400 µL de tampón de lavado 1, centrifugando a 15 000 × g durante 30 segundos, se descartó el eluido del tubo de recolección y se colocó la columna en el mismo tubo.
- Se realizó un segundo lavado con 600 µL de tampón de lavado 2, centrifugando a 15 000 × g durante 30 segundos y se descartó el eluido.
- Se realizó una centrifugación final a 15 000 × g durante 3 minutos para eliminar residuos de etanol.

Elución del ADN:

- La columna se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL.
- Se añadió 100 µL de tampón de elución directamente sobre la membrana.
- Se incubó a temperatura ambiente durante 3 minutos.
- Se centrifugó a 15 000 × g durante 1 minuto para recuperar el ADN.

- Se descartó la columna y el ADN eluido se conservó en el tubo de microcentrífuga de 1,5 mL.
- El ADN purificado se almacenó a -20 °C para análisis posteriores.

3.4.5. Análisis de calidad y pureza del ADN

La cuantificación y evaluación de la pureza del ADN se realizó utilizando un espectrofotómetro de microvolumen *NABI UV/Vis Nano Spectrophotometer* (MicroDigital Co., Ltd., software versión 4.0.3 U2). La concentración y pureza del ADN se determinaron mediante la medición de absorbancia a 260 nm, así como las relaciones A260/280 y A260/230. Las mediciones se efectuaron con el fin de verificar que las muestras cumplieran con los parámetros de calidad requeridos para la secuenciación, de acuerdo con el manual "*Input DNA-RNA-qc-IDI-S1006_v1*" de Oxford Nanopore Technologies (**Anexo 7**). Se consideró como criterio de aceptación una concentración mínima de ADN superior a 20 ng/μL, una relación de absorbancia A260/280 entre 1,8 y 2,0, y una relación A260/230 entre 2,0 y 2,2. Este análisis permitió verificar la idoneidad de las muestras para los procedimientos posteriores de secuenciación.

Procedimiento de medición:

- Se seleccionó la opción de *dsDNA* en el equipo.
- Se estableció el blanco utilizando 1 μL de tampón de elución del kit de extracción.
- Cada muestra fue homogeneizada y se depositó 1 μL en el panel óptico para su lectura.
- Las muestras se registraron mediante códigos de identificación (3n, 27na, 16y, etc.) al momento de la lectura.
- Para proseguir con la siguiente lectura de la muestra se realizó la limpieza de la superficie óptica con papel tisú.
- Las lecturas obtenidas fueron transferidas a una tabla de Microsoft Excel para su posterior análisis.

3.4.6. Análisis de integridad del ADN

La integridad del ADN genómico se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa utilizando el sistema *blueGel* (Gelato) y reactivos específicos para electroforesis, incluyendo agarosa, tampón TBE 1X, tampón de carga, agente intercalante y marcador de peso molecular (**Anexo 8**).

Preparación del gel de agarosa:

- Se preparó un gel de agarosa al 0,8 % disolviendo 0,16 g de *GRS agarose LE* en 20 mL de Tris-borato-EDTA (TBE) 1X.
- La mezcla se calentó en microondas durante 60 segundos y se dejó enfriar durante 2 minutos.
- Se vertió en una bandeja con peine de 25 pocillos, evitando la formación de burbujas.
- Se dejó solidificar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Electroforesis:

- Una vez solidificado, se retiró el peine y se colocó el gel en la cámara de electroforesis.
- Se cubrió con 30 mL del tampón TBE 1X hasta cubrir el gel de agarosa.
- Se cargaron 5 µL de ADN por muestra, mezclados con 1 µL de buffer de carga GRS DNA loading buffer blue (6x) y 0,5 µL de Xpert Green DNA Stain DIRECT.
- Como marcador de peso molecular se cargó 6 µL de Ladder de 100 bp mezclados con 0,5 µL de Xpert Green DNA Stain DIRECT en el primer pocillo.
- La electroforesis se realizó a 75 V durante 20 minutos.
- Finalizada la electroforesis, el gel se visualizó mediante el transiluminador del equipo para evaluar la integridad del ADN.
- Se consideraron como muestras de ADN íntegro aquellas que presentaron una banda única y compacta correspondiente a alto peso molecular, sin evidencia de degradación (smearing).

3.4.7. Secuenciamiento de ADN mediante tecnología nanopore (MinION R10.4.1)

El secuenciamiento se realizó utilizando el dispositivo MinION de Oxford Nanopore Technologies, empleando celdas de flujo Flongle FLO-FLG114 (R10.4.1). La preparación de bibliotecas se llevó a cabo mediante el *kit Rapid Barcoding Kit V14* (SQK-RBK114.24), siguiendo las recomendaciones del fabricante (Oxford Nanopore Technologies, 2024) (**Anexo 9**).

Preparación de bibliotecas de secuenciación:

Se utilizaron 200 ng de ADN genómico por muestra, ajustados a un volumen final de 10 µL con agua libre de nucleasas en tubos de PCR de 0,2 mL.

- Se añadió 1,5 µL de un código de barras rápido a cada muestra.

- Las muestras se mezclaron mediante pipeteo y se centrifugaron brevemente.
- Se incubaron en termociclador con el siguiente programa: 30 °C durante 2 minutos, seguido de 80 °C durante 2 minutos.
- Posteriormente, se colocaron en hielo y se centrifugaron brevemente.

Las muestras etiquetadas con códigos de barras se agruparon en un tubo de microcentrífuga libre de nucleasas de 2 mL.

Purificación de la biblioteca de secuenciación:

- Las perlas AMPure XP se resuspendieron mediante inversión suave y homogenización.
- Se añadió un volumen equivalente de perlas AMPure XP a la mezcla combinada y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente con mezcla suave.
- Se colocó el tubo en un rack magnético y se eliminó el sobrenadante.
- Las perlas se lavaron dos veces con etanol al 80 %, eliminando cuidadosamente el líquido en cada lavado.
- Las perlas se secaron al aire durante aproximadamente 30 segundos.
- El ADN se eluyó en 15 µL de tampón de elución (EB), seguido de una incubación de 10 minutos a temperatura ambiente.
- Se recuperó el eluido en un tubo limpio de 1,5 mL (biblioteca purificada).

Para la ligación de adaptadores:

- Se transfirieron 5,5 µL de la biblioteca purificada a un tubo Eppendorf de 1,5 mL.
- Se preparó una mezcla de adaptadores compuesta por 1,5 µL de adaptador rápido (RA) y 3,5 µL de buffer de adaptador (ADB).
- Se añadió 0,5 µL de esta mezcla de adaptadores a la biblioteca purificada, se mezcló suavemente y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente.

La biblioteca preparada se mantuvo sobre hielo hasta su carga en la celda de flujo.

Primado y carga de la celda de flujo Flongle:

El primado y la carga se realizaron siguiendo el protocolo específico para Flongle (Oxford Nanopore Technologies, 2024).

- Se preparó la mezcla de cebado con 117 µL de *Flow Cell Flush* (FCF) y 3 µL de *Flush Tether* (FCT).
- La celda de flujo Flongle se colocó en el adaptador correspondiente del dispositivo MinION.

- Se retiró la pestaña de sellado para exponer el puerto de muestra.
- Se cargaron cuidadosamente 120 μ L de la mezcla de cebado, evitando la formación de burbujas, y se dejó incubar durante 5 minutos.

Preparación de la mezcla de secuenciación:

La mezcla de secuenciación se preparó utilizando:

- 15 μ L de tampón de secuenciación (SB)
- 10 μ L de perlas de biblioteca (*Library Beads*, LIB), previamente resuspendidas
- 5 μ L de la biblioteca de ADN previamente preparada a partir de los 200 ng de ADN genómico iniciales.

La mezcla final tuvo un volumen de 30 μ L, el cual fue cargado cuidadosamente en el puerto de muestra de la celda de flujo Flongle, evitando la introducción de burbujas de aire. Posteriormente, la celda fue sellada para iniciar la corrida de secuenciación.

Configuración y ejecución del secuenciamiento

La secuenciación se realizó mediante la plataforma Oxford Nanopore Technologies, utilizando el software MinKNOW (v. 23.04.8) (**Anexo 10**).

- Se inició el software MinKNOW (versión 23.04.8) y se seleccionó el dispositivo MinION conectado.
- Se configuró una nueva ejecución ingresando los datos del experimento:
- Nombre del experimento: *S. aureus* – 16
- Tipo de celda de flujo: Flongle FLO-FLG114 con poro R10.4.1
- Kit de secuenciación: SQK-RBK114.24
- Se establecieron los parámetros de ejecución:
- Duración: 72 horas
- Longitud mínima de lectura: 200 bp
- Se activaron las opciones de procesamiento:
- *Basecalling* en tiempo real
- Modelo de alta precisión (*High Accuracy*, HAC)
- Separación por códigos de barras (*demultiplexing*)
- Filtrado de lecturas
- Se configuraron los formatos de salida:
- POD5 (formato de datos sin procesar generado por ONT)

- FASTQ (formato estándar de secuencias de ADN con información de calidad tras el *basecalling*)
- Se estableció un umbral de calidad de $Q > 10$ (puntaje de calidad Phred), descartando automáticamente lecturas de menor calidad.

Finalmente, se inició la corrida de secuenciación desde la interfaz del software.

3.4.8. Análisis bioinformático

Todo el procesamiento bioinformático se realizó en la plataforma Galaxy Europe (versión 24.0), garantizando reproducibilidad y acceso a herramientas estandarizadas (**Anexo 11**).

Preprocesamiento, ensamblaje y mejora de genomas en Galaxy

Para el análisis de calidad, los archivos FASTQ se importaron a la plataforma Galaxy Europe. El preprocesamiento incluyó la concatenación de lecturas, la eliminación de adaptadores con Porechop (v0.2.4) (Wick, 2017) y el control de calidad con NanoPlot (v1.41.0) (De Coster et al., 2018). Solo los conjuntos de datos que cumplieron los criterios de calidad (longitud promedio > 1 kb y $Q > 10$) fueron seleccionados para el ensamblaje.

El ensamblaje *de novo* se realizó con Flye (v2.9.2) (Kolmogorov et al., 2019). La estructura de los contigs fue evaluada mediante Bandage (v0.8.1) (Wick et al., 2015), y la identidad de la especie se verificó mediante análisis de similitud con BLASTn (v2.16.0) (Camacho et al., 2009) frente a la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Los genomas ensamblados se sometieron a un proceso de pulido iterativo utilizando Minimap2 (v2.30) (H. Li, 2018) y Racon (v1.5.0) (Vaser et al., 2017), durante dos iteraciones.

Caracterización genómica integral e integración en Proksee

Sobre los genomas finales y pulidos, se realizó una caracterización exhaustiva:

- Perfil de resistencia antimicrobiana: La búsqueda de genes de resistencia antimicrobiana se realizó con ABRicate (v1.0.1) (Feldgarden et al., 2021) utilizando la base de datos CARD. Se identificaron genes y mecanismos de resistencia antimicrobiana, aplicando umbrales de corte de $\geq 90\%$ de identidad y $\geq 80\%$ de cobertura para la identificación de genes de resistencia antimicrobiana.

- Detección de Factores de virulencia: El potencial patogénico de los aislamientos se evaluó con ABRicate (v1.0.1) utilizando la base de datos de factores de virulencia (VFDB), y aplicando los mismos criterios de corte aplicados para el perfil de AMR.
- Tipado molecular: El ST se determinó mediante MLST (v2.22.0) (Seemann, 2016) contra el esquema de *S. aureus* en la base de datos PubMLST (Jolley et al., 2018).

Integración y visualización en Proksee

Para la visualización y el análisis genómico, se integraron los datos en la plataforma Proksee (Grant et al., 2023) de la siguiente manera:

- Preparación de datos: Los genomas ensamblados (contigs) y la anotación génica obtenida con *Prokka* (v1.14.6) (Seemann, 2014) fueron cargados en la plataforma.
- Visualización comparativa: Para cada aislamiento se incorporó un genoma de referencia correspondiente al mismo ST, previamente determinado mediante MLST, el cual fue obtenido de la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Esta estrategia permitió comparar la organización genómica del aislamiento con un representante de su mismo linaje clonal.

Adicionalmente, se integraron los genes de resistencia antimicrobiana y factores de virulencia identificados, generándose mapas genómicos circulares y horizontales individuales mostrando la distribución de estos elementos respecto al genoma de referencia.

3.4.9. Análisis filogenético y epidemiológico

Verificación *in silico* de alelos MLST y obtención de secuencias.

Para confirmar los alelos identificados y obtener las secuencias específicas para el análisis filogenético, se realizó una amplificación por PCR *in silico* de cada uno de los siete genes constitutivos (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqiL*). Este proceso se llevó a cabo en SnapGene (v7.1) utilizando las secuencias consenso ensambladas de cada genoma y los pares de cebadores específicos descritos originalmente por Enright et al., (2000) y disponibles en la base de datos PubMLST.

Concatenación y alineamiento de secuencias.

Las secuencias de los siete amplicones fueron concatenadas manualmente en el orden estándar del esquema MLST para cada aislamiento. El alineamiento múltiple de las secuencias concatenadas se realizó mediante el algoritmo ClustalW integrado en MEGA11 (v11.0) (Tamura et al., 2021), utilizando los siguientes parámetros: penalización por apertura de *gap* de 15, penalización por extensión de *gap* de 6.66,

matriz de sustitución tipo IUB, valor de corte para secuencias divergentes de 30% y peso de transición de 0,5.

Construcción del árbol filogenético.

El árbol filogenético se generó en MEGA11 a partir del alineamiento de secuencias concatenadas. El modelo evolutivo Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) (Hasegawa et al., 1985) fue seleccionado mediante la herramienta de selección de modelos implementada en MEGA11 (Tamura et al., 2021). Se incorporó una distribución Gamma discreta para modelar la heterogeneidad de tasas entre sitios (+G; 5 categorías) y una proporción de sitios invariantes (+I), conforme a los parámetros estimados durante la selección del modelo. Se empleó un soporte estadístico de *bootstrap* de 1000 réplicas (Felsenstein, 1985). El árbol resultante se exportó en formato Newick y se visualizó en iTOL v6 (*Interactive Tree of Life*) para la incorporación de metadatos relacionados con el tipo de secuencia y la presencia de genes de resistencia y virulencia.

Análisis de estructura poblacional y distribución de linajes.

Adicionalmente, se elaboró un análisis de frecuencias de ST y su distribución mediante el programa PHYLOViZ (Francisco et al., 2012), lo que permitió representar visualmente la diversidad y frecuencia relativa de los linajes identificados. Este análisis facilitó la interpretación de la estructura poblacional de los aislamientos y su posible relación clonal.

La integración de estos resultados permitió identificar patrones de agrupamiento filogenético en los aislamientos de SARM, proporcionando información sobre la distribución y frecuencia de los linajes genéticos identificados.

.

IV. RESULTADOS

Tabla 1

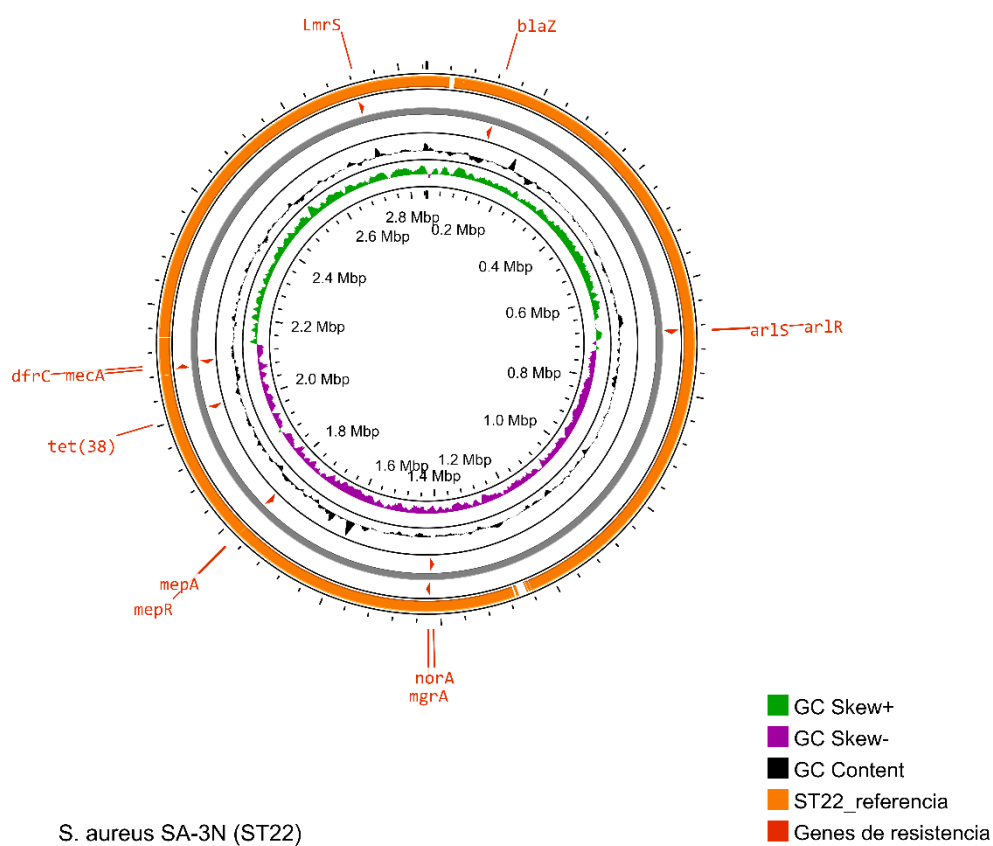
Distribución de genes de resistencia antimicrobiana y proteínas codificadas en aislados de Staphylococcus aureus resistentes a meticilina.

Clase de antibiótico	Proteína codificada por el gen	Gen de resistencia	f (n)	p (%)
Multidrogas / Reguladores de eflujo	Bomba de eflujo multidroga	<i>mepA</i>	16	100,00
	Represor transcripcional	<i>mepR</i>	16	100,00
	Transportador de eflujo multidroga	<i>lmrS</i>	16	100,00
Fluoroquinolonas	Bomba de eflujo de norfloxacin	<i>norA</i>	13	81,25
	Regulador de respuesta	<i>arlR</i>	16	100,00
	Histidina quinasa del sistema de dos componentes	<i>arlS</i>	16	100,00
	Regulador global	<i>mgrA</i>	16	100,00
Tetraciclinas	Proteína de eflujo	<i>tet(38)</i>	16	100,00
	Proteína de protección ribosomal	<i>tet(M)</i>	1	6,25
	Proteína de eflujo	<i>tet(K)</i>	3	18,75
	Proteína de eflujo	<i>tet(L)</i>	2	12,50
β-lactámicos	β-lactamasa	<i>blaZ</i>	15	93,75
	Proteína de unión a penicilina 2a	<i>mecA</i>	12	75,00
Fosfomicina	Tioiltransferasa de fosfomicina	<i>fosB</i>	7	43,75
	Variante de tioiltransferasa de fosfomicina	<i>FosB1</i>	1	6,25
Aminoglucósidos	Aminoglucósido nucleotidiltransferasa	<i>ant(4')-Ib</i>	4	25,00
	Enzima bifuncional modificadora de aminoglucósidos	<i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i>	3	18,75
Macrólidos / Lincosamidas / Estreptograminas B	Metiltransferasa de rRNA	<i>ermC</i>	8	50,00
	Metiltransferasa de rRNA	<i>ermA</i>	1	6,25
	Metiltransferasa de rRNA	<i>ermT</i>	1	6,25
	Fosfotransferasa de macrólidos	<i>mphC</i>	10	62,50
	Transportador ABC dependiente de ATP	<i>msrA</i>	10	62,50
	Metiltransferasa de 23S rRNA	<i>cfrA</i>	3	18,75

Fenicol(es) (cloranfenicol/ florfenicol)	Bomba de eflujo de cloranfenicol/florfenicol	<i>fexA</i>	1	6,25
Trimetoprim / Sulfonamidas	Dihidrofolato reductasa	<i>dfrC</i>	1	6,25
	Dihidrofolato reductasa	<i>dfrG</i>	1	6,25
Glicopéptidos	Hidrolasa de péptido señal	<i>spd</i>	1	6,25

Figura 3

Representación circular del genoma del aislamiento *S. aureus* SA-3N (ST22) con anotación de genes de resistencia.



Mapa genómico circular generado con Proksee. Los anillos, de afuera hacia adentro, representan: (1) la secuencia del genoma de referencia (anillo externo, en color naranja); (2) el genoma ensamblado del aislamiento (~2,8 Mbp); (3) genes de resistencia a antimicrobianos identificados mediante la base de datos CARD, indicados en color rojo; (4) contenido de GC (guanina-citosina), representado en negro; y (5) sesgo de GC, donde los valores positivos se muestran en verde y los negativos en púrpura. Se muestran únicamente los genes de resistencia identificados.

Tabla 2

Distribución de genes asociados a virulencia y productos codificados en aislados de Staphylococcus aureus resistentes a meticilina.

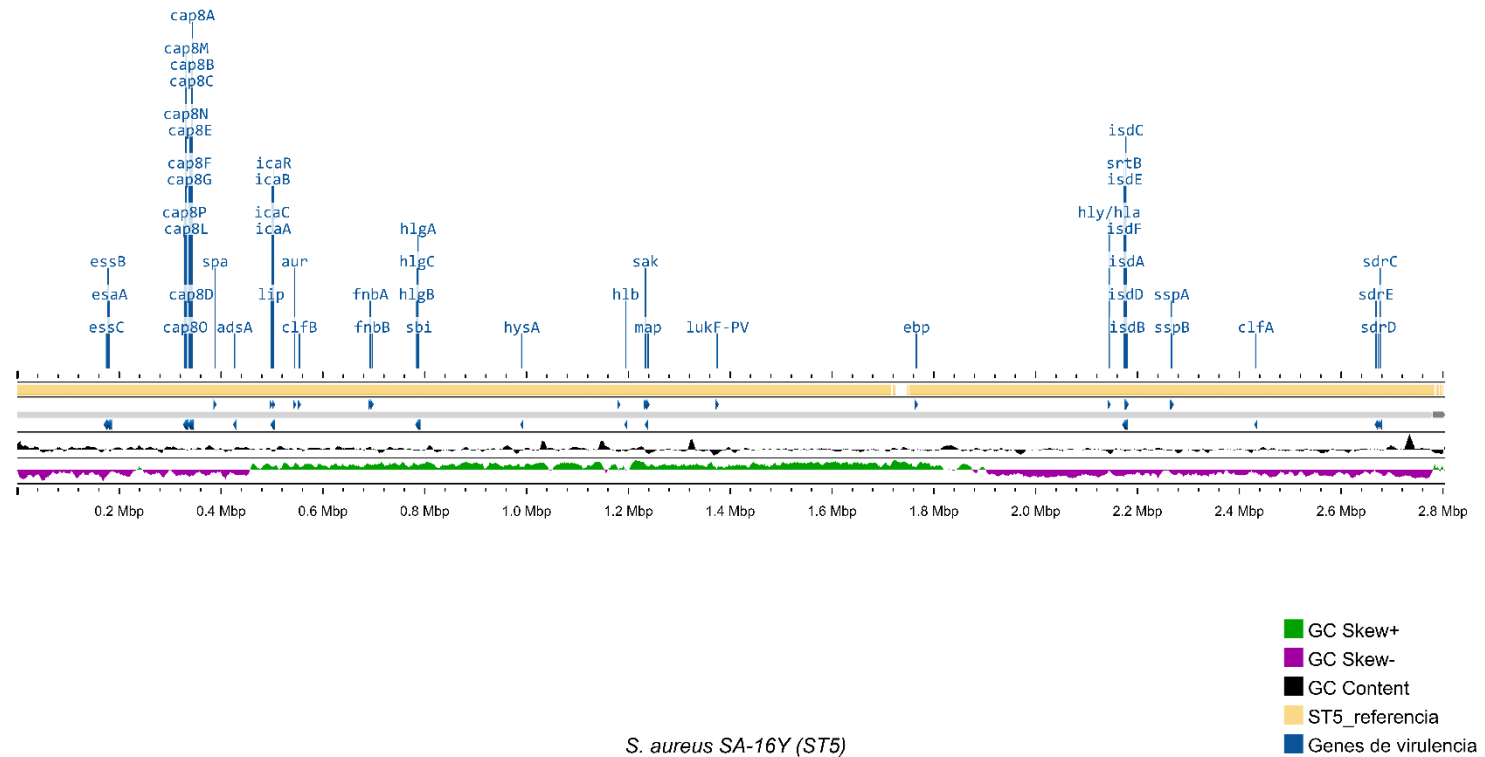
Grupo funcional	Producto codificado	Gen	f (n)	p (%)
Formación de biopelícula	N-acetilglucosaminiltransferasa implicada en la síntesis del polisacárido de adhesión intercelular (PIA)	<i>icaA</i>	16	100,00
	Desacetilasa implicada en la síntesis del polisacárido de adhesión intercelular	<i>icaB</i>	16	100,00
	Proteína de exportación del polisacárido de adhesión intercelular	<i>icaC</i>	16	100,00
	Proteína accesoria implicada en la síntesis de PIA	<i>icaD</i>	16	100,00
	Regulador transcripcional del operón <i>ica</i>	<i>icaR</i>	16	100,00
Toxinas hemolíticas	δ-hemolisina	<i>hld</i>	16	100,00
	β-hemolisina	<i>hlyB</i>	16	100,00
	Componente A de γ-hemolisina	<i>hlyA</i>	16	100,00
	Componente B de γ-hemolisina	<i>hlyB</i>	16	100,00
	Componente C de γ-hemolisina	<i>hlyC</i>	16	100,00
	α-hemolisina	<i>hlyA</i>	15	93,75
Sortasa	Sortasa B específica para motivo NPQTN	<i>srtB</i>	16	100,00
Proteasas y enzimas	Aureolisina (metaloproteasa dependiente de zinc)	<i>aur</i>	16	100,00
	Proteasa V8 (endopeptidasa glutamil específica)	<i>sspA</i>	16	100,00
	Estafopaina B (proteasa cisteína)	<i>sspB</i>	16	100,00
	Estafostatina B (inhibidor de proteasa cisteína)	<i>sspC</i>	16	100,00
	Hialuronato liasa	<i>hysA</i>	16	100,00
	Hidrolasa de ésteres de glicerol	<i>geh</i>	16	100,00
	Lipasa triacilglicerol	<i>lip</i>	16	100,00
Evasión inmune	Adenosina sintasa A	<i>adsA</i>	16	100,00
	Proteína inhibidora de quimiotaxis (CHIPS)	<i>chp</i>	10	62,50
	Estafilocinasa	<i>sak</i>	10	62,50
	Inhibidor del complemento (SCIN)	<i>scn</i>	11	68,75
	Proteína de unión a inmunoglobulina G (SBI)	<i>sbi</i>	16	100,00
	Proteína A de unión a inmunoglobulina G	<i>spa</i>	15	93,75
Sistema de secreción VII	Proteína estructural del sistema de secreción tipo VII	<i>esaA</i>	16	100,00
	Proteína reguladora del sistema de secreción tipo VII	<i>esaB</i>	16	100,00
	Proteína efectora del sistema de secreción tipo VII	<i>esaC</i>	9	56,25
	Proteína de membrana del sistema de secreción tipo VII	<i>essA</i>	16	100,00
	Proteína estructural de membrana del sistema de secreción tipo VII	<i>essB</i>	16	100,00

	ATPasa de la familia FtsK/SpoIIIE del sistema de secreción tipo VII	<i>essC</i>	9	56,25
	Proteína secretada del sistema de secreción tipo VII	<i>esxA</i>	16	100,00
	Proteína secretada del sistema de secreción tipo VII	<i>esxB</i>	9	56,25
Adhesinas	Factor de agregación A (proteína de unión a fibrinógeno)	<i>clfA</i>	16	100,00
	Factor de agregación B	<i>clfB</i>	16	100,00
	Adhesina de colágeno	<i>cna</i>	8	50,00
	Proteína de unión a fibronectina A	<i>fnbA</i>	16	100,00
	Proteína de unión a fibronectina B	<i>fnbB</i>	14	87,50
	Proteína de adhesión rica en Ser-Asp C	<i>sdrC</i>	12	75,00
	Proteína de adhesión rica en Ser-Asp D	<i>sdrD</i>	12	75,00
	Proteína de adhesión rica en Ser-Asp E	<i>sdrE</i>	12	75,00
	Proteína extracelular Map (adhesina multifuncional)	<i>map</i>	16	100,00
	Proteína de unión a elastina	<i>ebp</i>	15	93,75
Síntesis de cápsula	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8A</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8B</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8C</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8D</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8E</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8F</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8G</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8H</i>	4	25,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8I</i>	4	25,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8J</i>	4	25,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8K</i>	4	25,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8L</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8M</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8N</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8O</i>	16	100,00
	Proteína implicada en la síntesis de polisacárido capsular tipo 8	<i>cap8P</i>	16	100,00
Captación de hierro	Determinante de superficie regulado por hierro A	<i>isdA</i>	16	100,00
	Receptor de hemoglobina regulado por hierro	<i>isdB</i>	16	100,00

	Determinante de superficie regulado por hierro C	<i>isdC</i>	16	100,00
	Proteína de transporte asociada al sistema Isd	<i>isdD</i>	16	100,00
	Proteína de unión a hemo	<i>isdE</i>	16	100,00
	Transportador ABC de membrana asociado a captación de hierro	<i>isdF</i>	16	100,00
	Hemo oxigenasa	<i>isdG</i>	16	100,00
Toxinas leucocidinas	Componente S de leucocidina de <i>Panton-Valentine</i>	<i>lukS-PV</i>	9	56,25
	Componente F de leucocidina de <i>Panton-Valentine</i>	<i>lukF-PV</i>	12	75,00
	Componente S de leucocidina LukED	<i>lukE</i>	4	25,00
	Componente F de leucocidina LukED	<i>lukD</i>	4	25,00
Superantígenos	Toxina del síndrome de shock tóxico tipo 1 (TSST-1)	<i>tst</i>	4	25,00
Coagulasas	Estafilocagulasa	<i>coa</i>	13	81,25
	Proteína de unión al factor de von Willebrand	<i>vWbp</i>	3	18,75

Figura 4

Representación lineal del genoma del aislamiento S. aureus SA-16Y (ST5) con anotación de genes de virulencia.



Mapa genómico lineal generado con Proksee. Los anillos, de arriba hacia abajo, representan: (1) la secuencia del genoma de referencia ST5, indicada en color crema; (2) el genoma ensamblado del aislamiento (~2,8 Mbp); (3) genes de virulencia identificados mediante la base de datos VFDB, resaltados en color azul; (4) contenido de GC (guanina-citosina), representado en negro; y (5) sesgo de GC, donde los valores positivos se muestran en verde y los negativos en púrpura. Se muestran únicamente los genes de virulencia identificados.

Tabla 3

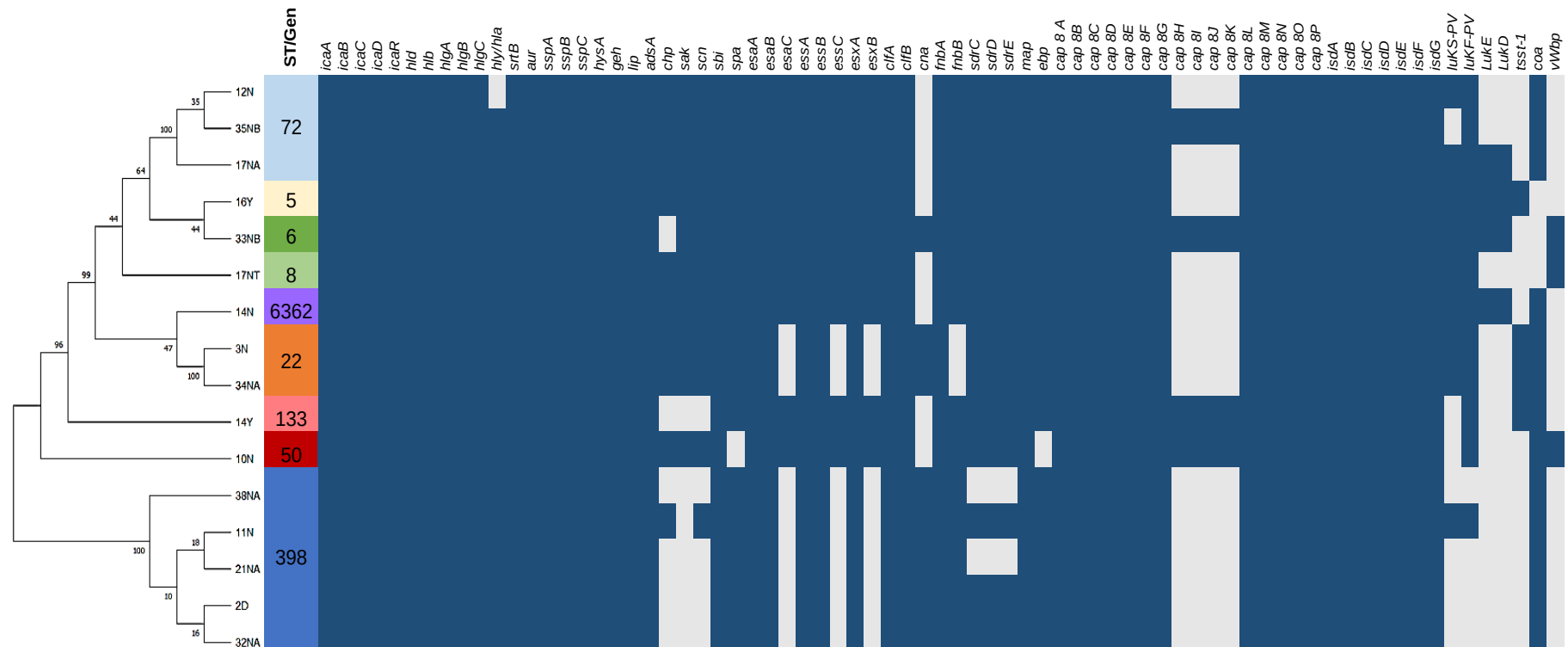
Distribución de tipos de secuencia en aislamientos de Staphylococcus aureus resistentes a meticilina.

Tipo de secuencia (ST)	<i>f</i> (n)	<i>p</i> (%)
ST398	5	31,25
ST72	3	18,75
ST8	1	6,25
ST22	2	12,50
ST5	1	6,25
ST6	1	6,25
ST50	1	6,25
ST133	1	6,25
ST6362	1	6,25

Los valores absolutos (n) y relativos (%) fueron calculados sobre el total de aislamientos analizados (N = 16).

Figura 5

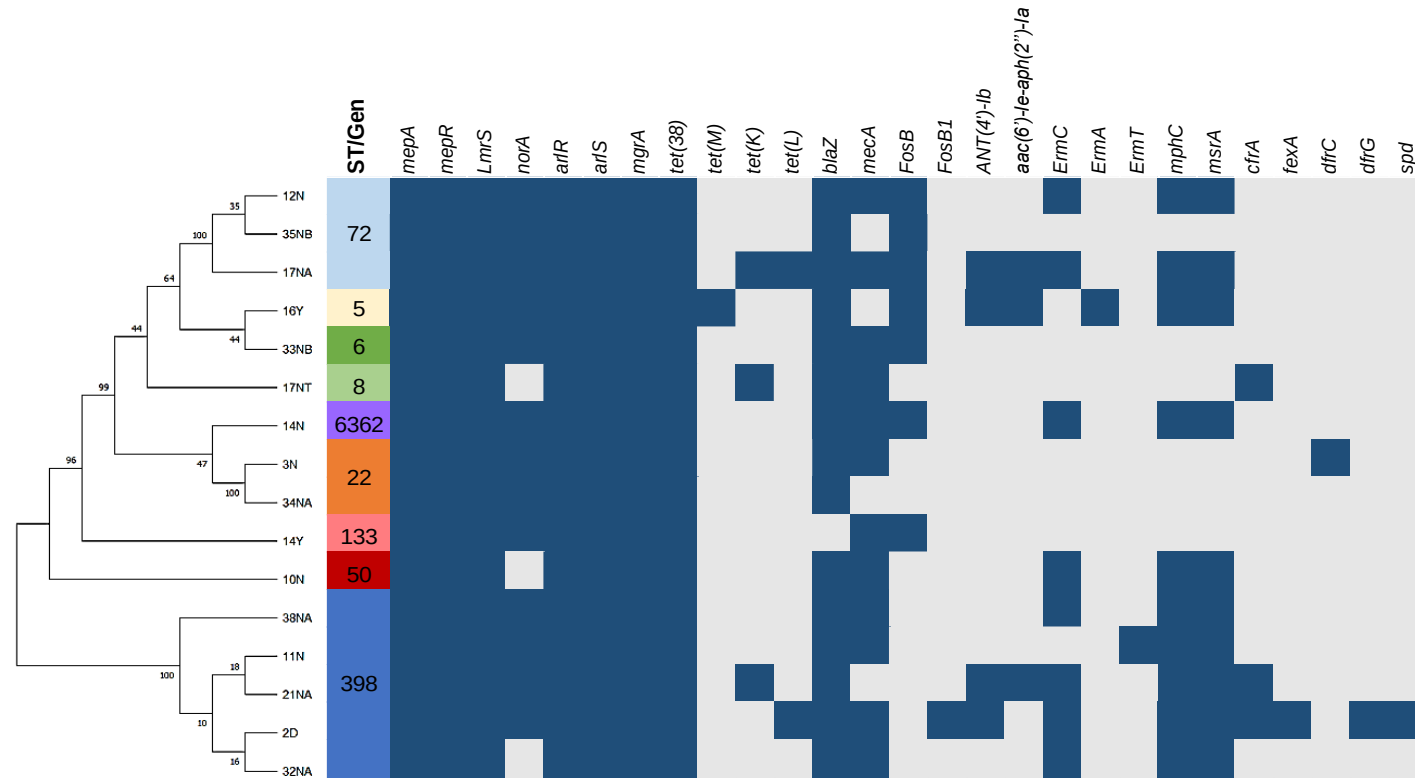
Mapa de calor de genes de virulencia en aislados de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, organizado según la filogenia derivada del análisis MLST.



Cada fila corresponde a un aislamiento y cada columna a un gen de virulencia. El árbol filogenético se construyó a partir del análisis MLST, y la historia evolutiva se infirió mediante el método de máxima verosimilitud bajo el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano (Hasegawa et al., 1985). El árbol de consenso se obtuvo a partir de 1000 réplicas *bootstrap* (Felsenstein, 1985), colapsando las ramas con soporte inferior al 50%. Los valores numéricos en los nodos representan el soporte de *bootstrap* (%). Se utilizó una distribución gamma discreta para modelar la heterogeneidad de tasas entre sitios (5 categorías; +G, parámetro = 0,1000), considerando además una proporción de sitios invariantes (+I = 48,71%). El análisis incluyó 16 secuencias con un total de 3186 posiciones y fue realizado en el software MEGA11 (Tamura et al., 2021). Los números a la izquierda representan el tipo de secuencia. El color azul oscuro indica presencia (1) y gris claro ausencia (0). La escala del árbol representa la distancia genética entre los aislamientos.

Figura 6

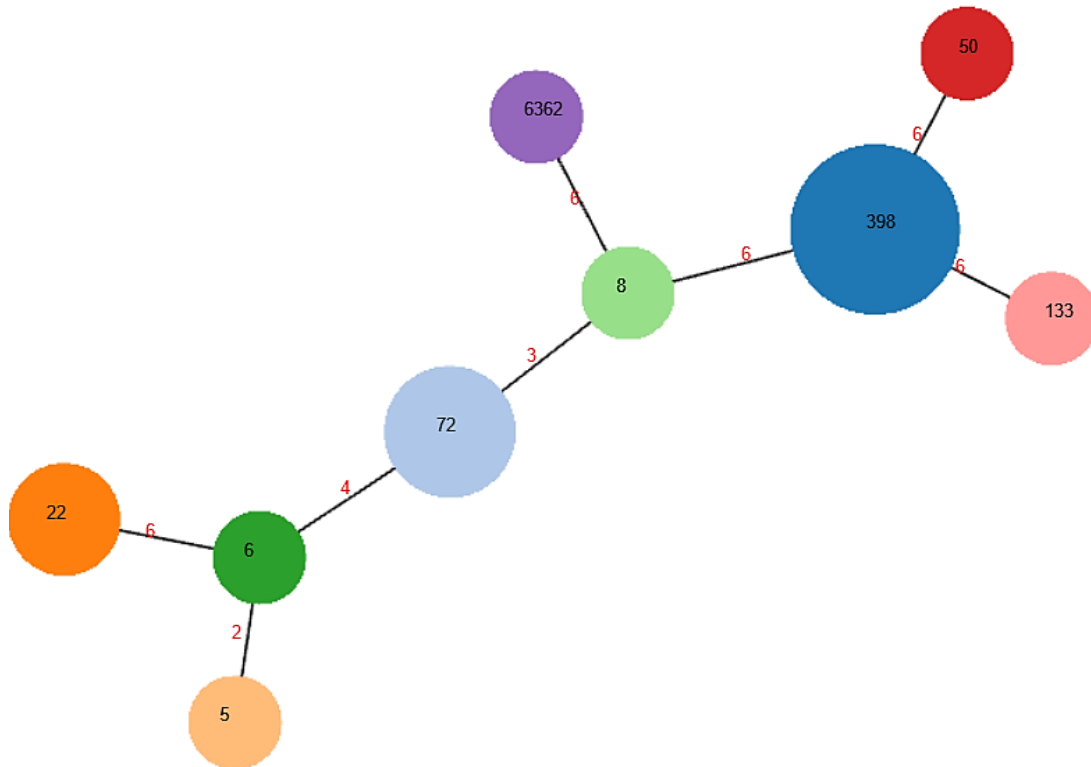
Mapa de calor de genes de resistencia antimicrobiana en aislados de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, organizado según la filogenia derivada del análisis MLST.



Cada fila corresponde a un aislamiento y cada columna a un gen de resistencia. El árbol filogenético se construyó a partir del análisis MLST, y la historia evolutiva se infirió mediante el método de máxima verosimilitud bajo el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano (Hasegawa et al., 1985). El árbol de consenso se obtuvo a partir de 1000 réplicas *bootstrap* (Felsenstein, 1985), colapsando las ramas con soporte menor al 50%. Los valores numéricos en los nodos representan el soporte *bootstrap* (%). Se utilizó una distribución gamma discreta para modelar la heterogeneidad de tasas entre sitios (5 categorías; +G, parámetro = 0,1000), considerando además una proporción de sitios invariantes (+I = 48,71%). El análisis incluyó 16 secuencias con un total de 3186 posiciones y fue realizado en el software MEGA11 (Tamura et al., 2021). Los números a la izquierda representan el tipo de secuencia. El color azul oscuro indica presencia (1) y gris claro ausencia (0). La escala del árbol filogenético representa la distancia genética entre los aislamientos.

Figura 7

Red de relaciones clonales entre tipos de secuencia inferida mediante análisis MLST.



Cada nodo representa un tipo de secuencia y su tamaño es proporcional al número de aislamientos pertenecientes a dicho ST. Las líneas conectan ST relacionados, y los números sobre las conexiones indican el número de diferencias alélicas entre ellos. La red de relaciones clonales se construyó mediante el algoritmo *goeBURST* implementado en el software PHYLOViZ (Francisco et al., 2012).

V. DISCUSIÓN

Genes de resistencia

Sistemas de eflujo asociados a resistencia multidroga

En los 16 aislados analizados, los genes *mepA*, *mepR* y *lmrS* estuvieron presentes de manera simultánea. Su elevada frecuencia coincide con el carácter ampliamente distribuido de algunos sistemas de eflujo en *Staphylococcus aureus*. Blanco et al. (2016) señalan que varias de estas bombas están codificadas en el cromosoma y forman parte de mecanismos intrínsecos de resistencia, lo que ayuda a explicar su presencia en la mayoría de los aislados estudiados.

Además de su participación en la respuesta frente a antimicrobianos, los sistemas de eflujo se han relacionado con la respuesta de *S. aureus* ante diferentes condiciones de estrés y con procesos como la persistencia y la formación de biopelículas (Blanco et al., 2016; Chetri, 2023; Huang et al., 2022; Sinha et al., 2024). En este estudio, la detección de estos genes permite reconocerlos como parte del resistoma de los aislados, aunque no permite determinar cuánto contribuye cada uno al fenotipo observado, ya que esto depende también de su expresión y regulación.

Por ello, la presencia simultánea de *mepA*, *mepR* y *lmrS* puede considerarse un componente basal del repertorio de resistencia identificado en esta población. Para establecer su participación específica en la resistencia antimicrobiana serían necesarios estudios de expresión y caracterización funcional.

Fluoroquinolonas

Los genes *arlR*, *arlS* y *mgrA* estuvieron presentes en los 16 aislados (100 %), mientras que *norA* se detectó en 13 (81,25 %). Esta distribución muestra que los mecanismos de regulación y eflujo relacionados con *NorA* estuvieron ampliamente representados en la población estudiada. Frecuencias elevadas de *norA*, generalmente superiores al 70 %,

también han sido descritas en aislados de *S. aureus* de origen hospitalario y comunitario (Hamady et al., 2024; Mackieh et al., 2023).

La función de *norA* no depende únicamente de su presencia, sino también de su regulación. Alkuraythi et al. (2023) señalaron que las variaciones en su expresión y su interacción con reguladores como *mgrA* pueden modificar la respuesta de *S. aureus* frente a determinados antimicrobianos. Asimismo, el eflujo mediado por NorA ha sido relacionado con una menor susceptibilidad frente a fluoroquinolonas (Costa et al., 2011; Kwak et al., 2013).

En los aislados analizados, estos resultados muestran que el sistema *NorA* y sus reguladores forman parte importante del resistoma. Sin embargo, la secuenciación no permite establecer el nivel de expresión de estos genes ni atribuirles por sí sola el fenotipo de resistencia observado. Su contribución debe valorarse junto con los demás determinantes genéticos y los resultados de susceptibilidad.

Tetraciclinas

El gen *tet(38)* estuvo presente en los 16 aislados (100 %), mientras que *tet(M)*, *tet(K)* y *tet(L)* se detectaron en 1 (6,25 %), 3 (18,75 %) y 2 (12,50 %) aislados, respectivamente. La diferencia entre estas frecuencias es marcada: *tet(38)* estuvo presente en toda la población, mientras que los otros determinantes se encontraron de manera puntual.

tet(38) está asociado con un sistema de eflujo codificado en el cromosoma de *S. aureus* y relacionado con la respuesta frente a tetraciclinas (Chetri, 2023). En cambio, *tet(M)*, *tet(K)* y *tet(L)* corresponden a mecanismos adquiridos que presentan una distribución más variable entre las poblaciones de *S. aureus*. Algunos de estos genes han sido asociados con elementos genéticos móviles, lo que puede favorecer su adquisición y dispersión (Chetri, 2023; Huang et al., 2022).

La presencia de más de un determinante en algunos aislados muestra que estos mecanismos pueden coexistir dentro de una misma población bacteriana. En este caso, la alta frecuencia de *tet(38)* parece corresponder a un componente ampliamente distribuido del resistoma, mientras que los genes adquiridos estuvieron restringidos a una menor proporción de aislados. Para establecer la relación de estos determinantes con la resistencia fenotípica sería necesario complementar el análisis genómico con pruebas de susceptibilidad y estudios de expresión.

β -lactámicos

Uno de los resultados más relevantes fue la diferencia entre la resistencia fenotípica a cefoxitina y la detección de *mecA*. Los 16 aislados fueron clasificados fenotípicamente

como SARM, pero *mecA* solo estuvo presente en 12 (75 %). Los cuatro aislados restantes (25 %) fueron resistentes a cefoxitina, pero no presentaron este gen.

Este resultado plantea la posibilidad de que en estos cuatro aislados intervengan mecanismos distintos de *mecA*. Entre ellos se encuentra *mecC*, que no fue evaluado en el presente estudio, así como posibles modificaciones en proteínas de unión a penicilina (PBP) u otros mecanismos de regulación. Hess et al. (2023) describieron un caso de *S. aureus* resistente a oxacilina en el que no se detectaron *mecA* ni *mecC*, mientras que, Lade y Kim (2023) señalaron que las alteraciones en PBP nativas y otros factores pueden participar en la resistencia a β -lactámicos en cepas que carecen de los marcadores clásicos. Por tanto, los resultados obtenidos no permiten determinar cuál de estos mecanismos estaría involucrado en los cuatro aislados negativos para *mecA*.

En los 12 aislados portadores de *mecA*, este gen estuvo acompañado por una elevada frecuencia de *blaZ*, presente en 15 de los 16 aislados (93,75 %). La frecuencia de *mecA* fue superior a la reportada por Bustamante et al. (2023) en aislados clínicos de *S. aureus* de Cajamarca, donde se identificó en el 56,3 % de los aislados confirmados como SARM. Las diferencias pueden estar relacionadas con el origen y las características de las poblaciones comparadas.

La elevada frecuencia de *blaZ* muestra, además, que los mecanismos mediados por β -lactamasas estuvieron ampliamente representados. La coexistencia de *blaZ* y *mecA* en la mayoría de los aislados portadores de este último gen evidencia la presencia simultánea de mecanismos dirigidos contra diferentes β -lactámicos. En los cuatro aislados resistentes a cefoxitina y negativos para *mecA*, sería necesario ampliar la caracterización molecular para determinar qué mecanismos podrían explicar el fenotipo observado.

Fosfomicina

El gen *fosB* estuvo presente en 7 de los 16 aislados (43,75 %), mientras que *fosB1* se detectó de manera puntual. La frecuencia de *fosB* resulta relevante dentro del resistoma estudiado, ya que este gen codifica una enzima capaz de modificar e inactivar la fosfomicina mediante un mecanismo dependiente de tioles (Duijkeren et al., 2018).

El papel de *fosB* en la resistencia a fosfomicina también ha sido descrito en estudios experimentales y epidemiológicos. Aiezza et al. (2023) señalaron que la expresión del *fosB* cromosómico puede contribuir a la resistencia a fosfomicina en cepas de SARM. Asimismo, Fu et al. (2016) y Hu et al. (2023) reportaron una presencia frecuente de *fosB* en aislados clínicos de *S. aureus* y describieron su asociación con elementos genéticos móviles en determinadas poblaciones.

En el presente estudio, la presencia de *fosB* en casi la mitad de los aislados indica que este determinante no estuvo restringido a un caso aislado. El hallazgo puntual de *fosB1* añade otro elemento de interés para la vigilancia genómica, aunque no permite establecer su contexto genético ni su relación con el fenotipo. Del mismo modo, la presencia de *fosB* no confirma por sí sola resistencia fenotípica a fosfomicina, por lo que su interpretación debe acompañarse de los resultados de susceptibilidad.

Aminoglucósidos

Se identificaron dos determinantes asociados con resistencia a aminoglucósidos: *ant(4')-Ib*, presente en 4 de los 16 aislados (25 %), y *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, detectado en 3 (18,75 %). En comparación con otros genes de resistencia encontrados en este estudio, ambos presentaron una distribución más restringida.

Estos genes codifican enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME), uno de los mecanismos conocidos de resistencia frente a esta clase de antimicrobianos. Estas enzimas modifican químicamente los antibióticos y reducen su interacción con el ribosoma bacteriano. Brdová et al. (2024) y Zaghen et al. (2023) han descrito una distribución variable de estos determinantes en diferentes poblaciones de *S. aureus*, lo que coincide con la frecuencia observada en los aislados analizados.

Algunos genes que codifican AME pueden encontrarse asociados con elementos genéticos móviles (Brdová et al., 2024; Zaghen et al., 2023). Sin embargo, en este estudio no se evaluó su contexto genético, por lo que no es posible establecer si los determinantes identificados presentan características que favorezcan su transferencia. Su importancia en la resistencia fenotípica deberá determinarse mediante la comparación con las pruebas de susceptibilidad correspondientes.

Macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (MLSB)

Los genes *mphC* y *msrA* estuvieron presentes en 10 de los 16 aislados (62,50 %), mientras que *ermC* se detectó en 8 (50 %). Estas frecuencias muestran que los determinantes relacionados con MLSB estuvieron presentes en una proporción importante de la población, aunque no todos se distribuyeron con la misma frecuencia.

Los mecanismos asociados son diferentes: los genes *erm* participan en la metilación del sitio de acción ribosomal, *msrA* se relaciona con mecanismos de eflujo y *mphC* con la inactivación del antimicrobiano. La coexistencia de estos determinantes ha sido descrita en aislados clínicos y hospitalarios de *S. aureus* (Alkuraythi et al., 2023; Brdová et al., 2024; Silva et al., 2025).

Guillén et al. (2024) reportaron *ermC* y *msrA* en clones ST5 y ST8 de Sudamérica, ambos también identificados en el presente estudio. García et al. (2012) encontraron igualmente estos determinantes entre cepas hospitalarias de *S. aureus* en Perú. En nuestros aislados, *msrA* y *mphC* presentaron la misma frecuencia (62,50 %), mientras que *ermC* estuvo presente en la mitad de los casos. Esta distribución muestra que diferentes mecanismos de resistencia a MLSB pueden coexistir dentro de una misma población.

Además, algunos aislados acumularon determinantes correspondientes a MLSB junto con genes asociados con resistencia a β -lactámicos y otras clases de antimicrobianos. Este patrón contribuye a explicar la presencia de múltiples mecanismos de resistencia en parte de la población estudiada, un fenómeno descrito previamente en determinados linajes de SARM (Hiramatsu et al., 2014).

Fenicólicos

El gen *cfrA* estuvo presente en 3 de los 16 aislados (18,75 %), mientras que *fexA* se detectó en 1 (6,25 %). Ambos determinantes estuvieron, por tanto, restringidos a una proporción menor de la población analizada.

cfrA codifica una metiltransferasa que modifica el sitio de acción de determinados antimicrobianos, mientras que *fexA* se relaciona con un mecanismo de eflujo. Schouls et al. (2022) identificaron genes *cfr* en aislados de SARM del clon CC398 de origen humano y ganadero, algunos asociados con elementos plasmídicos. En esos aislados también se observó la presencia de *fexA*, aunque con menor frecuencia. En nuestro estudio, *cfrA* fue identificado en tres aislados y *fexA* únicamente en uno.

La presencia de *cfrA* resulta de interés debido a que este determinante puede asociarse con resistencia frente a diferentes grupos de antimicrobianos y ha sido descrito en elementos genéticos móviles. Kim et al. (2024) también reportaron la coexistencia de *cfr* y *fexA* en aislados de *S. aureus*. Sin embargo, en el presente estudio no se determinó la ubicación de estos genes dentro del genoma ni su asociación con plásmidos o transposones, por lo que no es posible establecer su potencial de transferencia.

El hallazgo de *cfrA* en tres aislados y de *fexA* en uno aporta información sobre la diversidad del resistoma presente en la población estudiada. Su importancia fenotípica, al igual que la de otros determinantes identificados mediante secuenciación, requiere ser contrastada con las pruebas de susceptibilidad.

Trimetoprim y sulfonamidas

Los genes relacionados con resistencia a trimetoprim presentaron una frecuencia baja. *dfrC* y *dfrG* fueron identificados cada uno en 1 de los 16 aislados (6,25 %). Ambos determinantes estuvieron, por tanto, representados de manera puntual en la población estudiada.

Los genes *dfrC* y *dfrG* codifican variantes de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR) con menor afinidad por el trimetoprim, permitiendo mantener la síntesis de ácido fólico en presencia del antimicrobiano (Brdová et al., 2024). Silva et al. (2025), a partir del análisis *in silico* de 44 069 genomas de *S. aureus*, encontraron que la distribución de los genes *dfr* varía según el origen y el linaje bacteriano. Frente a estos antecedentes, la frecuencia de *dfrC* y *dfrG* observada en nuestro estudio fue baja.

Algunos genes *dfr* también pueden encontrarse asociados con elementos genéticos móviles, como plásmidos y transposones (Brdová et al., 2024; Duijkeren et al., 2018). En este trabajo no se evaluó el contexto genético de *dfrC* y *dfrG*, por lo que no es posible determinar si los genes identificados presentan este tipo de asociación. Su detección, aunque puntual, forma parte del repertorio de resistencia encontrado y debe interpretarse junto con los resultados fenotípicos.

Glicopéptidos

El gen *spd* fue identificado en 1 de los 16 aislados (6,25 %), por lo que tuvo una presencia puntual en la población estudiada. A diferencia de *vanA* y *vanB*, *spd* no corresponde a los determinantes clásicos de resistencia adquirida a glicopéptidos.

Su presencia se ha relacionado con procesos involucrados en la respuesta de *S. aureus* frente a la presión ejercida por estos antimicrobianos. Brdová et al. (2024) y Duijkeren et al. (2018) describen la participación de cambios en la pared celular y de mecanismos regulatorios en la disminución de la susceptibilidad frente a vancomicina. En los fenotipos VISA, por ejemplo, se han observado modificaciones de la pared celular que pueden afectar la acción del antibiótico. Por esta razón, la detección de *spd* en uno de los aislados no permite atribuirle por sí sola un fenotipo VISA.

Silva et al. (2025), mediante el análisis *in silico* de 44 069 genomas de *S. aureus*, también reportaron una frecuencia baja de *spd* y de otros genes relacionados con la respuesta a glicopéptidos. Otros estudios realizados en aislados hospitalarios han mostrado frecuencias variables de estos determinantes (Hofstetter et al., 2024; Kim et al., 2024). En nuestra población, *spd* estuvo presente en el 6,25 % de los aislados.

El hallazgo resulta útil como parte de la caracterización del resistoma, pero para establecer si existe alguna relación con una menor susceptibilidad a vancomicina u otros glicopéptidos serían necesarias pruebas fenotípicas específicas y una caracterización molecular más amplia.

Genes de virulencia

Formación de biopelícula (operón *ica*)

En los 16 aislados analizados, los genes *icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD* e *icaR* estuvieron presentes en el 100 % de los casos. La presencia completa del operón *ica* en todos los aislados muestra que los principales determinantes genéticos relacionados con la síntesis del polisacárido de adhesión intercelular estuvieron ampliamente conservados en la población estudiada.

Esta frecuencia se encuentra por encima de la descrita en varias poblaciones de *S. aureus*. Un metaanálisis reciente reportó que la presencia del operón *ica* puede variar aproximadamente entre 40 % y poco más de 80 %, dependiendo del origen de los aislados y de la metodología empleada (Bamneshin et al., 2024). Banerjee et al. (2022), por su parte, identificaron estos genes en el 85,7 % de aislados procedentes de heridas crónicas. Asimismo, Silva-de-Jesus et al. (2025) incluyeron al operón *ica* entre los determinantes de virulencia conservados en genomas de *S. aureus*.

La presencia de estos genes resulta relevante porque la formación de biopelícula favorece la adhesión y permanencia de la bacteria sobre distintas superficies. Alibegli et al. (2025) encontraron una asociación entre la presencia del operón *ica* completo y una mayor capacidad de formación de biopelícula. En el contexto hospitalario, esta característica puede tener importancia para la persistencia de *S. aureus*, aunque la sola identificación de los genes no permite afirmar que los aislados hayan producido biopelícula.

La expresión del operón y la producción de PIA dependen, entre otros factores, de las condiciones ambientales y de mecanismos de regulación en los que participan *sigB*, *agr* y *sarA* (Aboelnaga et al., 2024). Por ello, los resultados obtenidos evidencian un alto potencial genético para la formación de biopelícula, pero no permiten determinar su expresión o capacidad funcional en los aislados analizados.

Toxinas hemolíticas

Los genes *hld*, *hly*, *hlgA*, *hlgB* y *hlgC* estuvieron presentes en los 16 aislados (100 %), mientras que *hla* se identificó en 15 (93,75 %). Se trata, por tanto, de un grupo de determinantes ampliamente distribuido en la población estudiada.

Las frecuencias encontradas son similares a las descritas por Sezzi et al. (2024), quienes reportaron *hld* en 89,09 % y *hlg* en 87,27 % de sus aislados, mientras que *hla* estuvo presente en 81,82 %. Lin et al. (2025) también observaron una relación entre la presencia de estos genes y la actividad hemolítica *in vitro*. En contraste, Hurtado Cantos et al. (2021) encontraron *hly* en solo el 25 % de aislados procedentes de un reservorio no clínico, lo que muestra que la distribución de estos determinantes puede variar según la población estudiada.

Las hemolisinas participan en la alteración de membranas celulares y pueden contribuir al daño tisular y a la disponibilidad de nutrientes durante la infección (Tam y Torres, 2019). En este estudio, su elevada frecuencia indica que los aislados portaban un repertorio amplio de determinantes hemolíticos. Sin embargo, estos resultados corresponden a la presencia de los genes y no permiten establecer si las toxinas fueron expresadas ni cuál fue su actividad hemolítica.

Sortasa y captación de hierro

Los genes *srtB*, *isdA*, *isdB*, *isdC*, *isdD*, *isdE*, *isdF* e *isdG* estuvieron presentes en los 16 aislados (100 %). La conservación de este conjunto de genes fue, por tanto, completa en la población analizada.

El resultado coincide con estudios realizados en diferentes poblaciones de *S. aureus*. Guillén et al. (2024) identificaron *srtB* en el 100 % de sus cepas y también encontraron *isdA* e *isdB* de manera universal. Alkuraythi et al. (2023) reportaron frecuencias superiores al 90 % para *isdA–isdE*, mientras que Åvall et al. (2021) encontraron *isdA–isdG* y *srtB* en el 100 % de los aislados estudiados. En un entorno hospitalario, Liu et al. (2023) detectaron *isdA–isdG* en más del 95 % de los aislados. Silva et al. (2025) también identificaron *isdA*, *isdB* e *isdC* entre los determinantes de virulencia más conservados en genomas de *S. aureus*.

La elevada conservación de estos genes está relacionada con funciones básicas para la interacción de la bacteria con el hospedero. El sistema Isd participa en la captación de hierro a partir del hemo, mientras que SrtB interviene en el anclaje de proteínas de superficie a la pared celular. En los aislados analizados, la presencia de todos estos determinantes muestra que este repertorio se mantuvo conservado; sin embargo, la secuenciación no permite determinar por sí sola el nivel de expresión ni la actividad funcional del sistema.

Proteasas y otras enzimas extracelulares

Los genes *sspA*, *sspB*, *sspC*, *aur*, *hysA*, *geh* y *lip* estuvieron presentes en los 16 aislados (100 %). Esto muestra una conservación amplia de los determinantes relacionados con la producción de proteasas y otras enzimas extracelulares.

El sistema *ssp* y la aureolisina participan en la degradación de proteínas del hospedador y pueden intervenir en la modulación de componentes de la respuesta inmune (Shaw et al., 2004). Zdzalik et al. (2012) reportaron frecuencias superiores al 95 % para estos determinantes en aislados clínicos, mientras que Guillén et al. (2024) identificaron *sspA* y *sspB* en el 100 % de sus cepas invasivas.

También *hysA*, *geh* y *lip* estuvieron presentes en todos los aislados. *hysA* participa en la modificación de componentes de la matriz extracelular, mientras que *geh* y *lip* codifican lipasas relacionadas con el metabolismo de lípidos. Haddad et al. (2018) encontraron una frecuencia menor de *geh* en aislados clínicos de SARM de hospitales de Túnez, diferencia que puede estar relacionada con la composición genética de las poblaciones comparadas. Por su parte, Subramanian et al. (2023) señalaron la participación de las lipasas de *S. aureus* en procesos relacionados con el ambiente cutáneo.

La presencia de estos genes en todos los aislados indica que los determinantes analizados estuvieron ampliamente conservados en la población estudiada. Su identificación permite reconocer el potencial genético para estas funciones, pero no demuestra por sí sola la producción o actividad de las enzimas.

Evasión inmune

En los 16 aislados analizados, *sbi* fue identificado en los 16 aislados (100 %), *spa* en 15 aislados (93,75 %), mientras que *chp* y *sak* estuvieron presentes en 10 aislados (62,5 %) y *scn* en 11 aislados (68,75 %). En conjunto, estos resultados muestran una distribución variable de los determinantes genéticos relacionados con la evasión de la respuesta inmune.

chp, *scn* y *sak* forman parte del *Immune Evasion Cluster* (IEC), generalmente asociado con fagos β , mientras que *sbi* y *spa* corresponden a otros determinantes implicados en la interacción de *S. aureus* con la respuesta inmune. Estos genes pueden interferir con mecanismos como la quimiotaxis de neutrófilos, la activación del complemento y la opsonización (Alkuraythi et al., 2023; Chaguza et al., 2022; Silva et al., 2025).

Las frecuencias observadas fueron cercanas a las descritas en algunos estudios, aunque *chp*, *scn* y *sak* presentaron valores menores que los reportados en

determinadas poblaciones clínicas. Afzal et al. (2022) encontraron *adsA*, *chp*, *scn*, *sbi* y *spa* en el 100 % o ≥ 96 % de sus aislados, mientras que Zhang et al. (2025) reportaron *sak* y *scn* en más del 90 %. En nuestro estudio, *sbi* y *spa* fueron los determinantes más frecuentes, mientras que los genes del IEC presentaron una distribución menor y más variable.

Estos resultados muestran que los aislados analizados portaban un conjunto amplio de genes relacionados con evasión inmune. Su presencia permite caracterizar el repertorio genético de los aislados, aunque no determina por sí sola el nivel de actividad de estos mecanismos durante la colonización o infección.

Sistema de secreción tipo VII (T7SS)

Los genes *esaA*, *esaB*, *essa*, *essB* y *esxA* estuvieron presentes en los 16 aislados (100 %), mientras que *esaC*, *essC* y *esxB* se identificaron en 9 aislados (56,25 %). Se observa así una diferencia clara entre los componentes más conservados del sistema de secreción tipo VII (T7SS) y aquellos que presentaron una distribución más variable.

Warne et al. (2016) señalaron que *esxA*, *esaA*, *esaB*, *essa* y *essB* se encuentran ampliamente conservados en *S. aureus*, mientras que *essC* presenta mayor variabilidad. En ese estudio, la variante *essC1* fue identificada en aproximadamente el 58,8 % de los aislamientos, una frecuencia cercana al 56,25 % encontrada aquí. Bowman y Palmer (2021) también describieron al T7SS como un sistema ampliamente conservado en *S. aureus*, relacionado con la secreción de proteínas efectoras y la interacción con el hospedero.

En los aislados analizados, *esxA* estuvo presente en todos los casos, mientras que *esxB* se encontró en poco más de la mitad. Una diferencia similar se observó entre los genes *esa* y *ess*, ya que *esaC* y *essC* tuvieron frecuencias menores que los demás componentes analizados. Estas variaciones son compatibles con la diversidad descrita para algunos elementos del T7SS Tam y Torres (2019).

En consecuencia, los resultados muestran una conservación elevada de los principales componentes del T7SS y una distribución más variable de *esaC*, *essC* y *esxB*. La presencia de estos genes indica que los determinantes del sistema forman parte del repertorio de los aislados estudiados, pero no permite establecer su actividad funcional.

Adhesinas

Los genes *clfA*, *clfB*, *fnbA* y *map* estuvieron presentes en los 16 aislados (100 %). Esta frecuencia muestra una conservación completa de varios determinantes relacionados con la adhesión de *S. aureus* en la población estudiada.

La presencia de *clfA* y *clfB* en todos los aislados coincide con la amplia distribución descrita para estos determinantes en *S. aureus* y con su participación en la adhesión a diferentes componentes de los tejidos del hospedador Foster (2019). De manera similar, la presencia universal de *fnbA* en nuestros aislados contrasta con la frecuencia de 24 % reportada por Alkuraythi et al. (2023), en una población que incluyó muestras clínicas y alimentarias. Estos autores también encontraron frecuencias menores para *map* (34 %) y *clfA* (20 %), mientras que *ebp*, *sdrE*, *sdrC* y *sdrD* presentaron valores superiores al 80 %.

Haddad et al. (2018) también reportaron una asociación entre *fnbA* y *fnbB* y una mayor capacidad de formación de biopelícula en cepas clínicas de SARM. En el presente estudio, la presencia de *clfA*, *clfB*, *fnbA* y *map* en el 100 % de los aislados muestra que estos determinantes estuvieron ampliamente representados, aunque esto no permite establecer diferencias en la capacidad de adhesión entre las cepas.

Las diferencias respecto a Alkuraythi et al. (2023) pueden estar relacionadas con el origen y la composición clonal de las poblaciones comparadas. En nuestro caso, los aislados procedieron de personal de salud asintomático, mientras que dicho estudio incluyó muestras de origen clínico y alimentario. Por ello, las frecuencias obtenidas deben interpretarse considerando las características particulares de cada población.

Síntesis de cápsula

Los genes asociados con el operón *cap8* mostraron una amplia conservación en los 16 aislados, aunque algunas regiones del locus presentaron una distribución variable. Esto indica que los principales determinantes relacionados con la síntesis de cápsula estuvieron representados en la población estudiada, con diferencias en determinados segmentos del operón.

Alkuraythi et al. (2023) también reportaron la presencia del operón *cap* en la totalidad de los aislamientos analizados, tanto clínicos como alimentarios. La elevada conservación observada en ambos estudios sugiere que estos determinantes están ampliamente distribuidos en *S. aureus*.

La variabilidad encontrada en algunas regiones de *cap8* también ha sido descrita previamente. Li et al. (2009) identificaron deleciones parciales en determinadas regiones del locus capsular, mostrando que su estructura puede variar entre cepas. Por ello, las diferencias observadas en nuestros aislados no implican necesariamente la pérdida completa de los determinantes relacionados con la síntesis capsular.

Zhang et al. (2025) igualmente describieron una amplia conservación del operón capsular en cepas clínicas de *S. aureus*. En nuestro estudio, los resultados genómicos

muestran una conservación elevada del locus *cap8*, aunque la secuenciación por sí sola no permite establecer si existe producción de cápsula ni determinar sus características fenotípicas.

Leucocidinas

El gen *lukF-PV* estuvo presente en 12 de los 16 aislados (75 %), mientras que *lukS-PV* se identificó en 9 (56,25 %). Además, se encontraron otros genes relacionados con leucocidinas, con frecuencias variables entre los aislados.

La distribución PVL descrita en este estudio difiere de la encontrada en otras poblaciones. Alkuraythi et al. (2023) reportaron PVL en el 18 % de aislamientos clínicos y de carne minorista, mientras que Åvall et al. (2021) no detectaron PVL en aislados asociados a mastitis y encontraron de manera universal *lukE* y *lukD*. Liu et al. (2023) también observaron diferencias entre linajes, con mayor frecuencia de PVL en ST22, ST25, ST59 y ST398. Guillén et al. (2024), por su parte, identificaron estos determinantes en determinados clones de SARM asociados con infecciones invasivas.

En nuestros aislados, *lukF-PV* presentó una frecuencia mayor que *lukS-PV*. Debido a que ambos genes codifican los componentes F y S de la leucocidina de Pantón-Valentine y suelen encontrarse asociados, esta diferencia puede estar relacionada con variaciones en las regiones genómicas donde se localizan o con aspectos del ensamblaje y la detección bioinformática. Por ello, la identificación de uno de los componentes no basta para demostrar la presencia de una PVL funcional.

Vandenesch et al. (2003) señalaron la asociación de PVL con determinados linajes de *S. aureus*, especialmente en aislamientos relacionados con infecciones cutáneas y neumonía. En el presente estudio, los resultados muestran la presencia de estos determinantes en una proporción importante de los aislados, pero no permiten establecer su expresión ni la producción efectiva de la toxina.

Toxina del síndrome de shock tóxico

El gen *tsst-1* fue identificado en 4 de los 16 aislados (25 %). Aunque estuvo presente en una proporción menor que otros determinantes de virulencia, su detección resulta relevante debido a que codifica una exotoxina con actividad de superantígeno asociada con el síndrome de shock tóxico por *S. aureus*.

La frecuencia encontrada fue superior a la descrita en algunos estudios. Åvall et al. (2021) reportaron *tsst-1* en el 14,3 % de aislados del clon CC151 asociados con mastitis bovina, mientras que Alkuraythi et al. (2023) encontraron una frecuencia de 10,2 % en aislamientos de origen clínico humano y de carne. Liu et al. (2023) también describieron

una distribución limitada del gen entre sus genomas analizados, mientras que Guillén et al. (2024) lo identificaron en determinados clones invasivos.

Las diferencias entre estos estudios deben interpretarse considerando tanto el origen de los aislados como el tamaño y la composición de las poblaciones comparadas. En nuestro caso, se analizaron únicamente 16 aislados, por lo que la presencia de uno o dos casos puede modificar de manera importante la proporción calculada.

Desde el punto de vista funcional, *tsst-1* codifica una toxina capaz de inducir una activación intensa de linfocitos T y una liberación amplia de citocinas. Sin embargo, el 25 % obtenido en este estudio corresponde a la presencia del gen y no a la proporción de aislados que necesariamente producen TSST-1. Para establecer esto último serían necesarias evaluaciones funcionales.

Coagulasas

El gen *coa* estuvo presente en 13 de los 16 aislados (81,25 %), mientras que *vWbp* se identificó en 3 (18,75 %). La diferencia entre ambas frecuencias muestra que los determinantes asociados con la coagulación no tuvieron una distribución uniforme en la población estudiada.

La frecuencia de *coa* se encuentra dentro de los valores descritos para diferentes poblaciones de *S. aureus*. Liu et al. (2023) lo identificaron en casi todos los genomas analizados, mientras que Afzal et al. (2022) reportaron su presencia en la totalidad de los aislamientos clínicos. Åvall et al. (2021) también encontraron una elevada frecuencia en aislados de origen animal. En contraste, Guillén et al. (2024) reportaron una frecuencia menor, mostrando que la distribución de este gen puede variar entre poblaciones.

En el caso de *vWbp*, la frecuencia fue mucho menor: solo 3 aislados fueron positivos. Este comportamiento también coincide con la variabilidad descrita en otros estudios, en los que su presencia ha diferido según el origen de los aislados y el linaje bacteriano (Afzal et al., 2022; Åvall et al., 2021; Guillén et al., 2024; Liu et al., 2023).

Tanto *Coa* como *vWbp* participan en procesos relacionados con la coagulación mediante su interacción con componentes del plasma. En los aislados estudiados, la mayor frecuencia de *coa* frente a *vWbp* indica que el primero estuvo mucho más extendido en la población. Como ocurre con otros determinantes identificados mediante secuenciación, la presencia de estos genes no permite establecer por sí sola la expresión de las proteínas ni la actividad coagulasa.

Tipificación molecular (MLST)

Clones zoonóticos y presencia en población humana

El linaje más frecuente en los aislados analizados fue ST398, con 5 de 16 aislados (31,25 %). Este resultado llama la atención porque ST398 fue descrito inicialmente en reservorios animales, especialmente en ganado porcino en Europa (Smith et al., 2009; Voss et al., 2005).

Posteriormente, también fue identificado en población humana, tanto en trabajadores agrícolas como en pacientes hospitalarios sin contacto directo conocido con animales (Price et al., 2012; Uhlemann et al., 2012). Estudios más recientes realizados en Europa y Asia continúan registrando este linaje en diferentes poblaciones humanas (Campaña et al., 2025; Liu et al., 2023; Zeggay et al., 2023).

En nuestro estudio, ST398 fue el tipo de secuencia predominante entre los aislados de personal de salud asintomático. Su presencia podría estar relacionada con la capacidad de este linaje para colonizar población humana, aunque los resultados obtenidos no permiten conocer si los aislados tuvieron un origen zoonótico o si existió un proceso reciente de adaptación al huésped humano.

La frecuencia de ST398 también se diferencia de lo descrito en algunos estudios realizados en hospitales peruanos, donde los aislamientos clínicos han mostrado una mayor representación de los complejos clonales CC5 y CC8 (García et al., 2023; García et al., 2012). Una posible explicación está en la población estudiada: mientras en esos trabajos se analizaron principalmente pacientes con infección, en el presente estudio se trabajó con personal de salud asintomático. Por esta razón, la distribución observada podría reflejar diferencias entre los linajes presentes en portadores y aquellos recuperados de pacientes con enfermedad, aunque esta relación no puede establecerse directamente con los datos disponibles.

Linaje de distribución internacional

Entre los aislados también se encontraron ST22, ST5 y ST8. ST22 estuvo presente en 2 aislados (12,5 %), mientras que ST5 y ST8 correspondieron a 1 aislado cada uno (6,25 %). ST22 se encuentra asociado con el linaje EMRSA-15 y ha sido descrito ampliamente en hospitales de Europa y Asia (Holden et al., 2013). ST5, por su parte, se relaciona con el clon USA100, históricamente vinculado con infecciones nosocomiales en Estados Unidos (Klein et al., 2013). ST8 incluye al clon USA300, inicialmente reconocido por su circulación comunitaria y posteriormente identificado también en hospitales (Hofstetter et al., 2024).

La presencia de estos tipos de secuencia indica que en la población estudiada estuvieron representados linajes que han circulado en diferentes regiones y contextos epidemiológicos. En el caso de USA300, incluso se ha descrito el reemplazo de algunos clones hospitalarios tradicionales, como USA100, en determinados contextos (Pardos de La Gándara et al., 2016). En nuestro estudio, la identificación de ST5, ST8 y ST22 permite reconocer su presencia entre los aislados de personal de salud, pero no demuestra por sí sola una coexistencia estable de linajes hospitalarios y comunitarios dentro del hospital.

En América Latina también se ha descrito la circulación de ST5 y ST8 (Aires et al., 2001; Rodríguez y Seas, 2010). Para el Perú, los estudios realizados en aislamientos clínicos han señalado una importante presencia de CC5, particularmente del clon Chilean-Cordobes portador de SCCmec I, mientras que CC8 ha sido identificado con menor frecuencia (García et al., 2023; García et al., 2012). La identificación de ST5 y ST8 en los aislados estudiados coincide con estos antecedentes y muestra que ambos linajes también estuvieron presentes en personal de salud.

En contraste con estos linajes, ST398 fue el tipo de secuencia más frecuente en nuestra población, con 31,25 %. Esta diferencia frente a estudios basados en aislamientos clínicos puede estar relacionada con las características de la población analizada. Al tratarse de portadores asintomáticos y no de pacientes con infección invasiva, la composición clonal encontrada puede ser diferente.

Linaje asociado a circulación comunitaria

ST72 estuvo presente en 3 de los 16 aislados (18,75 %) y fue el segundo tipo de secuencia más frecuente. Este linaje ha sido descrito principalmente en contextos de SARM adquirido en la comunidad y, en determinados escenarios, ha mostrado una circulación importante frente a otros linajes hospitalarios. En Corea, Choi et al. (2021) describieron el predominio de ST72 y su reemplazo de algunos linajes hospitalarios previamente establecidos. Estos antecedentes permiten ubicar a ST72 dentro de los linajes que han tenido una participación importante en la circulación comunitaria, aunque su presencia en nuestros aislados no permite determinar su origen.

En el Perú, los reportes de SARM adquirido en la comunidad han sido menos frecuentes y se han relacionado principalmente con ST30 y variantes de ST8, tanto en estudios de colonización como en infecciones en población local y en individuos retornados del extranjero (Neyra et al., 2015). En este contexto, encontrar ST72 en personal de salud asintomático amplía la diversidad clonal observada en la población estudiada. También muestra la utilidad de considerar a los portadores asintomáticos dentro de la vigilancia

genómica, ya que algunos linajes pueden estar representados de manera diferente a lo observado en estudios centrados exclusivamente en pacientes con infección.

Linajes minoritarios

ST6, ST50 y ST133 estuvieron representados por un aislado cada uno (6,25 %). Aunque su frecuencia fue baja, su identificación contribuyó a la diversidad clonal observada en el grupo estudiado. Diferentes trabajos han descrito la presencia de estos y otros linajes minoritarios, algunos de ellos con genes relacionados con resistencia y virulencia y asociados con infecciones en determinados contextos (Dai et al., 2024; Kim et al., 2024; Liu et al., 2023; Salgueiro et al., 2020).

ST50 y ST133, en particular, han sido reportados en reservorios humanos y animales (Liu et al., 2023; Silva et al., 2022). En nuestro estudio, ambos estuvieron presentes en personal de salud asintomático, al igual que ST6. Debido a que cada tipo de secuencia estuvo representado por un solo aislado, no es posible determinar si estos linajes presentan características epidemiológicas diferentes de los más frecuentes.

Aunque fueron poco frecuentes, estos tipos de secuencia aportan información sobre la composición de la población estudiada. Su identificación también pone de manifiesto que concentrar la vigilancia únicamente en los linajes predominantes podría dejar fuera parte de la diversidad presente entre los portadores.

ST 6362: un linaje con pocos registros

ST6362 fue identificado en 1 de los 16 aislados (6,25 %). De acuerdo con la consulta realizada en la base de datos BV-BRC (MLST database) en octubre de 2025, este tipo de secuencia presentó pocos registros en comparación con otros linajes. Entre los aislamientos peruanos registrados entre 2006 y 2013 predominaba ST5.

La identificación de ST6362 resulta de interés porque no estuvo representado entre los registros históricos peruanos consultados. Aun así, este hallazgo no permite determinar si se trata de un linaje introducido recientemente, si ya circulaba y no había sido detectado o si su baja representación se debe a la cantidad limitada de registros disponibles. Su detección en un aislado de personal de salud asintomático constituye un registro adicional de la diversidad clonal de SARM en Ayacucho y refuerza la utilidad de incorporar poblaciones de portadores en los estudios de vigilancia genómica.

Integración epidemiológica

En los 16 aislados se identificaron nueve tipos de secuencia: ST398, ST72, ST22, ST8, ST5, ST6, ST50, ST133 y ST6362. ST398 fue el más frecuente, con 5 aislados (31,25 %), seguido de ST72 con 3 (18,75 %) y ST22 con 2 (12,5 %). Los otros seis tipos de

secuencia estuvieron representados por un aislado cada uno (6,25 %). Por tanto, los aislados obtenidos del personal de salud no estuvieron concentrados en un único linaje, sino distribuidos entre diferentes tipos de secuencia.

Esta composición difiere de la descrita en algunos estudios realizados en hospitales peruanos, donde se ha encontrado una mayor representación de linajes pertenecientes a CC5 y CC8 en aislamientos clínicos (García et al., 2012, 2023). La diferencia puede relacionarse con el tipo de población analizada. En este trabajo se estudiaron aislados de personal de salud asintomático, mientras que los estudios comparados se basaron principalmente en pacientes con infección. Por ello, la distribución de linajes observada en portadores no necesariamente coincide con la encontrada en aislamientos asociados a enfermedad.

La presencia de ST398, ST72, ST22, ST5 y ST8 muestra, además, que entre los aislados estudiados estuvieron representados linajes descritos en distintos contextos epidemiológicos y regiones geográficas. A estos se sumaron ST6, ST50, ST133 y ST6362, cada uno con una frecuencia de 6,25 %. Esta variedad indica que la población estudiada presentó una composición clonal heterogénea, incluso tratándose de un grupo reducido de aislados.

El análisis filogenético mostró también una distribución variable de los genes de resistencia y virulencia entre los tipos de secuencia, sin un agrupamiento claro de estos determinantes según el linaje. Algunos genes estuvieron presentes en aislados pertenecientes a diferentes ST, lo que evidencia que su distribución no siguió un patrón estrictamente ligado a la tipificación molecular. Con los resultados obtenidos no es posible determinar el mecanismo responsable de esta distribución ni atribuirla directamente a transferencia horizontal de genes.

Los resultados muestran, en términos generales, una población de SARM genéticamente diversa entre los aislados de personal de salud estudiados. ST398 fue el linaje más frecuente, pero también se encontraron otros tipos de secuencia en proporciones menores. La comparación con estudios realizados en pacientes con infección sugiere que la composición clonal puede variar según la población analizada. Por ello, incluir portadores asintomáticos en la vigilancia genómica puede aportar información complementaria sobre los linajes de SARM presentes en el ámbito hospitalario.

.

VI. CONCLUSIONES

1. La caracterización genómica de los 16 aislados de SARM obtenidos del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno permitió identificar una población diversa, tanto por los tipos de secuencia encontrados como por los determinantes genéticos de resistencia y virulencia presentes en los aislados.
2. Los aislados presentaron un amplio repertorio de genes asociados con resistencia antimicrobiana. Entre los más frecuentes se encontraron *mepA*, *mepR*, *lmrS*, *arlR*, *arlS*, *mgrA* y *tet(38)*, presentes en los 16 aislados, además de *blaZ* en 15 y *mecA* en 12. También se identificaron determinantes relacionados con resistencia a trimetoprim y sulfonamidas, macrólidos, lincosamidas, estreptograminas B, fosfomicina, aminoglucósidos y fenicoles.
3. En los 16 aislados se identificaron genes relacionados con diferentes mecanismos de virulencia, entre ellos los asociados con formación de biopelícula, hemólisis, captación de hierro, adhesión, evasión inmune, secreción y síntesis de cápsula. La mayoría de estos determinantes presentó una distribución amplia entre los aislados, mientras que otros, como *lukF-PV*, *lukS-PV* y *tst*, estuvieron presentes en una proporción menor.
4. La tipificación mediante MLST mostró nueve tipos de secuencia entre los 16 aislados. ST398 fue el más frecuente, con 5 aislados (31,25 %), seguido de ST72 con 3 (18,75 %) y ST22 con 2 (12,5 %). ST5, ST8, ST6, ST50, ST133 y ST6362 estuvieron representados por un aislado cada uno (6,25 %), mostrando una composición clonal diversa en la población estudiada.

VII. RECOMENDACIONES

1. En futuros estudios, trabajar con un mayor número de aislados e incluir muestras de personal de salud, pacientes y ambiente hospitalario para comparar la circulación de SARM.
2. Realizar investigaciones en otros hospitales y regiones del Perú para conocer si los linajes y perfiles de resistencia y virulencia encontrados también están presentes en otras poblaciones.
3. Cuando sea posible, complementar la secuenciación de lecturas largas con lecturas cortas para obtener una mejor caracterización del genoma, los plásmidos y otros elementos asociados con resistencia antimicrobiana.
4. Considerando la diversidad de tipos de secuencia encontrada, sería pertinente continuar con la vigilancia genómica de SARM en el ámbito hospitalario, incluyendo el seguimiento de aislados procedentes de portadores asintomáticos.
5. Complementar los estudios genómicos con análisis funcionales que permitan determinar si los genes de resistencia y virulencia identificados se expresan y presentan actividad.
6. Fortalecer la vigilancia epidemiológica bajo el enfoque One Health, incorporando muestras humanas, animales y ambientales para comprender la posible circulación de linajes con potencial zoonótico, como ST398 y ST133.

VIII. REFERENCIAS

- Aanensen, D. M., Feil, E. J., Holden, M. T. G., Dordel, J., Yeats, C. A., Fedosejev, A., Goater, R., Castillo-Ramírez, S., Corander, J., Colijn, C., Chlebowicz, M. A., Schouls, L., Heck, M., Pluister, G., Ruimy, R., Kahlmeter, G., Åhman, J., Matuschek, E., Friedrich, A. W., ... Kearns, A. (2016). Whole-Genome Sequencing for Routine Pathogen Surveillance in Public Health: a Population Snapshot of Invasive *Staphylococcus aureus* in Europe. *MBio*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/mbio.00444-16>
- Aboelnaga, N., Elsayed, S. W., Abdelsalam, N. A., Salem, S., Saif, N. A., Elsayed, M., Ayman, S., Nasr, M., & Elhadidy, M. (2024). Deciphering the dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation: from molecular signaling to nanotherapeutic advances. *Cell Communication and Signaling*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/S12964-024-01511-2>
- Afzal, M., Vijay, A. K., Stapleton, F., & Willcox, M. D. P. (2022). Genomics of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Infectious and Non-Infectious Ocular Conditions. *Antibiotics*, 11(8), 1011. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081011>
- Aiezza, N., Antonelli, A., Coppi, M., Di Pilato, V., Giani, T., & Rossolini, G. M. (2023). Up-regulation of resident chromosomal *fosB* gene expression: a novel mechanism of acquired fosfomycin resistance in MRSA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 78(7), 1599–1605. <https://doi.org/10.1093/jac/dkad126>
- Aires de Sousa, M., Miragaia, M., Santos, S. I., Ávila, S., Adamson, I., Casagrande, S. T., Brandileone, M. C. C., Palacio, R., Dell'Acqua, L., Hortal, M., Camou, T., Rossi, A., Velazquez, M. M. E., Echaniz, A. G., Solorzano, S. F., Heitmann, I., & de Lencastre, H. (2001). Three-Year Assessment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones in Latin America from 1996 to 1998. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(6), 2197–2205. <https://doi.org/10.1128/jcm.39.6.2197-2205.2001>
- Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K. W., Raphenya, A. R., Wlodarski, M. A., Edalatmand, A., Petkau, A., Syed, S. A., Tsang, K. K., Baker, S. J. C., Dave, M., McCarthy, M. C., Mukiri, K. M., Nasir, J. A., Golbon, B., Imtiaz, H., Jiang, X., Kaur, K., ... McArthur, A. G. (2023). CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D690–D699. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
- Alibegli, M., Bay, A., Fazelnejad, A., Nourmohammadi Ghezelghaye, P., Jafari Soghondikolaei, H. J., & Goli, H. R. (2025). Contribution of *icaADBC* genes in biofilm production ability of *Staphylococcus aureus* clinical isolates collected from hospitalized patients at a burn center in North of Iran. *BMC Microbiology*, 25(1), 302. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04018-z>
- Alkuraythi, D. M., Alkhulaifi, M. M., Binjomah, A. Z., Alarwi, M., Mujallad, M. I., Alharbi, S. A., Alshomrani, M., Gojobori, T., & Alajel, S. M. (2023). Comparative genomic analysis of antibiotic resistance and virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolates from patients and retail meat. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1339339. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1339339>
- Aquino, R., Gonzáles, E., Samaniego, S., Rivera, J., Cedeño, V., Urbina, Y., & Diringer, B. (2017). Caracterización molecular de bacterias patógenas de las vías respiratorias de pacientes peruanos con fibrosis quística. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 34(3), 423–435. <https://doi.org/10.17843/RPMESP.2017.343.2529>

- Arteaga, D. L. C., Espinosa, L. Y., & Chávez, V. M. (2016). Prevalencia de *Staphylococcus aureus* que coloniza el personal de salud de un hospital de la ciudad de Cali. *Revista Ciencias de La Salud*, 14(1), 9–19. <https://doi.org/10.12804/REVSALUD14.01.2016.01>
- Åvall-Jääskeläinen, S., Koort, J., Simojoki, H., & Taponen, S. (2021). Genomic Analysis of *Staphylococcus aureus* Isolates Associated With Peracute Non-gangrenous or Gangrenous Mastitis and Comparison With Other Mastitis-Associated *Staphylococcus aureus* Isolates. *Frontiers in Microbiology*, 12, 688819. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.688819>
- Bamneshin, K., Poudineh, M., Alibabaei, R. H., Amiri, M. R. J., Fateminasab, Z. S., Ghorbani, Z., Maleki, R., & Khaledi, A. (2024). Prevalence of icaADBC genes, and correlation with biofilms and antibiotic resistance in *S. aureus*: a systematic review and meta-analysis. *Germs*, 14(4), 387. <https://doi.org/10.18683/germs.2024.1448>
- Banerjee, B., Gowda, P., & Ananda, K. T. (2022). Biofilm Formation and Antibiotic Resistance of *S. aureus* Strains Isolated from Chronic Traumatic Wounds. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(1), 424–429. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.1.38>
- Becker, K., van Alen, S., Idelevich, E. A., Schleimer, N., Seggewiß, J., Mellmann, A., Kaspar, U., & Peters, G. (2018). Plasmid-Encoded Transferable mecB-Mediated Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 24(2), 242–248. <https://doi.org/10.3201/eid2402.171074>
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2011). Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. *Journal of Pathogens*, 2011(1), 601905. <https://doi.org/10.4061/2011/601905>
- Blanco, P., Hernando, A. S., Reales, C. J. A., Corona, F., Lira, F., Alcalde, R. M., Bernardini, A., Sanchez, M. B., & Martinez, J. L. (2016). Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. *Microorganisms* 2016, Vol. 4, Page 14, 4(1), 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4010014>
- Bowman, L., & Palmer, T. (2021). The Type VII Secretion System of *Staphylococcus*. *Annual Review of Microbiology*, 75, 471–494. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-012721-123600>
- Brdová, D., Ruml, T., & Viktorová, J. (2024). Mechanism of staphylococcal resistance to clinically relevant antibiotics. *Drug Resistance Updates*, 77, 101147. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2024.101147>
- Bustamante, C. A. M., Quiroz, R. H. R., Vega, F. J. A., & Rivera, J. M. A. (2023). Frecuencia del gen mecA en *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente en un hospital de tercer nivel en Perú. *Gaceta Médica Boliviana*, 46(1), 27–32. <https://doi.org/10.47993/gmb.v46i1.616>
- Cabrejos, H. L., Vives, K. C., Inga, S. J., Astocondor, L., Hinostroza, N., & García, C. (2021). Frecuencia de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(2), 313–317. <https://doi.org/10.17843/RPMESP.2021.382.6867>
- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., & Madden, T. L. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 2009 10:1, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>

- Campaña A. (2021). Propuestas de métodos de preservación para *Staphylococcus aureus*. *CNIC*, 52, 164–173. <https://www.redalyc.org/journal/1812/181271524006/html/>
- Campaña, B. A., Latorre, F. J., Eguizábal, P., Bellés, B. A., Mormeneo, B. S., Alonso, C. A., Arregui, Irati., López, C. A. I., Rezusta, Antonio., Seral, Cristina., Castillo, F. J., Vilamala, A., Navarro, M., Aspiroz, C., Cebollada, R., Cercenado, E., Zarazaga, M., Lozano, C., & Torres, C. (2025). Changing epidemiology of MRSA-CC398 in Spanish hospitals located in areas with different pig farming densities: a 2023 multicentre study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 80(6), 1577–1586. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAF104>
- Ccorimanya, D. la C. Y., & Apayco, E. N. (2024). *Prevalencia de portadores nasales de Staphylococcus aureus meticilino resistente en personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2022*. <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/037e20aa-8c3f-488d-b463-cf62c5ae3296/content>
- Chaguza, C., Smith, J. T., Bruce, S. A., Gibson, R., Martin, I. W., & Andam, C. P. (2022). Prophage-encoded immune evasion factors are critical for *Staphylococcus aureus* host infection, switching, and adaptation. *Cell Genomics*, 2(11), 100194. <https://doi.org/10.1016/j.xgen.2022.100194>
- Chen, L., Yang, J., Yu, J., Yao, Z., Sun, L., Shen, Y., & Jin, Q. (2005). VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Research*, 33(suppl_1), D325–D328. <https://doi.org/10.1093/nar/gki008>
- Chetri, S. (2023). The culmination of multidrug-resistant efflux pumps vs. meager antibiotic arsenal era: Urgent need for an improved new generation of EPIs. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1149418. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1149418>
- Choi, S. H., Lee, J., Jung, J., Kim, E. S., Kim, M. J., Chong, Y. P., Kim, S. H., Lee, S. O., Choi, S. H., Woo, J. H., & Kim, Y. S. (2021). A Longitudinal Study of Adult Patients with *Staphylococcus aureus* Bacteremia over 11 Years in Korea. *Journal of Korean Medical Science*, 36(16), e104. <https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e104>
- Cimera, P. D., Pérez, P. F., & Gregoriom, M. H. (2010). Prevalencia de portadores nasales asintomáticos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y su relación con factores de riesgo y protectores en el personal de salud del Hospital General de las Fuerzas Armadas. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 57(4), 196–204. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=25631>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (33rd ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://clsi.org/shop/standards/m100/>
- Córdova, V. R., Cavero, T. P., Huaranga, B. J., & Pachas, C. C. (2011). PORTADORES ASINTOMÁTICOS DE *Staphylococcus aureus* EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL REGIONAL DE ICA, PERÚ 2011. *Revista Médica Panacea*, 1(3). <https://doi.org/10.35563/rmp.v1i3.110>
- Costa, S., Falcão, C., Viveiros, M., MacHado, D., Martins, M., Melo-Cristino, J., Amaral, L., & Couto, I. (2011). Exploring the contribution of efflux on the resistance to fluoroquinolones in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiology*, 11(1), 241. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-241>
- Cueto M., Pascual A., Pahissa A., Soto A., Matos L., Serrano E., & Roig M. A. (2009). *Microbiología y Patogenia de las infecciones producidas por Staphylococcus*

- aureus*. MARGE BOOKS.
https://scholar.google.com/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Cueto%2C+M.%2C+Pascual%2C+A.%2C+Pahissa%2C+A.%2C+Soto%2C+A.%2C+Matos%2C+L.%2C+Serrano%2C+E.%2C+%26+Roig%2C+MA.+%282009%29+++Microbiolog%C3%ADa+y+Patogenia+de+las+infecciones+producidas+por+Staphylococcus+aureus.+++%281ra+ed.%29.+MARGE+BOOKS.&btnG=
- Dai, C., Ji, W., Zhang, Y., Huang, W., Wang, H., & Wang, X. (2024). Molecular characteristics, risk factors, and clinical outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among critically ill pediatric patients in Shanghai, 2016–2021. *Frontiers in Pediatrics*, 12, 1457645. <https://doi.org/10.3389/fped.2024.1457645>
- De Coster, W., D'Hert, S., Schultz, D. T., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2018). NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 34(15), 2666–2669. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
- Dufour, P., Gillet, Y., Bes, M., Lina, G., Vandenesch, F., Floret, D., Etienne, J., & Richet, H. (2002). Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in France: Emergence of a Single Clone That Produces Pantone-Valentine Leukocidin. *Clinical Infectious Diseases*, 35(7), 819–824. <https://doi.org/10.1086/342576>
- Duijkeren, E. van, Schink, A.-K., Roberts, M. C., Wang, Y., & Schwarz, S. (2018). Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiology Spectrum*, 6(4), ARBA-0019-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0019-2017>
- Enright, M. C., Day, N. P. J., Davies, C. E., Peacock, S. J., & Spratt, B. G. (2000). Multilocus Sequence Typing for Characterization of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1008–1015. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.3.1008-1015.2000>
- Feldgarden, M., Brover, V., Gonzalez-Escalona, N., Frye, J. G., Haendiges, J., Haft, D. H., Hoffmann, M., Pettengill, J. B., Prasad, A. B., Tillman, G. E., Tyson, G. H., & Klimke, W. (2021). AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-021-91456-0>
- Felsenstein, J. (1985). CONFIDENCE LIMITS ON PHYLOGENIES: AN APPROACH USING THE BOOTSTRAP. *Evolution*, 39(4), 783–791. <https://doi.org/10.1111/J.1558-5646.1985.TB00420.X>
- Ferreira, F. A., Helmersen, K., Visnovska, T., Jørgensen, S. B., & Aamot, H. V. (2021). Rapid nanopore-based dna sequencing protocol of antibiotic-resistant bacteria for use in surveillance and outbreak investigation. *Microbial Genomics*, 7(4), 000557. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000557>
- Foster, T. J. (2019). Surface Proteins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Spectrum*, 7(4). <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.GPP3-0046-2018>
- Francisco, A. P., Vaz, C., Monteiro, P. T., Melo-Cristino, J., Ramirez, M., & Carriço, J. A. (2012). PHYLOViZ: phylogenetic inference and data visualization for sequence based typing methods. *BMC Bioinformatics* 2012 13:1, 13(1), 87. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-87>
- Frost, L. S., Leplae, R., Summers, A. O., & Toussaint, A. (2005). Mobile genetic elements: The agents of open source evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 722–732. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1235>

- Fu, Z., Liu, Y., Chen, C., Guo, Y., Ma, Y., Yang, Y., Hu, F., Xu, X., & Wang, M. (2016). Characterization of Fosfomycin Resistance Gene, *fosB*, in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *PLOS ONE*, 11(5), e0154829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154829>
- Garalde, D. R., Snell, E. A., Jachimowicz, D., Sipos, B., Lloyd, J. H., Bruce, M., Pantic, N., Admassu, T., James, P., Warland, A., Jordan, M., Ciccone, J., Serra, S., Keenan, J., Martin, S., McNeill, L., Wallace, E. J., Jayasinghe, L., Wright, C., ... Turner, D. J. (2018). Highly parallel direct RNA sequencing on an array of nanopores. *Nature Methods*, 15(3), 201–206. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4577>
- García, C., Hinostroza, N., Gordillo, V., Inchaustegui, M. L., Astocondor, L., Chinchá, O., Alejos, S., Olivera, M., Bojorquez, F. D., Concha, V. F., Vasquez, N., Castaneda, S. A., Sullon, P., Fernandez, V., Villegas, C. M., Lopez, E., Hueda, Z. M., Vidaurre, A., Bocangel, C., ... Krapp, F. (2023). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections in Hospitalized Patients in Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 109(5), 1118–1121. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.23-0054>
- García, C., Rijnders, M. I. A., Bruggeman, C., Samalvides, F., Stobberingh, E. E., & Jacobs, J. (2012). Antimicrobial resistance and molecular typing of *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates from hospitals in Peru. *Journal of Infection*, 65(5), 406–411. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.06.009>
- Grant, J. R., Enns, E., Marinier, E., Mandal, A., Herman, E. K., Chen, C. Y., Graham, M., Van Domselaar, G., & Stothard, P. (2023). Proksee: In-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(W1), W484–W492. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAD326>
- Guillén, R., Salinas, C., Mendoza, Á. A., Rubio Rodríguez, L. A., Díaz, D. U. A., Lorenzo, S. J. M., González, M. R., Flores, C., Rodríguez, F., & Vignoli, R. (2024). Genomic epidemiology of the primary methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones causing invasive infections in Paraguayan children. *Microbiology Spectrum*, 12(4). <https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.03012-23>
- Haddad, O., Merghni, A., Elargoubi, A., Rhim, H., Kadri, Y., & Mastouri, M. (2018). Comparative study of virulence factors among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3457-2>
- Hamady, A. B., Abd, E. F. N. M., Imbaby, S., Nassar, H. M. A., Sakr, M. G., & Marei, Y. E. (2024). Expression of *norA*, *norB* and *norC* efflux pump genes mediating fluoroquinolones resistance in MRSA isolates. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 18(03), 399–406. <https://doi.org/10.3855/jidc.18877>
- Hart, M. E., Hart, M. J., & Roop, A. J. (2009). Genotypic and Phenotypic Assessment of Hyaluronidase among Type Strains of a Select Group of Staphylococcal Species. *International Journal of Microbiology*, 2009, 614371. <https://doi.org/10.1155/2009/614371>
- Hartman, B., & Tomasz, A. (1981). Altered penicillin-binding proteins in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 19(5), 726–735. <https://doi.org/10.1128/AAC.19.5.726>
- Hasegawa, M., Kishino, H., & Yano, T. aki. (1985). Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22(2), 160–174. <https://doi.org/10.1007/BF02101694>
- Hess, K. A., Kooda, K., Shirley, J. D., Schuetz, A. N., Saleh, O. A., & Stevens, R. W. (2023). Failure of *mecA/mecC* PCR Testing to Accurately Predict Oxacillin

- Resistance in a Patient with *Staphylococcus aureus* Infective Endocarditis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 67(10), e00437-23. <https://doi.org/10.1128/aac.00437-23>
- Hiramatsu, K., Katayama, Y., Matsuo, M., Sasaki, T., Morimoto, Y., Sekiguchi, A., & Baba, T. (2014). Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(10), 593–601. <https://doi.org/10.1016/J.JIAC.2014.08.001>
- Hofstetter, K. S., Jacko, N. F., Shumaker, M. J., Talbot, B. M., Petit, R. A., Read, T. D., & David, M. Z. (2024). Strain Differences in Bloodstream and Skin Infection: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in 2018–2021 in a Single Health System. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(6). <https://doi.org/10.1093/ofid/ofae261>
- Holden, M. T. G., Hsu, L. Y., Kurt, K., Weinert, L. A., Mather, A. E., Harris, S. R., Strommenger, B., Layer, F., Witte, W., De Lencastre, H., Skov, R., Westh, H., Žemličková, H., Coombs, G., Kearns, A. M., Hill, R. L. R., Edgeworth, J., Gould, I., Gant, V., ... Nübel, U. (2013). A genomic portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic. *Genome Research*, 23(4), 653–664. <https://doi.org/10.1101/gr.147710.112>
- Howden, B. P., Davies, J. K., Johnson, P. D. R., Stinear, T. P., & Grayson, M. L. (2010). Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 99–139. <https://doi.org/10.1128/CMR.00042-09>
- Hu, J., Chen, L., Li, G., Pan, Y., Lu, Y., Chen, J., Xiong, W., & Zeng, Z. (2023). Prevalence and genetic characteristics of fosB-positive *Staphylococcus aureus* in duck farms in Guangdong, China in 2020. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 78(3), 802–809. <https://doi.org/10.1093/jac/dkad014>
- Huang, L., Wu, C., Gao, H., Xu, C., Dai, M., Huang, L., Hao, H., Wang, X., & Cheng, G. (2022). Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. *Antibiotics*, 11(4), 520. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040520>
- Hurtado Cantos, N., Orellana B, P., & Andrade Tacuri, C. (2021). Detección de genes que codifican hemolisinas en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en pantallas de teléfonos móviles de estudiantes de último año de odontología en Cuenca-Ecuador, 2020-2021. *Revista de La Asociación Dental Mexicana*, 78(6), 332–338. <https://doi.org/10.35366/102974>
- Ip, C. L. C., Loose, M., Tyson, J. R., de Cesare, M., Brown, B. L., Jain, M., Leggett, R. M., Eccles, D. A., Zalunin, V., Urban, J. M., Piazza, P., Bowden, R. J., Paten, B., Mwaigwisya, S., Batty, E. M., Simpson, J. T., Snutch, T. P., Birney, E., Buck, D., ... Olsen, H. E. (2015). MinION Analysis and Reference Consortium: Phase 1 data release and analysis. *F1000Research* 2015 4:1075, 4, 1075. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7201.1>
- Jain, M., Olsen, H. E., Paten, B., & Akeson, M. (2016). The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology* 2016 17:1, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1103-0>
- Jolley, K. A., Bray, J. E., & Maiden, M. C. J. (2018). Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Research*, 3. <https://doi.org/10.12688/WELLCOMEOPENRES.14826.1>

- Kim, E., Yang, S. M., Kwak, H. S., Moon, B. Y., Lim, S. K., & Kim, H. Y. (2024). Genomic characteristics of cfr and fexA carrying *Staphylococcus aureus* isolated from pig carcasses in Korea. *Veterinary Research*, 55(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13567-024-01278-x>
- Kim, G., Lee, S., Lee, Y., Kim, J. H., & Lee, J. (2024). The molecular epidemiology and clinical implication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sequence types in pediatric bacteremia: a retrospective observational study, 2016–2021. *BMC Infectious Diseases*, 24(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08914-5>
- Klein, E. Y., Sun, L., Smith, D. L., & Laxminarayan, R. (2013). The Changing Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: A National Observational Study. *American Journal of Epidemiology*, 177(7), 666–674. <https://doi.org/10.1093/AJE/KWS273>
- Kolmogorov, M., Yuan, J., Lin, Y., & Pevzner, P. A. (2019). Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology* 2019 37:5, 37(5), 540–546. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8>
- Köser, C. U., Ellington, M. J., & Peacock, S. J. (2014). Whole-genome sequencing to control antimicrobial resistance. *Trends in Genetics*, 30(9), 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.003>
- Kwak, Y. G., Truong, B. Q. C., Kim, H. Bin, Song, K. H., Kim, E. S., & Hooper, D. C. (2013). Association of norB overexpression and fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(12), 2766–2772. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt286>
- Lade, H., & Kim, J. S. (2023). Molecular Determinants of β -Lactam Resistance in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): An Updated Review. *Antibiotics*, 12(9), 1362. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091362>
- Lakhundi, S., & Zhang, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4). <https://doi.org/10.1128/CMR.00020-18>
- Latorre, P. A., Vilanova, S. C., & Porcar, M. M. (2022). *Optimizing Nanopore-based microbiome sequencing for characterizing biotechnologically-relevant ecosystems*.
- Li, H. (2018). Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 34(18), 3094–3100. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTY191>
- Li, M., Diep, B. A., Villaruz, A. E., Braughton, K. R., Jiang, X., DeLeo, F. R., Chambers, H. F., Lu, Y., & Otto, M. (2009). Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(14), 5883–5888. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0900743106>
- Lim, D., & Strynadka, N. C. J. (2002). Structural basis for the β -lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Structural Biology*, 9(11), 870–876. <https://doi.org/10.1038/nsb858>
- Lin, S., Xiong, Z., Zhang, C., Liu, S., Ding, T., Yang, K., He, Y., Zhao, Z., & Zhou, Z. (2025). A molecular comparative study of intestinal colonization with *Staphylococcus aureus* between pediatric inpatients and outpatients of different age groups. *Microbiology Spectrum*, 13(7), e02394-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02394-24>
- Lin, Y. T., Bui, N. N., Cheng, Y. S., Lin, C. W., Lee, C. L., Lee, T. F., & Hsueh, P. R. (2025). High hemolytic activity in *Staphylococcus aureus* t1081/ST45 due to increased hla protein production and potential RNAlII-independent regulation.

- Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 58(1), 70–76.
<https://doi.org/10.1016/J.JMII.2024.09.005>
- Liu, H., Ji, X., Wang, H., Hou, X., Sun, H., Billington, C., Zhang, L., Wang, X., & Wang, R. (2023). Genomic epidemiology and characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from raw milk in Jiangsu, China: emerging broader host tropism strain clones ST59 and ST398. *Frontiers in Microbiology*, 14.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1266715>
- Liu, L., Peng, H., Zhang, N., Li, M., Chen, Z., Shang, W., Hu, Z., Wang, Y., Yang, Y., Wang, D., Hu, Q., & Rao, X. (2023). Genomic Epidemiology and Phenotypic Characterization of *Staphylococcus aureus* from a Tertiary Hospital in Tianjin Municipality, Northern China. *Microbiology Spectrum*, 11(2), e04209-22.
<https://doi.org/10.1128/spectrum.04209-22>
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>
- Lu, H., Giordano, F., & Ning, Z. (2016). Oxford Nanopore MinION Sequencing and Genome Assembly. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 14(5), 265–279.
<https://doi.org/10.1016/J.GPB.2016.05.004>
- Mackieh, R., Al, B. N., Kfoury, M., Roufayel, R., Sabatier, J. M., & Fajloun, Z. (2023). Inhibitors of ATP Synthase as New Antibacterial Candidates. *Antibiotics*, 12(4), 650. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040650>
- Makris, G., Wright, J. D., Ingham, E., & Holland, K. T. (2004). The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus* - A virulence factor? *Microbiology*, 150(6), 2005–2013.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.26942-0>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2017). Microbiología médica. In *Microbiología médica* (Vol. 8a, 17). Elsevier España. https://books.google.com/books/about/Microbiolog%C3%ADa_m%C3%A9dica.html?hl=es&id=GOaVDgAAQBAJ
- Neyra, J., Ellis, M., Rocha, C., Silvera, J., Apolaya, M., Bernal, M., Meza, R., Canal, E., Meza, Y., & Blazes, D. (2015). Prevalence of Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* in 4 Cities in Peru. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s40794-016-0025-x>
- Oxford Nanopore Technologies. (2024). *Plataforma completa de secuenciación Oxford Nanopore: MinION, kits de secuenciación, software MinKNOW y workflows de análisis bioinformático*. Oxford Nanopore Technologies Ltd, Oxford, UK. <https://nanoporetech.com/es>
- PacBio. (2020). *Sequencing 101: the evolution of DNA sequencing tools - PacBio*. PacBio Blog. <https://www.pacb.com/blog/the-evolution-of-dna-sequencing-tools/>
- Pardos de La Gándara, M., Curry, M., Berger, J., Burstein, D., Della, L. P., Kopetz, V., Quale, J., Spitzer, E., Tan, R., Urban, C., Wang, G., Whittier, S., De Lencastre, H., & Tomasz, A. (2016). MRSA Causing Infections in Hospitals in Greater Metropolitan New York: Major Shift in the Dominant Clonal Type between 1996 and 2014. *PLOS ONE*, 11(6), e0156924.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156924>
- Parte, A. C. (2014). LPSN—list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D613–D616.
<https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1111>
- Price, L. B., Stegger, M., Hasman, H., Aziz, M., Larsen, J., Andersen, P. S., Pearson, T., Waters, A. E., Foster, J. T., Schupp, J., Gillece, J., Driebe, E., Liu, C. M., Springer, B., Zdobych, I., Battisti, A., Franco, A., Zmudzki, J., Schwarz, S., ... Aarestrup, F. M. (2012). *Staphylococcus aureus* CC398: Host Adaptation and

- Emergence of Methicillin Resistance in Livestock. *MBio*, 3(1), 1–6. <https://doi.org/10.1128/MBIO.00305-11>
- Rhoads, A., & Au, K. F. (2015). PacBio Sequencing and its Applications. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 13(5), 278–289. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2015.08.002>
- Rodríguez-Noriega, E., & Seas, C. (2010). The changing pattern of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* clones in Latin America: implications for clinical practice in the region. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 14(Supplement 2), 87–96. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702010000800004>
- Salgueiro, V., Manageiro, V., Bandarra, N. M., Ferreira, E., Clemente, L., & Caniça, M. (2020). Genetic Relatedness and Diversity of *Staphylococcus aureus* from Different Reservoirs: Humans and Animals of Livestock, Poultry, Zoo, and Aquaculture. *Microorganisms*, 8(9), 1345. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091345>
- Sanderson, N. D., Hopkins, K. M. V., Colpus, M., Parker, M., Lipworth, S., Crook, D., & Stoesser, N. (2024). Evaluation of the accuracy of bacterial genome reconstruction with Oxford Nanopore R10.4.1 long-read-only sequencing. *Microbial Genomics*, 10(5), 001246. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001246>
- Schouls, L. M., Veldman, K., Brouwer, M. S. M., Dierikx, C., Witteveen, S., van Santen-Verheuveld, M., Hendrickx, A. P. A., Landman, F., Hengeveld, P., Wullings, B., Rapallini, M., Wit, B., van Duijken, E., Berkhout, H., de Brauw, E. I. G. B., van Dam, D. W., Trienekens, T. A. M., Bathoorn, E., Troelstra, A., ... Maier-Reuwer, A. (2022). cfr and fexA genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from humans and livestock in the Netherlands. *Communications Medicine*, 2(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s43856-022-00200-w>
- Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14), 2068–2069. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU153>
- Seemann Torsten. (2016). *MLST: Scan contig files against PubMLST typing schemes* (2.22.0). GitHub. <https://github.com/tseemann/mlst>
- Sezzi, E., Fanelli, R., Gobbi, D., Scandurra, P., Mannucci, V., Usai, I., Ragionieri, G., Mezher, Z., & Fichi, G. (2024). An Investigation of Virulence Genes of *Staphylococcus aureus* in Autologous Vaccines Against Sheep Mastitis. *Animals*, 14(22), 3172. <https://doi.org/10.3390/ani14223172>
- Shaw, L., Golonka, E., Potempa, J., & Foster, S. J. (2004). The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, 150(1), 217–228. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26634-0>
- Silva, V., Correia, S., Rocha, J., Manaia, C. M., Silva, A., García, D. J., Pereira, J. E., Smedo, L. T., Igrejas, G., & Poeta, P. (2022). Antimicrobial Resistance and Clonal Lineages of *Staphylococcus aureus* from Cattle, Their Handlers, and Their Surroundings: A Cross-Sectional Study from the One Health Perspective. *Microorganisms*, 10(5), 941. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050941>
- Silva-de-Jesus, A. C., Ferrari, R. G., Panzenhagen, P., dos Santos, A. M. P., Portes, A. B., & Conte Junior, C. A. (2025). Distribution of Antimicrobial Resistance and Biofilm Production Genes in the Genomic Sequences of *S. aureus*: A Global In Silico Analysis. *Antibiotics*, 14(4), 364. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14040364>
- Sinha, S., Aggarwal, S., & Singh, D. V. (2024). Efflux pumps: gatekeepers of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbial Cell*, 11, 368–377. <https://doi.org/10.15698/mic2024.11.839>

- Smith, T. C., Male, M. J., Harper, A. L., Kroeger, J. S., Tinkler, G. P., Moritz, E. D., Capuano, A. W., Herwaldt, L. A., & Diekema, D. J. (2009). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strain ST398 Is Present in Midwestern U.S. Swine and Swine Workers. *PLOS ONE*, 4(1), e4258. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004258>
- Subramanian, C., Frank, M. W., Yun, M.-K., & Rock, C. O. (2023). The Phospholipase A1 Activity of Glycerol Ester Hydrolase (Geh) Is Responsible for Extracellular 2-12(S)-Methyltetradecanoyl-Lysophosphatidylglycerol Production in *Staphylococcus aureus*. *MSphere*, 8(2). <https://doi.org/10.1128/MSPHERE.00031-23>
- Tam, K., & Torres, V. J. (2019). *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. *Microbiology Spectrum*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0039-2018>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tenover, F. C., Arbeit, R., Archer, G., Biddle, J., Byrne, S., Goering, R., Hancock, G., Hebert, G. A., Hill, B., Hollis, R., Jarvis, W. R., Kreiswirth, B., Eisner, W., Maslow, J., McDougal, L. K., Miller, J. M., Mulligan, M., & Pfaller, M. A. (1994). Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(2), 407–415. <https://doi.org/10.1128/JCM.32.2.407-415.1994>
- Uhlemann, A. C., Porcella, S. F., Trivedi, S., Sullivan, S. B., Hafer, C., Kennedy, A. D., Barbian, K. D., McCarthy, A. J., Street, C., Hirschberg, D. L., Lipkin, W. I., Lindsay, J. A., Deleo, F. R., & Lowy, F. D. (2012). Identification of a Highly Transmissible Animal-Independent *Staphylococcus aureus* ST398 Clone with Distinct Genomic and Cell Adhesion Properties. *MBio*, 3(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00027-12>
- Urbina, R. Y., Rodríguez, A. C., Rivera, M. J., & Jocelyne, C. (2016). *Caracterización molecular de los microbios patógenos oportunistas asociados a infecciones pulmonares en niños con fibrosis quística en el Perú, 2014-2015*. Universidad Nacional de Tumbes. <http://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/UNITUMBES/167>
- Van Der Heiden, A. D. (2019). *Establishing a canine genome sequencing protocol using Oxford Nanopore*.
- Vandenesch, F., Naimi, T., Enright, M. C., Lina, G., Nimmo, G. R., Heffernan, H., Liassine, N., Bes, M., Greenland, T., Reverdy, M. E., & Etienne, J. (2003). Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carrying Panton-Valentine Leukocidin Genes: Worldwide Emergence. *Emerging Infectious Diseases*, 9(8), 978–984. <https://doi.org/10.3201/eid0908.030089>
- Vaser, R., Sović, I., Nagarajan, N., & Šikić, M. (2017). Fast and accurate de novo genome assembly from long uncorrected reads. *Genome Research*, 27(5), 737–746. <https://doi.org/10.1101/GR.214270.116>
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., & Wulf, M. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farming. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1965–1966. <https://doi.org/10.3201/EID1112.050428>
- Warne, B., Harkins, C. P., Harris, S. R., Vatsiou, A., Stanley, W. N., Parkhill, J., Peacock, S. J., Palmer, T., & Holden, M. T. G. (2016). The Ess/Type VII secretion system of *Staphylococcus aureus* shows unexpected genetic diversity. *BMC Genomics*, 17(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2426-7>

- Wick R. (2017). *Porechop*. *GitHub repository*. GitHub. <https://github.com/rrwick/Porechop>
- Wick, R. R. (2023). *ONT-only accuracy: 5 kHz and Dorado*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10038673>
- Wick, R. R., Schultz, M. B., Zobel, J., & Holt, K. E. (2015). Bandage: interactive visualization of de novo genome assemblies. *Bioinformatics*, 31(20), 3350–3352. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTV383>
- Yang, J., Chen, L., Sun, L., Yu, J., & Jin, Q. (2008). VFDB 2008 release: an enhanced web-based resource for comparative pathogenomics. *Nucleic Acids Research*, 36(suppl_1), D539–D542. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKM951>
- Zaghen, F., Sora, V. M., Meroni, G., Laterza, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zecconi, A. (2023). Epidemiology of Antimicrobial Resistance Genes in *Staphylococcus aureus* Isolates from a Public Database in a One Health Perspective—Sample Characteristics and Isolates' Sources. *Antibiotics*, 12(7), 1225. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071225>
- Zdzalik, M., Karim, A. Y., Wolski, K., Buda, P., Wojcik, K., Brueggemann, S., Wojciechowski, P., Eick, S., Calander, A. M., Jonsson, I. M., Kubica, M., Polakowska, K., Miedzobrodzki, J., Wladyka, B., Potempa, J., & Dubin, G. (2012). Prevalence of genes encoding extracellular proteases in *Staphylococcus aureus* — important targets triggering immune response in vivo. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 66(2), 220–229. <https://doi.org/10.1111/J.1574-695X.2012.01005.X>
- Zeggay, A., Atchon, A., Valot, B., Hocquet, D., Bertrand, X., & Bouiller, K. (2023). Genome Analysis of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 Strains Isolated from Patients with Invasive Infection. *Microorganisms*, 11(6), 1446. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061446>
- Zhang, W., Liu, F., Li, J., Zhang, L., & Hu, T. (2025). Surveillance of Antibiotic Resistance and Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Baotou, Inner Mongolia, China. *Infection and Drug Resistance*, 18, 4887–4900. <https://doi.org/10.2147/IDR.S540702>

IX. LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AMEs: Enzimasificadoras de antibióticos

AMR: Resistencia antimicrobiana

ARN: Ácido ribonucleico

ARNr: ARN ribosomal

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

bp: Pares de bases

CARD: *Comprehensive Antibiotic Resistance Database*

CC: Complejo clonal

ccr: *Cassette chromosome recombinase*

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

DNasa: Desoxirribonucleasa

G+C: Guanina más citosina

hVISA: *Staphylococcus aureus* con susceptibilidad intermedia heterogénea a vancomicina

IEC: complejo de evasión inmune (*Immune Evasion Cluster*)

iTOL: Interactive Tree Of Life

kb: Kilobases

MLSB: Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B

MLST: Tipificación por secuencias multilocus

NCBI: National Center for Biotechnology Information

ONT: Oxford Nanopore Technologies

PBP2a: Penicillin Binding Protein 2a (*Penicillin-Binding Protein 2a*)

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PIA: Polisacárido intercelular de adhesión (*Polysaccharide Intercellular Adhesin*)

PubMLST: Public databases for Multilocus Sequence Typing

PVL: Leucocidina de Panton-Valentine

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

SASM: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina

SCCmec: *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*

ST: Tipo de secuencia (*Sequence Type*)

T7SS: Sistema de secreción tipo VII (*Type VII Secretion System*)

TSA: Agar tripticasa de soya

TSB: Caldo tripticasa de soya

VFDB: Virulence Factor Database

VISA: *Staphylococcus aureus* con susceptibilidad intermedia a vancomicina
(*Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus*)

WGS: Secuenciación del genoma completo (*Whole Genome Sequencing*)

X. ANEXOS

Anexo 1. Autorización para el uso de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA
LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

**AUTORIZACIÓN PARA USO DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*
resistentes a metilicina EN INVESTIGACIÓN DE TESIS.**

Por la presente, yo Nilda Aurea Apayco Espinoza identificado con DNI 28283724 de profesión Biólogo, en calidad de asesora de tesis de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga,

HAGO CONSTAR QUE:

Las 20 cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina que serán utilizadas en la tesis titulada: "Caracterización genómica de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024", desarrollada por el tesista Sayda Luz Cancho Pacotaype con DNI 70139745; fueron aisladas e identificadas previamente durante el desarrollo de un trabajo de investigación anterior realizado en el Laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica en la cual participé como asesora. Estas cepas se encuentran actualmente conservadas bajo condiciones adecuadas en dicho laboratorio.

En consecuencia, autorizo el uso de estas cepas para fines exclusivamente académicos y científicos en el marco del desarrollo de la presente tesis, que está bajo mi asesoría. Cabe precisar que no se está realizando toma de nuevas muestras ni contacto con personas, limitándose el trabajo a la continuación del análisis molecular de cepas previamente obtenidas.

Se expide la presente autorización para los fines que el interesado estime conveniente.

Ayacucho, 12 de junio de 2025


Nilda A. Apayco Espinoza
Bílogo - C. 28283724

Nombres y apellidos: Nilda Aurea Apayco Espinoza
Institución a la que pertenece: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Cargo en la institución: Docente auxiliar nombrada a tiempo completo
Correo electrónico institucional: nilda.apayco@unsch.edu.pe
Teléfono: 966014466

Anexo 2. Constancia de aprobación del Comité de Ética de Investigación



UNSCH

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN**

CONSTANCIA N° 002-2025/CEI-VRI-UNSCH - AYACUCHO

La Presidenta del Comité de Ética en Investigación del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

HACE CONSTAR

Qué, el proyecto de tesis ha sido **EXONERADO** por el pleno de miembros del Comité de Ética en Investigación del Vicerrectorado de Investigación (CEI-VRI-UNSCH) – Ayacucho.

Título del proyecto : *Caracterización genómica de Staphylococcus aureus resistente a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno-Ayacucho, 2024*

Facultad : Ciencias Biológicas

Unidad de investigación : Unidad de Investigación e innovación de la Facultad de Ciencias Biológicas

Área de investigación : Ciencias Médicas y de la Salud

Línea de investigación : Microbiología y Parasitología Médica

Código de inscripción : 007/CEI UNSCH – Ayacucho

Investigador principal : Cancho Pacotaype, Sayda Luz (Tesisista)

La **EXONERACIÓN**, considera el cumplimiento de los estándares éticos nacionales e internacionales a los cuales se acoge la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, incluyendo los lineamientos científicos y éticos, el balance riesgo–beneficio, la calificación del equipo investigador y las características de confidencialidad y reserva de los datos obtenidos, entre otros aspectos.

Por lo tanto, el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga otorga su **exoneración** para la ejecución del proyecto de tesis, reconociendo el cumplimiento de las normativas éticas pertinentes en el desarrollo de esta investigación.

Ayacucho, 12 de junio de 2025

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

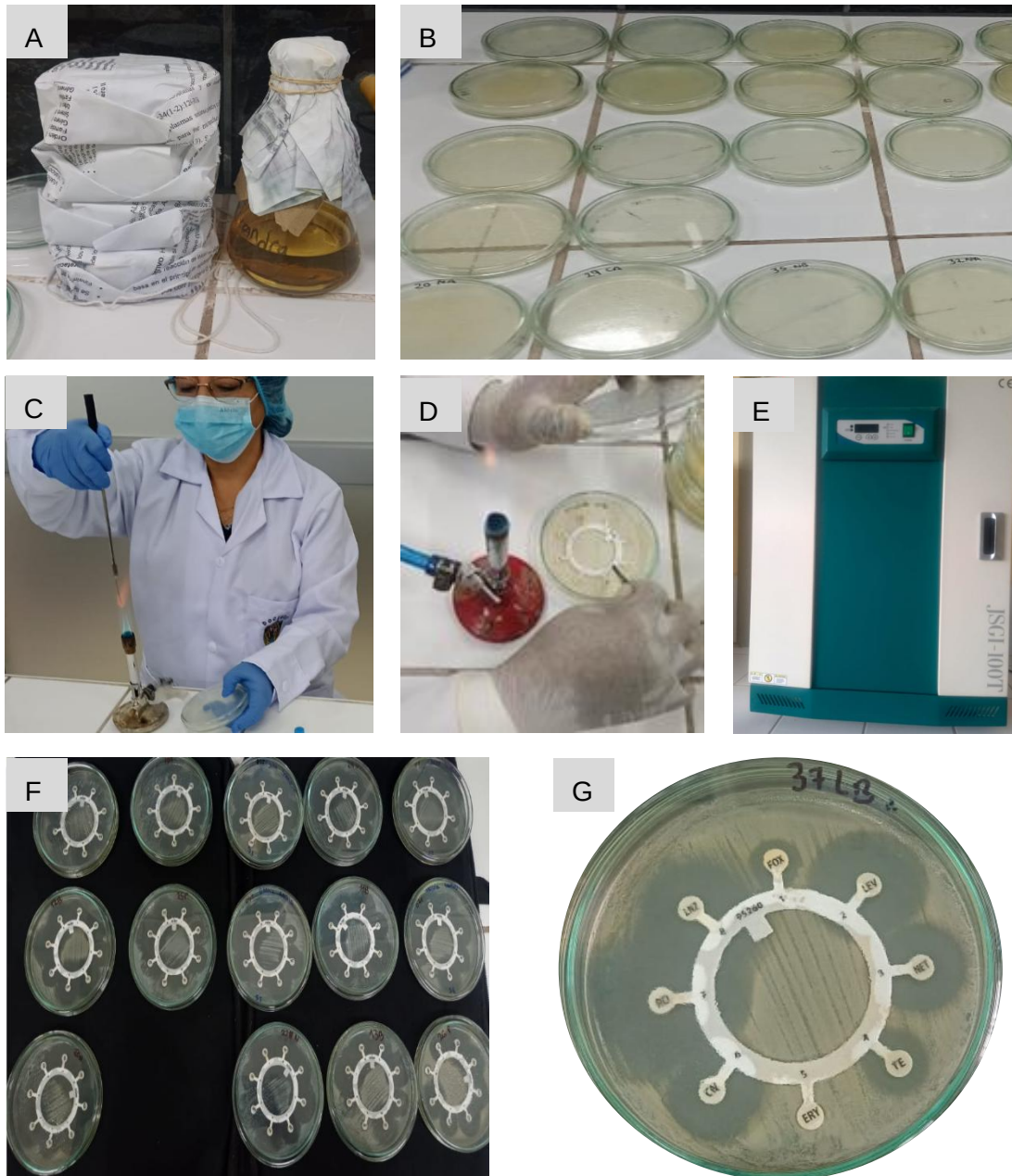
Dra. Angélica Ramírez Espinoza
PRESIDENTA CEI-VRI-UNSCH

Anexo 3. Reactivación de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina



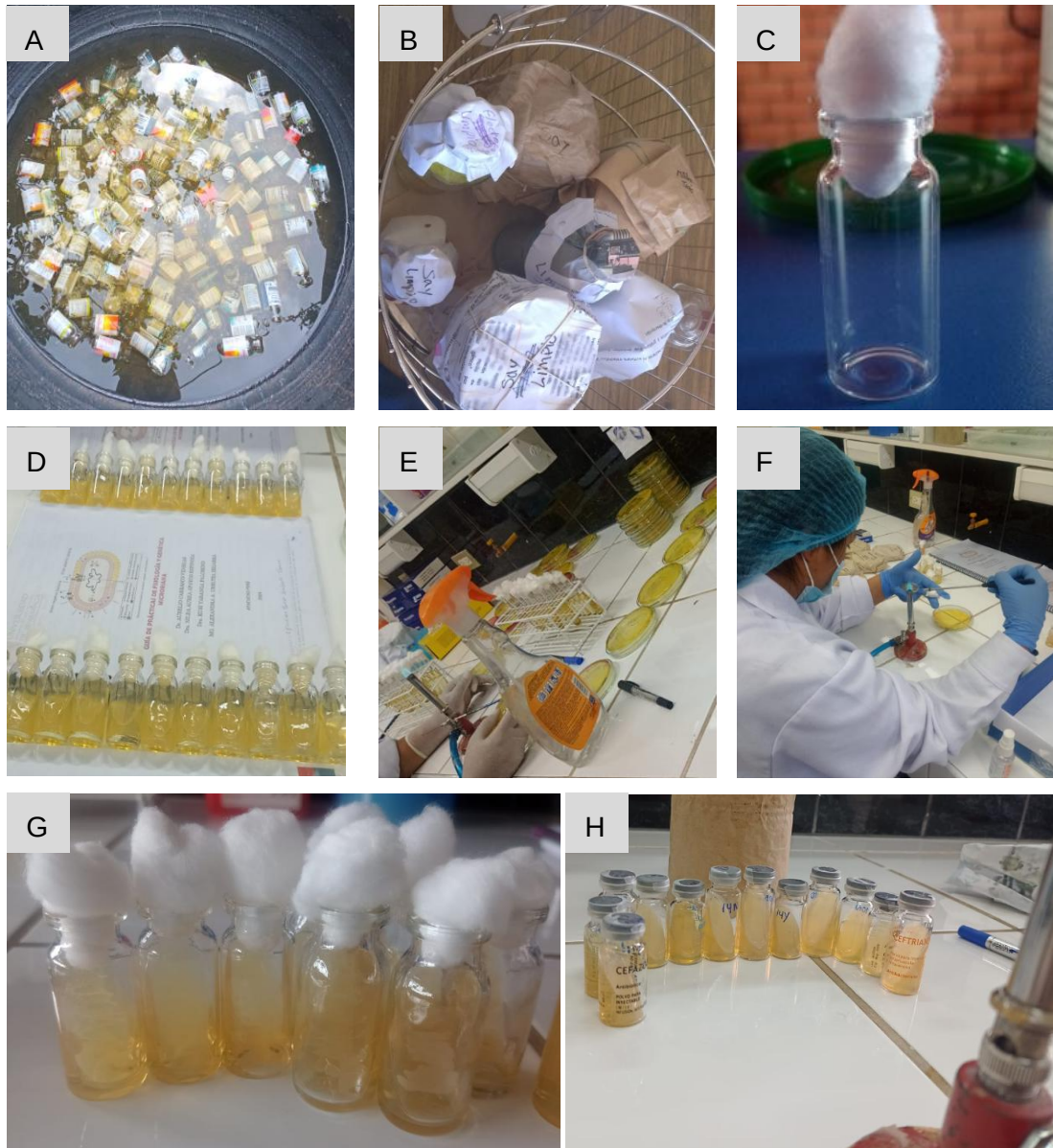
Descripción del procedimiento: A) Atemperación de las cepas; B) Preparación y esterilización del material de trabajo; C) Cultivo de reactivación en caldo TSB a 37 °C durante 24 horas; D) Evidencia de crecimiento bacteriano posterior a la reactivación; E) Siembra en agar manitol salado; F) Incubación a 37 °C durante 24 horas; G) Obtención de colonias puras de *S. aureus*.

Anexo 4. Determinación de resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* mediante la prueba de difusión en disco con cefoxitina



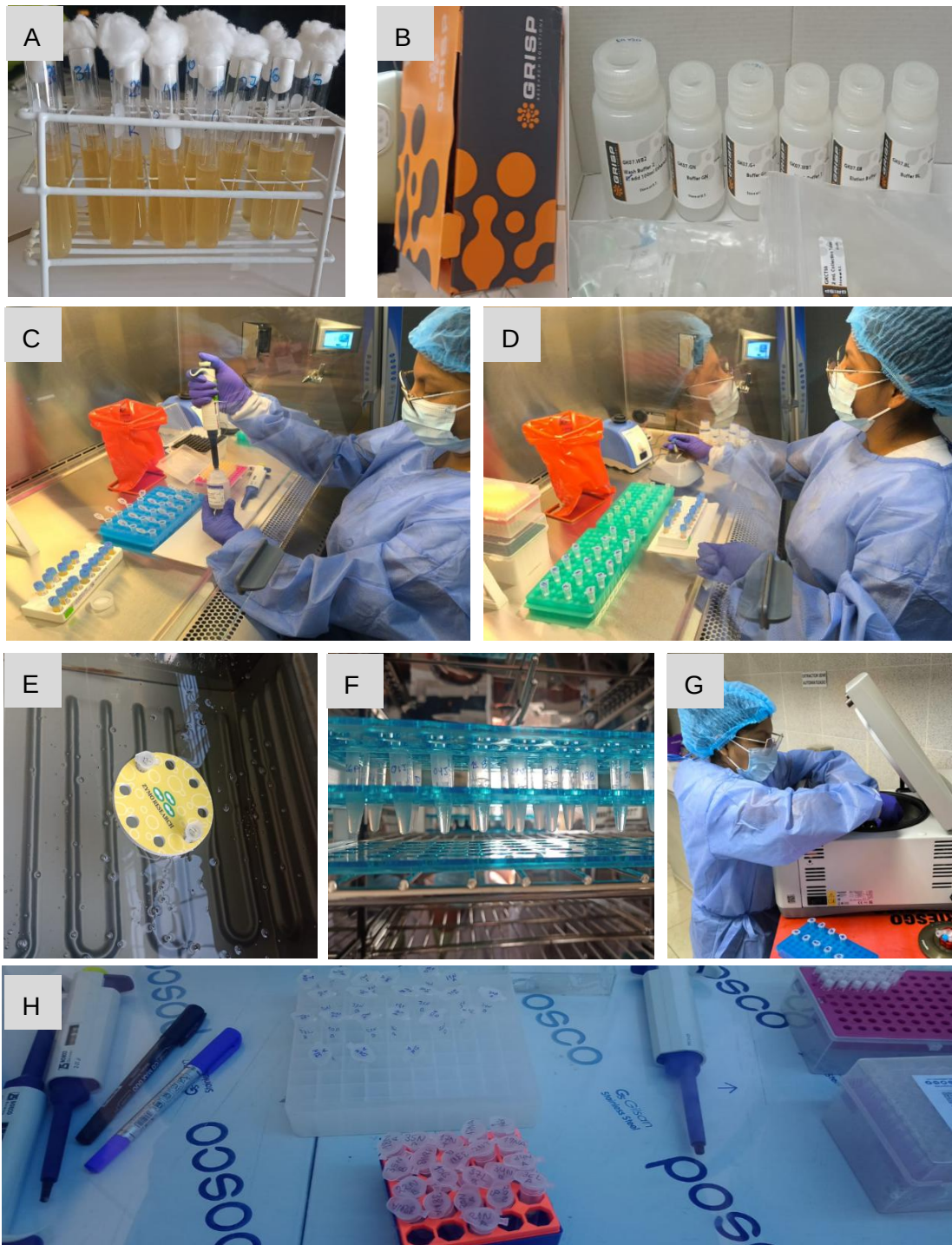
Descripción del procedimiento: A) Preparación de materiales y medios de cultivo; B) Siembra bacteriana en agar Mueller-Hinton; C) Estandarización del inóculo según el estándar 0,5 de McFarland; D) Colocación del disco de cefoxitina; E) Incubación a 35–37 °C durante 18–24 horas; F) Observación del crecimiento bacteriano; G) Medición del diámetro del halo de inhibición para la interpretación de la resistencia.

Anexo 5. Conservación a corto plazo de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina



Descripción del procedimiento: A) Limpieza y acondicionamiento de viales reutilizables; B) Esterilización del material; C) Obtención de viales estériles; D) Preparación de viales con agar TSA suplementado con 5 % de cloruro de sodio; E) Atemperación de cepas previamente aisladas; F) Siembra por estría en la superficie del agar solidificado e incubación a 37 °C durante 24 horas; G) Verificación del crecimiento bacteriano; H) Almacenamiento de los viales a 4 °C para mantener la viabilidad de las cepas durante un período aproximado de 15 días antes de su repique.

Anexo 6. Extracción de ADN genómico de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina



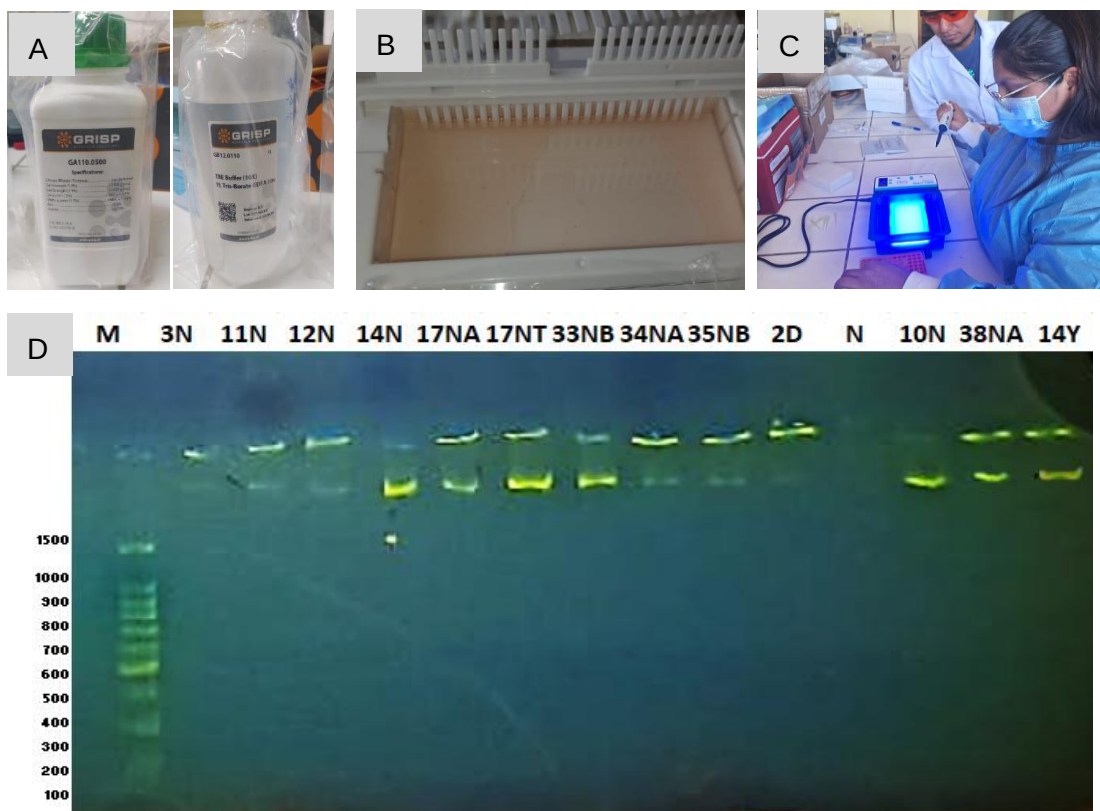
Descripción del procedimiento: A) Preparación de una suspensión bacteriana ajustada a 3,0 unidades McFarland; B) Utilización del kit de extracción de ADN genómico (GRISP); C) Adición secuencial de los reactivos según las instrucciones del fabricante; D) Lisis y homogeneización celular; E) Incubación con proteinasa K; F) Incubación hasta la obtención de un lisado celular claro; G) Centrifugación para la separación del ADN; H) Recuperación y almacenamiento del ADN genómico purificado a -20°C .

Anexo 7. Control de calidad del ADN genómico mediante espectrofotometría



Descripción el procedimiento: A) Espectrofotómetro/fluorómetro DeNovix DS-11; B) medición de 1 µL de ADN genómico; C) Determinación de la concentración (ng/µL) y de los índices de pureza A260/A280 y A260/A230 para evaluar la calidad del ADN extraído.

Anexo 8. Evaluación de la integridad del ADN genómico mediante electroforesis en gel de agarosa



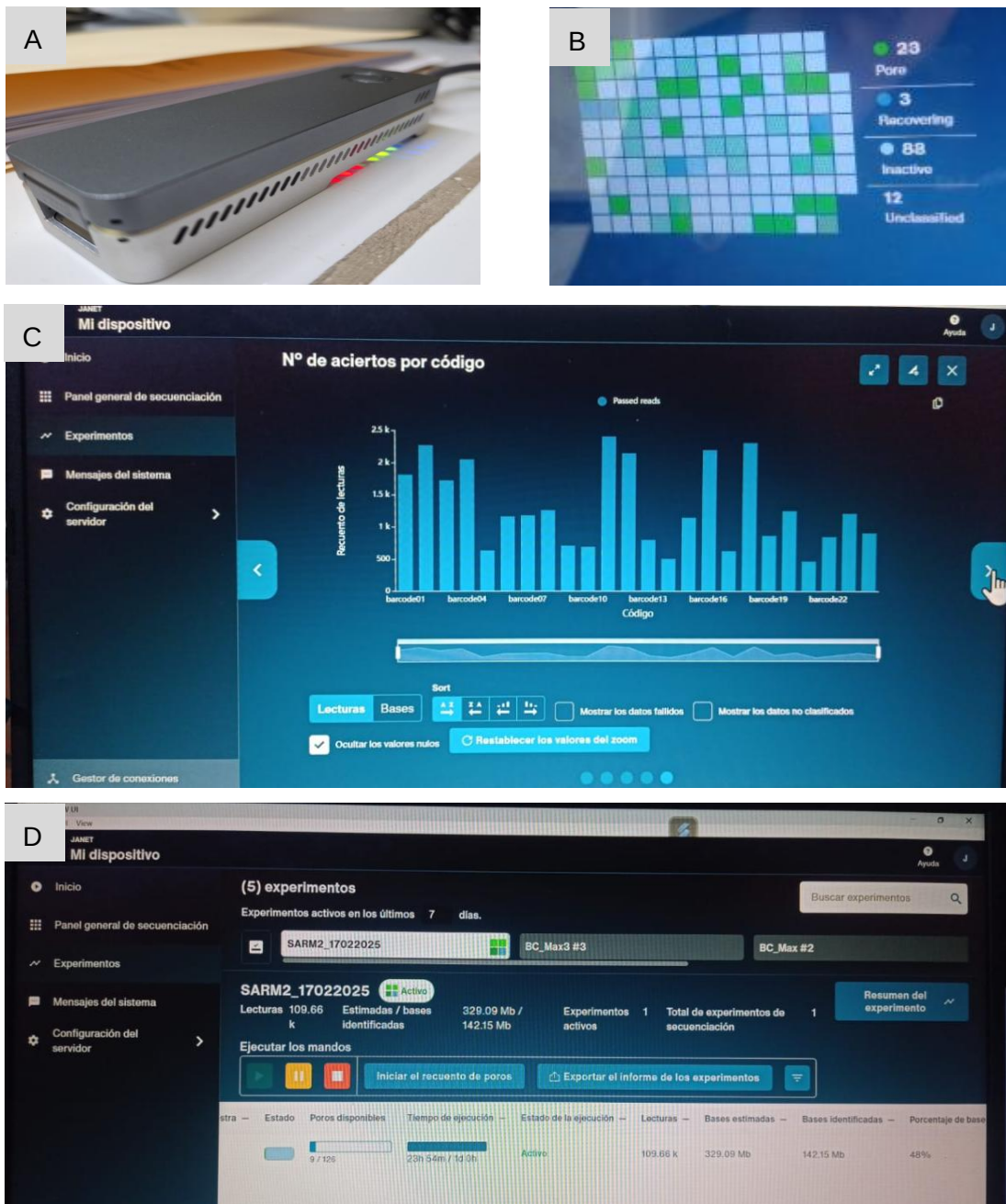
Descripción del proceso: A) Preparación del gel de agarosa en tampón TBE; B) Solidificación del gel con formación de carriles; C) Carga de muestras de ADN genómico; D) Electroforesis en gel de agarosa, donde el carril 1 corresponde al marcador de peso molecular (M), los carriles 2-11 y 13-15 a muestras de *Staphylococcus aureus*, y el carril 12 al control negativo. Se observaron bandas definidas de alto peso molecular sin evidencia de degradación o *smearing*.

Anexo 9. Secuenciación del genoma de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante tecnología Oxford Nanopore (MinION)



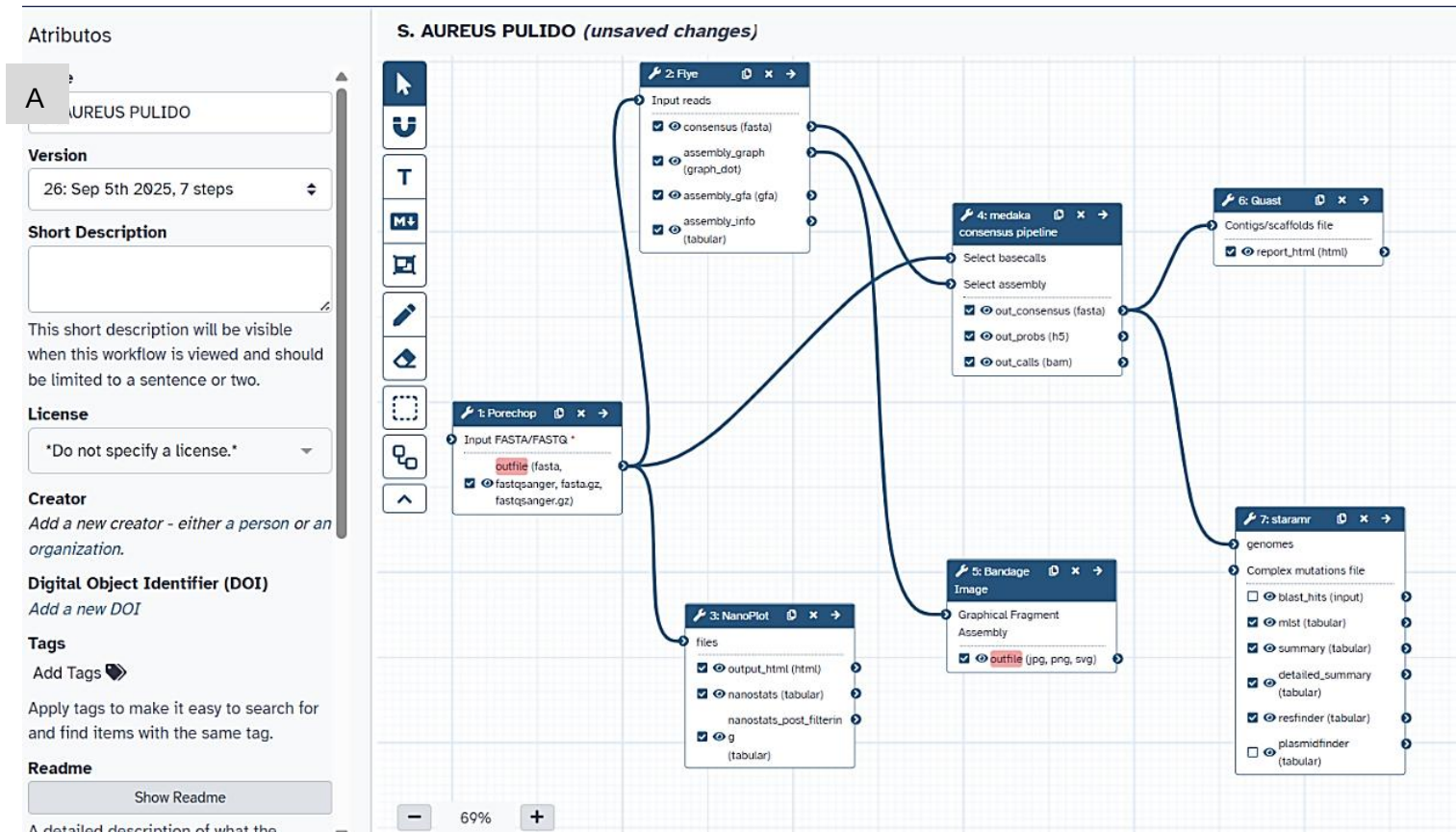
Descripción del procedimiento: A) Preparación de reactivos para la construcción de bibliotecas; B) Adición de códigos de barras (barcodes) para la multiplexación de muestras; C) Purificación de la biblioteca mediante perlas magnéticas AMPure XP; D) Incubación en termobloque según el protocolo del fabricante; E) Cuantificación de la biblioteca; F) Preparación del dispositivo de secuenciación MinION (Oxford Nanopore); G) Cebado de la celda de flujo mediante la mezcla de priming; H) Carga final de la biblioteca en la celda de flujo para el inicio de la secuenciación.

Anexo 10. Monitoreo y verificación del inicio de la corrida de secuenciación en MinION



Descripción del procedimiento: A) Dispositivo MinION durante la ejecución de la corrida de secuenciación; B) interfaz del software MinKNOW mostrando el número de poros disponibles; C) visualización de la distribución de lecturas por códigos de barras durante la demultiplexación; D) pantalla de MinKNOW en estado activo confirmando el inicio exitoso de la corrida de secuenciación del genoma completo.

Anexo 11. Flujo bioinformático para el procesamiento de las secuencias de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina



Descripción del procedimiento: A) Flujo de trabajo (workflow) completo implementado en la plataforma Galaxy para el procesamiento y análisis de las secuencias obtenidas mediante secuenciación de genoma completo.

Anexo 12. Matriz binaria de genes de resistencia en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina

GEN	3N	34NA	16Y	14N	12N	17NA	35NB	11N	38NA	2D	32NA	21NA	33NB	17NT	10N	14Y	SUMA	%
<i>mepA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>mepR</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>lmrS</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>norA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	13	81.25
<i>arlR</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>arlS</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>mgrA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>tet(38)</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>tet(M)</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>tet(K)</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	18.75
<i>tet(L)</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	12.50
<i>blaZ</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	15	93.75
<i>mecA</i>	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	12	75.00
<i>fosB</i>	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	7	43.75
<i>fosB1</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>ant(4')-Ib</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	4	25.00
<i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	18.75
<i>ermC</i>	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	8	50.00
<i>ermA</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>ermT</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>mphC</i>	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	10	62.50
<i>msrA</i>	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	10	62.50
<i>cfrA</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	3	18.75
<i>fexA</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>dfrC</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>dfrG</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	6.25
<i>spd</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	6.25

1= presencia del gen; 0 = ausencia del gen.

Anexo 13. Matriz binaria de genes de virulencia en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina

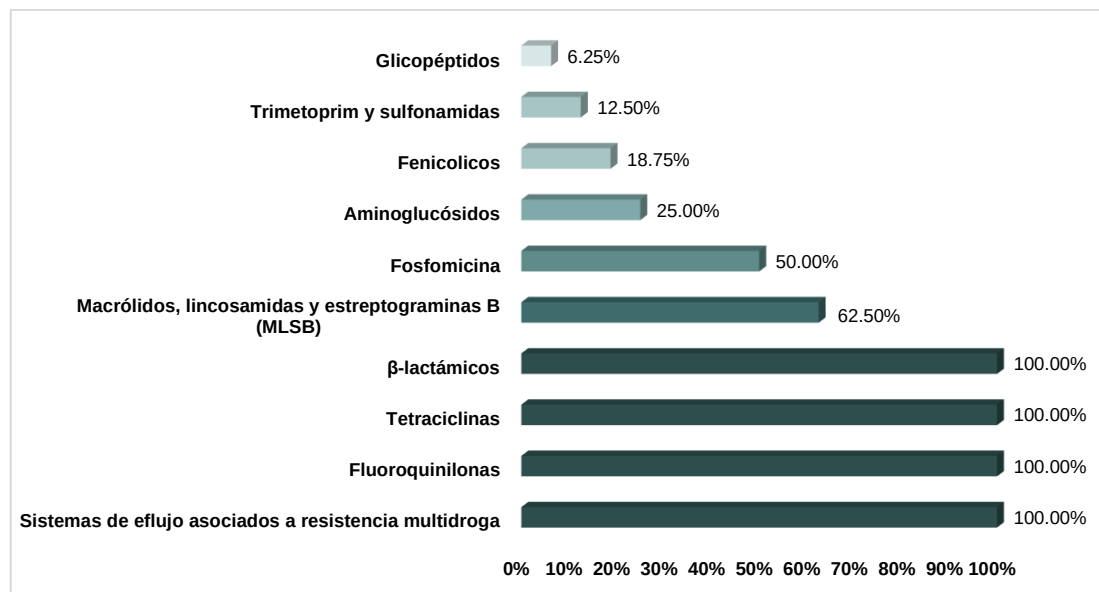
GEN	16Y	14N	12N	17NA	35NB	33NB	3N	34NA	11N	38NA	2D	32NA	21NA	10N	17NT	14Y	SUMA	%
icaA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
icaB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
icaC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
icaD	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
icaR	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hld	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hlb	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hlgA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hlgB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hlgC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hly/hla	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	15	93.75
srtB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
aur	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
sspA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
sspB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
sspC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
hysA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
geh	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
lip	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
adsA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
chp	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	10	62.50
sak	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	10	62.50
scn	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	11	68.75
sbi	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
spa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	15	93.75
esaA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
esaB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
esaC	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	9	56.25
essA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
essB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
essC	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	9	56.25

<i>esxA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>esxB</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	9	56.25
<i>clfA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>clfB</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cna</i>	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	8	50.00
<i>fnbA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>fnbB</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	14	87.50
<i>sdrC</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	12	75.00
<i>sdrD</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	12	75.00
<i>sdrE</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	12	75.00
<i>map</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>ebp</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	15	93.75
<i>cap 8 A</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8B</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8C</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8D</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8E</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8F</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8G</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8H</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4	25.00
<i>cap 8I</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4	25.00
<i>cap 8J</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4	25.00
<i>cap 8K</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4	25.00
<i>cap 8L</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8M</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8N</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8O</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>cap 8P</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdB</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdC</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdD</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdE</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdF</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>isdG</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	100.00
<i>luKS-PV</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	9	56.25

<i>luKF-PV</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	12	75.00
<i>LukE</i>	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	25.00
<i>LukD</i>	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	25.00
<i>tsst-1</i>	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	4	25.00
<i>coa</i>	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	13	81.25
<i>vWbp</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3	18.75

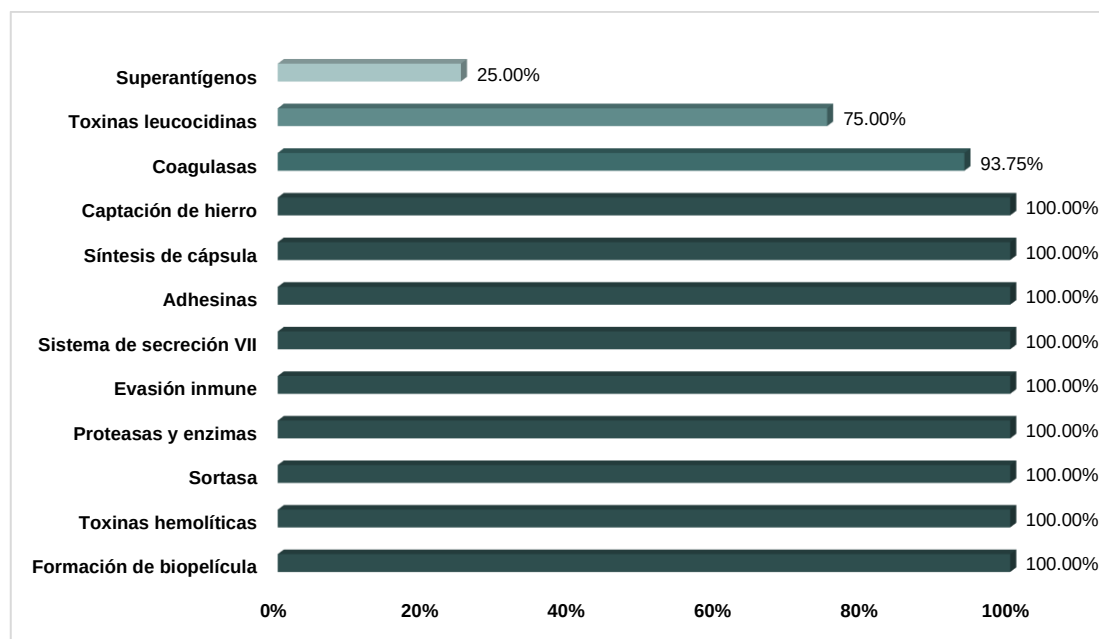
1= presencia del gen; 0 = ausencia del gen.

Anexo 14. Proporción de cepas que presentan al menos un determinante genético de resistencia según clase de antimicrobianos



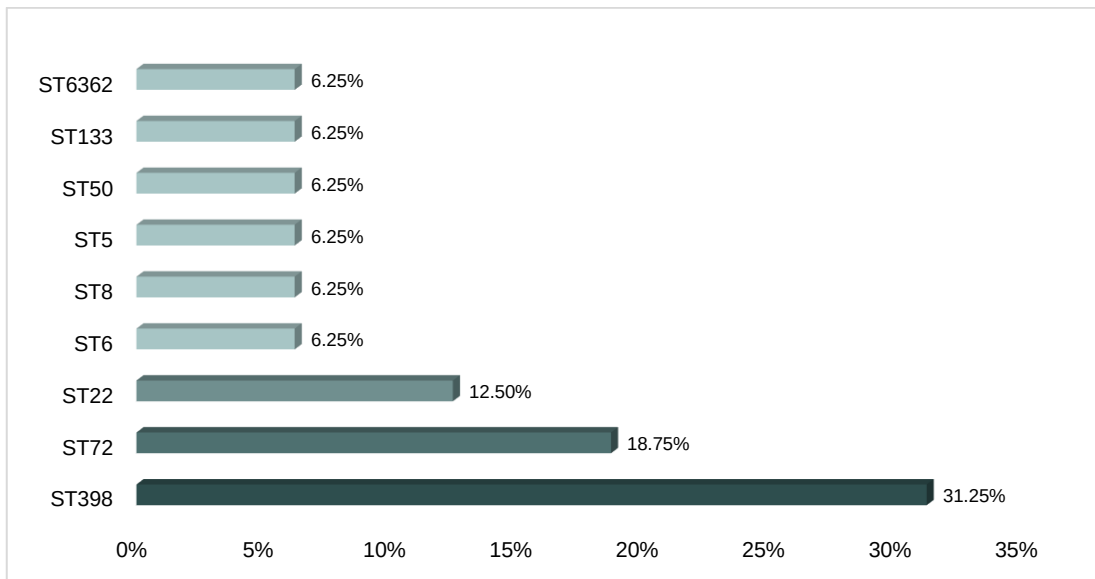
Los porcentajes fueron calculados en función del total de cepas analizadas ($n = 16$). Se consideró positiva la presencia de al menos un gen de resistencia perteneciente a la clase correspondiente, identificado mediante análisis genómico.

Anexo 15. Proporción de cepas que presentan al menos un determinante genético de virulencia según el grupo funcional



Los porcentajes se calcularon respecto al total de cepas incluidas en el análisis ($n = 16$). Para cada grupo funcional, se consideró positiva la presencia de al menos un gen asociado a virulencia identificado mediante secuenciación de genoma completo.

Anexo 16. Diversidad genética de las cepas analizadas según los tipos de secuencia identificados mediante MLST



La distribución se calculó respecto al total de cepas analizadas ($n = 16$). Los tipos de secuencia fueron asignados mediante el esquema MLST a partir de los datos de secuenciación de genoma completo.

Anexo 17. PCR *in silico* de los cebadores del esquema MLST

The screenshot shows the SnapGene v4.3.11 software interface. The main window displays a DNA sequence with two primers (Primer 1 and Primer 2) highlighted. The primer sequences are 5'-ATCGGAATCCTATTTCACATTC-3' and 5'-GGTGTGTATTAATACGATATC-3'. The product size is 537 bp. The interface also shows a 'Ready for PCR' status and a 'Product Name' field.

El análisis de PCR *in silico* se realizó alineando los cebadores del esquema MLST contra el genoma ensamblado de un aislamiento de *Staphylococcus aureus* utilizando SnapGene v4.3.11. La figura muestra un ejemplo representativo correspondiente al gen *aroE* (~537 pb). La identidad del 100 % confirma que la región diana está conservada en la secuencia analizada y valida la especificidad de los cebadores utilizados para la recuperación de los loci del esquema MLST.

Anexo 18. Modelo matemático

Model	Parameters	BIC	AICc	lnL	(+I)	(+G)	R	f(A)	f(T)	f(C)	f(G)	r(AT)	r(AC)	r(AG)	r(TA)	r(TC)	r(TG)	r(CA)	r(CT)	r(CG)	r(GA)	r(GT)	r(GC)
HKY+G+I	35	10462.751	10153.432	-5041.691	0.49	0.05	2.64	0.344	0.292	0.149	0.215	0.039	0.020	0.158	0.046	0.110	0.029	0.046	0.214	0.029	0.253	0.039	0.020
TN93+G+I	36	10472.015	10153.860	-5040.904	0.49	0.05	2.61	0.344	0.292	0.149	0.215	0.038	0.020	0.136	0.045	0.130	0.028	0.045	0.254	0.028	0.218	0.038	0.020
HKY+G	34	10480.342	10179.859	-5055.906	n/a	0.05	2.58	0.344	0.292	0.149	0.215	0.039	0.020	0.157	0.046	0.109	0.029	0.046	0.213	0.029	0.251	0.039	0.020
TN93+G	35	10489.121	10179.802	-5054.876	n/a	0.05	2.55	0.344	0.292	0.149	0.215	0.039	0.020	0.132	0.046	0.132	0.029	0.046	0.257	0.029	0.212	0.039	0.020
T92+G+I	33	10493.507	10201.860	-5067.908	0.49	0.05	2.62	0.318	0.318	0.182	0.182	0.042	0.024	0.135	0.042	0.135	0.024	0.042	0.235	0.024	0.235	0.042	0.024
GTR+G+I	39	10497.617	10152.953	-5037.446	0.49	0.05	2.31	0.344	0.292	0.149	0.215	0.064	0.018	0.143	0.075	0.121	0.025	0.041	0.237	0.007	0.228	0.034	0.005
T92+G	32	10510.906	10228.096	-5082.027	n/a	0.05	2.56	0.318	0.318	0.182	0.182	0.042	0.024	0.134	0.042	0.134	0.024	0.042	0.233	0.024	0.233	0.042	0.024
GTR+G	38	10517.312	10181.484	-5052.713	n/a	0.05	2.05	0.344	0.292	0.149	0.215	0.064	0.018	0.137	0.075	0.115	0.026	0.041	0.226	0.026	0.220	0.035	0.018
HKY+I	34	10526.743	10226.260	-5079.107	0.49	n/a	2.53	0.344	0.292	0.149	0.215	0.040	0.020	0.156	0.047	0.108	0.029	0.047	0.212	0.029	0.250	0.040	0.020
TN93+I	35	10534.942	10225.623	-5077.787	0.49	n/a	2.52	0.344	0.292	0.149	0.215	0.039	0.020	0.131	0.046	0.132	0.029	0.046	0.258	0.029	0.209	0.039	0.020
HKY	33	10550.810	10259.163	-5096.560	n/a	n/a	2.51	0.344	0.292	0.149	0.215	0.040	0.021	0.156	0.047	0.108	0.030	0.047	0.211	0.030	0.249	0.040	0.021
T92+I	32	10557.049	10274.239	-5105.099	0.49	n/a	2.52	0.318	0.318	0.182	0.182	0.043	0.024	0.133	0.043	0.133	0.024	0.043	0.233	0.024	0.233	0.043	0.024
TN93	34	10558.903	10258.420	-5095.187	n/a	n/a	2.51	0.344	0.292	0.149	0.215	0.039	0.020	0.130	0.046	0.132	0.029	0.046	0.259	0.029	0.209	0.039	0.020
GTR+I	38	10563.803	10227.975	-5075.958	0.49	n/a	1.98	0.344	0.292	0.149	0.215	0.064	0.018	0.135	0.075	0.115	0.027	0.041	0.224	0.027	0.216	0.037	0.019
T92	31	10581.081	10307.108	-5122.534	n/a	n/a	2.51	0.318	0.318	0.182	0.182	0.043	0.025	0.133	0.043	0.133	0.025	0.043	0.232	0.025	0.232	0.043	0.025
GTR	37	10587.767	10260.776	-5093.360	n/a	n/a	1.97	0.344	0.292	0.149	0.215	0.064	0.018	0.134	0.076	0.115	0.028	0.042	0.225	0.028	0.215	0.037	0.019
K2+G+I	32	10737.035	10454.225	-5195.092	0.49	0.05	2.60	0.250	0.250	0.250	0.250	0.035	0.035	0.181	0.035	0.181	0.035	0.035	0.181	0.035	0.181	0.035	0.035
K2+G	31	10754.386	10480.413	-5209.187	n/a	0.05	2.55	0.250	0.250	0.250	0.250	0.035	0.035	0.180	0.035	0.180	0.035	0.035	0.180	0.035	0.180	0.035	0.035
JC+G+I	31	10792.924	10518.951	-5228.456	0.49	0.05	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
K2+I	31	10800.475	10526.502	-5232.231	0.49	n/a	2.52	0.250	0.250	0.250	0.250	0.036	0.036	0.179	0.036	0.179	0.036	0.036	0.179	0.036	0.179	0.036	0.036
JC+G	30	10809.642	10544.505	-5242.234	n/a	0.05	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
K2	30	10824.546	10559.409	-5249.686	n/a	n/a	2.51	0.250	0.250	0.250	0.250	0.036	0.036	0.179	0.036	0.179	0.036	0.036	0.179	0.036	0.179	0.036	0.036
JC+I	30	10855.324	10590.187	-5265.075	0.49	n/a	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
JC	29	10879.249	10622.949	-5282.457	n/a	n/a	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083

Los modelos de sustitución nucleotídica fueron evaluados utilizando el criterio de información bayesiano (BIC), considerándose como óptimo aquel con el valor más bajo. Adicionalmente, se reportaron el criterio de información de Akaike corregido (AICc), el valor de máxima verosimilitud (lnL) y el número de parámetros estimados para cada modelo (Nei y Kumar, 2000). La heterogeneidad de tasas evolutivas entre sitios se modeló mediante una distribución Gamma discreta (+G) con cinco categorías, considerando además una proporción de sitios invariantes (+I). Para cada modelo se estimaron el sesgo de transiciones/transversiones (R), las frecuencias nucleotídicas (f) y las tasas relativas de sustitución entre pares de nucleótidos (r), normalizadas de modo que su suma fuera igual a 1

Anexo 19. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLE	DISEÑO METODOLÓGICO
Caracterización genómica de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024.	Problema general ¿Cuáles son las características genómicas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno? Problemas específicos • ¿Cuáles son los genes de resistencia microbiana de <i>S. aureus</i> aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno? • ¿Cuáles son los factores de virulencia de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno? • ¿Qué linajes genéticos Tiene <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno?	Objetivo general Caracterizar genómicamente cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno. Objetivos específicos • Analizar los genes de resistencia antimicrobiana de cepas de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno. • Determinar los factores de virulencia de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno. • Identificar los linajes genéticos de <i>S. aureus</i> resistentes a meticilina aislados del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno.	2.1. Antecedentes 2.2. Marco conceptual • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina • Resistencia antimicrobiana • Factor de virulencia • Secuenciación por Nanoporos • Tipificación por secuencias multilocus • Complejo Clonal 2.3. Base teórica • Características microbiológicas de <i>S. aureus</i> • Bases genéticas de la resistencia en SARM • Determinantes de virulencia y su impacto en la patogénesis • Epidemiología molecular y evolución clonal del SARM • Genómica de <i>s. aureus</i> en la vigilancia de patógenos	Variable Genoma de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina Indicadores • Genes de resistencia • Factores de virulencia • Linajes genéticos	Tipo: Básico Diseño: No experimental – descriptivo. Muestra: 16 cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> metilino resistente Procedimiento: • Reactivación e identificación presuntiva • Confirmación del fenotipo SARM • Conservación se las cepas. • Extracción de ADN genómico mediante columnas de sílica. • Análisis de calidad y pureza del ADN. • Análisis de integridad del ADN. • Secuenciamiento del ADN mediante tecnología Nanopore (MinION R10.4.1). • Análisis bioinformático (Galaxy Europe; Porechop; NanoPlot; Flye; Minimap2/Racon; ABRicate con base de datos CARD y VFDB; Proksee). • Análisis filogenético y epidemiológico (MLST (PubMLST); SnapGene; MEGA11; iTOL; PHYLOViZ; Proksee).



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Sayda Luz CANCHO PACOTAYPE
RESOLUCIÓN DECANAL N° 119-2026-UNSCH-FCB-D

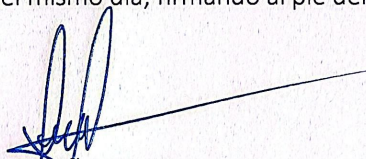
En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del día jueves treinta de julio del año dos mil veintiséis; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente encargado el Dr. Gilmar PEÑA ROJAS con Memorando N° 164-2026-UNSCH-FCB, de fecha veintidós de julio de 2026; a su vez (Miembro-Jurado), Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR (Miembro-Jurado), Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN (Miembro-Jurado), Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA (Miembro-Asesora) y actuando como secretaria docente encargada la Blga. Betsy Rocio AGUILAR ATME, con Memorando N° 169-2026-UNSCH(IN)-FCB con fecha veintidós de julio de dos mil veintiséis, para presenciar la sustentación de tesis titulada: Caracterización genómica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aislado del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024. Presentado por la Bachiller Sayda Luz CANCHO PACOTAYPE; el presidente (e) luego de verificar la documentación presentada, indicó a la secretaria docente (e) dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto de académico, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente (e) invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente (e) invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones correspondientes; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

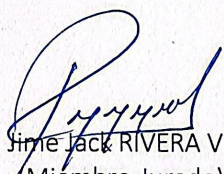
Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dr. Gilmar PEÑA ROJAS	17	16	17
Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR	18	17	18
Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN	18	18	18

PROMEDIO

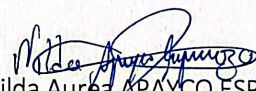
18

La sustentante alcanzó el promedio de dieciocho (18) aprobatorio. Acto seguido, el presidente (e) invitó el ingreso de la sustentante y el público asistente al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las una de la tarde del mismo día; firmando al pie del presente en señal de conformidad.


Dr. Gilmar PEÑA ROJAS
Presidente (e)
(Miembro-Jurado)


Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR
(Miembro-Jurado)


Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN
(Miembro-Jurado)


Dr. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA
(Miembro-Asesora)


Blga. Betsy Rocio AGUILAR ATME
Secretaria Docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

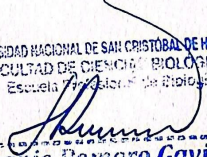
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 58-2026-FCB-D

Yo, SERAPIO ROMERO GAVILÁN, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Caracterización genómica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aislado del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024.**, por SAYDA LUZ CANCHO PACOTAYPE; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 6%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario Nº 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 23 de septiembre de 2026.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología

Dr. Serapio Romero Gavilán
DIRECTOR

Caracterización genómica de Staphylococcus aureus resistente a meticilina aislado del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024.

por SAYDA LUZ CANCHO PACOTAYPE

Caracterización genómica de Staphylococcus aureus resistente a meticilina aislado del personal de salud del Hospital de Apoyo Jesús Nazareno - Ayacucho, 2024.

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	6%	3%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	1%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
3	patents.google.com	1%
	Fuente de Internet	
4	hdl.handle.net	1%
	Fuente de Internet	
5	mobiroderic.uv.es	<1%
	Fuente de Internet	
6	Castro Cardozo, Betsy Esperanza. "Perfil biomolecular de aislamientos SARM con resistencia heterogénea a vancomicina (hVISA) de circulación en Latinoamérica", Universidad El Bosque (Colombia)	<1%
	Publicación	
7	eprints.uanl.mx	<1%
	Fuente de Internet	
8	Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León	<1%
	Trabajo del estudiante	
9	ciad.repositorioinstitucional.mx	<1%
	Fuente de Internet	
10	Alejandro Fenollar Penadés. "Estudio de la transmisión de resistencias a antibióticos mediante métodos moleculares en el sector avícola y su implicación para la salud pública", Universitat Politecnica de Valencia, 2020	<1%
	Publicación	
11	doku.pub	<1%
	Fuente de Internet	
12	repositorio.insp.mx:8080	<1%
	Fuente de Internet	
13	www.quimtia.com	<1%
	Fuente de Internet	

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo