

Resistencia a macrólidos en *Staphylococcus* de pacientes con COVID-19 en Santander

Research Article

Open access

Macrolide resistance in *Staphylococcus* from COVID-19 patients in Santander

Resistência a macrolídeos em *Staphylococcus* de pacientes com COVID-19 em Santander



Como citar este artículo:

Santos-Angarita Michael J, Arias Guerrero Monica Y, Parada-Diaz Andrea J; Bravo Granados Natalia A, Alfonso Vargas Nadia C, Trejos-Suárez Juanita. Resistencia a macrólidos en *Staphylococcus* de pacientes con COVID-19 en Santander. Revista Cuidarte. 2025;16(3):e4924. <https://doi.org/10.15649/cuidarte.4924>

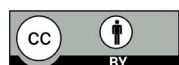
Highlights

- Alta prevalencia de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* resistentes a macrólidos en pacientes hospitalizados con COVID-19 en Santander, Colombia.
- Identificación predominante de genes de resistencia *ermB* y *ermT*, subrayando su importancia en la resistencia a macrólidos en cocos Grampositivos.
- *S. epidermidis*, típicamente no asociado a infecciones respiratorias, fue detectado en coinfecciones, sugiriendo un rol oportunista en entornos hospitalarios.
- Resultados respaldan la necesidad urgente de implementar prácticas de control de antibióticos en contextos de alta vulnerabilidad.

Revista Cuidarte

Rev Cuid. 2025; 16(3): e4924

<https://doi.org/10.15649/cuidarte.4924>



E-ISSN: 2346-3414

- Michael J. Santos-Angarita¹
- Monica Y. Arias Guerrero²
- Andrea J. Parada-Díaz³
- Natalia A. Bravo Granados⁴
- Nadia C. Alfonso Vargas⁵
- Juanita Trejos-Suárez⁶

1. Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Instituto de Investigaciones MASIRA. Bucaramanga, Colombia. E-mail: buc21171003@mail.udes.edu.co
2. Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Instituto de Investigaciones MASIRA. Bucaramanga, Colombia. E-mail: moni.arias@mail.udes.edu.co
3. Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Instituto de Investigaciones MASIRA. Bucaramanga, Colombia. E-mail: and.parada@mail.udes.edu.co
4. Universidad de Santander, Colección Biológica CBUDES. Bucaramanga, Colombia. E-mail: cbudes@udes.edu.co
5. Universidad de Boyacá, Facultad Ciencias de la Salud. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Tunja, Colombia. E-mail: ncalfonso@uniboyaca.edu.co
6. Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Instituto de Investigaciones MASIRA. Bucaramanga, Colombia. E-mail: juanita.trejos@udes.edu.co

Resumen

Introducción: El uso intensivo de macrólidos, como la azitromicina, durante la pandemia de COVID-19 ha favorecido el desarrollo de resistencia antimicrobiana en bacterias Grampositivas a través de múltiples mecanismos de resistencia, como la modificación del ARN ribosomal, bombas de expulsión e inactivación enzimática. **Objetivo:** Describir la prevalencia de genes de resistencia en bacterias aisladas de pacientes con COVID-19 en Santander, Colombia. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio descriptivo de 112 muestras almacenadas de hisopados nasofaríngeos, orofaríngeos y aspirados traqueales de pacientes hospitalizados con COVID-19 en 2020, de las cuales se aislaron 48 cepas Grampositivas. La resistencia a macrólidos y la presencia de los genes *ermA*, *ermB*, *ermT* y *mef(A/E)* se evaluaron mediante pruebas fenotípicas y moleculares. **Resultados:** *Staphylococcus aureus* fue la especie más prevalente con un 58,33% (28), seguida de *Staphylococcus epidermidis* con un 31,25% (15). Un 47,92% (23) de las cepas mostró resistencia fenotípica a la azitromicina, y un 81,25% (39) resistencia genotípica, con predominancia de *ermB* con el 58,33% (28) y *ermT* con el 45,83% (22), sin detección de *mef(A/E)*. **Discusión:** Estos hallazgos muestran una alta prevalencia de resistencia a macrólidos, lo cual puede estar relacionado con el uso extensivo de estos antibióticos durante la pandemia. **Conclusiones:** El aumento en la resistencia a macrólidos en bacterias Grampositivas representa un reto crítico para la salud pública, especialmente en el contexto de pandemias. Estos resultados subrayan la necesidad urgente de implementar medidas de control en el uso de antibióticos.

Palabras Clave: Coinfección; COVID-19; *Staphylococcus*; Macrólidos; Resistencia a Antibióticos

Recibido: 29 de enero de 2025

Aceptado: 28 de julio de 2025

Publicado: 17 de diciembre de 2025

*Correspondencia

Juanita Trejos-Suárez

E-mail: juanita.trejos@udes.edu.co

Macrolide resistance in *Staphylococcus* from COVID-19 patients in Santander

Abstract

Introduction: Intensive use of macrolides, such as azithromycin, during the COVID-19 pandemic has facilitated the development of antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria through multiple resistance mechanisms, including ribosomal RNA modification, efflux pumps, and enzymatic inactivation.

Objective: To describe the prevalence of resistance genes in bacteria isolated from COVID-19 patients in Santander, Colombia. **Materials and Methods:** A descriptive study was conducted on 112 stored samples from nasopharyngeal and oropharyngeal swabs and tracheal aspirates collected from hospitalized COVID-19 patients in 2020, from which 48 Gram-positive strains were isolated. Macrolide resistance and the presence of the *ermA*, *ermB*, *ermT*, and *mef(A/E)* genes were evaluated through phenotypic and molecular tests. **Results:** *Staphylococcus aureus* was the most prevalent species at 58.33% (28), followed by *Staphylococcus epidermidis* at 31.25% (15). A total of 47.92% (23) of the strains showed phenotypic resistance to azithromycin, and 81.25% (39) displayed genotypic resistance, with *ermB* being the most prevalent at 58.33% (28) and *ermT* at 45.83% (22), with no detection of *mef(A/E)*.

Discussion: These findings reveal a high prevalence of macrolide resistance, which may be related to the extensive use of these antibiotics during the pandemic. **Conclusions:** The increase in macrolide resistance among Gram-positive bacteria represents a critical public health challenge, especially in the context of pandemics. These results underscore the urgent need to implement control measures in antibiotic use.

Keywords: Co-infection; COVID-19; *Staphylococcus*; Macrolides; Antibiotic Resistance

Resistência a macrolídeos em *Staphylococcus* de pacientes com COVID-19 em Santander

Resumo

Introdução: O uso intensivo de macrolídeos, como a azitromicina, durante a pandemia de COVID-19 favoreceu o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em bactérias Gram-positivas por meio de múltiplos mecanismos de resistência, como modificação do RNA ribossômico, bombas de efluxo e inativação enzimática. **Objetivo:** Descrever a prevalência de genes de resistência em bactérias isoladas de pacientes com COVID-19 em Santander, Colômbia. **Materiais e Métodos:** Foi realizado um estudo descritivo com 112 amostras de cotonetes nasofaríngeo e orofaríngeo armazenadas e aspirados traqueais de pacientes hospitalizados com COVID-19 em 2020, dos quais 48 cepas Gram-positivas foram isoladas. A resistência a macrolídeos e a presença dos genes *ermA*, *ermB*, *ermT* y *mef(A/E)* foram avaliadas por testes fenotípicos e moleculares. **Resultados:** *Staphylococcus aureus* foi a espécie mais prevalente com 58,33% (28), seguido por *Staphylococcus epidermidis* com 31,25% (15). 47,92% (23) das cepas apresentaram resistência fenotípica à azitromicina e 81,25% (39) resistência genotípica, com predominância de *ermB* com 58,33% (28) e *ermT* com 45,83% (22), sem detecção de *mef(A/E)*. **Discussão:** Esses achados mostram uma alta prevalência de resistência a macrolídeos, o que pode estar relacionado ao uso extensivo desses antibióticos durante a pandemia. **Conclusões:** O aumento da resistência a macrolídeos em bactérias Gram-positivas representa um desafio crítico à saúde pública, especialmente no contexto de pandemias. Esses resultados ressaltam a necessidade urgente de implementar medidas de controle de antibióticos.

Palavras-Chave: Coinfecção; COVID-19; *Staphylococcus*; Macrolídeos; Resistência a Antibióticos

Introducción

Los macrólidos, como la azitromicina, eritromicina y claritromicina, son antibióticos fundamentales en el tratamiento de infecciones bacterianas. Estos compuestos hidrofóbicos ejercen un efecto bacteriostático al bloquear la síntesis de proteínas, mediante su unión a la peptidil transferasa del ácido ribonucleico ribosómico (ARNr) 23S en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano^{1,2}.

Durante la pandemia de COVID-19, el uso de macrólidos se intensificó considerablemente, especialmente el de la azitromicina, como parte de estrategias profilácticas y terapéuticas. En muchos casos, este uso fue inapropiado y contribuyó al incremento de la resistencia antimicrobiana a nivel global^{3,4}. En América Latina, se ha documentado una elevada automedicación con antibióticos, dificultando la gestión clínica de muchos de estos pacientes y favoreciendo el desarrollo de resistencia en patógenos prevalentes en la región⁵⁻⁷.

En bacterias Grampositivas, la resistencia a macrólidos se desarrolla principalmente a través de tres mecanismos: 1) modificación del sitio blanco en el ARNr 23S, 2) expulsión activa mediante bombas de eflujo y 3) inactivación enzimática, aunque esta última es menos frecuente^{8,9}. Estos mecanismos, que han sido asociados a genes como *ermA*, *ermB*, *ermT* y *mef(A/E)*, limitan las opciones de tratamiento y representan un desafío en entornos hospitalarios, particularmente en pacientes vulnerables.

Estudios internacionales han identificado una alta prevalencia de genes de resistencia a macrólidos en *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, como se ha observado en Perú y Chile¹⁰⁻¹². Sin embargo, en Colombia, existen pocos datos epidemiológicos sobre este tema, lo cual dificulta el desarrollo de estrategias de control eficaces.

Este estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de los genes *ermA*, *ermB*, *ermT* y *mef(A/E)* en cepas Grampositivas aisladas de pacientes hospitalizados con COVID-19 en Santander, Colombia. Estos hallazgos contribuirán a una mejor comprensión del panorama local de resistencia y apoyarán el desarrollo de estrategias de vigilancia y control más efectivas en el contexto de salud pública.

Materiales y Métodos

Obtención y selección de las muestras: Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en el que se seleccionaron aleatoriamente 112 muestras de un total de 2072, almacenadas en el marco del programa de vigilancia epidemiológica de COVID-19 y recolectadas entre julio de 2020 y enero de 2021 en diversos municipios del departamento de Santander, Colombia. Las muestras, que incluyeron hisopados nasofaríngeos, orofaríngeos y aspirados traqueales, fueron obtenidas de pacientes hospitalizados de todas las edades y sexos para su diagnóstico de COVID-19 y la recolección se efectuó bajo el Convenio Especial de Cooperación N°065 entre el Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia y la Universidad de Santander.

Para el análisis, se seleccionaron cultivos con crecimiento bacteriano significativo, evidenciado en al menos dos cuadrantes de la placa de agar y en los que el patógeno primario predominó sobre la microbiota acompañante. No se excluyeron pacientes en tratamiento antimicrobiano o con uso previo de antibióticos antes del diagnóstico de COVID-19, ya que esta información no estaba disponible en el proceso de vigilancia epidemiológica.

El tamaño de la muestra fue calculado utilizando el software IBM® SPSS® Statistics versión 26.0, con un nivel de confianza del 95%, un margen de error del 5% y una prevalencia del 31%, basada en los datos de coinfección bacteriana reportados por Buehrle *et al.* (2020)¹³.

Cultivos microbiológicos y aislamientos: Los hisopados o aspirados se cultivaron directamente en Agar Sangre al 5% y Agar Chocolate, incubados en atmósfera enriquecida con 5% de CO₂, y en Agar Sal Manitol en condiciones aeróbicas, a 37°C durante 24-48 horas. Para garantizar la calidad del crecimiento, se sembraron cepas de referencia como control positivo para garantizar la eficacia de los medios y las condiciones de incubación, verificando que las condiciones de crecimiento fueran óptimas. La recuperación del cultivo se consideró exitosa cuando el crecimiento bacteriano cubrió al menos dos cuadrantes de la placa, mostrando un predominio del patógeno sobre la microbiota de fondo. A cada cepa recuperada se le realizó un control de calidad para evaluar su pureza y viabilidad, incluyendo coloración de Gram y subcultivos en Agar Sangre al 5% para obtener un cultivo axénico, incubado durante 24 horas a 37°C.

Identificación de las cepas bacterianas: La identificación fenotípica de los cocos Grampositivos se llevó a cabo mediante pruebas bioquímicas (catalasa, coagulasa y Rapid Staph Plus System) y características morfológicas observadas en la tinción de Gram. La identificación genotípica se enfocó en la detección de genes específicos para *Staphylococcus* debido a que no se obtuvieron resultados aplicables a *Streptococcus*.

Para la identificación genotípica el ácido desoxirribonucleico (ADN) se extrajo a través de lisis térmica con un pretratamiento de EDTA 10 mM (pH 8.0) y Proteinasa K 1 mg/mL, tras la estandarización del protocolo con cepas control de referencia (*S. aureus subsp. aureus* ATCC 25923 y *S. epidermidis* ATCC 35984). La calidad y concentración del ADN extraído se evaluaron utilizando un espectrofotómetro NanoDrop™ 2000c (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.).

La caracterización molecular de las cepas bacterianas se realizó mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple, utilizando los genes *nuc* que codifican para termonucleasas ampliamente conservadas en las principales especies de *Staphylococcus*¹⁴. Las reacciones de PCR se prepararon en un volumen final de 50 µL, conteniendo Taq 2X PCR MasterMix (Applied Biological Materials Inc., Canada), 0,5 µM de cada primer, 10 ng de ADN y agua libre de DNAsas y RNAsas.

Los fragmentos de ADN amplificados se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2%, con intercalador Midori Green Advance™ (Nippon Genetics Europe GmbH, Alemania), a 90V durante 70 minutos en un tampón TAE 1X (Tris-Acetate-EDTA).

Resistencia fenotípica a azitromicina. La resistencia fenotípica se evaluó mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer en agar Mueller-Hinton (Thermo Scientific™ Oxoid™, EE. UU.), utilizando discos de 15 µg de azitromicina (AZM - Thermo Scientific™ Oxoid™, EE. UU.), siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI M100-Ed34:2024¹⁵. Este método fue seleccionado por su amplio uso en estudios de vigilancia epidemiológica y por ser recomendado para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Aunque se reconoce que puede tener menor sensibilidad en comparación con métodos como la microdilución, su estandarización, bajo costo y reproducibilidad lo hacen adecuado para estudios de carácter exploratorio, como es este caso. Las placas se incubaron a 37°C durante 18-24 horas antes de medir los diámetros de inhibición. Los puntos de corte para la interpretación de los diámetros de los halos de inhibición fueron los siguientes: sensible (≥15 mm), sensibilidad intermedia (14-17 mm) y resistente (≤8 mm).

Caracterización molecular de los genes de resistencia a macrólidos: La caracterización se realizó mediante PCR utilizando protocolos sin modificaciones previamente descritos en la literatura para *ermA* y *ermB*¹⁶, *ermT*¹⁷ y *mef* (A/E)¹⁸. Las mezclas de reacción de PCR se prepararon en un volumen final de 50 µL, con Taq 2X PCR MasterMix (Applied Biological Materials Inc., Canadá), 0,5 µM de cada primer, 10 ng de ADN y agua libre de DNAsas y RNAsas. Los fragmentos amplificados se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2% con intercalador Midori Green Advance™ (Nippon Genetics Europe GmbH, Alemania), a 90 V durante 70 minutos en tampón TAE 1X (Tris-Acetate-EDTA).

Secuenciación y análisis bioinformáticos: Los genes amplificados se enviaron para secuenciación mediante el método express-seq en la empresa Gencell Pharma©, empleando los mismos primers empleados en las reacciones de PCR para asegurar la especificidad de las secuencias generadas. Las lecturas obtenidas en formato .ab1 (Forward y Reverse) fueron sometidas a un control de calidad inicial en FinchTV (Geospiza, Inc., EE. UU.), evaluando la claridad y precisión de los picos de fluorescencia y verificando la integridad de cada secuencia. Este análisis preliminar permitió identificar posibles artefactos de secuenciación, asegurando así que solo las lecturas de alta calidad avanzaran al procesamiento siguiente. Posteriormente, en el servidor Galaxy Europa (<https://usegalaxy.eu/>), las secuencias en formato .ab1 fueron convertidas a formato FASTQ y se aplicaron herramientas de análisis de calidad como FastQC para revisar los puntajes de calidad por base (Q20 y Q30), la distribución de contenido GC, la presencia de adaptadores y la longitud promedio de las lecturas. Para obtener la secuencia completa del amplicón, las lecturas Forward y Reverse se ensamblaron utilizando CAP3, generando un contig de alta precisión que representó el fragmento amplificado. La inspección manual en FinchTV del área de solapamiento entre lecturas Forward y Reverse permitió descartar discrepancias en el ensamblaje.

La secuencia ensamblada fue luego analizada mediante BLASTn¹⁹ para la detección de variantes específicas previamente descritas, configurando parámetros de e-value y cobertura mínima que aseguraran una identificación precisa de homología. Para caracterizar genes de resistencia, se utilizaron las bases de datos CARD²⁰, ResFinder 4.0^{21,22} y ARG-ANNOT²³, permitiendo una evaluación exhaustiva de las variantes de resistencia y los mecanismos asociados a mutaciones en los genes de interés.

Análisis estadístico: Se emplearon la prueba exacta de Fisher o el chi cuadrado de Pearson para evaluar la asociación entre resistencia fenotípica y genotípica, seleccionando la prueba adecuada en función de la frecuencia de las tablas de contingencia, especialmente en casos de frecuencias bajas. Además, se calcularon las frecuencias de distribución de los genes de resistencia utilizando el software IBM® SPSS® Statistics, versión 26.0.

Consideraciones éticas: Este estudio no involucró experimentación directa en seres humanos o animales. Las muestras bacterianas utilizadas fueron recolectadas de hisopados nasofaríngeos, orofaríngeos y aspirados traqueales de pacientes hospitalizados durante el 2020 como parte del programa de vigilancia epidemiológica de COVID-19. Estas muestras fueron almacenadas a -80°C en la Universidad de Santander bajo estándares de bioseguridad y con la autorización del Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia, en el marco del Convenio Especial de Cooperación N°065, para ser empleadas en investigaciones sobre coinfección bacteriana. Dado que las muestras se obtuvieron en actividades de vigilancia sanitaria, no fue necesario obtener el consentimiento informado de los pacientes, conforme a las normativas nacionales e internacionales de ética en investigación, incluyendo las guías del CIOMS. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Santander, según consta en el acta No. 006 del 8 de marzo de 2022, garantizando

el cumplimiento de los principios bioéticos de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia. Las cepas aisladas fueron depositadas en la colección biológica de microorganismos de la Universidad de Santander, CBUDES (RNC:280; WDCM 1264). Los datos que respaldan los hallazgos de este estudio están disponibles en un repositorio público e institucional en Figshare²⁴, preservando la confidencialidad de los participantes a través de una versión anonimizada del conjunto de datos. Este repositorio incluye archivos en formato Excel y otros documentos relevantes que facilitan la revisión y el análisis detallado de los resultados.

Resultados

De las 112 muestras analizadas en el estudio, se aislaron 48 cocos Grampositivos provenientes de 30 pacientes de nacionalidad colombiana, hospitalizados y diagnosticados con COVID-19 en diversos municipios del departamento de Santander, Colombia. La distribución y frecuencia de los pacientes según el municipio de hospitalización se observa en la figura 1. La mediana de la edad de los pacientes fue de 51,5 años (I.C. 95%: 39,66 – 56,26), encontrándose una mínima de 6 años y una máxima de 87 años. En términos de supervivencia, el 90,00%(27) de los pacientes se encontraba con vida, el 6,66%(2) había fallecido y el 3,33%(1) presentaba un estado desconocido.

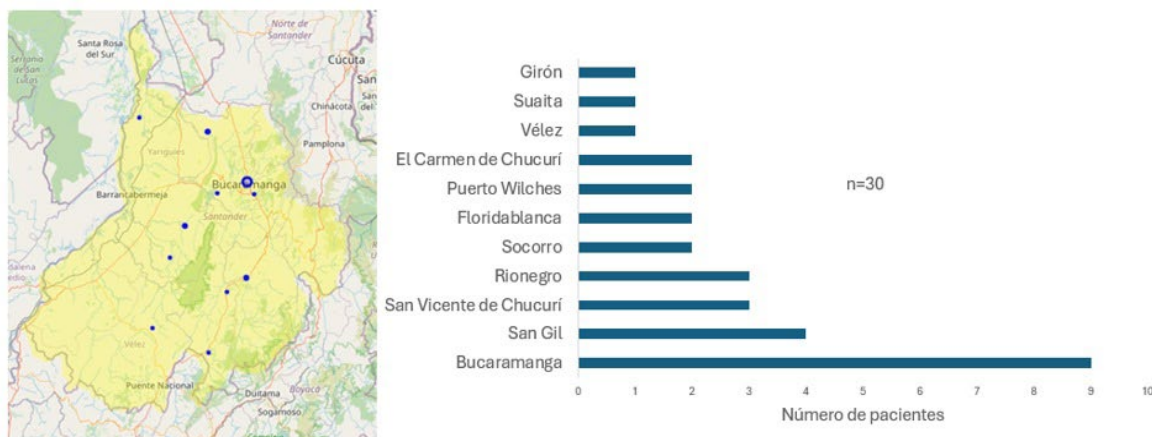


Figura 1. Distribución geográfica y frecuencia de pacientes hospitalizados con COVID-19 en Santander, Colombia

El mapa de la izquierda muestra la ubicación de cada municipio con pacientes a los que se les aislaron bacterias Grampositivas, mientras que la gráfica de barras a la derecha indica el número de pacientes por municipio.

Obtención de muestras y caracterización microbiana

De las 112 muestras analizadas, se aislaron 48 cocos Grampositivos provenientes de 30 pacientes, distribuidos en *S. aureus* 58,33%(28), *S. epidermidis* 31,25%(15); otros *Staphylococcus* aislados fueron *S. chromogenes* 2,08%(1), *S. saprophyticus* 2,08%(1), *S. hominis ss. hominis* 2,08%(1), *S. hemolyticus* 2,08%(1) y *S. intermedius* 2,08%(1). Estos últimos pudieron ser clasificados a nivel de especie mediante RapID ONE System. La identificación de *S. aureus* y *S. epidermidis* se validó mediante PCR utilizando primers específicos para las bacterias de interés (figura 2).

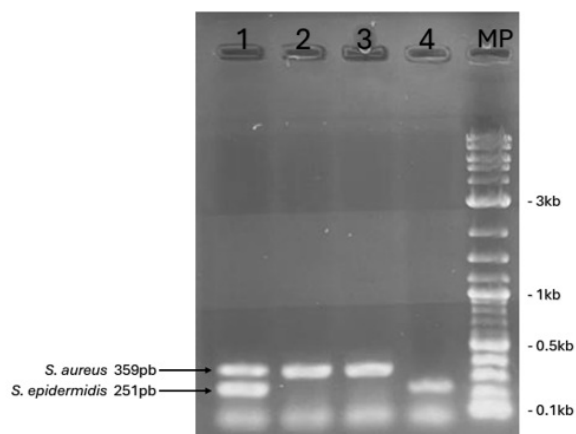


Figura 2. Caracterización por PCR de *S. aureus* y *S. epidermidis* mediante la detección del gen *nuc*.

Gel de agarosa al 1,2%. MP: Marcador de peso molecular 1kb Plus DNA Ladder (NEB, EE. UU.). Carril 1: Control positivo para el gen *nuc* en *S. aureus* y *S. epidermidis*. Carriles 2-3: Muestras positivas para el gen *nuc* en *S. aureus*. Carril 4: Muestra positiva para el gen *nuc* en *S. epidermidis*.

Resistencia a azitromicina

De las 48 cepas de *Staphylococcus* analizadas, el 47,92%(23) mostró resistencia a la azitromicina, distribuidas en *S. epidermidis* con un 16,67%(8), *S. aureus* con un 20,83%(10), *S. chromogenes* 2,08%(1), *S. saprophyticus* 2,08%(1), *S. hominis ss. hominis* 2,08%(1), *S. hemolyticus* 2,08%(1) y *S. intermedius* 2,08%(1). Adicionalmente, el 4,16%(2) de las cepas de *S. aureus* presentó resistencia intermedia.

Caracterización de genes de resistencia

Un total de 81,25%(39) de los aislamientos presentaron al menos uno de los genes de resistencia analizados. El gen con mayor prevalencia fue *ermB*, detectado en 58,33%(28) de las muestras positivas, seguido de *ermT* en 45,83%(22) y *ermA* en 6,25%(3). El gen *mef(A/E)* no se encontró en ninguna de las cepas estudiadas. La distribución de los genes de resistencia por especie bacteriana se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución de *ermA*, *ermB*, *ermT* en las especies de *Staphylococcus*. n= 53

Microorganismo	<i>ermA</i> (3) %(n)	<i>ermB</i> (28) %(n)	<i>ermT</i> (22) %(n)
<i>S. aureus</i>	0	64,29 (18)	40,91 (9)
<i>S. epidermidis</i>	100 (3)	21,42 (6)	40,91 (9)
<i>S. saprophyticus</i>	0	3,57 (1)	0
<i>S. hemolyticus</i>	0	3,57 (1)	4,54 (1)
<i>S. hominis ss. hominis</i>	0	3,57 (1)	4,54 (1)
<i>S. chromogenes</i>	0	3,57 (1)	4,54 (1)
<i>S. intermedius</i>	0	0	4,54 (1)

Los genes de resistencia identificados se agrupan en seis patrones. El patrón más prevalente fue *ermB* con 33,33%(16), seguido por *ermB-ermT* con 20,83%(10) y *ermT* con 20,83%(10). Los patrones *ermA-ermT*, *ermA-ermB* y *ermA-ermB-ermT* se encontraron cada uno en 2,08%(1) de las muestras. La distribución de estos patrones de resistencia en las especies bacterianas identificadas se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Patrones de resistencia hallados en las cepas bacterianas. n = 39

Microorganismo	<i>ermB</i> % (n)	<i>ermB-ermT</i> % (n)	<i>ermT</i> % (n)	<i>ermA-ermT</i> % (n)	<i>ermA-ermB</i> % (n)	<i>ermA-ermB-ermT</i> % (n)
<i>S. aureus</i>	87,50 (14)	40,00 (4)	50,00 (5)	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	6,25 (1)	30,00 (3)	30,00 (3)	100 (1)	100 (1)	100 (1)
<i>S. saprophyticus</i>	6,25 (1)	0	10,00 (1)	0	0	0
<i>S. hemolyticus</i>	0	10,00 (1)	0	0	0	0
<i>S. hominis ss. hominis</i>	0	10,00 (1)	0	0	0	0
<i>S. chromogenes</i>	0	10,00 (1)	0	0	0	0
<i>S. intermedius</i>	0	0	10,00 (1)	0	0	0
Total	100 (16)	100 (10)	100 (10)	100 (1)	100 (1)	100 (1)

La evaluación geográfica de los patrones de resistencia a macrólidos en pacientes hospitalizados con COVID-19 reveló una distribución notable de los perfiles de resistencia en especies de *Staphylococcus* según el municipio de residencia. Entre los más destacados, *ermB* se identificó en tres de los pacientes de Bucaramanga y dos de El Carmen de Chucurí, el patrón *ermB-ermT* en Bucaramanga y Floridablanca, y *ermT* se observó principalmente en Bucaramanga. Asimismo, se detectaron combinaciones menos comunes, como *ermA-ermT* en San Gil y *ermA-ermB-ermT* en Puerto Wilches.

Resistencia Genotípica vs Resistencia Fenotípica

El análisis de la asociación entre la resistencia genotípica y fenotípica mostró que el 47,92%(23) de las especies de *Staphylococcus* eran resistentes a la azitromicina; el 39,58%(19) eran resistentes y presentaban al menos un gen de resistencia (*ermB* y/o *ermT*). De estos, *S. aureus* y *S. epidermidis* representaron el 18,75%(9) y 12,50%(6) respectivamente; *Staphylococcus* spp. representó el 8,33%(4).

La presencia de *ermT* se asoció significativamente con *S. aureus* y la presencia de *ermA* con *S. epidermidis* ($p < 0,05$), sin hallarse asociación con otras especies aisladas en el estudio (tabla 3). En cuanto a la relación entre los genes de resistencia y la resistencia fenotípica a la azitromicina por especie, *S. aureus* y *ermT* obtuvieron una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabla 3. Relación entre especies y resistencia fenotípica y genotípica. n = 19

Microorganismos	Resistencia Fenotípica % (n)	Genes					
		<i>ermA</i> % (n)	Valor p	<i>ermB</i> % (n)	Valor p	<i>ermT</i> % (n)	Valor p
<i>S. aureus</i>	20,83 (10)	0	0,07 ^{a*} 1 ^{a**}	64,29 (18)	0,18 ^{b*} 1 ^{**a}	31,90 (7)	0,04 ^{b*} 0,03 ^{a**}
<i>S. epidermidis</i>	18,75 (8)	100 (3)	0,03 ^{a*} 0,55 ^{a**}	21,42 (6)	0,14 ^{b*} 0,61 ^{a**}	50,00 (11)	0,30 ^{b*} 0,35 ^{a**}

a: Valor de p por la prueba exacta de Fisher. b: Valor de p por Chi cuadrado de Pearson. *: Relación entre especie bacteriana y gen de resistencia a macrólidos. **: Intrarelación de especie bacteriana y resistencia fenotípica y gen de resistencia a macrólidos. Los valores de p se presentan a un nivel de significancia menor de 0,05, y los valores significativos están resaltados en negrita.

Los fragmentos de ADN amplificados fueron secuenciados exitosamente, obteniéndose secuencias de alta calidad con valores predominantes de Q30, lo que indica una precisión superior al 99.9%. La longitud de las secuencias coincidió con el tamaño esperado de los genes objetivo, tras el recorte de las bases de baja calidad en los extremos. Las lecturas forward y reverse se ensamblaron mediante el software CAP3, generando contigs únicos para cada fragmento, cuya integridad fue confirmada por inspección manual en la región de solapamiento. Los análisis BLAST de las secuencias ensambladas confirmaron la identidad de los genes de resistencia *ermB*, *ermT* y *ermA*, No se observaron mutaciones o polimorfismos relevantes en las secuencias analizadas, indicando homogeneidad en los genes de resistencia detectados. Estos resultados aportan evidencia molecular sobre la presencia y conservación de genes de resistencia en las cepas estudiadas.

Discusión

Este estudio evidenció una alta prevalencia de *S. aureus* y *S. epidermidis* resistentes a macrólidos en pacientes hospitalizados con COVID-19 en Santander, siendo los genes *ermB* y *ermT* los más frecuentes. Esto es consistente con su rol en la resistencia a macrólidos en cocos Grampositivos, al bloquear el sitio de unión en el ribosoma bacteriano y limitar así las opciones terapéuticas en infecciones secundarias en hospitales²⁵. La falta de una correlación significativa entre los genes de resistencia y la resistencia fenotípica sugiere la posible influencia de otros mecanismos, como los fenotipos cMLSb e iMLSb²⁶, lo cual justifica futuros estudios para profundizar en esta relación.

Una limitación reconocida del presente estudio es el uso exclusivo del método de difusión en agar para la evaluación de la resistencia fenotípica a azitromicina, técnica que, si bien está estandarizada por CLSI M100-Ed34:2024¹⁵ y es ampliamente usada en vigilancia, puede subestimar ciertos perfiles de resistencia detectables por métodos cuantitativos como la microdilución. No obstante, dado que el objetivo del estudio no fue comparar técnicas, sino caracterizar perfiles de resistencia en el contexto de vigilancia epidemiológica, se priorizó el uso de métodos reproducibles y factibles en condiciones operativas reales de laboratorio. Esta elección metodológica responde al enfoque práctico del estudio, pero se recomienda que investigaciones futuras complementen estos hallazgos con métodos de referencia que permitan una evaluación más precisa de la CMI.

El uso extenso de antibióticos durante la pandemia de COVID-19 ha acelerado la resistencia a macrólidos a nivel mundial^{27,28}. Los hallazgos del presente estudio, similares a estudios en Nigeria donde Bamigbola et al.²⁹ reportó una prevalencia de *S. aureus* del 32.4% y *S. saprophyticus* del 31,50% en coinfecciones asociadas a COVID-19; y de Egipto donde Hamdy et al.³⁰ describieron una

prevalencia notable de *S. aureus* y *S. epidermidis* con *ermB* y *ermT*, aunque difieren en la presencia de *mef(A/E)*, no detectado en las muestras analizadas en esta investigación. Esto sugiere una posible variación geográfica en la distribución de estos genes, influenciada por características específicas de las especies y los entornos clínicos.

En América Latina, aunque existen pocos estudios, trabajos en Perú^{11,31} y Chile¹² han reportado prevalencias similares de genes de resistencia en *Staphylococcus*, con diferencias en las especies y fenotipos involucrados. La ausencia de *S. saprophyticus* en este estudio, a diferencia de Nigeria²⁹ es coherente con su asociación principalmente con infecciones urinarias. Estos resultados subrayan la importancia de una vigilancia constante en la región para caracterizar las variaciones en los patrones de resistencia y adaptar estrategias de control a cada área.

Aunque *S. epidermidis* generalmente no se asocia con infecciones respiratorias, su presencia en pacientes hospitalizados con COVID-19 sugiere un posible rol oportunista en coinfecciones hospitalarias. Esta observación resalta la importancia de investigar más a fondo su papel en el tracto respiratorio y su interacción con la microbiota del huésped, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o expuestos a tratamientos prolongados. Comprender esta dinámica podría revelar nuevos factores de riesgo en entornos clínicos y contribuir al desarrollo de estrategias de control de infecciones más eficaces, considerando la capacidad de *S. epidermidis* para adaptarse y persistir en ambientes hospitalarios³².

Si bien este estudio no analizó variables sociodemográficas detalladas, como determinantes sociales de salud o comorbilidades, estos factores podrían influir en los patrones de resistencia y merecen consideración en investigaciones futuras. Además, la falta de datos suficientes para correlacionar patrones de resistencia con ubicaciones geográficas específicas (**área rural o urbana**) destaca la necesidad de implementar sistemas de vigilancia más robustos en Santander para orientar intervenciones locales.

A pesar de que las muestras fueron recolectadas entre 2020 y 2021, estos resultados, obtenidos en 2024, siguen siendo relevantes. Ofrecen una perspectiva sobre cómo la pandemia y el uso intensivo de macrólidos han impactado el desarrollo de resistencia en el corto y mediano plazo. Estos datos permiten identificar tendencias de resistencia que podrían haberse consolidado, ofreciendo una base para formular políticas actuales de uso racional de antibióticos y servir como referencia para futuros estudios en Colombia y la región. La detección de genes *erm* en varios municipios sugiere una distribución amplia de estos mecanismos de resistencia, posiblemente impulsada por el uso de antibióticos en entornos hospitalarios y comunitarios. Esto subraya la necesidad de ver la resistencia antimicrobiana como un problema regional que exige estrategias de vigilancia y control específicas para las necesidades locales.

Conclusiones

Este estudio aporta evidencia sobre la prevalencia de *S. aureus* y *S. epidermidis* en pacientes hospitalizados con COVID-19, resaltando el papel de estos como patógenos oportunistas en entornos clínicos. La identificación de los genes de resistencia a macrólidos *ermB* y *ermT* destaca la preocupación por el incremento de la resistencia antibiótica, lo que podría complicar el manejo de infecciones en pacientes vulnerables. Aunque *S. epidermidis* no suele asociarse con infecciones respiratorias, su presencia en este contexto sugiere la necesidad de investigar su papel en coinfecciones hospitalarias y su interacción con la microbiota del huésped. La alta prevalencia de estos genes de resistencia

enfatisa la urgencia de implementar un uso más controlado de antibióticos y estrategias efectivas de control de infecciones en entornos de salud.

Conflictos de Interés: Los investigadores declaran no tener conflictos de interés en relación con este estudio.

Financiación: Este estudio fue financiado en el marco de la Convocatoria Interna de Proyectos de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación 2021-2022 de la Universidad de Santander, bajo el Acta de Inicio CIF31-22. La Universidad de Boyacá participó como entidad co-ejecutora en el marco de la Red Nexus.

Agradecimientos: Agradecemos a la red iberoamericana RE-ESKAPE 221RT0113-Cyted por el apoyo en el desarrollo de este estudio. Agradecemos también al Instituto Nacional de Salud (INS), a la Universidad de Santander, a la Universidad de Boyacá, y al Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnológicas (LIBB) de la Universidad de Santander por su financiamiento, colaboración y soporte técnico. Extendemos nuestro agradecimiento a todas aquellas personas que han aportado en la lectura crítica de este manuscrito, cuya revisión contribuyó significativamente a la calidad del trabajo.

Referencias

1. Li J, Liu L, Zhang H, Guo J, Wei X, Xue M, et al. Severe problem of macrolides resistance to common pathogens in China. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1181633. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1181633>
2. Vázquez-Laslop N, Mankin AS. How macrolide antibiotics work. *Trends Biochem Sci*. 2018;43(9):668–84. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.06.011>
3. Sulayyim HJA, Ismail R, Hamid AA, Ghafar NA. Antibiotic Resistance during COVID-19: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(19):11931. <https://doi.org/10.3390/ijerph191911931>
4. Valladales-Restrepo LF, Constain-Mosquera CA, Hoyos-Guapacha MA, Hoyos-Guapacha KL, Gaviria-Mendoza A, Machado-Duque ME, et al. Indicación y prescripción de macrólidos en una población colombiana. *Biomédica*. 2022;42(2):302–14. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6116>
5. Quiñones-Laveriano DM, Soto A, Quilca-Barrera L. Frequency of coinfection by respiratory pathogens and its impact on the prognosis of patients with COVID-19. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*. 2021;21(3):617–29. <https://doi.org/10.25176/RFMH.v21i3.3520>
6. Lucien MAB, Canarie MF, Kilgore PE, Jean-Denis G, Fénélon N, Pierre M, et al. Antibiotics and antimicrobial resistance in the COVID-19 era: Perspective from resource-limited settings. *Int J Infect Dis*. 2021;104:250–4. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.12.087>
7. Zavala-Flores E, Salcedo-Matienzo J. Medicación prehospitalaria en pacientes hospitalizados por COVID-19 en un hospital público de Lima-Perú. *Acta Médica Peruana*. 2020;37(3):393–5. <https://doi.org/10.35663/amp.2020.373.1277>
8. Mikłasińska-Majdanik M. Mechanisms of resistance to macrolide antibiotics among *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(11):1406. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111406>
9. Mlynarczyk-Bonikowska B, Kowalewski C, Krolak-Ulinska A, Marusza W. Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15):8088. <https://doi.org/10.3390/ijms23158088>
10. Sarjana Safain K, Bhuyan G, Hassan Hasib S, Islam M, Mahmud-Un-Nabi M, Sultana R, et al. Genotypic and phenotypic profiles of antibiotic-resistant bacteria isolated from hospitalised patients in Bangladesh. *Tropical Medicine & International Health*. 2021;26(7):720–9. <https://doi.org/10.1111/tmi.13584>

11. **Pulido-Colina A, Soto Pastrana J, Valencia-Bazalar E, Zavaleta Apestegui M.** Caracterización molecular de genes de virulencia (*lmb*, *bca* y *rib*) y de resistencia a macrólidos (*ermB*, *ermTR* y *mefA*) en aislamientos clínicos de *Streptococcus agalactiae*. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2022;38(4):615–20. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.384.8726>
12. **Quezada-Aguiluz M, Aguayo-Reyes A, Carrasco C, Mejías D, Saavedra P, Mella-Montecinos S, et al.** Phenotypic and genotypic characterization of macrolide, lincosamide and Streptogramin B Resistance among Clinical Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in Chile. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(8):1000. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081000>
13. **Buehrle D, Decker B, Wagener M, Adalja A, Singh N, McEllistrem M, et al.** Antibiotic consumption and stewardship at a hospital outside of an early Coronavirus Disease 2019 Epicenter. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(11):e01011-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.01011-20>
14. **Hirota S, Sasaki T, Kuwahara-Arai K, Hiramatsu K.** Rapid and accurate identification of human-associated *Staphylococci* by use of multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011;49(10):3627. <https://doi.org/10.1128/JCM.00488-11>
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** M100 Ed34 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 34th Edition [Internet] 2024 [cited 2024 Nov 2] Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
16. **Pérez-Trallero E, Montes Milagrosa, O, Tamayo E, García-Arenzana J, Marimón J.** Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pyogenes* isolates displaying the MLSB phenotype of macrolide resistance in Spain, 1999 to 2005. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007;51(4):1228–33. <https://doi.org/10.1128/AAC.01054-06>
17. **Coba Cárdenas JE.** Caracterización Molecular de *Enterococcus faecium* multirresistentes causantes de infecciones en sangre en un Hospital Universitario del norte de España [Tesis Máster en Biología Molecular y Biomédica] España: Universidad de Cantabria; 2017. <http://hdl.handle.net/10902/12438>
18. **Euler CW, Ryan PA, Martin JM, Fischetti VA.** M. Spyl, a DNA Methyltransferase Encoded on a *mefA* Chimeric Element, Modifies the Genome of *Streptococcus pyogenes*. *Journal of Bacteriology*. 2006;189(3):1044. <https://doi.org/10.1128/JB.01411-06>
19. **Altschul S, Gish W, Miller W, Myers E, Lipman D.** Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*. 1990;215(3):403–10. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
20. **Alcock BP, Huynh W, Chalil R, Smith KW, Raphenya AR, Wlodarski MA, et al.** CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(D1):D690–9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
21. **Bortolaia V, Kaas R, Ruppe E, Roberts M, Schwarz S, Cattoir V, et al.** ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(12):3491–500. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>
22. **Clausen PTLC, Aarestrup FM, Lund O.** Rapid and precise alignment of raw reads against redundant databases with KMA. *BMC Bioinformatics*. 2018;19(1):307. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2336-6>
23. **Gupta SK, Padmanabhan BR, Diene SM, Lopez-Rojas R, Kempf M, Landraud L, et al.** ARG-ANNOT, a New bioinformatic tool to discover antibiotic resistance genes in bacterial genomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014;58(1):212. <https://doi.org/10.1128/AAC.01310-13>
24. **Trejos-Suárez, J, Santos Angarita M, Arias Guerrero M, Parada Diaz A, Bravo Granados N, Alfonso Vargas N.** Macrolide resistance genes in Gram-positive bacteria from COVID-19 patients: Metadata and Database. 2024. *Figshare V3*. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.27542595.v3>
25. **Petinaki E, Papagiannitsis C.** Resistance of *Staphylococci* to macrolides-lincosamides-streptogramins B (MLSB): Epidemiology and mechanisms of resistance. In: *Staphylococcus aureus*. IntechOpen 2018 <https://doi.org/10.5772/intechopen.75192>

26. **Stahl JP.** Lincosamidas. *EMC-Tratado de Medicina*. 2017;21(4):1–4. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(17\)86925-7](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(17)86925-7)
27. **Besharati R, Ajoudanifar H, Ghasemzadeh-Moghaddam H, Azimian A.** Increasing antimicrobial resistance of Gram-positive cocci in the nostrils of health care workers in the Post-COVID-19 Era Compared to Pre-COVID-19 Era in North Khorasan, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2023;16(4):e135551. <https://doi.org/10.5812/jjm-135551>
28. **Amodio E, Pizzo S, Vella G, De Francisci V, Distefano SA, Giambelluca E, et al.** Increase of multidrug-resistant bacteria after the COVID-19 pandemic in a major teaching Hospital in Sicily (2018-2021). *Int J Antimicrob Agents*. 2024;63(5):107123. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2024.107123>
29. **Bamigbola F, Raheem T, Fowora M, Adesina F.** Detections of *mefA*, *ermB*, and *mphA* macrolides resistant genes in bacteria isolated from COVID-19 patients from selected health facilities in Ibadan, Nigeria. *Advances in Microbiology*. 2023;13(2):106–17. <https://doi.org/10.4236/aim.2023.132007>
30. **Hamdy A, Marciniak T, Aloseqely M, Ziebuhr W, Abouelmagd E, Abouelfetouh A.** Phenotypic and genotypic characterization of commensal *Staphylococci* isolated from young volunteers in Alexandria, Egypt. *Sci Rep*. 2024;14(1):14850. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60924-8>
31. **Charnogusky C, Gil A, Ecker L, Cornejo R, Rios S, Ochoa MR, et al.** Prevalence of nasopharyngeal carriage of macrolide and lincosamide resistance genes among a household-based cohort of children and adults in a peri-urban community in Peru. *Open Forum Infectious Diseases*. 2023;10(2):ofad500.2077. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofad500.2077>
32. **Widerström M.** Commentary: Significance of *Staphylococcus epidermidis* in health care-associated infections, from contaminant to clinically relevant pathogen: This is a wake-up call! *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(7):1679–81. <https://doi.org/10.1128/jcm.00743-16>