

## PORTACIÓN NASAL DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTES EN POBLACIONES DE LA COMUNIDAD

NICOLÁS LÓPEZ, CECILIA PUIG ORGAZ, RODOLFO NOTARIO,\* TELMA GAMBANDÉ, MARÍA ISABEL LUCIANO, NOEMÍ BORDA.

Universidad Abierta Interamericana, Rosario; CIBIC, Rosario, Argentina.

### Resumen

*Staphylococcus aureus* (SA) causa infecciones graves. Las debidas a cepas resistentes a meticilina representan un desafío terapéutico. Actualmente hay un aumento de casos de infecciones de piel y tejidos blandos con inusitada gravedad debidas a *S. aureus* meticilinoresistentes adquiridos en la comunidad (SAMR AC) pero se desconoce la tasa de colonización de la población sana en nuestro medio. El propósito de este trabajo fue determinar la portación nasal en grupos de deportistas y personas que habitan en residencias de ancianos. Se tomaron hisopados nasales de 332 personas, 180 alojados en 4 residencias de ancianos y 152 de 7 grupos de deportistas, los cuales fueron extraídos, conservados y cultivados por los métodos convencionales. La caracterización molecular fue efectuada por PCR buscando el tipo de *cassette* cromosómico estafilocócico con el gen *mecA* (SCC*mecA*) y el gen que codifica la leucocidina de Pantón-Valentine. Se aisló SA en 83 pacientes (25%), de los cuales 40 fueron SA meticilinosensibles (21,1%) y 13 SAMR (3,9%). Ocho casos fueron clasificados fenotípicamente y genotípicamente como SAMR AC (2,4%). Todos tenían SCC*mecA* tipo IV. Es necesaria una atenta vigilancia ya que las infecciones de piel y tejidos blandos de la comunidad no deberían ser tratadas con antibióticos betalactámicos.

**Palabras clave:** colonización, *Staphylococcus aureus*, meticilinoresistencia, SAMR AC, portación nasal

### NASAL COLONIZATION WITH METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN THE COMMUNITY

#### Summary

*Staphylococcus aureus* isolates are common causes of skin and soft tissue infections and other invasive infections. Those due to methicillin resistant strains represent a therapeutic challenge. Currently there is an increase in cases due to community-acquired methicillin-resistant *S. aureus* (CA-MRSA) but the rate of colonization of the healthy population is unknown in our country. The purpose of this study was to determine nasal carriage in sportsmen and people living in nursing homes in Rosario. Nasal swabs of 101 people staying in 4 nursing homes and of 98 from 7 groups of athletes were obtained. The samples were extracted, preserved, and cultured by conventional methods. PCR was performed in order to study the type of staphylococcal chromosome cassette *mecA* (SCC*mecA*) gene and the gene encoding the Pantón-Valentine leukocidin. *S. aureus* was isolated in 48 patients (24.1%), of which 40 were methicillin-sensitive *S. Aureus* (20.1 %), and 8 methicillin resistant *S. aureus* (4.0%). Five cases were characterized phenotypically and genotypically as CA-MRSA (2.5%). All of them had type IV SCC*mecA*. Careful surveillance is required because skin and soft tissue infections in the community should not be treated with beta-lactam antibiotics.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*; CA-MRSA; methicillin resistance; nasal carriage

\* Correo electrónico: rnotario@cibic.com.ar

## INTRODUCCIÓN

Son conocidas la frecuencia y gravedad de las infecciones por *Staphylococcus aureus*, y aquéllas originadas en cepas resistentes a meticilina constituyen un desafío terapéutico. Éstas aparecían casi uniformemente en pacientes hospitalizados, pero actualmente se ven con frecuencia en infecciones adquiridas en la comunidad con una inusitada gravedad. Un año después de la introducción de la meticilina en 1959, una penicilina que no es afectada por la beta lactamasa estafilocócica, ya apareció un aislamiento de *Staphylococcus aureus* (SA) meticilino resistente (MR).<sup>1</sup> Estas cepas se difundieron rápidamente en el ambiente hospitalario, al punto que los SAMR adquiridos en el hospital (AH) superan el 50% de las infecciones nosocomiales por esa bacteria.<sup>2</sup> Entre 1997 y 1999 se detectaron casos fatales en niños por SAMR adquiridos en la comunidad (AC). Los primeros casos debidos a SAMR-AC en América se informaron en Uruguay.<sup>3</sup> En 2004 aparecieron los primeros casos en el sur de la provincia de Santa Fe.<sup>4,5</sup> Las cepas de SAMR portan el gen *mecA* que confiere resistencia a meticilina, a casi todos los antibióticos beta lactámicos, y que se encuentra en un elemento genético, el *cassette* cromosómico *mec* (SCC*mec*). Los SAMR-AH tienen SCC*mec* de tipo I, II o III, grandes y codifican resistencia a varios otros grupos de ATM además de los beta lactámicos. Los SAMR-AC tienen SCC*mec* de tipo IV o V más pequeños y son habitualmente sensibles a la mayoría de los grupos de ATM no beta lactámicos. Estos estafilococos adquiridos en la comunidad pueden tener varias toxinas y productos de virulencia como la leucocidina de Panton-Valentine (LPV), modulinas fenol solubles y alfatoxinas, por lo que los cuadros que producen son particularmente graves y algunas veces fatales, siendo principalmente infecciones de piel, tejidos blandos y neumonía necrotizante.<sup>5,6</sup> Se han comenzado a referir casos nosocomiales debidos a estas cepas. No conocemos el grado de portación de la población aparentemente sana en nuestro medio. El objetivo de este estudio fue determinar la colonización nasal en diversos grupos poblacionales de la ciudad de Rosario y sus alrededores.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron 332 muestras de hisopado nasal de dos poblaciones:

a) Instituciones para el cuidado de ancianos. Ciento ochenta personas alojadas durante más de 6 meses en cuatro instituciones de cuidado de ancianos que no

habían sido hospitalizadas en el último año, con edades entre 60 y 95 años, 134 mujeres y 46 hombres. Los participantes de las cuatro instituciones fueron 36, 42, 32 y 70 respectivamente

b) Ciento cincuenta y dos jugadores de equipos que practicaban deportes de contacto por más de 6 meses, 87 hombres y 65 mujeres, con edades de 10 a 57 años, ambas de la ciudad de Rosario y alrededores, que no habían recibido tratamiento antimicrobiano en el último mes ni sido descolonizados. Los deportistas fueron: 27 de un grupo de básquet masculino, 18 de un grupo de voleibol femenino, dos grupos de básquet femenino de 16 y 8 personas respectivamente, un grupo de jockey femenino de 20 personas, un grupo de rugby masculino de 24 personas, un grupo de waterpolo masculino de 10 personas, un grupo de fútbol femenino de 2 personas y dos grupos de fútbol masculino de 15 y 12 personas respectivamente.

Las muestras se tomaron con hisopos de Dacrón® estériles, que se introdujeron en ambas narinas. Cuando se tardó más de 3 horas en efectuar el estudio, se introdujeron en medio de transporte de Stuart y se conservaron a temperatura ambiente. Se sembraron antes de las 8 horas en agar sangre, agar manitol salado en aerobiosis, y se cultivaron a 37°C durante 18-24 horas. Las colonias con características de estafilococos se identificaron por métodos convencionales y se les efectuó sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión de acuerdo a las recomendaciones de CLSI. Se probó la sensibilidad de las cepas de SAMR frente a levofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina, minociclina, rifampicina, trimetoprima-sulfametoxazol, vancomicina, teicoplanina y ácido fusídico.

**Caracterización molecular.** Se extrajo el ADN cromosómico de las colonias aisladas a partir de agar Mueller Hinton, suspendidas en 200 µl de *buffer* tris-EDTA (10 mM Tris, 1mM EDTA) e incubadas a 95°C durante 15 minutos. Se utilizó 1,5 µl del sobrenadante para realizar las reacciones de PCR. Para la determinación del tipo IV del gen *mecA* se utilizaron cebadores descriptos por Francois y col. y Huletsky y col., y para la PVL por Lina. La reacción de PCR constó de 35 ciclos de 40s a 95°C, 40s a 60°C y 40s a 72°C con una extensión final de 7 minutos a 72°C. El revelado de los productos de PCR se realizó por corrida en gel de agarosa con bromuro de etidio y transiluminación con rayos UV.<sup>7,8</sup> Los participantes firmaron un consentimiento informado con el compromiso de no revelar sus identidades.

**RESULTADOS**

Se aisló SA en 83 pacientes (25%), de los cuales 70 fueron SA meticilinosensibles (21,1%) y 13 SAMR (3,9%). Ocho casos (2,4%) fueron clasificados fenotípicamente y genotípicamente como SAMR AC (Tabla I) y 5 como SAMR AH. Estas cinco últimas cepas correspondieron todas a una sola institución del cuidado de la salud. De los SAMR AC siete cepas fueron halladas en

una sola institución del cuidado de la salud, representando 3,8% de los pacientes alojados en instituciones del cuidado de la salud, y un caso en un deportista de un grupo que practica básquet femenino, representando 1% de los grupos de deportistas estudiados. En todos los aislamientos se pudo demostrar el gen *mec* de tipo IV y el gen de la LPV. Otros 180 pacientes eran portadores de estafilococos coagulase negativos.

**Tabla I. Aislamiento de SAMR AC en los diferentes grupos poblacionales estudiados.**

ORIGEN	GRUPO	N	SAMR AC
INSTITUCIÓN DEL CUIDADO DE LA SALUD	1	36	0
	2	42	0
	3	32	0
	4	70	7
DEPORTISTAS	Básquet masculino	27	0
	Básquet femenino	16	0
	Básquet femenino	8	1
	Vóley femenino	18	0
	Fútbol femenino	2	0
	Fútbol masculino	15	0
	Fútbol masculino	12	0
	Hockey femenino	20	0
	Rugby masculino	24	0
	Waterpolo masculino	10	0

**DISCUSIÓN**

Las infecciones por SAMR AC afectan principalmente piel y tejidos blandos y son particularmente graves, de rápida difusión y prolongadas, probablemente a que la mayoría de las cepas producen factores de virulencia no siempre encontrados en cepas de SAMR AH.<sup>6</sup> Se ha visto que las cepas que producen la LPV son más virulentas y llevan a significativamente más formación de abscesos.<sup>9,10</sup> La aparición de estas cepas SAMR AC (CA-MRSA según sus siglas en inglés) ha cambiado la epidemiología de las infecciones estafilocócicas.<sup>11</sup> Hasta fines de 1990 las infecciones por SAMR estaban siempre asociadas al ámbito de atención de salud. Desde entonces aparecen casos de infección en niños previamen-

te sanos.<sup>11</sup> Los casos se extendieron por el mundo y en 2004 tuvimos oportunidad de diagnosticar los primeros casos en Rosario y alrededores, los cuales portaban el *SSCmecA* y el gen que codifica la LPV.<sup>4,5</sup> En Buenos Aires se aisló del 70% de pacientes mayores de 14 años con infecciones de piel y partes blandas, sin contacto con hospitales, estudiados en 19 centros de atención.<sup>12</sup> En este trabajo se pudo aislar en un deportista y en un solo geriátrico, si bien en éste un 10% de los internos lo portaban, lo que indica que se puede propagar rápidamente en grupos cerrados. Todos los aislamientos poseían el gen *mecA* de tipo IV y el gen que codifica para la LPV. SAMR AC llevan *SSCmecA* relativamente pequeños tipo IV, V o V<sub>t</sub>. Los SAMR AH llevan *cassette*

tipo II en Norteamérica y tipo III en otras regiones.<sup>11</sup> En 2001 aparecen casos de infecciones por SAMR AC en el ambiente hospitalario, apareciendo en Unidades de Cuidado Intensivo Neonatal.<sup>11</sup> Los factores de riesgo para adquirir estas infecciones son obesidad, enfermedad crónica de la piel particularmente eczema, infecciones de tejidos blandos previa, contacto con paciente con infección de tejidos blandos, uso reciente de antimicrobianos e infección viral respiratoria.<sup>11</sup> Se ha visto que puede provocar infecciones de piel en atletas jóvenes.<sup>13</sup> La portación nasal en niños sanos se incrementó en los últimos años oscilando entre 1 y 15,1%.<sup>11</sup> En España la portación en estudiantes de medicina en 2012 fue del

2,1%,<sup>14</sup> un porcentaje algo inferior al hallado por nosotros en deportistas y asistentes a geriátricos, siendo, por lo que sabemos, el primer estudio de portación en nuestra región. Es necesaria una atenta vigilancia dados los cuadros severos que puede llegar a producir, teniendo en cuenta que ha cambiado incluso la indicación de la terapéutica empírica de infecciones de piel y partes blandas adquiridas en la comunidad, en las que no se pueden indicar ya beta lactámicos, prefiriendo clindamicina o trimetoprima-sulfametoxazol.<sup>11</sup>

(Recibido: mayo de 2014.

Aceptado: junio de 2014)

## Bibliografía

1. Barber M. *Methicillin-resistant staphylococci*. J Clin Pathol 14: 385-93, 1961.
2. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ y col. *Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999*. Clin Infect Dis 32(suppl 2): S114-32, 2001.
3. Ma XX, Galiana A, Pedreira W, y col. *Community acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus, Uruguay*. Emerg Infect Dis 11: 973-6, 2005.
4. Lejona S, Mari R, Borda N, y col. *Estudio comparativo de aislados de Staphylococcus aureus metilino-resistentes de origen hospitalario (HAMRSA) versus de origen comunitario (CAMRSA)* [resumen]. Rev Arg Microbiol 39: 119, 2007.
5. Notario R, Lejona S, Méndez E, y col. *Aislamiento de Staphylococcus aureus metilino resistentes adquiridos en la comunidad (SAMR-AC), en Rosario y Santa Fe*. Rev Med Rosario 73: 82-5, 2009.
6. Otto M. *Community-associated MRSA: What makes them special?* Int J Med Microbiol 303: 324-30, 2013.
7. Francois P, Renzi G, Pittet D, y col. *A novel multiplex real-time PCR assay for rapid typing of major staphylococcal cassette chromosome mec elements*. J Clin Microbiol 42: 3309-12, 2004.
8. Huletsky A, Giroux R, Rossbach V, y col. *New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus directly from specimens containing a mixture of staphylococci*. J Clin Microbiol 42: 1875-84, 2004.
9. Barrios López M, Gómez González C, Orellana MÁ, Chaves F, Rojo P. *Staphylococcus aureus abscesses: methicillin-resistance or Panton-Valentine leukocidin presence?* Arch Dis Child 98: 608-10, 2013.
10. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, y col. *Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia*. Clin Infect Dis 29: 1128-32, 1999.
11. David MZ, Daum RS. *Update on epidemiology and treatment of MRSA infection in children*. Curr Pediatr Rep 1: 170-81, 2013.
12. López Furst MJ, de Vedia L, Fernández S y col. *Prospective multicenter study of community-associated skin and skin structure infections due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Buenos Aires, Argentina*. PLoS One 8(11): e78303, 2013.
13. Pulido Pérez A, Banandrés Rodríguez O, Ceballos Rodríguez MC, y col. *Skin infections caused by community-acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus: clinical and microbiological characteristics of 11 cases*. Actas Dermosifilogr 105: 150-8, 2014.
14. López-Aguilera S, Goñi-Yeste MM, Barrado L, y col. *Colonización nasal por Staphylococcus aureus en estudiantes de medicina: importancia en la transmisión hospitalaria*. Enferm Infecc Microbiol Clin 31: 500-5, 2013.