

Infecciones adquiridas en la comunidad por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital de agudos

S. PALOMBARANI*¹, N. GARDELLA³, A. TUDURI¹, S. FIGUEROA¹, G. SLY¹, R. CORAZZA²,
G. GUTKIND³, M. ALMUZARA¹, M. MOLLERACH³

¹Laboratorio de Bacteriología; ²Servicio de Infectología, Hospital Interzonal General de Agudos "Eva Perón". Balcarce 900, San Martín, Pcia. de Buenos Aires; ³Laboratorio de Resistencia Bacteriana, Cátedra de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Correspondencia. E-mail: susanapalobarani@hotmail.com

RESUMEN

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SAMR) es uno de los principales agentes asociados a infecciones intrahospitalarias; sin embargo, en los últimos años ha surgido como un patógeno emergente de la comunidad, causando infecciones graves, principalmente en jóvenes. Se describen 33 casos de infecciones por SAMR de origen comunitario, diagnosticadas entre mayo de 2005 y junio de 2006 en el HIGA "Eva Perón". Se estudiaron retrospectivamente los aislamientos; se confirmó la resistencia a meticilina mediante la detección del gen *mecA*, se investigó la presencia de genes que codifican dos factores de virulencia (leucocidina de Panton-Valentine -LPV- y α -hemolisina) y el tipo de casete *mec* mediante PCR. Todos los pacientes se encontraban sanos previamente. Cuatro pacientes menores de 12 años presentaron bacteriemia, uno con neumonía grave y los 3 restantes con infección osteoarticular; todos los pacientes mayores de 12 años presentaron infecciones de piel y partes blandas sin compromiso sistémico. Se constató la presencia de casete *mec* tipo IV en todos los aislamientos; la resistencia a meticilina no se acompañó de resistencia a otros antimicrobianos; los aislamientos fueron portadores de genes que codifican para LPV y para α -hemolisina. Es importante considerar la presencia de estas cepas de origen comunitario a fin de elaborar estrategias para su correcto tratamiento.

Palabras clave: SAMR comunitario, LPV, casete *mec* tipo IV

ABSTRACT

Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in a hospital for acute diseases. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most prevalent pathogens associated with nosocomial infections. However, most recently, MRSA has arisen as an emerging community pathogen, causing serious infections, mainly among young patients. We herein describe 33 cases of infections caused by community-acquired MRSA (C-MRSA), diagnosed between May 2005 and June 2006, at "Eva Perón" Hospital. The isolations were retrospectively studied. Methicillin resistance was confirmed by means of the detection of the *mecA* gene, and the genes for two virulence factors (Panton-Valentine Leucocidin -PVL- and α -haemolysin) as well as the cassette *mec* type were screened by PCR. All the patients were previously healthy. Four patients under 12, presented bacteremia, one had serious pneumonia, and the three remaining patients had osteoarticular infections; all the patients over 12, had skin and soft tissue infections without systemic damage. The C-MRSA strains harboured cassette *mec* type IV, and the PVL and α -haemolysin genes. They were methicillin-resistant, with no other associated resistances. It is important to consider the presence of these community-acquired strains in order to develop strategies for their correct treatment.

Key words: community-acquired MRSA, PVL, cassette *mec* type IV

INTRODUCCIÓN

Desde su aparición en Inglaterra en 1961, la incidencia de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (SAMR) ha ido en constante aumento; es así como se ha constituido en uno de los patógenos prevalentes en infecciones nosocomiales. Estas cepas, de origen hospitalario, también se detectaron en la comunidad en pacientes que habían estado hospitalizados previamente o que estaban en contacto con el sistema sanitario. Sin embar-

go, la epidemiología de SAMR ha ido cambiando desde hace algunos años, ya que se observa un incremento de infecciones adquiridas en la comunidad en pacientes sin factores de riesgo conocidos. Esta situación se ha informado en varios países (3, 7, 8, 15), donde las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilina resistente adquiridas en la comunidad (SAMR-C) se presentaron principalmente en jóvenes sin patologías previas (9, 18). Las infecciones que más frecuentemente se han asociado a SAMR-C son las relacionadas con piel y tejidos blandos

(2 - 4, 15), y también casos de infecciones graves, como neumonía necrotizante (5) y osteomielitis (12, 20).

Los SAMR-C presentan diversos factores de virulencia, principalmente la leucocidina de Pantón-Valentine (LPV). También es característica la presencia del elemento conocido como *staphylococcal cassette chromosome mec* o *SCCmec* de tipo IV o V (1, 19). En estos aislamientos, la resistencia a oxacilina no está acompañada por la resistencia a otros antibióticos, excepto en algunos casos donde se observa resistencia aislada a eritromicina o a algún otro antimicrobiano (19, 26).

En publicaciones recientes, se comunican aislamientos de SAMR-C en EE.UU. (4), Australia (7), algunos países de Europa (2, 8, 21), en regiones de Asia y en Sudamérica (Uruguay, Brasil y Argentina) (10, 27, 31), donde se lo indica como probable patógeno emergente.

El objetivo de este trabajo fue describir las características clínicas y epidemiológicas de 33 casos de infecciones por SAMR-C registradas en un hospital de agudos de la provincia de Buenos Aires, y efectuar la caracterización molecular de los aislamientos responsables mediante la tipificación del elemento *SCCmec* y la determinación de los genes que codifican para LPV y α -hemolisina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Se analizaron retrospectivamente las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico de infección por SAMR-C atendidos en el Hospital Interzonal General de Agudos "Eva Perón" del partido de San Martín, Buenos Aires, durante el período comprendido entre marzo de 2005 y junio de 2006. Se consideró la adquisición de la infección como comunitaria si el aislamiento de SAMR era obtenido de un paciente hospitalizado pero dentro de las primeras 48 horas de internación, de un paciente proveniente del servicio de guardia o de uno atendido en consultorios externos, sin factores de riesgo de adquisición nosocomial (9, 13).

Microbiología

La identificación microbiológica de los aislamientos se realizó por métodos convencionales (16), y el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión en agar con discos, según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (6). Los antibióticos ensayados fueron: oxacilina (1 μ g), cefoxitina (30 μ g), gentamicina (10 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), eritromicina (15 μ g), clindamicina (2 μ g), trimetoprima-sulfametoxazol (1,25/23,75 μ g), minociclina (30 μ g), cloranfenicol (30 μ g), rifampicina (5 μ g), vancomicina (30 μ g) y teicoplanina (30 μ g) (Laboratorio Britania, Argentina). La caracterización fenotípica de la resistencia a macrólidos se hizo mediante la prueba de doble disco, eritromicina (15 μ g) y clindamicina (2 μ g) (6).

Estudios moleculares

El ADN utilizado como templado en las reacciones de PCR fue obtenido siguiendo el protocolo descrito por Gardella *et al.* (11).

Para la detección del gen *mecA* por PCR se siguieron protocolos previamente descritos (22). *S. aureus* ATCC 25923 y *S. aureus* ATCC 43300 se utilizaron como controles negativo y positivo del gen *mecA*, respectivamente. Para el análisis de la estructura del complejo *mec* se utilizó una Multiplex PCR, descrita por Oliveira y de Lencastre (24).

Para la amplificación de los genes de LPV y de α -hemolisina se utilizaron los *primers* descritos por Lina *et al.* (17). La mezcla de reacción contenía: buffer *Taq* 1x; 2,5 mM de $MgCl_2$; 0,5 mM de dNTP; 0,8 μ M de cada *primer*; 1 U de *Taq* polimerasa y 1 μ l de templado. Los parámetros de amplificación fueron: 95 °C, 5 minutos; seguidos de 30 ciclos de 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a 55 °C y 1 minuto a 72 °C, y un período de extensión final de 10 minutos a 72 °C.

RESULTADOS

Durante el período estudiado se obtuvieron 39 aislamientos de SAMR-C, correspondientes a 33 pacientes con edades comprendidas entre 1 mes y 50 años (Tabla 1). Todos los pacientes se encontraban sanos previamente, salvo tres: uno diabético y dos con serología positiva para VIH (pacientes N° 15, 19 y 20), que presentaron inmunocompromiso como factor predisponente para la infección.

De los 33 pacientes, 4 ingresaron con shock séptico. Uno de ellos, con diagnóstico de sepsis secundaria a neumonía necrotizante y meningitis, falleció a las 30 horas de su ingreso a la unidad de cuidados intensivos pediátricos. Los otros tres ingresaron con shock séptico a partir de infección de piel y partes blandas. Estos pacientes evolucionaron con bacteriemia persistente y desarrollaron posteriormente foco osteoarticular con afectación coxofemoral o femoral diafisaria, dos presentaron trombosis venosa profunda como foco endovascular secundario. Los tres pacientes evolucionaron a osteomielitis crónica; dos de ellos se encuentran en plan de reemplazo de cadera.

El resto de los pacientes presentó infecciones de piel y partes blandas sin compromiso sistémico. El tratamiento y la evolución de los pacientes también se muestran en la Tabla 1.

Todos los aislamientos de SAMR-C fueron resistentes a oxacilina y cefoxitina, y conservaron sensibilidad a gentamicina, ciprofloxacina, trimetoprima-sulfametoxazol, vancomicina, teicoplanina, rifampicina y minociclina. Sólo un aislamiento fue resistente a cloranfenicol, y dos a eritromicina y clindamicina, con mecanismo MLSb inducible.

En todos los casos se pudo comprobar la presencia del gen *mecA*, siendo el casete cromosómico *SCCmec* de tipo IV. Todos los aislamientos fueron, además, portadores de los genes que codifican para LPV y para α -hemolisina.

DISCUSIÓN

Este estudio presenta una serie de casos de infecciones producidas por SAMR de origen extrahospitalario, en individuos previamente sanos. Los aislamientos obtenidos demostraron poseer el casete cromosómico *SCCmec* tipo IV y ser portadores del gen que codifica para LPV. Asimismo, presentaron resistencia sólo a

Tabla 1. Edad, tratamiento y evolución de los pacientes con aislamiento de SAMR-C.

N° paciente	Sitio de aislamiento, tipo de infección o material	Edad (años)	Tratamiento	Evolución
1	Aspirado traqueal Hemocultivos	12	Ceftriaxona + vancomicina	neumonía y meningitis; fallece
2	PPB (miembro inferior) Hemocultivos	12	vancomicina luego TMS + RIF luego TMS	osteomielitis
3	PPB (miembro inferior) Líquido articular Hemocultivos	6	"	"
4	Líquido articular Hemocultivos	11	TMS + RIF luego TMS	"
5	PPB (miembro inferior)	5	Drenaje, CEF; luego TMS	favorable
6	"	5	"	"
7	"	<1	"	"
8	"	9	"	"
9	"	2	"	"
10	"	15	"	"
11	"	19	"	"
12	Absceso glúteo	15	"	"
13	"	1	"	"
14	"	1	"	"
15	PPB (miembro inferior) Líquido articular	46	"	"
16	PPB (miembro superior)	2	"	"
17	"	18	"	"
18	"	35	"	"
19	"	16	Drenaje; TMS + RIF	"
20	"	35	Drenaje, ciprofloxacina	s/d
21	PPB (miembro inferior)	1	s/d	"
22	"	6	"	"
23	"	15	"	"
24	Absceso de mama	22	Drenaje y CEF	favorable
25	"	23	"	"
26	"	48	"	s/d
27	"	20	"	"
28	Absceso glándula Bartolino	24	"	favorable
29	PPB (tronco)	19	Drenaje, CEF; luego TMS	"
30	"	34	"	"
31	"	<1	CEF; luego TMS	"
32	"	41	Drenaje y CEF	s/d
33	Absceso de escroto	50	"	"

PPB: piel y partes blandas; TMS: trimetoprima- sulfametoxazol; CEF: cefalosporinas de 1.ª generación; RIF: rifampicina; s/d: se desconoce

oxacilina, a diferencia de los patrones típicamente multirresistentes de SAMR de origen hospitalario (11, 23).

SAMR-C se define como una infección que se origina en la comunidad en un individuo que carece de los factores de riesgo para la adquisición de SAMR, tales como internaciones recientes, cirugías, residencia en instituciones geriátricas, diálisis o presencia de catéteres (9).

Algunos trabajos consideran que SAMR-C ha emergido como un nuevo patógeno (25, 29), y que el incremento de infecciones debida a éste se observa principalmente en la población pediátrica y en comunidades cerradas (4, 5). Los factores que facilitan el contagio en estos ambientes incluyen el contacto de la piel entre los individuos, el hacinamiento o compartir objetos persona-

les que pueden estar contaminados con secreciones de las heridas. En otros estudios de América del Norte, Europa (14, 21), Australia (7) y América del Sur (10, 27) se presentan situaciones similares. Sin embargo, también se comunican casos en pacientes no relacionados con brotes (8). En el presente estudio, no se realizó el análisis de clonalidad sobre los aislamientos de SAMR-C.

En diversos trabajos se detectó la presencia de genes que codifican la LPV en pacientes con infecciones de la piel y partes blandas, abscesos cutáneos, forúnculos y también con neumonía necrotizante (1, 2, 5, 21, 28, 30). Sin embargo, se necesita una evaluación más profunda para demostrar la responsabilidad exclusiva de LPV o su intervención conjunta con otras exotoxinas (23). La detección de LPV en este trabajo sólo fue realizada como marcador de aislamiento de origen comunitario; la detección de su expresión y/o funcionalidad en la patogenia de las infecciones descritas no se encuentra dentro de los fines del presente estudio.

Según numerosos autores, SAMR-C posee un tipo de complejo genético conocido como casete cromosómico *mec* (*SSCmec*) de tipo IV o V, el cual contiene el gen *mecA* (1, 19), tal como se halló en los aislamientos incluidos en este estudio. *SSCmec* de tipo IV es el más pequeño de los cinco *SSCmec* hasta ahora reconocidos y no contiene otros determinantes de resistencia (19). Esto es consistente con la notable característica de SAMR-C: su sensibilidad a varios antimicrobianos (18) —a diferencia del patrón típicamente multirresistente de los aislamientos de SAMR de origen hospitalario—, guarda relación con los resultados de los ensayos de difusión en agar con discos obtenidos en el presente estudio.

No se conoce con certeza el origen de SAMR-C; algunos datos sugieren que ha emergido como consecuencia de la inserción de un gen *mecA* en las cepas de *S. aureus* sensibles a meticilina (25). Esta teoría se vería reforzada por el hecho de que *SSCmec* tipo IV es probablemente más móvil que otros alelos *SSCmec* (1, 21). Por otro lado, se demostró que no existe un único clon de SAMR-C que se haya diseminado en las diferentes regiones geográficas, sino que se sugiere la posibilidad de su evolución en diversos países (25). El análisis de los perfiles de restricción de ADN de SAMR-C indica, asimismo, que no surgieron de cepas hospitalarias (30).

Recientemente, Tenover *et al.* (29) plantearon la posibilidad de que el término SAMR-C tenga una utilidad limitada en un futuro cercano, debido a que se notificaron aislamientos hospitalarios producidos por SAMR-C, introducidos en el hospital por un paciente ambulatorio. A medida que estas cepas se incorporen en un medio con alta presión de drogas antimicrobianas, podrían expandir su perfil de resistencia. La diferencia sería, entonces, la virulencia debida a LPV y, quizás, a otros factores de patogenidad. Sin embargo, el uso del término SAMR-C parece tener el mérito de alertar al personal médico so-

bre este problema emergente, a fin de implementar medidas de control y tratamiento adecuadas (13).

BIBLIOGRAFÍA

1. Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Auki K, Oguchi A, *et al.* Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 2002; 359: 1819-27.
2. Boubaker K, Diebold P, Blanc D, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G, *et al.* Panton-Valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 121-4.
3. Broseta A, Chaves F, Rojo P, Otero J. Emergencia de un clon de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina de origen comunitario en la población pediátrica del sur de Madrid. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24: 31-5.
4. Campbell K, Vaughn A, Russell K, Smith B, Jimenez D, Barrozo C, *et al.* Risk factors for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in an outbreak of disease among military trainees in San Diego, California, in 2002. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4050-3.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*- Minnesota and North Dakota, 1997-1999. *MMWR* 1999; 48: 707-10.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Disk diffusion. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 16th informational supplement, 2006; M100-S16. Wayne, Pa, USA.
7. Coombs G, Nimmo G, Bell J, Huygens F, O'Brien F, Malkowski M, *et al.* Genetic diversity among community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing outpatient infections in Australia. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4735-43.
8. Durand G, Bes M, Meugnier H, Enright M, Forey F, Liassine N, *et al.* Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the Toxic Shock Syndrome Toxin 1 gen responsible for hospital- and community- acquired infections in France. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 847-53.
9. Fridkin S, Hageman J, Morrison M, Thomson Sanza L, Como-Sabetti K, Jernigan J, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Engl J Med* 2005; 352: 1436-44.
10. Galiana Villar A. Infección por *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad. *Arch Pediatr Urug* 2003; 74: 26-9.
11. Gardella N, Picasso R, Predari SC, Lasala M, Foccoli M, Benchetrit G, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Buenos Aires Teaching Hospitals: replacement of the multidrug resistant South American clone by another susceptible to rifampin, minocycline and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Rev Argent Microbiol* 2005; 37: 156-60.
12. Gonzalez BE, Teruya J, Mahoney DH Jr, Hulten KG, Edwards R, Lamberth LB, *et al.* Venous thrombosis associated with staphylococcal osteomyelitis in children. *Pediatrics* 2006; 117: 1673-9.
13. Gorwitz RJ, Jernigan DB, Powers JH, Jernigan JA, and Participants in the CDC-Convened Experts' Meeting on Management of MRSA in the Community. Strategies for clinical management of MRSA in the community: summary of an experts' meeting convened by the Centers for Disease Control and Prevention 2006. Disponible en: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca.html.
14. Holmes A, Ganner M, Mc Guane S, Pitt T, Cookson B, Kearns A. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes in England and Wales: fre-

- quency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2384-90.
15. Kaplan S, Hulten K, Gonzalez B, Hammerman W, Lamberth L, Versalovic J, *et al.* Three year surveillance of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1785-91.
 16. Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus and Micrococcus*. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover F, Tenover F, Tenover RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington D.C., ASM Press, 1999, p. 264-82.
 17. Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, *et al.* Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1128-32.
 18. Lu P, Chin L, Peng Ch, Chiang Y, Chen T, Ma L, *et al.* Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 132-9.
 19. Ma X, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, *et al.* Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1147-52.
 20. Martínez-Aguilar G, Avalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason EO Jr, Kaplan SL. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 701-6.
 21. Melles D, Leeuwen W, Boelens H, Peeters J, Verbrugh H, van Belkum A. Pantone-Valentine leukocidin genes in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1174-5.
 22. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2240-4.
 23. Naimi T, Le Dell K, Como-Sabetti K, Borchardt S, Boxrud D, Etienne J, *et al.* Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA* 2003; 290: 2976-84.
 24. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agent Chemother* 2002; 46: 2155-61.
 25. Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 180-9.
 26. Palavecino E. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Lab Med* 2004; 24: 403-18.
 27. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho M, Berquó L, Antunes Ferreira F, Neves Soares Santos R, *et al.* First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1985-8.
 28. Shukla S. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its emerging virulence. *Clin Med Res* 2005; 3: 57-60.
 29. Tenover F. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: it's not just in communities anymore. *Clin Microbiol News* 2006; 28: 33-6.
 30. Vandenesch F, Naimi T, Enright M, Lina G, Nimmo G, Heffernan H, *et al.* Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Pantone-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 978-83.
 31. von Specht M, Gardella N, Tagliaferri P, Gutkind G, Molle-rach M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 267-9.