

***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aislado de infecciones de piel, tejidos blandos y de fosas nasales en pacientes provenientes de la comunidad**

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated of skin and soft tissue infections and nostrils in patients from the community

Gil Florimar^{1,}, Velazco Elsa¹, González Ana¹, Solórzano Marisé², Cruz Jhon², Puig Juan².*

¹Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis,

²(LABIOMEX), Facultad de Ciencias; Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

Recibido febrero 2011 - Aceptado abril 2011

RESUMEN

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) es uno de los principales agentes asociados a infecciones nosocomiales; sin embargo, en los últimos años ha surgido como un patógeno emergente de la comunidad, causando principalmente infecciones de piel y tejidos blandos. Con el propósito de determinar la presencia de SARM asociado a la comunidad (SARM-AC), se analizaron 150 muestras de pacientes con infección de piel y tejidos blandos, que acudieron al Área de Emergencia del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, Venezuela, durante los meses de febrero a noviembre de 2007. De igual manera, se determinó en estos pacientes el estado de portador nasal. SARM-AC se aisló en 14 pacientes, representando 9,3%, ocupando el segundo lugar en orden de frecuencia, aislándose principalmente de furúnculo, mientras que la frecuencia de portadores nasales de SARM-AC fue de 6%. En las cepas de SARM-AC aisladas en el estudio se encontraron cuatro perfiles de susceptibilidad, siendo el fenotipo 4 (oxacilina^Rgentamicina^Rkanamicina^Ramikacina^Rtobramicina^R) el más frecuente, representando 39,1%, seguido por el fenotipo 1 (oxacilina^R), el cual fue sensible a los demás agentes antimicrobianos ensayados representando 26,1%. Estas cepas presentaron concentraciones inhibitorias mínimas bajas, tanto a oxacilina, como a los demás antibióticos ensayados. Un 100% de las cepas identificadas como SARM mediante pruebas fenotípicas, portaban los genes *nuc* y *mecA*. Por lo tanto, SARM-AC es un patógeno importante asociado a infecciones de piel y tejidos blandos que se encuentra circulando en la población merideña.

PALABRAS CLAVE

Staphylococcus aureus, resistencia, meticilina, comunidad.

ABSTRACT

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the main pathogens associated with nosocomial infections. However, in recent years it has arisen as an emerging community pathogen, causing mainly skin and soft tissue infections. In order to assess community-associate MRSA (CA-MRSA), we have analyzed 150 skin and soft tissues samples from infected patients who attended the Emergency Area of The Andes University Hospital in Mérida, Venezuela during february and november 2007. The MRSA nasal carriage state in these patients was also evaluated. CA-MRSA was isolated in 14 patients mainly from furuncle, representing 9.3%, and ranking second in frequency while the nasal carriage rate of CA-MRSA was represented by 6%. The CA-MRSA strains isolated showed four resistance profiles, being the phenotype number 4 (oxacillin^Rgentamicin^Rtobramycin^Ramikacin^Rkanamycin^R) the most frequent, representing 39.1%, followed by the phenotype number 1 (oxacillin^R) with 26.1%, which was also sensitive to other antimicrobial agents tested. These isolates had low minimum inhibitory concentrations both oxacillin, and the other antibiotics tested. 100% of the strains identified as MRSA by phenotypic tests, carried the *nuc* and *mecA* genes. Therefore, CA-MRSA is an important pathogen associated with skin and soft tissue infections circulating in Merida- Venezuela

KEY WORDS

Staphylococcus aureus, resistance, methicillin, community.

INTRODUCCIÓN

La aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) y su diseminación en ambientes hospitalarios es un grave problema en los últimos años a nivel mundial, debido a la alta morbimortalidad que ocasiona en la mayoría de los países. El principal mecanismo de resistencia es la presencia del gen *mecA*, el cual está localizado dentro de un locus inestable que tiene características de islotes de patogenicidad, denominado cassette cromosómico estafilocócico *mec* (*SCCmec*, según siglas en inglés). Este gen codifica la síntesis de una proteína de unión a la penicilina que posee baja afinidad para unirse a los antibióticos β -lactámicos, conocida como PBP2a [1-6].

En los últimos años, debido a las nuevas características adaptativas de este patógeno, se han observado cambios importantes en la epidemiología de las infecciones causadas por SARM, ya que tradicionalmente su adquisición era exclusiva de ambientes hospitalarios o una institución similar. Sin embargo, existen reportes recientes que destacan el aislamiento de SARM de infecciones adquiridas en la comunidad en general (guarderías, escuelas, bases militares, equipos deportivos, entre otros) [2,7,8].

SARM asociado a la comunidad (SARM-AC) se relaciona con una gran variedad de manifestaciones clínicas que van desde lesiones menores en la piel hasta neumonías letales y sepsis. Las infecciones de piel y tejidos blandos son las principales manifestaciones clínicas, siendo los principales cuadros clínicos: furúnculos, abscesos, celulitis, impétigo y foliculitis. También se han asociado a neumonía necrotizante, osteomielitis, artritis, sinusitis, celulitis orbital, conjuntivitis, otitis media o externa, endocarditis, colecistitis y gastroenteritis aguda [7,9-13].

Los portadores nasales juegan un rol fundamental en la epidemiología y patogénesis de las infecciones causadas por SARM, representando la fuente esencial para su dispersión en ambientes hospitalarios y en la comunidad [14-16].

Debido a la importancia que representa SARM-AC y la necesidad de tener un conocimiento sobre este tipo de microorganismo a nivel local, se planteó el presente estudio para determinar SARM aislado de infecciones de piel y tejidos blandos en pacientes provenientes de la comunidad, que acudieron a consulta en la Emergencia del Instituto Autónomo

Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) y de igual manera, investigar en dichos pacientes, el estado de portador nasal de SARM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra: Estuvo representada por 150 pacientes seleccionados al azar entre las personas que acudieron al área de Emergencia del IAHULA con infecciones de piel y tejidos blandos (furúnculos, abscesos, celulitis, impétigo, úlceras, heridas o quemaduras infectadas), durante el período comprendido de febrero a noviembre de 2007, quienes debían cumplir con los lineamientos establecidos por el CDC [17] para poder considerar posteriormente a las cepas de SARM aisladas como provenientes de la comunidad.

Recolección y procesamiento de las muestras: Se procedió a la toma de muestra de los sitios donde los pacientes presentaban las lesiones de piel y tejidos blandos y se inoculó en agar manitol salado (HIMEDIA), agar manitol salado suplementado con 6 μ g/ml de oxacilina y 4% de NaCl (MS-OX) [18], agar sangre (HIMEDIA) y agar MacConkey (HIMEDIA). Los dos últimos medios se incluyeron en el estudio para determinar la frecuencia de otras especies bacterianas, en relación con SARM-AC. De igual manera se procedió a la toma de muestra de fosas nasales anteriores para la detección de portadores de SARM y se inoculó en agar manitol salado y agar manitol salado suplementado con 6 μ g/ml de oxacilina y 4% de NaCl [18].

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana: Para todas las pruebas realizadas durante el estudio se utilizaron cepas control de *S. aureus* ATCC 43300 (resistente a la meticilina) y *S. aureus* ATCC 25923 (sensible a la meticilina).

1. Método de difusión con discos: A las cepas de *S. aureus* aisladas se les determinó mediante la técnica de Kirby-Bauer, la susceptibilidad a los siguientes agentes antimicrobianos (HIMEDIA) según el procedimiento descrito por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): oxacilina (1 μ g), cefoxitin (30 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), trimetoprim/sulfametoxazol (1,25/23,75 μ g), eritromicina (15 μ g), clindamicina (2 μ g), vancomicina (30 μ g) rifampicina (5 μ g), tetraciclina (30 μ g), cloranfenicol (30 μ g), gentamicina (10 μ g), kanamicina (30 μ g), amikacina (30 μ g) y tobramicina (30 μ g) [19]. La susceptibilidad a la oxacilina se determinó usando el disco de oxacilina de 1 μ g y agar Mueller-Hinton (HIMEDIA) con 2% de NaCl a 35°C durante 24 h, y se consideró resistente si el halo de inhibición era \leq 10 mm. Se consideraron las cepas resistentes a la oxacilina de acuerdo con los

resultados obtenidos con el disco de cefoxitin, ya que el 90% de las cepas SARM poseen el gen *mecA*, que le confiere resistencia a dicho agente antimicrobiano. Aunado al hecho de que el disco de oxacilina es más inestable para realizar las pruebas de susceptibilidad.

2. Método de dilución en agar: Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) mediante el método de dilución en agar a las cepas de SARM. Los agentes antimicrobianos utilizados fueron oxacilina (Laboratorios Valmorca), trimetoprim (Laboratorios Valmorca), sulfamida (Laboratorios Valmorca), ciprofloxacina (Laboratorios Valmorca), eritromicina (Becton Dickinson), clindamicina (Becton Dickinson), vancomicina (PROULA), rifampicina (PROULA), gentamicina (PROULA), amikacina (PROULA), kanamicina (Schering Ploug), tobramicina (Schering Ploug) [19]. Para el ensayo de oxacilina se le agregó al agar Mueller-Hinton (HIMEDIA) 2% de NaCl.

3. Detección de la resistencia a la oxacilina en cepas SARM: Las cepas de SARM se inocularon en agar Mueller-Hinton (HIMEDIA) con 4% de NaCl y 6 µg/ml de oxacilina, utilizando un inóculo igual al preparado para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. La cepa se consideró resistente cuando se observó al menos crecimiento bacteriano de una colonia, incubado a 35°C por 24 h [19].

Detección de la proteína PBP2a: Se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Denka Seiken, Niigata Japón), para lo cual se colocó en un tubo para microcentrífuga 5 µl de un cultivo fresco de SARM (24 h) y 200 µl del primer reactivo de extracción, la mezcla se calentó en baño de maría a 95°C durante 3 min, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregó 50 µl del segundo reactivo de extracción, se mezcló, posteriormente se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min y se extrajo el sobrenadante. Finalmente, se colocó 50 µl del sobrenadante y 50 µl del reactivo que contiene anticuerpos monoclonales contra la PBP2a. La prueba se consideró positiva cuando se evidenció una reacción de aglutinación luego de 3 min, la cual se interpretó de acuerdo a las especificaciones señaladas por la casa comercial.

Detección del gen *nuc* y *mecA* en las cepas de SARM-AC aisladas

Extracción del ADN cromosomal: se realizó resuspendiendo en un tubo para microcentrífuga 2 - 3 colonias de *S. aureus* provenientes de un cultivo fresco (no mayor de 18 h) en 200 µl de TE (10mM Tris, 10mM EDTA pH 8) y se resuspendieron agitándolas en vortex. Se sometió a calentamiento durante 10 min a 99°C. Se dejó enfriar y luego se agregó 10 µl de proteinasa K (10 mg/ml) durante 10 min a 65°C. Se inactivó a 99°C durante 10 min. Se centrifugó por 10 min a 16000

g. El sobrenadante se precipitó con 2 volúmenes de etanol y se refrigeró a -20°C durante 15 min. Se centrifugó nuevamente durante 10 min a 21130 g y se descartó el sobrenadante. Se dejó abierto en campana de flujo laminar durante 5 min para que se evaporara el resto de etanol. El sedimento se resuspendió en 50 µl de TE. Determinación de la calidad del ADN cromosomal: se determinó midiendo la densidad óptica de la muestra en un espectrofotómetro a 260 nm y 280 nm (concentración de ADN y concentración de proteínas, respectivamente), y se obtuvo un cociente. Los valores de pureza encontrados en las muestras de ADN oscilaron entre 1,7 y 1,8.

Amplificación del gen *nuc*: Para la reacción de PCR se utilizó 0,5 µl del ADN, la cual tenía además buffer (1X), MgCl₂ (2,5 mM), dNTP (25 mM), primers (10 picomoles) y Taq polimerasa (0,5 U), para un volumen final de 12,5 µl. Los primers utilizados amplifican una región altamente conservada del gen *nuc* de 270 pb: *nuc* F 5'-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT-3' y *nuc* R 5'-AGC CAA GCC TTG AGC AAC TAA AGC-3' (N° de acceso en el GenBank BA000018) [6]. La amplificación se realizó en un termociclador (Mastercycler Eppendorf), bajo las siguientes condiciones modificadas en el laboratorio: desnaturalización a 94°C durante 2 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 15 seg, 58°C por 15 seg y 72°C por 30 seg y luego una extensión final a 72°C por 1 min.

Amplificación del gen *mecA*: Para la reacción de PCR se utilizó 0,5 µl del ADN, la cual tenía además buffer (1X), MgCl₂ (2,5 mM), dNTP (25 mM), primers (10 picomoles) y Taq polimerasa (0,5 U), para un volumen final de 12,5 µl. Los primers utilizados amplifican una región altamente conservada del gen *mecA* de 532 pb: *mecA* F 5'-AAAATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3' y *mecA* R 5'-AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C-3' (N° de acceso en el GenBank Y00688) [6, 20]. La amplificación se realizó en un termociclador (Mastercycler Eppendorf), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94°C durante 5 min, seguido de 35 ciclos a 94°C por 1 min, 60°C por 1 min y 72°C por 30 seg y luego una extensión final a 72°C por 1 min.

RESULTADOS

Durante el período de estudio se analizaron 150 muestras provenientes de pacientes de la comunidad con infección de piel y tejidos blandos, de las cuales 98% resultaron positivas para alguna especie bacteriana. *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) se aisló en 75,3% (113/150), *Staphylococcus coagulosa*

negativo (SCN) 4,7% (7/150), bacilos gramnegativos (BGN) 4,7% (7/150) y *Streptococcus* sp. 4% (6/150). SARM-AC se aisló en 9,3% (14/150), ocupando el segundo lugar en orden de frecuencia. Las cepas de SARM-AC se aislaron principalmente de furúnculo (35,7%), seguido de abscesos y celulitis (28,6%), y en menor cantidad de impétigo (7,1%) (Tabla 1).

TABLA 1
Relación entre *Staphylococcus aureus* asociado a la comunidad (SARM-AC) aislado de infecciones de piel y tejidos blandos y el cuadro clínico.

Cuadro Clínico	SARM-AC	
	n	%
Furúnculos	5	35,7
Celulitis	4	28,6
Absceso	4	28,6
Impétigo	1	7,1
Úlceras	0	0
Erisipela	0	0
Total	14	100

La frecuencia de portadores nasales de SARM-AC en los pacientes que presentaron infecciones de piel y tejidos blandos estuvo representada en 6% (9/150). De los 14 pacientes, a quienes se les aisló SARM-AC de las infecciones de piel y tejidos blandos, a 5 se les aisló igualmente SARM-AC de las fosas nasales, representando 35,7%.

Al realizar la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión con discos, se pudo determinar que las cepas de SARM-AC aisladas, tanto de infecciones de piel y tejidos blandos como de fosas nasales, mostraron sensibilidad a la mitad de los antibióticos ensayados. SARM-AC presentó resistencia a eritromicina y clindamicina en 34,8%, gentamicina, amikacina y tobramicina en 39,1% y en mayor porcentaje a kanamicina en 52,1% (12/23). Se pudo determinar fenotípicamente (“D”-Test) [19], que ninguna cepa presentó resistencia constitutiva a clindamicina (MLS_{BC}), mientras que 34,8% de estas cepas mostró el fenotipo de resistencia inducible (MLS_{BI}).

De acuerdo a los resultados de la prueba de susceptibilidad realizada a las cepas de SARM-AC aisladas, se encontraron cuatro perfiles de susceptibilidad (Tabla 2). El fenotipo 4 (oxacilina^R gentamicina^R kanamicina^R amikacina^R tobramicina^R) fue el más frecuente, tanto en las cepas aisladas de infecciones de piel y tejidos blandos como de fosas nasales. El segundo fenotipo en orden de frecuencia

fue el fenotipo 1 (oxacilina^R), el cual fue sensible a los demás agentes antimicrobianos ensayados.

TABLA 2
Perfiles de susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* asociado a la comunidad (SARM-AC) aisladas de las infecciones de piel y tejidos blandos y fosas nasales.

Perfiles de susceptibilidad	IPTB	Fosas nasales	Total	
			n	%
I. oxacilina ^R	4	2	6	26,1
II. oxacilina ^R eritromicina ^R clindamicina ^R	2	3	5	21,7
III. oxacilina ^R eritromicina ^R clindamicina ^R kanamicina ^R	3	-	3	13,1
IV. oxacilina ^R gentamicina ^R kanamicina ^R amikacina ^R tobramicina ^R	5	4	9	39,1
Total	14	9	23	100

IPTB: Infecciones de piel y tejidos blandos

R: Resistente

R^I: Fenotipo de resistencia inducido por eritromicina (MLS_{BI}).

Las cepas de SARM-AC aisladas resultaron 100% positivas a la prueba de la detección de la proteína PBP2a y presentaron bajos niveles de CIM a oxacilina que oscilaron entre 8 y 32 µg/ml (CIM₅₀=16 µg/ml y CIM₉₀=32 µg/ml). Así mismo, dichas cepas mostraron bajos niveles de CIM a eritromicina (CIM₉₀=16 µg/ml), clindamicina (CIM₉₀=2 µg/ml) y la mayoría de aminoglucósidos ensayados, siendo amikacina el antibiótico que presentó mayor CIM (CIM₉₀=128 µg/ml) (Tabla 3).

Mediante PCR se pudo determinar que las 14 cepas aisladas de las infecciones de piel y tejidos blandos y las 9 cepas aisladas de las fosas nasales de los pacientes con infecciones de piel y tejidos blandos, identificadas inicialmente como SARM-AC por métodos fenotípicos, presentaban tanto el gen *nuc* como el gen *mecA*.

TABLA 3
Concentraciones Inhibitorias Mínimas (CIM) de los antibióticos empleados en el estudio.

Antibiótico	CIM (µg/ml)	
	CIM ₅₀	CIM ₉₀
Oxacilina	16	32
Trimetoprim	2	4
Sulfamida	64	128
Ciprofloxacina	0,5	1
Eritromicina	0,5	16
Clindamicina	0,5	2
Vancomicina	1	2
Rifampicina	0,5	1
Gentamicina	4	64
Kanamicina	64	64
Amikacina	8	128
Tobramicina	4	64

DISCUSIÓN

Desde su aparición en 1991, SARM-AC está incrementando actualmente su frecuencia, siendo un patógeno de gran importancia al causar principalmente infecciones de piel y tejidos blandos [2,7,21-23].

En el presente estudio, SARM-AC se encontró en 9,3% respecto al total de los agentes etiológicos aislados. Dicho porcentaje fue menor al encontrado en otras investigaciones. En un estudio reciente realizado en distintos hospitales de EEUU, el cual incluyó 422 pacientes de la comunidad que ingresaron a las salas de emergencia con infección estafilocócica de piel y tejidos blandos, se observó que 75% de estas cepas eran resistentes a la meticilina [24]. Por otra parte, en un estudio realizado en Uruguay, para determinar la etiología de las infecciones de piel y tejidos blandos en pacientes ambulatorios, encontraron que la especie más frecuente fue *S. aureus* en 71,8% de los casos, con 47% de resistencia a la meticilina [25]. En una población pediátrica de Argentina se diagnosticaron 200 casos de infecciones de piel y tejidos blandos de origen estafilocócico, siendo 38% provenientes de la comunidad, de los cuales, 42% fueron resistentes a la meticilina [22]. Esta cifra aumentó al año siguiente, al reportar 51% de resistencia en otro estudio realizado por el mismo grupo de investigadores [23]. En Venezuela, se realizó un estudio con pacientes que presentaban lesiones de piel y tejidos blandos, del grupo de pacientes procedentes de la comunidad se aisló *S. aureus* en 30%, de los cuales, 16,7% eran resistentes a la meticilina [26]. Por lo tanto, se puede evidenciar que SARM-AC es un patógeno asociado a infecciones de piel y tejidos blandos, en porcentajes importantes que pueden variar de una región a otra.

La furunculosis es la entidad clínica más frecuentemente diagnosticada dentro de las infecciones de piel y tejidos blandos causadas por SARM-AC [27,28]. De los tres primeros pacientes reportados en Brasil con SARM-AC, dos presentaron infecciones de piel, específicamente furúnculo [28]. Una de las características más importante de las cepas que causan furunculosis epidémica, es su capacidad para causar necrosis y formar abscesos del 70 al 100% de los casos, o celulitis del 50 al 70% de los casos y con menor frecuencia impétigo [27]. Los datos obtenidos en el presente trabajo, muestran que SARM-AC se aisló principalmente de furúnculo, seguido de abscesos y celulitis.

Con relación al estado de portador nasal, 6% (9/150) de los pacientes estaban colonizados con SARM-AC en fosas nasales, de los cuales, 55,6% (5/9) presentaron infecciones de piel y tejidos blandos.

Se ha reportado que al igual que en los ambientes hospitalarios, el estado de portador nasal de SARM en individuos procedentes de la comunidad, es una condición importante para el desarrollo de infecciones originadas por este microorganismo a diferencia de los no colonizados [29].

Mediante el método de difusión con discos se establecieron cuatro perfiles de susceptibilidad en las cepas de SARM-AC aisladas en el presente estudio. Un porcentaje considerable de ellas (26,1%), presentó resistencia solo a la oxacilina (fenotipo 1). Este perfil ha sido reportado por otros investigadores, quienes describen que a diferencia del fenotipo de multiresistencia encontrado en las cepas de *S. aureus* aisladas del ambiente hospitalario, las cepas de SARM-AC presentan frecuentemente una alta sensibilidad a la mayoría de los antibióticos, excepto a los β -lactámicos [30-33]. Además, la CIM₉₀ de oxacilina ante las cepas de SARM-AC aisladas en este estudio, fue de 32 μ g/ml, a diferencia del alto nivel (CIM₉₀= 128 μ g/ml) mostrado en cepas de origen nosocomial [34].

Las cepas de SARM-AC aisladas fueron 100% sensibles a trimetoprim/sulfametoxazol, quinolonas, glucopéptidos, rifampicina, cloranfenicol y tetraciclina, y moderadamente resistentes a macrólidos, lincosamidas y aminoglucósidos. Reportes similares han sido descritos, ya que generalmente, la mayoría de los aislamientos de SARM-AC, son susceptibles a trimetoprim-sulfametoxazol, vancomicina, tetraciclina, clindamicina y ciprofloxacina [10]. De igual manera, se ha reportado una habitual resistencia a eritromicina y tasas variables a clindamicina que se modifican de acuerdo a la región geográfica. La sensibilidad a aminoglucósidos, cloranfenicol y rifampicina es diversa y no se ha estudiado en detalle [22,23]. Adicionalmente, una minoría de los aislamientos presentaron multiresistencia, las cuales pudiesen estar representadas por cepas originadas en ambientes hospitalarios y posteriormente diseminadas a la comunidad [35], tal y como se evidenció en el caso reportado en Japón [36].

Cuando se determinaron los valores de CIM de eritromicina y aminoglucósidos, ante las cepas de SARM-AC aisladas en el presente estudio, se obtuvieron bajos niveles, en comparación a los valores reportados por otros autores en cepas de origen nosocomial, sólo la amikacina presentó niveles similares (CIM₉₀=128 μ g/ml) [34].

No se observó resistencia constitutiva a la clindamicina, mientras que 34,8% (8/23) presentaron el fenotipo de resistencia inducible (MLS_{B1}). Cuando se realizó la CIM a clindamicina, se obtuvo una CIM₉₀= 2 μ g/ml (resistencia intermedia), lo cual

podría indicar una posible falla terapéutica. Se ha determinado que al estar presente el fenotipo de resistencia MLS_{BI}, en ocasiones puede desarrollarse resistencia a la clindamicina durante el tratamiento [19]. Ante la presencia de cepas de SARM-AC resistentes a eritromicina y sensibles a clindamicina, no debe utilizarse esta última en caso de infecciones severas hasta que el laboratorio informe la presencia o ausencia de la resistencia inducible. En cuadros leves, donde el tratamiento no es prolongado, la clindamicina podría ser una opción válida con probabilidad de poca falla terapéutica [25].

La detección del gen *nucA* se ha utilizado con fines diagnósticos para la identificación de *S. aureus* ya que codifica una termonucleasa extracelular, con secuencias específicas de especie que han permitido el diseño de cebadores. Por otro lado, la detección del gen *mecA* se ha utilizado como técnica de referencia para la determinación de la resistencia a la meticilina, debido a que muchas cepas de estafilococos expresan el gen *mecA* de forma heterogénea, y solo unas pocas colonias de una población bacteriana pueden presentar la PBP2a [37]. En el presente estudio se encontró que todas las cepas de *S. aureus*, identificadas como SARM mediante pruebas fenotípicas, aisladas de las infecciones de piel y tejidos blandos, así como de fosas nasales de los pacientes provenientes de la comunidad portaban ambos genes.

Recientemente, se ha planteado la posibilidad de que el término SARM-AC tenga una utilidad limitada en un futuro cercano, debido a que se han diagnosticado cuadros clínicos de origen nosocomial ocasionados por SARM-AC, que han sido introducidos al hospital por un paciente de la comunidad. Los resultados obtenidos por diferentes autores, indican una clara evidencia del incremento en la prevalencia del SCC*mec* tipo IV, que es típico de cepas SARM-AC, en cepas SARM de origen nosocomial [32]. Similares resultados han sido obtenidos en Brasil [38] y en Japón [36]. Esto indica una posible diseminación de “verdaderas cepas de SARM-AC” en hospitales, debido a que los límites entre la comunidad y los ambientes hospitalarios están poco definidos. Independientemente del origen de estas cepas, el surgimiento de las mismas es una amenaza con implicaciones clínicas importantes [33,39].

En conclusión, los hallazgos de este estudio permitieron determinar que en los pacientes estudiados con infecciones de piel y tejidos blandos se aisló SARM-AC en 9,3% y 6% eran portadores nasales. Basados en la experiencia con *S. aureus* resistente a la penicilina, recientes reportes de aislamientos de SARM en la comunidad han evidenciado un cambio en su epidemiología, lo cual podría ser alarmante en

los próximos años, por lo que se deben establecer programas de vigilancia activa para el control de la propagación de estas infecciones en la comunidad.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto llevado a cabo en el Laboratorio de Investigación en Bacteriología Clínica Anaeróbica “Dr. Roberto Gabaldón Parra” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, financiado por el CDCHT bajo el código de proyecto FA-413-07-07-B.

Los autores GF, VE, GA tuvieron igual participación en la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Chambers H. Methicillin resistance in staphylococci: Molecular and Biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 1997; 10(4):781-791.
- [2] Chambers H. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7(2):1-7.
- [3] Wielders CL, Fluit AC, Verhoef J, Schmitz FJ. *mecA* gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(11): 3970-3975.
- [4] Okuma K, Iwakawa K, Turnidge J, Grubb W, Bell J, O'Brien F, et al. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(11): 4289-4294.
- [5] Betruí C, Sánchez BA, Picazo J J. Estudio epidemiológico de la infección por grampositivos resistentes. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21(1): 7-11.
- [6] Costa A, Kay I, Palladito S. Rapid detection of *mecA* and *nuc* genes in staphylococci by real time multiplex polymerase chain reaction. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005; 51:13-17.
- [7] Frick M, Moraga F, Bartolomé R, Larrosa N, Campins M, Roman Y, et al. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina adquirido en la comunidad en niños. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28(10): 675-679.
- [8] Mejía C, Zurita J, Guzman M. Epidemiología y vigilancia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en América Latina. *Rev Chil Infect.* 2010; 27 (Supl 2): 51-58.
- [9] Wannet WJ, Spalburg E, Heck ME, Pluister GN, Tiemersma E, Willems RJ. Emergence of virulent

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine leucocidine genes in the Netherlands. J Clin Microbiol. 2005; 43(7): 3341-3345.

[10] Diederer B, Kluytmans J. The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect. 2006; 52(3):157-168.

[11] Maltezou H, Giamarellou H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Int J Antimicrob Agents. 2006; 27: 87-96.

[12] Luna C, Rodríguez E, Bavestrello L, Gotuzzo E. Tratamiento de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en América Latina. Rev Chil Infect. 2010; 27(Supl 2): 94-103.

[13] Rodríguez E, Seas C. Patrón de los clones de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en América Latina: Implicancias de la práctica clínica en la región. Rev Chil Infect. 2010; 27(Supl 2): 59-69.

[14] Hernández VI, Toraño GT, Gonzalez M, Gonzalez BI. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina: detección de portadores entre niños hospitalizados y niños sanos de la comunidad. Rev Cub Med Trop. 2003; 55(3): 153-161.

[15] Eiff C, Friedrich A, Peters G, Becker K. Prevalence of genes encoding for members of the staphylococcal leukotoxin family among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004; 49:157-162.

[16] Álvarez C, Labarca J, Salles M. Estrategias de prevención de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en América Latina. Rev Chil Infect. 2010; 27(Supl 2): 81-93.

[17] Centers for Disease Control and Prevention. Public health dispatch: Outbreaks of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* skin infections, Los Angeles County, California, 2002-2003. MMWR. 2003; 52(05): 88.

[18] Jayarene P, Rutherford C. Detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from growth on mannitol salt oxacilin agar using PCR for nosocomial surveillance. Diagn Microbiol Infect Dis. 1999; 52(1):13-18.

[19] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI Document M100-S17. 2007. Wayne, Pennsylvania, USA.

[20] Stromenger B, Kettlitz C, Werner G, Witte W. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2003; 41(9): 4089-4094.

[21] Hiramatsu K, Okuma K, Ma X, Yamamoto M, Hori S, Kapi M. New trends in *Staphylococcus aureus* infections: glycopeptide resistance in hospital y methicillin resistance in the community. Curr Opin Infect Dis. 2002; 15:407-413.

[22] Paganini H, Verdaguer V, Rodriguez A, Della P, Hernández C, Berberian G, et al. Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina en niños provenientes de la comunidad en niños de la Argentina. Arch Argent Pediatr. 2006; 104(4): 295-300.

[23] Paganini H. Infecciones por *Staphylococcus aureus* meticolino-resistentes provenientes de la comunidad: un nuevo desafío para los pediatras. Med Infantil. 2007; 14(4): 292 – 296.

[24] Wenzel RP, Bearman G, Edmond M. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): new issues for infection control. Intern J Antimicrob Agents. 2007; 30: 210 – 212.

[25] Prego J, Galiana A, Pujadas M, Almada K, Boulay M, Carugati M, et al. Infecciones de piel y partes blandas en pacientes ambulatorios. Pediatr Urug. 2004; 75(4): 300-306. Disponible en <http://www.sup.org.uy>

[26] Guzmán M, Lozada R. Detección de *Staphylococcus aureus* meticolino-resistentes aislados de pacientes con infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad. Rev Soc Ven Microbiol. 2007; 27(1): 349 – 363.

[27] Zetola N, Francis J, Nuermberger E, Bishai W. Community, acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. Lancet Infect Dis. 2005; 5: 275-286.

[28] Ribeiro A, Dias C, Silva CM, Berquó L, Antunes FF, Soares SR, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. J Clin Microbiol. 2005; 43(4): 1985-1988.

[29] Safdar N, Bradley E. The Risk of Infection after Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus*. Am J Med. 2008; 121(4): 310-315.

[30] Charlebois E, Bangsberg D, Moss N, Moore M., Moos A, Chambers H, et al. Population-based community prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the urban poor o San Francisco. Clin Infect Dis. 2002; 34:425-433.

[31] An DB, Sensabaugh GF, Somboona NS, Carleton HA, Perdreau R. Widespread skin and infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine Leucocidine. J Clin Microbiol. 2004; 42(5): 2080-2084.

[32] Charlebois E, Perdreau-Remington F, Kreiswirth B, Bangsberg D, Ciccarone D, Diep B, et al. Origins of community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2004; 39: 47-54.

[33] Cercenado E, Ruiz E. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina de origen comunitario. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008; 26 Suppl 13:19-24.

[34] Alvarez, E, Velazco E, Nieves B, Vivas G, Gutiérrez B. Detección de portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en una unidad de alto riesgo neonatal. Rev Facultad Farmacia. 2005; 47 (2): 16-21.

[35] Eady E, Cove J. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. Curr Opin Infect Dis. 2003; 16:103-124.

[36] Takizawa Y, Taneike I, Nakagawa S, Oishi T, Nitahara Y, Iwakura N, et al. A Panton-Valentine Leucocidine (PVL)-positive community acquired

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain, another such strain carrying a multiple-drug resistance plasmid, and other more typical PVL-negative MRSA strains found in Japan. J Clin Microbiol. 2005; 43(7): 3356-3363.

[37] Ruiz E, Oliver A, Galmés I, Hidalgo O, Pérez J. Consolidación de un clon multirresistente de *Staphylococcus aureus* no relacionado con el clon Ibérico en un hospital de Mallorca. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005; 23(3):140-144.

[38] Trindade P, Pacheco R, Costa S, Rossi F, Barone A, Mamizuka E, et al. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2005; 43(7): 3435-3437.

[39] Ho P, Cheung C, Gannon C, Cindy S, Tak N, Chris H, et al. Molecular epidemiology and household transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Hong Kong. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007; 57:145-151.