AISLAMIENTO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTES ADQUIRIDOS EN LA COMUNIDAD (SAMR-AC), EN ROSARIO Y SANTA FE*

R. NOTARIO,[(1)**] S. LEJONA,[(1)] E. MÉNDEZ,[(2)] L. ALL,[(3)] S. LASCIALANDARE,[(1)] N. BORDA.[(1)]
1) Laboratorio CIBIC, Rosario; 2) Hospital Santa Fe; 3) Hospital Provincial de Rosario.

Resumen

Recientemente se han incrementado las infecciones por *Staphylococcus aureus* (SA). A partir del año 2004 en el sur de la provincia de Santa Fe se han aislado, en muestras clínicas, cepas de SA resistentes a meticilina (MR) adquiridas en la comunidad (SAMR-AC). Estas cepas son solamente resistentes a los betalactámicos, a diferencia de las adquiridas en el hospital (SAMR-AH) que presentan resistencia acompañante o múltiple. SAMR-AC tienen frecuentemente un gen que codifica para la leucocidina de Panton-Valentine (LPV), un factor de virulencia que afecta la fagocitosis. El propósito de esta comunicación es presentar tres casos atendidos en nuestro medio. Los estudios de sensibilidad fueron efectuados según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute,* y se efectuó la determinación del gen *mec*A y del que codifica la LPV por PCR. Todos los aislados fueron portadores del alelo IV del gen *mec*A y el gen que codifica para la LPV. El 1er. paciente, de 33 años de edad, se presentó a la consulta por lesión en miembro superior derecho, que se diagnosticó como ántrax. El 2º, de 29 años de edad, presentó escoriaciones en la piel, fiebre y cuadro respiratorio grave, falleciendo a los 3 días. El 3º, niño de 3 años de edad con pústulas en cuero cabelludo. Los tres pacientes eran de sexo masculino. Dado que las lesiones pueden empeorar debido a bacteriemia o infección respiratoria,el diagnóstico temprano es importante. Es también importante mantener la vigilancia para detectar una posible asociación de SAMR-AC con otras entidades clínicas, por ejemplo virales, la presencia de SAMR-AC en el ambiente hospitalario con transmisión del gen de virulencia o la producción de brotes.

Palabras clave: SAMR-AC, *Staphylococcus* meticilino-resistente.

Abstract

ISOLATION OF COMMUNITY-ACQUIRED METICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (CA-MRSA) IN SANTA FE PROVINCE, ARGENTINA.

In recent years there has been a rise in Staphylococcus aureus (SA) infections. Beginning in 2004, in the southern region of the province of Santa Fe, strains of SA resistant to methicillin (MR) were isolated from clinical samples acquired in the community (SAMR-CA). These strains were only resistant to betalactamic antibiotics, differing from the strains acquired in the hospital (HA-SAMR), which showed multiple resistances to antibiotics. SAMR-CA frequently carries a gene that encodes for Panton Valentine Leukocidin (PVL), a virulence factor that affects fagocytosis.
The purpose of this paper is to present three cases treated in our facilities. The sensitivity tests were done according to the

* Algunos de los datos de este trabajo se han presentado junto con casos de otras localidades (Teglia y col., V Congreso de la Sociedad Argentina de Infectología, Mar del Plata, 2005).

** Dirección postal: CIBIC, Pte. Roca 740, (2000) Rosario, SF. Correo electrónico: rnotario@cibic.com.ar

Clinical and Laboratory Standards Institute recommendations, and both the mecA gene and the gene that encodes for PVL were identified by PCR. All the isolated strains were carriers of the IV allele of the mecA gene that encodes PVL. The first case was a 33-year-old man that presented with a lesion in his upper right limb, which was diagnosed as anthrax. The second case, a 29-year-old man, presented with skin lesions, fever and acute respiratory symptoms, and died after three days. The third case was a 3-year-old boy who presented with pustules in his scalp. Since the lesions may worsen acutely due to bacteremia or respiratory infection, early diagnosis is important. It is also important to maintain vigilance in order to detect the possible association of CA-MRSA with other clinical entities, such as viral illnesses, the presence of CA-MRSA in the hospital environment with transmission of the virulence gene, or occurrence of outbreaks.

Key words: *CA-MRSA; methicillin resistant Staphylococcus aureus*

INTRODUCCIÓN

Hace dos décadas, los bacilos gram negativos causaban la mayor parte de los casos de bacteriemia. Actualmente estamos viviendo un incremento de los casos de bacteriemia y otras infecciones debidas a *Staphylococcus aureus,*[1] por lo que esta bacteria es un importante patógeno, tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios.

Un alto porcentaje de aislados hospitalarios son resistentes a meticilina (SARM) por modificación del sitio blanco: proteínas ligadoras de penicilina (PLP). La resistencia es de tipo cromosómico y está codificada en el gen *mec*A contenido en un *casette* del ADN, encargado de elaborar una PLP 2-a de baja afinidad por los antibacterianos (ATB) betalactámicos, por lo que las cepas de SAMR son resistentes a todo ese importante grupo de ATB. Las cepas adquiridas en el hospital (SAMR-AH, en inglés HA-MRSA) suelen presentar también resistencia múltiple o "acompañante" frente a otros grupos de ATB, como aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos. La resistencia a meticilina está codificada en los alelos I, II y III del gen *mec*A.

En 2004 se comenzaron a aislar en diferentes muestras clínicas de pacientes ambulatorios del sur de la provincia de Santa Fe cepas de SARM adquiridas en la comunidad (SAMR-AC, en inglés CA-MRSA), fenómeno que había sido referido en Uruguay.[2] Estas cepas SAMR-AC son solamente resistentes a betalactámicos y no presentan resistencia "acompañante", aunque los cuadros que producen son particularmente graves. La resistencia está codificada en el alelo IV del gen *mec*A que es de menor tamaño y las cepas son portadoras de un fago que contiene el gen de un importante factor de virulencia que daña los leucocitos, denominado leucocidina de Panton-Valentine (LPV).[3]

El objetivo es comunicar los casos ocurridos en nuestra zona y caracterizar los aislados.

Pacientes

Caso 1: Paciente de sexo masculino, de 33 años de edad, quien el 25-11-04 concurre al Servicio de Dermatología del Hospital Provincial de Rosario por una lesión en miembro superior derecho, supurada. Al examen físico se efectuó el diagnóstico de ántrax. Se toma muestra tisular por punción obteniéndose desarrollo de SAMR. Se inicia tratamiento con rifampicina más trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), obteniéndose la remisión del cuadro a los 7 días.

Caso 2: Paciente de sexo masculino, de 29 años de edad, obrero de la construcción que presenta escoriaciones infectadas en piel. Ingresa con un cuadro respiratorio grave y fiebre (39ºC). Se toman muestras de esputo y hemocultivo y se inicia tratamiento con ceftriaxona. En esputo se observó una gran respuesta inflamatoria y se obtuvo SAMR en esputo y en todas las muestras de hemocultivo. Por la gravedad del cuadro debe internarse en unidad de cuidados intensivos, es atendido conjuntamente por el servicio de infectología, recibe asistencia respiratoria, se cambia el tratamiento específico por vancomicina, pese a lo cual evoluciona desfavorablemente falleciendo a los 3 días.

Caso 3: Niño de 3 años de edad, que consulta por pústulas en cuero cabelludo. Presenta 3 pústulas de las que mana pus que se siembra directamente en agar Columbia con 5% de sangre ovina, obteniéndose desarrollo de SAMR. Fue tratado con rifampicina tópica y TMS oral, evolucionando satisfactoriamente.

Material y Métodos

Aislados. Todos los aislados fueron enviados para la confirmación de su identificación y sensibilidad a los ATB.

Meticilino resistencia. La prueba de sensibilidad a los ATB se efectuó por el método de difusión con discos, según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI),[4] frente a gentamicina, clindamicina, minociclina, rifampicina, trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), cloranfenicol, levofloxacina, teicoplanina y vancomicina. El carácter de MR se definió por resistencia a cefoxitina y a oxacilina, que fue corroborada por crecimiento en placa de Petri con agar Mueller-Hinton con 4% de cloruro de sodio y 6 µg de oxacilina.

Caracterización genotípica molecular

Se extrajo el ADN cromosómico de una colonia aislada a partir de agar Mueller-Hinton, resuspendida en 200 µl de *buffer* tris-EDTA (10 mM Tris, 1 mM EDTA) e incubada a 95ºC durante 15 minutos. Se utilizó 1,5 µl del sobrenadante para realizar las reacciones de PCR. Para la determinación del alelo IV del gen *mec*A se utilizaron los cebadores descriptos por Francois y Huletsky [5, 6] y para la LPV por Lina.[3] La reacción de PCR constó de 35 ciclos de 40s a 95ºC, 40s a 60º y 40s a 72ºC con una extensión final de 7 minutos a 72ºC. El revelado de los productos de PCR se realizó por corrida en gel de agarosa con bromuro de etidio y transiluminación de UV.

Resultados

Los aislados resultaron sensibles a gentamicina, clindamicina, eritromicina, minociclina, rifampicina, TMS, cloranfenicol, levofloxacina, teicoplanina y vancomicina. En todos se determinó la presencia del alelo IV del gen *mec*A y la LPV.

Discusión

Se presentan aquí los primeros casos que nuestro grupo ha caracterizado en nuestra provincia, un niño y dos adultos jóvenes. Están siendo estudiados más de 20 casos más. Dos de los pacientes comenzaron con lesiones supuradas de piel, como pústula y ántrax, y uno de ellos presentó cuadro de sepsis con bacteriemia. Esto coincide con la bibliografía: casos en pacientes jóvenes que se inician con lesiones de piel y partes blandas, que evolucionan rápidamente a abscesos o ántrax; la bacteriemia está presente en muchos casos y en su evolución se pueden presentar cuadros respiratorios necrosantes graves. Se teme que pueda haber asociación con virus influenza si éste se disemina en forma pandémica.

Los aislados son resistentes a meticilina pero multisensibles a los ATB anti- estafilocócicos, a pesar de lo cual son inusitadamente virulentos debido probablemente a la producción de una leucocidina (LPV), con acción antifagocitaria. Esta acción antagonista de los leucocitos, a través del daño de su membrana y la anulación de su función fagocítica, le permite un rápido desarrollo en la lesión, potenciado por un menor tiempo de división de estas cepas, que lleva a una gran cantidad de bacterias en el foco, muy diferente del inóculo que habitualmente se emplea en la prueba de sensibilidad *in vitro.*

Las cepas nosocomiales de SAMR-AH clásicas, han sido transportadas de los ambientes hospitalarios a las residencias geriátricas y pueden aislarse en la comunidad, por lo que es necesario diferenciarlas de las SAMR-AC que nos ocupan por el estudio del *casette* cromosómico SCC *mec* IV y de la LPV. Todos nuestros aislados tenían ambos genes.

Se han descripto brotes en comunidades como escuelas, jardines, clubes, regimientos y cárceles.

Si bien el tratamiento ATB con los otros agentes como TMS y rifampicina es eficaz, el alto inóculo y la rápida evolución obligan a tomar decisiones como el drenaje quirúrgico y la administración precoz de ATB.

En concordancia con la alta tasa de mortalidad referida en Uruguay, uno de nuestros pacientes tuvo un cuadro grave con una evolución desfavorable.

Las cepas aisladas de SAMR-AC: a) son resistentes a meticilina por modificación del sitio blanco que determina resistencia a todos los ATB betalactámicos, b) a diferencia de las cepas nosocomiales, éstas son por ahora sensibles a los demás ATB, c) son virulentas, dañan los fagocitos mediante LPV, se duplican más rápidamente que las demás cepas y alcanzan alto inóculo o concentración bacteriana en el foco, produciendo bacteriemia. Se pueden presentar localizaciones sistémicas, como la descripta en nuestro país por Brezzo y col,[7] o en tejidos como el pulmón. Es importante que el clínico esté atento a la aparición de

las lesiones típicas, para requerir diagnóstico específico convencional y molecular y efectuar un tratamiento oportuno.

En conclusión, nuestros casos se presentaron en un niño y dos adultos jóvenes con pústulas, ántrax y bacteriemia respectivamente. Los pacientes no refieren los factores de riesgo descriptos para la adquisición de SAMR de carácter hospitalario.

(Recibido: enero de 2007. Aceptado: mayo de 2007)

REFERENCIAS

1. Notario R, Borda N, Gambandé T, Sutich E. *Bacteriemias en dos hospitales de Rosario, Argentina.* Rev Arg Microbiol 35:167-70, 2003.
2. Ma XX, Galiana A, Pedreira W, y col. *Community acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus, Uruguay.* Emerg Infect Dis 11:973-6, 2005.
3. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, y col. *Involvement of Panton-Valentine leucocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia.* Clin Infect Dis 29:1128-32, 1999.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.* M100-S15. 25(1); Wayne, 2006.
5. 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.
6. 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.
7. Brezzo C, Cecchini D, Biscione F, y col. *Enfermedad diseminada debida a Staphylococcus aureus adquirido en la comunidad.* Medicina (Buenos Aires) 66:443-6, 2006.