



1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La obtención e identificación de cepas SARM-com provenientes de los laboratorios de microbiología del Hospital Roosevelt, situado en la ciudad de Guatemala y hospital Nacional Pedro de Betancourt, ubicado en la Aldea San Felipe de Jesús en Antigua Guatemala, Sacatepéquez, fue realizada en dos fases distintas:

- Primera Fase (Caracterización fenotípica de las cepas SARM-com): realizada en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología del Hospital Roosevelt y Hospital Nacional Pedro de Betancourt.
- Segunda Fase (Determinación de la Leucocidina de Pantón Valentine-*pvI*- producida por las cepas de SARM-com, a través del método de Reacción de la Cadena Polimerasa-PCR-): realizado en las instalaciones del Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile.

2. RESUMEN

El objetivo general del estudio fue determinar cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente de la comunidad (SARM-com) en aislamientos provenientes de muestras de pacientes con infecciones de piel y tejidos blandos del Hospital Roosevelt y Hospital Nacional Pedro de Betancourt, de Guatemala.

Se trató de un estudio exploratorio de tipo descriptivo, para el cual se realizó un muestreo de 12 semanas en el laboratorio de Microbiología del Hospital Roosevelt y del Hospital Nacional Pedro de Betancourt. Se recolectaron las cepas que cumplieran con los siguientes criterios: haber sido identificadas como *Staphylococcus aureus* resistentes a todos los betalactámicos, principalmente a la meticilina y al cefoxitín, que presenten también resistencia variable a macrólidos y lincosamidas, asimismo que hubiesen sido aisladas de muestras de piel y tejidos blandos de pacientes con menos de 48 horas de hospitalización. Las cepas seleccionadas como sospechosas fueron sembradas y almacenadas para su posterior envío aéreo en crioviales con agar Tripticasa Soya al Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile para la realización de un estudio fenotípico y genotípico de las cepas, este último está relacionado a la amplificación y tipificación de los genes *MecA*, *FemA* y *pvl*.

Durante las 12 semanas de muestreo en los dos Hospitales Nacionales, se obtuvieron 12 cepas sospechosos de SARM-com, todas provenientes del Hospital Roosevelt. De las 12 cepas enviadas para genotipificación, 4 fueron reportadas como contaminadas, las 8 restantes se analizaron para la identificación de los genes: *mecA*, *femA* y *pvl*. Como resultado se obtuvo que el 100% de las cepas presentaron el gen *mecA* y *femA*, y el 25% presentaron el gen *pvl*.

Se demostró la existencia de cepas SARM-com productoras del gen *pvl* en dos aislamientos provenientes de muestras de secreción de pacientes del Hospital Roosevelt de Guatemala, este hallazgo evidencia la necesidad de realizar estudios posteriores para establecer la magnitud del problema de salud que representa para el país y que este dato permita a los profesionales de la salud orientar adecuadamente las terapias antimicrobianas en los casos donde existan factores de riesgo asociados.

3. ANTECEDENTES

3.1 CARACTERÍSTICAS DEL MICROORGANISMO

Staphylococcus aureus es un coco inmóvil que mide de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, se agrupa irregularmente formando racimos de uvas, no forma esporas y es gram positivo (1).

S. aureus posee una gran cantidad de factores de virulencia, los cuales se pueden estratificar en dos categorías (1).

a) Enzimas

Coagulasa, fibrinolisisina, hialuronidasa, ADNasa, termonucleasas, bacteriocinas y penicilinasas.

b) Toxinas

Hemolisina, toxina del síndrome del shock tóxico, toxina epidermolítica, leucocidinas, y enterotoxinas.

Es un agente frecuente de infección, tanto en el ámbito comunitario como en el hospitalario. Produce una amplia gama de manifestaciones clínicas, desde infecciones cutáneas superficiales hasta infecciones de partes blandas y óseo-articulares como abscesos profundos, celulitis, infección de heridas quirúrgicas, osteomielitis, etc (2, 3).

El tratamiento contra este microorganismo y su erradicación ha representado todo un reto, debido al surgimiento de cepas resistentes a los antibióticos empleados. Los primeros casos de resistencia fueron identificados un año después de la introducción de la penicilina (1941), inicialmente en el ámbito hospitalario y posteriormente en el comunitario. Se identificó a la producción bacteriana de penicilinasas como la responsable de la resistencia antibiótica (2).

Las penicilinasas, son enzimas extracelulares de origen plasmídico capaces de hidrolizar el anillo de los antibióticos betalactámicos. Un año después de la introducción de la metilina (1961), una penicilina resistente a la acción de las penicilinasas, se reportaron cepas hospitalarias resistentes y posteriormente comunitarias, conociéndose tales cepas como *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina de los hospitales (SARM-hos) y *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina de la comunidad (SARM-com),

respectivamente. La resistencia a la meticilina se debe a la producción de una proteína ligadora de la penicilina (penicilin-binding protein) o PBP modificada, con baja afinidad por la meticilina denominada PBP 2^a, que es codificada por el gen *mecA*. El desarrollo de tal resistencia está relacionada con el uso indiscriminado o inadecuado de antibióticos (4-9).

Las cepas de SARM-com difieren de las cepas de SARM-hos en varios aspectos:

- a. Son resistentes a todos los betalactámicos y ocasionalmente a macrólidos y azálidos (antibióticos semisintéticos pertenecientes al grupo de macrólidos), pero no exhiben la resistencia conjunta a otros antibióticos que es una característica de los SARM-hos (10, 11, Tabla No. 1).

Tabla No.1 Diferencias de susceptibilidad antibiótica entre SARM-com y SARM-hos		
Características	SARM-com	SARM-hos
Sensibilidad a beta lactámicos	No	No
Sensibilidad a aminoglucósidos	Sí	Raro
Sensibilidad a macrólidos	Frecuente	Raro
Sensibilidad a claritromicina	Frecuente	Raro
Sensibilidad a Rifampicina y Trimetoprim-Sulfametoxazol	Sí	Frecuente

Tomado de: Teglia O, et al. *Staphylococcus aureus* Meticilino-Resistente, Emergente de la Comunidad (2).

- b. Carecen de los factores de riesgo característicos de las infecciones por SARM-hos. Los SARM comunitarios no se relacionan con los factores de riesgo hospitalario, tales como: contacto con el personal del medio hospitalario en los últimos seis meses, haber sido objeto de prestación de servicios de cualquier tipo como consulta, vacunas, administración de medicamentos, internación y cirugía (4).
- c. Presentan factores de virulencia específicos que incluyen:
 - i. Leucocidina de Pantón-Valentine (*pvI*)
Representa un marcador genético estable de SARM-com. Es codificada por dos genes de co-transcripción, *lukS-PV* y *lukF-PV*, asociados con bacteriófagos tales como ϕ STL y ϕ PVL, los cuales se integran dentro del cromosoma del hospedador (12).

La *pvf* provoca destrucción leucocitaria y necrosis tisular. Fue aislada en Bélgica en 1894 por Van de Velde, caracterizada por ser una cepa de *S. aureus* más “virulenta” que secretaba una sustancia desconocida capaz de lisar leucocitos, a la que llamó “sustancia leucocida”. Posteriormente se relacionó la *pvf* con el absceso severo descrito en 1932 por Pantón y Valentine, quienes notaron una asociación entre la producción de leucocidina con carbunclos y septicemia (13-18).

No importando la localización de la infección, la presencia de *pvf* parece estar relacionada con el incremento de severidad, que produce desde una infección cutánea, que requiere drenaje quirúrgico, hasta una osteomielitis crónica severa o una neumonía necrotizante que presenta una tasa de mortalidad del 75% (15, 19, 20).

El SARM-com productor de *pvf* es fácilmente transmisible entre familias, también a gran escala, en comunidades donde la promiscuidad ha aumentado (20).

ii. Exfoliatinas

Son exotoxinas proteicas que producen necrólisis epidérmica, causando enfermedades como: piel escamosa, síndrome de Lyell (necrólisis epidérmica tóxica) o Ritter (escaldadura), enfermedad epidérmica exfoliativa, etc. (21, 22, Tabla No.2).

Tabla No.2 Características de SARM-com vrs SARM-hos		
Características	SARM-com	SARM-hos
Velocidad media de duplicación bacteriana	10 minutos	40minutos a > 10 horas
Producción de Leucocidina de Pantón Valentine (<i>pvf</i>)	>90%	<20%
Alelos del gen SCC mec determinantes de resistencia	IV,V (>80%)	I,II,III (>80%)
Producción de exfoliatinas y enterotoxinas	Frecuente	Raro

Tomado de: Teglia O, et al. *Staphylococcus aureus* Meticilino-Resistente, Emergente de la Comunidad (2).

- d. Se reproducen con extrema rapidez (2).
- e. La resistencia a meticilina está asociada a alelos del gen SCCmec IV y/o V diferentes de los que son responsables de la resistencia a la meticilina en SARM-hos, generalmente *mec I*, *II* y *III*.

Los SARM-com son molecularmente diferentes de aislados SARM-hos en lo que se refiere a la naturaleza del gen *mecA*. El elemento genético que transporta *mecA* es el cassette cromosómico estafilocócico (SCC), del cual han sido descritos 5 alelos *mec I* al *V*, con diferentes subtipos. Los SARM-hos son codificados por SCC *mec* tipos I-II-III. Los tipos II y III son de gran tamaño y conllevan genes de resistencia a otros antibióticos (resistencia múltiple o acompañante). Los aislados SARM-com, en contraste, son codificados por SCC *mec IV* y con menor frecuencia SCC *mec V*. Estos cassettes son de menor tamaño que otros y no se acompañan de otros determinantes de resistencia a antibióticos. Se asume que el SCC *mec IV* tiene mayor movilidad y probablemente sea lo que le proporcione una ventaja fuera del hospital, resultando en una rápida dispersión en el ambiente extra-hospitalario (7, 18, 20, 23).

3.2 EPIDEMIOLOGÍA

Los primeros reportes de SARM-com aparecieron alrededor del año 1990, involucrando países como Australia, Nueva Zelanda y comunidades maoríes (grupo de islas situadas en el Océano Pacífico Sur). Posteriormente se reportaron casos en Estados Unidos, Suiza, Francia, Uruguay varios países de Asia. De acuerdo con los datos reportados en el EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) en Europa hubo un incremento de la tasa de aislamientos de SARM-com del 16% al 24% en el período de 1999 a 2006. Las más altas proporciones (<25%) fueron observadas en países mediterráneos, Ucrania e Irlanda (2, 11, 17, 21, 24). Figura No.1.

Actualmente, el país del mundo con mayor incidencia de casos en relación a la población es la República Oriental del Uruguay donde se superan ampliamente los 2.000 casos comprobados. El mayor número de los casos mencionados fue detectado en internos de cárceles, residentes en cuarteles, equipos deportivos (particularmente de fútbol americano o Rugby), niños y adolescentes que viven en hacinamiento familiar y guarderías infantiles (2, 12, 23, 25- 27).

FIGURA No. 1.
Distribución geográfica de casos
de infección por SARM-com desde 1994



Tomado de: Udo E y cols. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia (27).

Los factores de riesgo, cuya presencia facilita la diseminación del patógeno, pueden dividirse en (2, 28):

- a. Biológicos:
Enfermedades recurrentes de piel, condiciones de maceramiento o laceración continua de la piel y uso reciente de antibióticos.
- b. Ambientales:
Contacto estrecho, hacinamiento y falta de higiene (convivencia familiar, en alojamientos públicos y comunidades cerradas).
- c. Socioculturales:
Uso compartido de ropas, objetos de uso personal, instrumentos deportivos (sensores, armas deportivas, etc.) y contacto físico estrecho.
- d. De comportamiento:
Uso de drogas intravenosas.

3.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN

El espectro de infecciones clínicas provocada por SARM-com, es similar al causado por *S. aureus* metilino susceptible (SASM), sin embargo, es claramente distinto del causado por el SARM-hos. Mientras el SARM-hos se caracteriza por causar bacteremias e infecciones del tracto urinario y respiratorio, SARM-com ha sido aislado predominantemente en infecciones de piel y tejidos blandos. Aunque este tipo de infecciones son generalmente leves, también pueden llegar a ser severas, asociadas a la producción de *pvl*, resultando en hospitalización y/o muerte (19, 23). Tabla No.3

Tabla No. 3 Patologías causadas por SARM-com	
Ubicación	Patología
Piel y tejidos blandos	Impétigo, celulitis, foliculitis, carbunco, abscesos, piomiositis, celulitis orbital, fascitis necrotizante.
Vascular	Tromboflebitis séptica, endocarditis, bacteremia,, septicemia.
Huesos y articulaciones	Infecciones de articulaciones protéticas, osteomielitis, artritis séptica.
Pulmonar	Neumonía necrotizante, enfisema asociado con neumonía adquirida en la comunidad, embolia séptica.
Mediada por toxinas	Síndrome de shock tóxico, púrpura fulminans, síndrome de Waterhouse-Friderichsen

Tomado de: Udo E y cols. Genetic Analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia (27).

3.3.1 Infecciones de piel y tejidos blandos

Habitualmente, *S. aureus* al tener una vía de entrada cutánea o mucosa puede originar una lesión localizada con participación de piel celular subcutánea o glándulas anexas. Las infecciones de piel han sido clasificadas en:

a. Infecciones primarias

Ocurren en piel aparentemente normal, y comprenden principalmente impétigo, foliculitis, forúnculos, celulitis y abscesos. De este tipo de infecciones las más comunes son los forúnculos y las foliculitis (1).

b. Infecciones secundarias

Derivan de piel dañada ya sea por traumatismo o por una enfermedad preexistente. En este caso el diagnóstico se basa en la presencia de pus, signos locales de inflamación -eritema, edema, dolor y calor-, linfadenopatía y signos generales de infección –fiebre-. Si no se observa ninguno de estos criterios la lesión en la piel se considera colonizada y no infectada (1, 29).

3.3.1.1 Forúnculos

Se caracterizan por un área de piel eritematosa y caliente, son dolorosos y pueden tener un importante componente fluxivo, drenando espontáneamente o requiriendo un drenaje quirúrgico. La aparición de forúnculos que evolucionan rápidamente a abscesos con fiebre concomitante y con amenaza de sepsis, obliga a prestar especial atención a estos procesos y recurrir a los exámenes de laboratorio correspondientes (1).

3.3.1.2 Celulitis

Se trata de una inflamación aguda de la piel y del tejido celular subcutáneo, cuyas manifestaciones clínicas son fiebre alta, escalofríos y mal estado general, lesión sin bordes nítidos ni sobreelevados, con rubor, edema, dolor y calor. Puede acompañarse de linfangitis, nódulos linfáticos y a veces exudación. Es indiferenciable de la producida por *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A. Este factor es importante considerarlo, especialmente al momento de abordar un tratamiento empírico de este microorganismo (1).

3.3.1.3 Impétigo

Afección que se caracteriza generalmente por ampollas o úlceras similares a la celulitis, pero compromete las capas superiores de la piel. Es más frecuente en niños, especialmente aquellos en condiciones de vida insalubres. En los adultos, puede seguir a otros trastornos de la piel o a una infección reciente de vías respiratorias altas (1, 2, 30).

3.3.1.4 Fascitis necrotizante

Es una de las formas de infección más grave y poco común de partes blandas, la cual progresa rápidamente y ocasiona necrosis del tejido subcutáneo. Puede afectar la piel, tejido celular subcutáneo, fascia superficial y ocasionalmente profunda, que produce necrosis hística y severa toxicidad sistémica. Los signos locales incluyen dolor, edema intenso, eritema con áreas de anestesia cutánea por la necrosis, apariencia “benigna” de la piel en un inicio seguida de signos evidentes de necrosis, ampollas y bulas con líquido color café claro, color pálido o verdoso a la exploración del tejido celular subcutáneo que se despega con facilidad de la fascia subyacente. La presencia de material tóxico sistémico puede provocar signos generales como piel y mucosas hipocoloreadas por anemia de consumo, deterioro progresivo del estado de conciencia, fiebre de 38°C, hipotensión en el 100% de los casos, taquicardia e intranquilidad (31).

Las principales características de los procesos generados por SARM-com, de acuerdo con Savio y cols -2004- son:

- a. Inicio brusco
- b. Lesiones predominantemente en jóvenes previamente sanos
- c. Intenso componente fluxivo en forúnculos o lesiones similares
- d. Sensación de picadura de insecto como presunto evento inicial en el punto donde radica la lesión
- e. Frecuencia de recidivas
- f. Potencial severidad con evasión loco-regional y sistémica (1).

3.3.2 Infecciones Invasivas causadas por SARM-com

Aunque SARM-com ha sido asociado principalmente a infecciones en piel y tejidos blandos, diversos estudios han evidenciado un incremento en la proporción de infecciones invasivas, en los que el microorganismo ha sido aislado de sitios habitualmente estériles: sangre, pulmones, pleura, líquido cefalorraquídeo (LCR), hueso y/o articulaciones, músculo, mastoides y ganglios linfáticos (6).

Algunas de estas infecciones pueden ser adquiridas en el ambiente hospitalario, sin embargo, los casos considerados como adquiridos en la comunidad son aquellos en los que se aísla el microorganismo con el perfil de susceptibilidad característico, dentro de las primeras 48 horas del ingreso o luego de ese período siempre que la sintomatología se hubiera iniciado previo a la hospitalización. Este tipo de infecciones y su incremento en los últimos años es un hallazgo particularmente desconcertante debido a su severidad ya que están claramente asociadas con aumento en la morbilidad, mortalidad y costos (6, 32).

Muchos de los casos de forunculosis con complicaciones, suelen evolucionar rápidamente a abscesos. Estos pueden llegar a desarrollar cuadros de sepsis con hemocultivos positivos a SARM-com cuyo aislamiento coincide con el recuperado de los focos purulentos. En 3-6% de los casos ocurre localización pulmonar con formas necróticas de alta mortalidad y en casos excepcionales ha sido descrita la localización pulmonar primitiva. La neumonía necrotizante se caracteriza por fiebre alta, hipotensión, hemoptisis, infiltrado alveolar multilobular y leucopenia. El mecanismo por el cual se produce la necrosis pulmonar está relacionado con la oclusión trombótica de capilares alveolares asociado con inflamación adyacente que causa isquemia y necrosis del parénquima pulmonar (1, 33, 34).

3.4 DIAGNÓSTICO

En el laboratorio el diagnóstico de infecciones por SARM-com se basa en varios criterios de identificación:

- a. Aislamiento del patógeno
- b. Antibiograma, en donde el microorganismo presente las características esperadas.
- c. Amplificación a través de PCR y tipificación de los genes *mecA IV* o *V*
- d. Amplificación a través de PCR y tipificación de los genes *lukS-PV* y *lukF-PV*, los cuales codifican la *pvl* (18).

El antibiograma es uno de los criterios más importantes en el momento del diagnóstico del patógeno, debido que es donde se obtiene la primera evidencia confirmatoria de un SARM-com, porque se observa una resistencia a todos los betalactámicos, principalmente a la meticilina y al cefoxitín, así como resistencia variable a macrólidos y lincosamidas. La prueba de sensibilidad a los antibióticos se debe efectuar por el método de Kirby-Bauer,

bajo las normas según el Instituto Clínico y de Laboratorio de Standars –CLSI-, frente a gentamicina, clindamicina, minociclina, rifampicina, trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), levofloxacina, teicoplanina y vancomicina (18).

La forma de identificar el fenómeno de meticilino resistencia es a través de la observación de resistencia a cefoxitina y a oxacilina (18).

En un estudio realizado en Argentina en el año 2008, se determinó la forma en que puede observarse el antibiograma de una cepa SARM-com (Tabla No. 4).

Tabla No. 4.			
CIM de antibióticos sobre aislamientos de casos de SARM-com, confirmados con <i>mec IV/V</i>, y <i>pvl</i> por PCR positiva			
Característica	% sensibilidad	Rango (mg/l)	CIM 90 (mg/l)
TMS	100	0.5/9.5-1/19	1/19
Rifampicina	90	0.03-16	1.0
Minociclina	90	0.25-4	2.0
Levofloxacina	96.7	≤0.06-2	0.25
Clindamicina*	77.5	0.12-16	4.0
Linezolida	100	≤0.5-2.0	2.0
Tigeciclina	100	0.06-0.25	0.12
Gentamicina	96.7	0.12-8	1.0
Vancomicina	90	0.5-4	1.0
Teicoplanina	90	0.5-8	1.0

TMS: Trimetoprima-sulfametoxazol *Se considera resistencia cuando los aislamientos presentan metilasa inducible genotípica.
Tomado de: Casellas J. CA-MRSA: ¿Qué son? ¿Cómo diagnosticarlos, cómo tratar sus infecciones? (18).

3.5 TRATAMIENTO

Las opciones terapéuticas contra *S. aureus* adquirido en la comunidad son: el drenaje de la herida o absceso a través de un procedimiento quirúrgico y la administración de antibióticos parenterales, orales o tópicos (7, 36).

El drenaje del absceso puede ser suficiente, especialmente en niños inmunocompetentes con abscesos pequeños menores a 5cm. Sin embargo, en ciertas situaciones, es recomendable iniciar una terapia antibiótica empírica simultánea al drenaje, especialmente si el paciente

padece enfermedades sistémicas, diabetes, cáncer o alguna otra forma de inmunosupresión, presenta múltiples regiones corporales con tejido suave infectado, ha tenido poca respuesta al drenado o la infección está progresando rápidamente. En este caso, además de constituir una medida terapéutica, el drenaje de la herida permite identificar a través de cultivo microbiológico y realización de antibiogramas la identidad y susceptibilidad antibiótica del agente patógeno. Dicha información permite establecer el patrón de susceptibilidad de las cepas de la región para incluir y/o excluir ciertos antibióticos dentro de la terapia empírica, así como la individualización de la terapia para el paciente (7,36).

Es importante establecer que el tratamiento de opción frente a *S. aureus* es la administración de terapia antibiótica con β -lactámicos, sin embargo la aparición de cepas resistentes a la meticilina (SARM) en el ámbito hospitalario y comunitario ha causado el surgimiento de nuevas opciones terapéuticas. Como resultado, la eficacia del tratamiento en este tipo de infecciones, se relaciona con la detección adecuada de los pacientes en riesgo de padecerlas, así como de la obtención pronta y oportuna de los resultados de un antibiograma del patógeno aislado (7,36).

Existen diversos antibióticos orales que pueden utilizarse en el tratamiento contra SARM-com, pero si se sospecha también de infección por *Streptococcus* del grupo A, deben elegirse cuidadosamente, debido a que algunos de tales antibióticos tienen poca actividad frente a este último (7,36, Tabla No. 5).

La duración de la terapia antibiótica depende de la severidad de la patología y de la respuesta clínica, aunque generalmente varía de 5 días para infecciones no complicadas y de 10-14 días en infecciones de mayor trascendencia. Asimismo, el monitoreo del paciente dentro de las 48 horas de tratamiento empírico es recomendable, para que el médico esté seguro de la efectividad del mismo y pueda tomar decisiones oportunas en caso contrario (36).

La clindamicina posee actividad contra el género *Streptococcus*, pero no es predecible contra SARM-com. La clindamicina también presenta un riesgo de aparición de colitis por *Clostridium difficile* y de resistencia inducible a la clindamicina. Cuando los resultados del cultivo revelen resistencia a eritromicina, se realizará un test de zona D para comprobar si existe resistencia inducible a clindamicina (7).

Las infecciones en las que no se sospeche SARM se tratarán con antibióticos β -lactámicos si se piensa que son por *S. aureus* sensibles a meticilina (SASM). Las infecciones entre ligeras y

moderadas se tratarán con antibióticos intravenosos u orales, dependiendo de la infección, de la forma de presentación y que la infección sea SARM-com o SARM-hos. En las infecciones graves donde se observa multirresistencia antibiótica, la vancomicina es el tratamiento de elección, tanto para SARM-com como para SARM-hos (7).

Como resultado del aumento en el número de casos de infecciones por SARM-com, debe evaluarse la necesidad de modificar la terapia empírica para este tipo de infecciones, para que contemple antibióticos eficaces contra dicha bacteria.

3.6 PRONÓSTICO

El pronóstico de los pacientes con una infección en la piel o tejidos blancos por SARM-com, es reservado y depende de varios factores:

- a. Diagnóstico certero y oportuno
- b. Porcentaje de piel y grado en que se encuentra afectada por la infección
- c. Aplicación del tratamiento adecuado
- d. Estado inmune del paciente
- e. Edad del paciente
- f. Manifestaciones clínicas presentadas

Debido a la diversidad de factores, el pronóstico o expectativa depende de cada paciente, puede variar desde una pronta recuperación hasta una alta tasa de mortalidad, en caso de una fascitis necrotizante. En otras ocasiones, tras el drenaje de un absceso y el tratamiento con el antibiótico al que la bacteria sea sensible, cabe esperar la resolución completa de la infección cutánea (7, 18).

Tabla No. 5
Antibióticos recomendados contra SARM-com

Fármaco	Vía	Régimen		Comentarios
		Adultos	Niños	
TMS	O/IV	160 mg TMP O 2 veces al día; alternar con 8-10 mg/kg/día TMP IV dividido en 2-4 dosis.	8-10 mg/kg/día TMP PO/IV dividido en 2 tomas; alternan con 15-20 mg/kg/día TMP PO/IV dividido en 3-4 tomas. No superar la dosis de adulto.	-Poca actividad frente a <i>Streptococcus</i> del grupo A -3% de la veces hay fallo en el tratamiento
Clindamicina	O/IV	150-450 mg O; max 4,800mg/día; Alternar con 300-600 mg IM o 300-900 mg IV cada 6-12 horas.	25-40 mg/kg IV/IM diarios, divididos en 3-4 tomas, m.as, 4.8g/día IV, 1,8 g/día. O; alt, 10-30 mg/kg O diarios divididos en 3-4 tomas 6-8 h.	-Actividad frente a <i>Streptococcus</i> del grupo A -Inhibe la producción de las proteínas bacterianas (toxinas) -Necesita evaluarse resistencia a <i>S. aureus</i> a través del D-test.
Tetraciclinas	O	1-2 g/día PO dividido en 4 tomas. Tomar por lo menos 1 h antes o 2 h después de las comidas	> 8 años, 25-50 mg/kg PO diarios div q 6 h; máx, 3 g/día. Tomar por lo menos 1 h antes o 2 h después de las comidas	-Poca actividad frente a <i>Streptococcus</i> del grupo A -No en embarazadas <2 meses -No niños < de 8 años
Dapnomicina	IV	4 mg/kg IV cada 24 h x 7-14 días; monitorizar CPK cada semana	4 mg/kg IV cada 24 h x 7-14 días; monitorizar CPK cada semana.	- Penetración escasa en pulmones, no usar contra neumonías.
Linezolid	O/IV	600 mg cada 12 h		-Considerar la consulta a un especialista en enfermedades infecciosas si se utiliza este Tx.
Minociclina o doxiciclina	O/IV	100 mg PO/IV dos veces al día	> 8 años, 2,2 mg/kg PO/IV cada 12 h; máx. 200 mg/día, 7,5 mg/kg IV cada 8-12 h	
Quinupristin-alfopristin	IV	7,5 mg/Kg cada 8-12 h	7,5 mg/kg IV q 8-12 h en situaciones de urgencia. No aprobado ni estudiado en niños	-Utilizado cuando la terapia inicial es inefectiva o el paciente es intolerante a ella.
Rifampicina	O/IV	300 mg PO 2 veces al día durante 5 días	10-20 mg/kg/día div q 12 h durante 5 días; máx, 600 mg/día	-No recomendado como monoterapia.
Tigeciclina	IV	Dosis inicial de 100 mg seguido de 50 mg cada 12 h.	No se ha establecido la seguridad en <18 años	-Causa náusea y vómitos.
Vancomicina	IV	> 70 kg, 1.000 mg IV cada 12 h. La dosis varía dependiendo del peso, necesidad de ajustar en ancianos e insuficiencia renal	Varía según el peso y la edad	-Cepas de <i>S. aureus</i> resistentes emergentes. -Utilizado contra cepas que causan fascitis necrotizantes.
Ácido fusídico	Tópica	---	---	-Limitado a infecciones superficiales.
Mupirocin	Tópica	---	---	Limitado a infecciones superficiales. -Usando en el Tx de impétigo y condiciones dermatológicas.
Retapamulin	Tópica	---	---	-Limitado a infecciones superficiales. -Inhibe la síntesis de proteínas. Usado en Tx de impétigo.
Mupiroxin	Tópica	---	---	-Usado para decolonizar la nariz

TMS: Trimetoprima-sulfametoxazol; O: vía oral; IV: intravenosa

Tomado de: Opovich K, Hota B. Treatment and prevention of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections (28).

3.7 PREVENCIÓN Y VIGILANCIA

3.7.1 Prevención

La información sobre estrategias preventivas efectivas contra infecciones primarias y recurrentes por SARM-com, es limitada. Una vacuna experimental contra *S. aureus* fue examinada en pacientes con hemodiálisis pero la inmunidad inducida contra bacteremias por dicho agente etiológico no fue efectiva. La vigilancia de las infecciones es usualmente limitada, aunque se ha observado un aumento en el número de brotes reportados en prisioneros, centros de cuidados diarios, equipos deportivos y escuelas. Es necesario examinar métodos de prevención efectivos y el desarrollo de estrategias de control frente a brotes. Mientras estos estudios son realizados, el personal de salud debe extrapolar la información de guías de control de infecciones por SARM-hos al control específico de SARM-com.

Debido a que la mayor cantidad de brotes son reportados en poblaciones donde existe contacto físico recurrente, una higiene apropiada y cuidado de heridas, constituyen un componente esencial de la terapia. Dichas prácticas deberían ser reforzadas por pacientes y miembros de la familia. La adecuada higiene de manos que incluye limpiarlas regularmente con jabón y agua o con jabón a base de alcohol al 70%, antes y después del contacto con áreas infectadas o vendajes.

La ropa contaminada con secreciones de heridas, debe lavarse con agua caliente y detergente. Los individuos afectados deben bañarse regularmente y no compartir objetos personales como toallas, rasuradoras y ropa. Si un individuo tiene una infección activa en la piel, los deportes de contacto deben ser suspendidos.

Los trabajadores de la salud además de lavarse las manos regularmente, deben utilizar guantes y bata para prevenir el contagio al entrar en contacto con los pacientes, especialmente aquellos que presentan heridas húmedas o sospechosas de infección por SARM-com.

En las infecciones hospitalarias y comunitarias es efectiva la limpieza de los ambientes. La limpieza ambiental por si misma, contribuye a prevenir otras infecciones, sin embargo, cuando se utiliza como única medida preventiva no es capaz de controlar un brote institucional, por lo que debe combinarse con otras medidas como las mencionadas anteriormente (36).

3.7.2 Vigilancia

Debido a que SARM-com y las infecciones provocadas por este patógeno son de carácter emergente, es necesario implementar un tipo de vigilancia adecuada, para lo que se requiere la elaboración de una definición de caso. El Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) sugiere que, si bien SARM hospitalario y comunitario se presentan diferentes en sus características clínicas y microbiológicas, las actividades de vigilancia para ambos debe ser integrada, utilizando, para diferenciar entre ambos, los datos de la historia clínica, en cuanto a:

- i. Historia médica anterior de infección o colonización por SARM documentada.
- ii. Infección identificada a través del análisis de una muestra tomada durante las primeras 48 horas de la admisión hospitalaria.
- iii. Historia, durante el año anterior de hospitalización, residencia en comunidades cerradas, cirugía, diálisis, etc.
- iv. Presencia de catéteres o sondas permanentes que atraviesen la piel y penetren en el medio interno.

Si estos cuatro criterios están presentes, la infección se caracterizará como hospitalaria. Si ninguno de los cuatro criterios está presente, el caso será clasificado como de perfil comunitario (1).

Posteriormente, el Ministerio de Salud Pública debe establecer la estrategia nacional de vigilancia de esta patología emergente seleccionando la definición de caso apropiada para ello (1).

Dicha vigilancia aportará información valiosa, necesaria para (1):

- i. Planificar la atención, el diagnóstico, el suministro de insumos.
- ii. Monitorear la evolución del comportamiento de la enfermedad.
- iii. Evaluar impacto de las intervenciones.

Una estrategia para controlar SARM es monitorear a los pacientes colonizados con SARM, Identificar a los pacientes colonizados y de ser posible eliminar al patógeno en cuestión, para disminuir la transmisión cruzada y la infección subsecuente. El

rol de esta estrategia en el hospital es controversial. La efectividad de la vigilancia nasal para reducir las infecciones por SARM y la contaminación cruzada entre pacientes de la comunidad es desconocida. Debido a que SARM-com coloniza sitios diferentes a la nariz, la vigilancia nasal podría dejar fuera a una porción de pacientes que están colonizados en diferentes partes corporales. Además, la vigilancia nasal no es efectiva para predecir el riesgo de adquirir SARM-com en individuos con factores de riesgo (36).

4. JUSTIFICACIÓN

Desde la década de los años noventa, se han presentado numerosos casos confirmados de pacientes con *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina comunitario (SARM-com), los cuales se encuentran distribuidos alrededor del mundo, siendo reportados en Estados Unidos, Europa y ciertos países de Latinoamérica como Colombia, Argentina y Uruguay. Sin embargo, en Guatemala no existen estudios de caracterización fenotípica o genotípica de las cepas de SARM-com.

Es importante determinar la presencia de SARM-com para establecer posteriormente, la magnitud del problema de salud que representa para el país, para que los profesionales de la salud lo conozcan y lo diferencien de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina hospitalario (SARM-hos). Esto permitirá que en los casos donde existan factores de riesgo asociados, las terapias empíricas antimicrobianas incluyan antibióticos a los que la bacteria es sensible, sin tener que recurrir a vancomicina u otros antibióticos que deben reservarse para casos en los que la bacteria es multirresistente. En los casos en los que la terapia empírica no sea la correcta, permitirá alertar al personal de laboratorio ante el aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* con los patrones de susceptibilidad característicos de meticilino resistencia de la comunidad, para que a través de la comunicación Químico Biólogo-Médico, la terapia antibiótica se modificada, adecuándola a las características del agente infeccioso. El control de infecciones por SARM-com reduce el riesgo de que otras cepas bacterianas que sean hospitalarias adquieran los factores de virulencia de dicha bacteria (*pvf*), lo que representaría la agudización del problema que causa *S. aureus* al Sistema de Salud del país.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

Determinar cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente de la comunidad (SARM-com) en aislamientos provenientes de pacientes con infecciones de piel y tejidos blandos del Hospital Roosevelt y Hospital Nacional Pedro de Betancourt, de Guatemala.

5.2 Específicos:

- 5.2.1 Establecer e implementar los criterios de caracterización fenotípica de cepas sospechosas de SARM-com, en el laboratorio de microbiología del Hospital Roosevelt y del Hospital Nacional Pedro de Betancourt.
- 5.2.2 Identificar genotípicamente cepas SARM-com a través de la determinación de los genes *mecA* y *pvl*, a través del método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
- 5.2.3 Determinar la frecuencia de cepas de SARM-com aisladas en el laboratorio de microbiología del Hospital Roosevelt y del Hospital Nacional Pedro de Betancourt, en relación al total de cepas sospechosas de SARM-com identificadas a través de criterios de caracterización fenotípica.

6. HIPÓTESIS

Debido a que el estudio es de tipo descriptivo no es necesario el planteamiento de hipótesis.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo y Muestra de trabajo

7.1.1 Universo

Aislamientos de muestras de heridas de la piel con infecciones causadas por SARM, provenientes de los pacientes del Hospital Roosevelt y hospital Nacional Pedro de Betancourt, de Guatemala.

7.1.2 Muestra

Aislamiento de muestras recolectadas de heridas de la piel con infecciones causadas por SARM, provenientes de los pacientes del Hospital Roosevelt y hospital Nacional Pedro de Betancourt, de Guatemala, durante 12 semanas en cada uno de los hospitales.

Definición de caso: Cepa sospechosa de SARM-com según el perfil de susceptibilidad antibiótica.

7.1.3. Criterios de inclusión

- a) Todos los aislamientos de SARM que provengan de los hospitales Roosevelt y Pedro de Betancourt, a partir de la cuarta semana de junio del año 2010, hasta la segunda semana de septiembre del mismo año.
- b) Los aislamientos deben provenir de:
 - i. Pacientes con heridas en la piel o partes blandas
 - ii. Pacientes con no más de 48 horas de haber ingresado al hospital.
 - iii. Pacientes que no hayan tenido contacto con asistencias médicas, ni hayan recibido diálisis un año antes de presentar la infección.
 - iv. Un lugar (sitio de toma de muestra) que no haya sido sometido a cirugía con anterioridad.
 - v. Pacientes que no hayan utilizado dispositivos médicos.

7.1.4. Criterios de Exclusión

Todo aislamiento que se haya hecho con el propósito de identificar una colonización.

7.2. Recursos

7.2.1. Humanos

7.2.1.1. Investigadoras

Aleyda Lissette Serrano Vela

María Alejandra Sierra Aguilera

Ana Lucía Ovalle Morales

Marlene Aracely Saucedo Barrios

7.2.1.2. Asesores de la Investigación

Licda. Amanda Gálvez.

Lic. Jorge Matheu.

7.2.1.3. Asesor Estadístico

Lic. Federico Nave

7.2.2. Físicos

7.2.2.1. Equipo

- Incubadora a 35°C.
- Equipo automatizado VITEK ó MICROSCAN para identificación y susceptibilidad antibiótica.
- Microcentrifuga
- Agitador Vórtex
- Baño de maría a 100°C.
- Pipetas ajustables P1000, P200, P20
- Congelador a -20°C.
- Termociclador
- Balanza
- Horno de microondas o estufa para disolver la agarosa.

- Fuente de poder.
- Aparato para electroforesis horizontal
- Cámara polaroid con filtro naranja y campana
- Transluminador UV

7.2.2.2. Materiales

- Asas Bacteriológicas.
- Agar Sangre de Carnero.
- Puntas de pipetas amarillas y azules estériles.
- Tubos eppendorf estériles de 0.5 mL y de 1.5 mL.
- Tubos de 1.5 mL estériles.
- Viales de 1drm estériles.
- Gradillas para tubos de microcentrífuga
- Gradillas flotantes para tubos de microcentrífuga
- Hielera con hielo picado
- Beaker con cloro diluido (hipoclorito de sodio al 1.5%)
- Molde para gel
- Cámara de electroforesis
- Peines
- Erlenmeyer de 250 mL.
- Probetas de 100, 250 y 1000 mL.
- Papel para pesar
- Cinta adhesiva de color
- Lentes protectores contra luz UV
- Película polaroid 667
- Servilletas de papel
- Guantes
- Parafilm

7.2.2.3. Reactivos

- Agua destilada.
- Cepa ATCC 49775 de *Staphylococcus aureus*.
- 10X PCR buffer
- 12.5X desoxirribonucleótidos
- Primer para luk-PV-1

- Primer para luk-PV-2
- Ampli Taq
- Aceite mineral
- Agarosa al 0.8%
- TBE 1X
- 10X gel-loading buffer
- Bromuro de etidio
- Marcador de peso molecular de ADN

7.2.3. Institucionales

- Laboratorios de microbiología del Hospital Roosevelt
- Laboratorio del hospital Nacional Pedro de Betancourt, de Guatemala
- Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile

7.3. Metodología

Se colectaron cepas de SARM, aisladas de muestras de pacientes que acudan a las salas de emergencia de niños y adultos de los hospitales Roosevelt y Pedro de Betancourt, de Guatemala.

El período de muestreo se realizó a partir de la cuarta semana de junio del año 2010, hasta la segunda semana de septiembre del mismo año. Todas las cepas recolectadas fueron SARM, cuya resistencia antibiótica haya sido realizada en los laboratorios de Microbiología de los hospitales incluidos en el estudio, a través del método de difusión con discos, Kirby-Bauer. Las muestras recolectadas fueron utilizadas para estandarizar la metodología de PCR en el departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, a partir de la segunda semana de octubre del año 2010, utilizando como referencia la cepa ATCC 49775 de *Staphylococcus aureus* que posee el gen para la codificación de la Leucocidina de Pantón-Valentine (*pvI*). Una vez estandarizado el método, se procedió a la caracterización genotípica de los aislamientos de SARM-com, para establecer la presencia o ausencia del gen que codifica las *pvI*'s.

7.3.1 Metodología de Kirby-Bauer

Para la metodología de difusión en disco deben tomarse varias indicaciones según CLSI:

- a. Medio de cultivo estandarizado:
 - i. Mueller Hinton
 - ii. Niveles adecuados de calcio y magnesio
 - iii. Bajos niveles de timina y timidina
 - iv. Espesor del agar: 4 mm
 - v. pH del agar: 7,2 - 7,4

- b. Discos de antimicrobianos:
 - i. Deben estar protegidos de luz calor y humedad
 - ii. Tener una hora a temperatura ambiente antes de su utilización.
 - iii. Los antibióticos beta lactámicos deben congelarse hasta su utilización

- c. Inóculo:
 - i. Debe realizarse en caldo Mueller Hinton a partir de colonias bien aisladas obteniendo una opacidad visible después de 2 a 5 horas de incubación.
 - ii. Debe ajustarse a 10^8 UFC/mL, equivalente al standard 0,5 de turbidez de la escala de MacFarland.
 - iii. La estandarización del inóculo es necesaria para asegurar un crecimiento denso pero no totalmente confluyente.

- d. Colocación de los discos:
 - i. Llevar la placa a temperatura de incubación antes de sembrar el inóculo.
 - ii. Una vez sembrado, dejar secar la placa antes de colocar los discos (que no se propase de 15 minutos luego de realizado el sembrado).
 - iii. Colocar los discos de manera que los halos de inhibición no se superpongan.
 - iv. Después de colocar los discos dejar 15 minutos a temperatura ambiente antes de incubar en posición invertida a 35°C en atmósfera aerobia (35).

La interpretación de resultados debe realizarse después de 24 horas de incubación, cada placa debe ser examinada, las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento. Si aparecen colonias individuales, el inóculo estaba muy diluido y la prueba debe ser repetida. Los diámetros de la zona de inhibición completa son medidos en milímetros pasando por el centro del disco. Los tamaños de las zonas de inhibición deben interpretarse según tablas NCCLS para informa los resultados como susceptible, intermedio o resistente a los antimicrobianos (35).

7.3.2 Metodología de PCR

El método se basa en la realización de tres reacciones sucesivas llevadas a cabo a distintas temperaturas. Estas reacciones se repiten cíclicamente entre treinta y cuarenta veces, con el fin de amplificar el ADN genómico extraído de las muestras de los pacientes (41, 42).

7.3.2.1. Primer paso, Desnaturalización

La muestra se calienta 30 segundos a 95°C, hasta lograr la separación de las dos cadenas que constituyen el ADN (41, 42).

7.3.2.2. Segundo paso, Apareamiento

La temperatura se reduce hasta 53°C, durante 60 segundos y otros 60 segundos a 72°C, para permitir el "apareamiento" de cada una de dos cadenas cortas de nucleótidos (oligonucleóridos) con cada una de las hebras separadas del ADN molde, estos moldes son denominados iniciadores o primers y son sintetizados en el laboratorio y diseñados de manera tal que permiten definir los límites del tramo de ADN que se desea replicar. Los primers que se emplean en el estudio están diseñados para la secuencia de genes presentes en la PVL, para luk-PV-1 se necesita: 5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3'; y para luk-PV-2, 5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAGC-3'. Estos primers son específicos y no amplifican otra porción del gen luk-PV (41, 42).

7.3.2.3. Tercer paso, Extensión

Una enzima ADN polimerasa, denominada Taq polimerasa, extiende los primers, en el espacio comprendido entre ambos, sintetizando las secuencias complementarias

de las hebras del ADN molde. Para ello, la ADN polimerasa usa desoxidonucleósidos trifosfato (dNTPs) agregados a la mezcla de reacción. La temperatura a la que se realiza el tercer paso es de 72°C por 10 minutos (41, 42).

Al cabo del primer ciclo de tres reacciones (desnaturalización, apareamiento, extensión) el tramo de ADN elegido se ha duplicado y el doble de su cantidad original se encuentra disponible para ser nuevamente replicado en un segundo ciclo. El resultado de la aplicación de numerosos ciclos "en cadena" da lugar a la amplificación geométrica del segmento de ADN delimitado por los primers (41, 42).

Para identificar la presencia de una amplificación positiva se utiliza la técnica de electroforesis en 1.5% de gel de agarosa, seguido del análisis con bromuro de etidio, para buscar un patrón definido. En cada corrida debe utilizarse un control positivo *S. aureus* ATCC 49775 y un control negativo. (41, 42).

7.3.3. Diseño estadístico

7.3.3.1. Tipo de estudio

Estudio exploratorio de tipo descriptivo.

7.3.3.2 Tipo de muestreo

Por conveniencia. Muestreo no probabilístico de todos los casos que cumplan con los criterios de inclusión durante el período de tiempo establecido.

7.3.5. Análisis estadístico

Descriptivo. Los resultados fueron analizados utilizando el programa de Microsoft Excel, para obtener la frecuencia de SARM-com de todos los aislamientos obtenidos de los pacientes del Hospital Roosevelt y hospital Nacional Pedro de Betancourt, de Guatemala, durante un período de 12 semanas en cada hospital.

8. RESULTADOS

Durante las 12 semanas de muestreo en los dos Hospitales Nacionales, se encontraron 12 casos sospechosos de SARM-com. A partir de la información disponible de los pacientes con la infección, se comprobó que todos los aislamientos SARM positivos se identificaron antes de que los pacientes cumplieran 48 horas de estadía en el hospital. Asimismo, no se encontró diferencia significativa en el sexo ni en la distribución en la edad de los pacientes, esto sin tomar en cuenta los tres casos cuya edad se desconoce. (Tabla No. 6).

Los tipos de muestra utilizados para la identificación del patógeno se obtuvieron principalmente de secreciones de piel y tejidos blandos -11 cepas- seguido de hisopados nasofaríngeos de los cuales solo una cepa SARM positivo fue identificada.

Tabla No.6		
Datos Generales obtenidos de pacientes con aislamiento SARM positivo		
Datos demográficos	Frecuencias	Porcentaje
Sexo		
Femenino	7	58.33
Masculino	5	41.67
Edad* (años)		
0-12	1	11.00
13-24	2	22.00
25-36	1	11.00
37-48	2	22.00
49-60	0	0
61-72	1	11.00
72-84	2	22.00
Ingreso al Hospital		
<48 horas	12	100
>48 horas	0	0
Tipo de muestra		
Piel y tejidos blandos	11	91.66
Hisopado nasofaríngeo	1	8.33

Fuente: Datos experimentales. SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *Se desconoce la edad de 3 pacientes SARM positivo, los porcentajes son calculados a partir de los nueve datos conocidos.

El antibiograma realizado a cada una de las cepas presentó un patrón en el que las 12 cepas SARM mostraron resistencia a la oxacilina, eritromicina y penicilina, así como susceptibilidad a gentamicina, tetraciclina, trimetoprima, vancomicina, nitrofurantoína, linezolid y rifampicina (Tabla No. 7). Asimismo, se observa una variabilidad en la resistencia a los antibióticos clindamicina, levofloxacina y moxifloxacina.

Tabla No. 7
Patrón de susceptibilidad expresada por SARM

Antibiótico	SARM (n=12)		
	R	I	S
Oxacilina	12	0	0
Penicilina	12	0	0
Eritromicina	12	0	0
Gentamicina	0	0	12
Tetraciclina	0	0	12
Trimetoprima	0	0	12
Vancomicina	0	0	12
Linezolid	0	0	12
Nitrofurantoína	0	0	11*
Rifampicina	0	0	10*
Clindamicina	11	0	1
Levofloxacina	10	1	1
Moxifloxacina	11	0	1

Fuente: Datos experimentales. SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *pvl*: Toxina Panton Valentine-Leucocidina. S: susceptible, I: intermedia, R: Resistente *Se desconoce la susceptibilidad para el antibiótico de alguna cepa.

La tipificación de las cepas fue realizada por el Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile, en donde al realizar el estudio fenotípico para confirmar el aislamiento de SARM, se reportó que de las 12 cepas sospechosas, 4 estaban contaminadas. Las 8 cepas restantes se analizaron para la identificación de los genes: *mecA*, *femA* y *pvl* (Tabla No. 8), en donde se obtuvo que de las 8 cepas 2 presentaron los genes *mecA* y *femA* y *pvl*, confirmando su carácter de SARM adquirido en la comunidad.

Tabla No. 8
Resultados obtenidos de Fenotipificación y Tipificación del Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile

Análisis	Frecuencia
Fenotipificación SARM	8
Tipificación	Frecuencia
Gen <i>mecA</i>	8
Gen <i>femA</i>	8
Gen <i>pvl</i>	2

Fuente: Datos experimentales. SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina Gen *mecA*: Gen de resistencia a Meticilina. Gen *femA*: gen específico de especie de *S. aureus*. y Gen *pvl* (Gen de Leucocidina Panton-Valentine).

De las dos cepas confirmadas SARM-com *pvl* positivo, una fue aislada a partir de secreción de piel de un paciente de sexo masculino, de 5 años de edad, con diagnóstico de sepsis, quien fue atendido en la emergencia de Pediatría del Hospital Roosevelt; se desconoce la evolución de este paciente. El otro aislamiento fue obtenido de la secreción de cabeza de una paciente de sexo femenino de 33 años de edad, quien fue atendida por infección crónica en el cráneo; al momento del ingreso fue medicada con penicilina y cefotaxime, evolucionando favorablemente y egresando 20 días después.

9. DISCUSIÓN

Desde la década de los años noventa se han presentado numerosos casos confirmados de pacientes con *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM-com), los cuales se encuentran distribuidos alrededor del mundo, siendo reportados en Estados Unidos, Europa y ciertos países de Latinoamérica como Colombia, Argentina y Uruguay. Genéticamente, estas cepas de la comunidad difieren de las que se asocian a nivel hospitalario (SARM-hos) en que a menudo contienen los genes que codifican la toxina Leucocidina Pantón Valentine (*pvl*), además presentan un cassette cromosómico tipo *mec* (SCC*mec*) con los alelos IV o V (1, 11, 17, 21, 24).

En Guatemala no existen estudios previos de caracterización genotípica de las cepas de SARM-com, por lo tanto la determinación de dicha cepa a través de un estudio exploratorio es útil para establecer la magnitud del problema de salud que representa para el país.

Las cepas SARM-com pueden diagnosticarse en el laboratorio con base en los siguientes criterios: aislamiento del patógeno, concordancia del antibiograma con las características esperadas, evidencia del gen *mecA* y del gen *pvl*. Como resultado de 12 semanas de muestreo, se obtuvieron 12 cepas SARM provenientes únicamente del Hospital Roosevelt, coincidentes con el perfil de resistencia de las cepas comunitarias, de las cuales 11 cepas fueron aisladas de secreciones de piel y tejidos blandos, mientras que sólo una cepa se aisló de hisopados nasofaríngeos. De acuerdo con Dumistrescu O, *et al.* 2008 y Kluytmans-Vandenberg M 2006, SARM-com ha sido aislado predominantemente de infecciones de piel y tejidos blandos a diferencia de SARM-hos, que se caracteriza por causar bacteremias e infecciones del tracto urinario y respiratorio. Sin embargo, de acuerdo con Udo E y cols. 1993, SARM-com también ha sido aislado en infecciones más severas a nivel vascular –endocarditis-, pulmonar –neumonía necrotizante-, huesos y articulaciones –osteomielitis- o infecciones mediadas por toxinas -síndrome de shock tóxico (4, 19, 23).

Según Teglia O, *et al.* 2007, Wolter D, *et al.* 2007, Kluytmans-Vandenberg M, 2006 y Böcher S, *et al.* 2008, el mayor número de los casos de infecciones por SARM-com, se ha detectado en internos de cárceles, equipos deportivos, niños y adolescentes que viven en hacinamiento familiar y guarderías infantiles. No obstante, en ninguna de las investigaciones se describe alguna correlación con el sexo de los pacientes. Esto concuerda con los resultados del presente estudio, donde se encontró que 5 de los aislamientos se obtuvo de pacientes de sexo masculino y 7 de sexo femenino. Sin embargo, tomando en cuenta que la mayoría de pacientes que acuden a consulta en el Hospital Roosevelt por tratamientos terapéuticos, viven en pobreza extrema, es

posible que presenten factores de riesgo como hacinamiento familiar y limitación en los servicios básicos, lo que fomenta la transmisión a gran escala del patógeno. Con relación a la edad no es posible establecer un patrón, debido a que esta no fue reportada en todos los casos de infección causada por SARM-com *pvl* positivo detectados en el estudio (4, 12, 19, 23, 25).

De acuerdo con la literatura, las principales características de los procesos generados por SARM-com son, entre otras, lesiones de inicio brusco, predominante en niños y adolescentes previamente sanos. Sin embargo, de acuerdo con los datos obtenidos del presente estudio, no es posible establecer dicha predominancia, debido a que sólo una de las cepas SARM-com *pvl* positivo fue aislada a partir de un menor de edad (1, 2, 10, 12, 25-27).

Un factor primordial para el diagnóstico de este tipo de infecciones consiste en que la muestra debe ser tomada antes que el paciente cumpla 48 horas del ingreso al hospital, de lo contrario se caracterizará como SARM-hos. Las 12 cepas obtenidas de los casos confirmados en el estudio concuerdan con este requerimiento, de acuerdo con la información proporcionada por el Laboratorio de Microbiología del hospital (1).

Tomando en cuenta la concordancia con las características del aislamiento y el patrón de antibiograma correspondiente a SARM-com, las 12 cepas seleccionadas fueron enviadas al Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile en donde la confirmación fenotípica evidenció que 8 cepas concordaron con SARM, presentando los genes *FemA* y *MecA*, mismos que son específicos de la especie y resistencia a antibióticos betalactámicos, respectivamente. La tipificación del gen *pvl* permitió confirmar 2 de estas 8 cepas como SARM-com. Las 6 cepas no productoras de *pvl* no pueden descartarse totalmente como SARM-com, debido a que de acuerdo con la literatura se ha establecido que aproximadamente un 10% de las cepas SARM-com pueden no ser productoras de este factor de virulencia (2).

Habiéndose confirmado genotípicamente las cepas SARM-com, se observó que las 2 cepas productoras de *pvl* mostraron resistencia a la oxacilina, eritromicina y penicilina y susceptibilidad a la gentamicina, tetraciclina, trimetoprima, vancomicina, nitrofurantoína y linezolid. Solamente en una se observó resistencia a la clindamicina. Esto indica que ambas cepas concordaron con el patrón de antibiograma característico (1, 2, 10, 20).

Entre las limitaciones del estudio se incluyen el registro incompleto de la información de los pacientes cuyas muestras se remiten al laboratorio para análisis, tales como la edad, sexo, tipo y sitio anatómico de donde se obtuvo la muestra; así como la variabilidad en los antibióticos

utilizados en el antibiograma para una misma especie bacteriana. Además, el análisis de los datos fue afectado por las cepas clasificadas como contaminadas, debido a que en estas no se determinó la producción del factor de virulencia. En Guatemala, la falta de Laboratorios de Biología Molecular a disposición de investigadores de instituciones públicas, representa una dificultad para el desarrollo de temas de esta índole, a pesar del impacto que tienen los resultados para el sistema de salud del país.

La existencia de SARM-com en Guatemala evidencia la necesidad de realizar estudios posteriores para establecer la magnitud del problema de salud que representa para el país y la difusión de estos hallazgos permite que los profesionales de la salud orienten adecuadamente las terapias antimicrobianas en los casos donde existan factores de riesgo asociados, sin tener que recurrir a vancomicina u otros antibióticos de amplio espectro que deban reservarse para casos en los que el agente patógeno sea multirresistente. El tratamiento adecuado de infecciones por SARM-com reduce el riesgo de que otras cepas bacterianas que sean hospitalarias adquieran el gen *pvl*.

Agradecemos a las siguientes instituciones por el apoyo y la colaboración brindados: Al Hospital Roosevelt y Hospital Nacional Pedro de Betancourt, Laboratorios BIOLAB® y al Laboratorio de Referencia de Cocáceas Gram Positivas del Instituto de Salud Pública de Chile.

10. CONCLUSIONES.

- 10.1. El resultado de la genotipificación estableció la presencia del gen *mecA* en las 8 cepas analizadas, de las cuales únicamente 2 presentaron el gen *pvl*.
- 10.2. Las cepas SARM-com *pvl* positivo presentaron resistencia a la oxacilina, eritromicina y penicilina. Mientras que fueron susceptibles a la gentamicina, tetraciclina, trimetoprima, vancomicina, nitrofurantoína y linezolid.
- 10.3. La difusión de los hallazgos relacionados a la identificación de las cepas SARM-com, permite que los profesionales de la salud orienten adecuadamente las terapias antimicrobianas en los casos donde existan factores de riesgo asociados, sin tener que recurrir a vancomicina u otros antibióticos de amplio espectro que deban reservarse para casos en los que el agente patógeno sea multiresistente.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. La existencia de SARM-com en Guatemala evidencia la necesidad de realizar estudios posteriores para establecer la magnitud del problema de salud que representa para el país y la difusión de estos hallazgos permite que los profesionales de la salud orienten adecuadamente las terapias antimicrobianas en los casos donde existan factores de riesgo asociados.
- 11.2. Es necesario que los hospitales cuenten con un adecuado sistema de registro de datos de pacientes para este tipo de estudios donde se requiera recolectar dicha información.
- 11.3. Debido a que la población guatemalteca presenta riesgo de infección por SARM-com, es necesario contar con laboratorios de biología molecular en el país a disposición de investigadores de instituciones públicas para facilitar la obtención de resultados.
- 11.4. Es importante implementar a nivel nacional un sistema adecuado de registro y vigilancia de cepas SARM-com; a través del cual se recolecte de forma ordenada la historia clínica del paciente y datos de las muestras que se remiten al laboratorio para análisis, tales como la edad, sexo, tipo y sitio anatómico muestreado.

12. REFERENCIAS

1. Richardson A, Libby S, Fang F. A nitric oxide-inducible lactate dehydrogenase enables *Staphylococcus aureus* to resist innate immunity. *Science*. 2008; 319:1672-1676.
2. Teglia O, et al. *Staphylococcus aureus* Meticilino-Resistente, emergente de la Comunidad. *REV. MÉD. Rosario*. 2007; 73- 81.
3. Organización Panamericana de la Salud. *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente: Informe. Ateneo general sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. OPS. 2004; 4-24.
4. Sosa L, Hincapié M. Portadores Nasales de *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente en Contactos de Pacientes Pediátricos con Enfermedad Diseminada Adquirida en la Comunidad. *Med UNAB*. 2007; 10(3): 195-199.
5. Fang H, et al. Genetic Diversity of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Southern Stockholm, 2000-2005. *Journal Compilation of ESCMID*. 2008; 14(4): 370-375.
6. Van de Griend P, et al. Community-associated Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*, Iowa, USA. *EID*. 2009; 15(10): 1582-1588.
7. Marcotte A, Trzeciak M. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad: un microorganismo patógeno emergente en cirugía ortopédica. *J Am Acad Orthop Surg*. 2008; 7:174-182.
8. Galiana A. Infección por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. *Arch Pediatr Urug*. 2003; 74(1): 26-29.
9. Wilson M, et al. Genotipos de *Staphylococcus aureus* con fenotipo meticilino resistente, aislados de pacientes del Hospital Base de Valdivia. *Rev Méd Chile*. 2007; 135: 596-601.
10. Charlebois E, et al. Origins of Community Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *CID*. 2004; 39:47-52.
11. Huang Y, et al. Comparative molecular analysis of community-associated and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children in northern Taiwan. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14: 1167–1172.
12. Wolter D, Tenover F, Goering R. Allelic variation in genes encoding Pantón–Valentine leukocidin from community-associated *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*. 2007; 13: 827–830.

13. Van de Velde. Etude sur le me´canisme de la virulence du *Staphylocoque pyoge`ne*. La Cellule 1984; 10:401–60.
14. Panton P, Valentine F. Staphylococcal toxin. Lancet. 1932; i:506–508.
15. Etienne J. Panton-Valentine Leukocidin: A Marker of Severity for *Staphylococcus aureus* Infection. CID. 2005; 41:591–593.
16. Pouessel G, *et al.* Childhood Pustular Psoriasis Associated with Panton-Valentine Leukocidin-Producing *Staphylococcus aureus*. Pediatric Dermatology. 2007; 24(4): 401–404.
17. Vorobieva V, *et al.* Clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from the Arkhangelsk region, Russia: antimicrobial susceptibility, molecular epidemiology, and distribution of Panton-Valentine leucocidin genes. APMIS. 2008; 116: 877-887.
18. Casellas J. CA-MRSA: ¿Qué son? ¿Cómo diagnosticarlos, cómo tratar sus infecciones?. La Gaceta. 2008; 2(2):1-3.
19. Dumitrescu O, *et al.* Effect of antibiotics, alone and in combination, on Panton–Valentine leukocidin production by a *Staphylococcus aureus* reference strain. CMI. 2008; 14(4): 384-387.
20. Skiest D, *et al.* Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an urban HIV clinic. HIV Medicine. 2006; 7:361–368.
21. Gosbell I. Epidemiology, clinical features and management of infections due to community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (cMRSA). IMJ. 2005; 35:120–135.
22. Huerta A, *et al.* Necrólisis epidérmica tóxica. Síndrome de Lyell. Semergen. 24(8): 660-661.
23. Kluytmans-VandenBergh M, Kluytmans A. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. Clin Microbiol Infect. 2006; 12: 9–15.
24. Otter J, French G. The emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a London teaching hospital, 2000–2006. Clin Microbiol Infect. 2008;14: 670–676
25. Böcher S, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: risk factors associated with community-onset infections in Denmark. Clin Microbiol Infect. 2008;14: 942–948
26. Sanjay K. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Its Emerging Virulence. Clinical Medicine & Research. 2005; 3(2): 57-60
27. Udo E y cols. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. J Hosp Infect. 1993; 25:97-108.
28. Opovich K, Hota B. Treatment and prevention of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. Dermatologic Therapy. 2008; 21:167–179.

29. Del Giudice P, *et al.* Emergence of two populations of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with distinct epidemiological, clinical and biological features, isolated from patients with community-acquired skin infections. *Brit. Jour. Derm.* 2006; 154: 118–124.
30. Pérez L, *et al.* Etiología del impétigo infantil. *Rev. chil. pediatr.* 2001; 72 (3): 199-203.
31. Amorín M, Castro M, *et al.* Infecciones invasivas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. Presentación clínica y evolutiva observada en dos centros universitarios. *Rev Med Urug.* 2008; 24: 230-237.
32. Bueno P, Mariño J, Bueno J, *et al.* Fascitis necrotizante. *Rev Cubana Ortop Traumatol* 1999;13(1-2):47-53.
33. Gauduchon V, Cozon G, Vandenesch F. Neutralization of *Staphylococcus aureus* Panton Valentine Leukocidin by Intravenous Immunoglobulin In Vitro. *JID* 2004;189: 346-352.
34. Escobar K, Osorio E, Xuruc L, *et al.* Caso clínico. Neumonía necrotizante de etiología poco común. *Rev. Neumología Pediátrica.* 35,36.
35. Díaz M. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Fundamentos y técnicas de análisis microbiológico. 2004. Madrid.
36. Oповich K, Hota B. Treatment and prevention of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. *DT.*2008;21:167-179
37. Álvarez E, *et al.* Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* procedentes de la comunidad. *CENIC.*2008;39(3):1-7.
38. Monecke S. High diversity of Panton–Valentine leukocidin-positive, methicillinsusceptible isolates of *Staphylococcus aureus* and implications for the evolution of community-associated methicillin-resistant *S. aureus*. *J.*2007;13(12):1-9
39. Wulf M. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. *Clin Microbiol Infect* 2008.14: 29–34
40. Genestier A. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. *JCI.*2005;15(11):1-12.
41. Monecke S. *et al.* Microarray-based characterisation of a Panton–Valentine leukocidin-positive community-acquired strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 718–728
42. Gerard L. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin–Producing *Staphylococcus aureus* in Primary Skin Infections and Pneumonia. *Clin Infec Dis* 1999; 29:1128–32

