

Colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en las manos de individuos de la comunidad

Pablo Felipe Báez Benavides¹, Mario Augusto Zapata Tamayo¹, Auxilio Ramírez Pérez¹,
Alvaro León Rúa Giraldo¹, Judy Natalia Jiménez Quiceno²

RESUMEN

En la última década han sido cada vez más frecuentes los informes de infecciones causadas por cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociadas a la comunidad (CA-MRSA, por *Community-associated methicillin-resistant S. aureus*). La colonización juega un papel importante en la epidemiología de tales infecciones. Sin embargo, los estudios de colonización se han centrado principalmente en el ambiente hospitalario y se han hecho muy pocos en la comunidad. En este trabajo se investigó la frecuencia de colonización por *S. aureus* en general y por MRSA en las manos de individuos de la población general no relacionados con el área de la salud, empleando métodos fenotípicos y moleculares. Se obtuvieron mediante hisopado 800 muestras de las manos de otros tantos individuos. Se halló colonización por *Staphylococcus aureus* en 65 muestras (8,1%) y por MRSA en 5 (0,63%). Las 5 cepas de MRSA presentaban el casete cromosómico *mec* (*SCCmec*) de los tipos IV o V, típicamente relacionados con CA-MRSA. Nuestro trabajo evidenció la colonización de las manos por MRSA en individuos de la comunidad, lo cual constituye un importante factor de riesgo, no solo por su asociación con el desarrollo ulterior de infecciones, sino también por el potencial de diseminar este microorganismo a la población general.

Palabras clave

Colonización, Comunidad, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA)

SUMMARY

Hand colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the community

Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections (CA-MRSA) have been reported with increasing frequency during the past decade. Colonization plays an important role in the epidemiology of such infections. However, colonization studies have focused mostly on hospital settings and only a few have been carried out in communities. This was a study of the

¹ Docente, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Docente, Escuela de Microbiología, Grupo de Microbiología Molecular. Estudiante de Doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
Correspondencia: Judy Natalia Jiménez Quiceno judynatalia@yahoo.com

Recibido: 24 de agosto de 2009

Aceptado: 25 de septiembre de 2009

frequency of hand colonization by *S. aureus* in general and by CA-MRSA, by means of phenotypical and molecular methods, in 800 adults from the community who had no relationship with the health area. *Staphylococcus aureus* colonization was found in 65 individuals (8.1%) and MRSA was present in 5 (0.63%). The 5 MRSA strains were found to have *mec* chromosomal cassettes (*SCCmec*) of either type IV or V, typical of CA-MRSA. Our study provides evidence of CA-MRSA colonization in the hands of individuals from the community. This constitutes an important risk factor, not only by its association with subsequent infections, but also for the risk of dissemination of this microorganism to the general population.

Key words

Colonization, Community, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus*

INTRODUCCIÓN

Desde su aislamiento en 1961 hasta la fecha *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA, por *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) ha sido considerado como uno de los principales patógenos nosocomiales en todo el mundo; ¹ sin embargo, en las dos últimas décadas el panorama de las infecciones por esta bacteria se ha tornado más complejo debido a la emergencia y diseminación en la comunidad de cepas que se conocen con la sigla CA-MRSA (por *Community-associated methicillin-resistant S. aureus*). Estas cepas difieren de las hospitalarias tradicionales no solo en su comportamiento epidemiológico sino también en la susceptibilidad a antibióticos y la virulencia. ² Las cepas de CA-MRSA se han mostrado como más virulentas y han ocasionado brotes graves en comunidades cerradas como grupos familiares, militares, reclusos, niños en guarderías y deportistas. ³ La mayoría de estas cepas producen la leucocidina Panton-Valentine (PVL, por *Panton-Valentine leucocidine*), que se ha asociado con el agravamiento de la enfermedad en adultos, jóvenes y niños; y contienen además los tipos IV y V del casete cromosómico *mec* (*SCCmec*), que por ser pequeños se pueden diseminar con mayor facilidad. ^{4,5}

La colonización del hospedador juega un papel importante en la epidemiología de las infecciones

causadas por *S. aureus*; sin embargo, la dinámica de colonización por MRSA no está totalmente entendida. Varios estudios han demostrado que el riesgo de desarrollar infección invasiva luego de la colonización por MRSA es mucho mayor que el asociado con la colonización por *S. aureus* sensible a metilina (MSSA, por *methicillin-sensitive S. aureus*). ^{6,7}

Las manos y la parte anterior de la nariz son los sitios anatómicos que han sido evaluados extensamente en los estudios de colonización en el ambiente hospitalario. ^{8,9} Esto se debe a que la parte anterior de la nariz es el principal sitio de alojamiento de *S. aureus* y a que las manos colonizadas constituyen un factor de riesgo para la diseminación, pues la transmisión de MRSA ocurre por contacto directo entre individuos ¹⁰ y con superficies contaminadas. ¹¹

A pesar de la importancia creciente de MRSA en las comunidades, se han hecho muy pocos estudios sobre su colonización en ellas y son aún menos los que han evaluado la colonización de las manos como medio potencial de transmisión. Por ello nuestro objetivo fue definir la frecuencia de colonización por *S. aureus* y MRSA en las manos de individuos de la población general, empleando métodos fenotípicos y moleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mediante una encuesta para detectar los factores de riesgo relacionados con la infección por MRSA (hospitalización reciente, estancia en lugares de cuidado prolongado, cirugías previas, diálisis y utilización de aparatos médicos invasivos, entre otros) y excluir a quienes presentaban cualquiera de ellos, se seleccionaron 800 individuos adultos (estudiantes universitarios y empleados de empresas públicas y privadas no relacionadas con el área de la salud). Previo consentimiento informado, se obtuvo una muestra de cada individuo frotando cabalmente ambas manos con un hisopo el cual se depositó en 5 mL de agua peptonada como medio de transporte; las muestras se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento en el laboratorio.

Identificación fenotípica

La identificación fenotípica de los aislamientos de *S. aureus* se hizo de acuerdo con sus características

morfológicas y bioquímicas mediante procedimientos estandarizados en el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Universidad de Antioquia. Brevemente descrita, las muestras se sembraron en el medio de cultivo Baird Parker; a las colonias con morfología típica de *Staphylococcus* se les hizo la prueba de la catalasa y a las que resultaron positivas se les realizó la prueba de coagulasa en tubo, para confirmar la presencia de *S. aureus*.¹²

Extracción del ADN

Las cepas identificadas fenotípicamente como *S. aureus* se subcultivaron en caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) y se incubaron entre 18 y 24 horas a 37 °C. La extracción del ADN se llevó a cabo empleando el estuche comercial de purificación de ADN de Promega (*Wizard Genomic DNA purification kit*), con 10 mg/mL de lisozima (Sigma).

Caracterización molecular: detección de los genes *Nuc* y *mecA* y tipificación del *SCCmec*

Los hallazgos fenotípicos de *S. aureus* se confirmaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) descrita por Brakstad y colaboradores,¹³ la cual amplifica el gen *Nuc* que codifica para una nucleasa termoestable específica de *S. aureus*.

Para la detección del gen *mecA*, responsable de la resistencia a metilina, y para la tipificación del casete cromosómico *mec* de *S. aureus* (*SCCmec*) se empleó la metodología descrita por Kondo y colaboradores,¹⁴ que emplea seis múltiplex PCR que permiten la identificación de los complejos de genes *ccr* y *mec* y de estructuras específicas en la región *junkyard*.

El análisis de los datos se hizo en SPSS® versión 15.0. Se utilizaron porcentajes y promedios como medidas resumen de acuerdo con el nivel de medición de las variables sociodemográficas, microbiológicas y moleculares. Para la comparación de variables cualitativas se utilizó la prueba Chi cuadrado. Se definieron como significativas las diferencias con valores de p menores del 5%.

RESULTADOS

De las 800 personas estudiadas, 414 (51,8%) eran mujeres y 386 (48,2%), hombres. El promedio de edad fue de 32 años.

Por métodos fenotípicos y moleculares se confirmó la presencia de *S. aureus* (colonización) en 65 (8,1%) de las 800 muestras. No se encontró asociación entre la tasa de colonización y el sexo de los participantes ni tampoco con las empresas de las cuales procedían ($p > 0,05$).

En cinco de las 65 cepas de *S. aureus* (7,7%) se detectó la presencia del gen *mecA*; calculado sobre el total de 800 individuos, el porcentaje de colonización por MRSA fue del 0,63%. En la tipificación del *SCCmec* se encontró que tres cepas eran del tipo IV y dos del tipo V, característicos de los MRSA asociados a la comunidad. Los cinco individuos en quienes se detectó esta colonización no habían tenido exposición reciente a ambientes asociados al cuidado de la salud ni habían consumido antibióticos en los últimos seis meses.

DISCUSIÓN

Uno de los factores de riesgo más importantes para desarrollar una infección por MRSA tanto en el ambiente hospitalario como en la comunidad es la colonización previa por este microorganismo.^{15,16} Los informes de colonización por CA-MRSA en individuos sin factores de riesgo relacionados con el cuidado de la salud son escasos y recientes¹⁷ pues tradicionalmente la colonización por MRSA se ha evaluado e informado en personal que labora en ambientes hospitalarios o que tiene algún tipo de contacto con estas instituciones o con su personal. Además, la identificación de las cepas CA-MRSA presenta algunas dificultades como la falta de claridad en la definición de "adquirido en la comunidad" o "asociado a la comunidad" lo que lleva a obtener muestras de poblaciones o individuos con alguna asociación con el ambiente hospitalario; de esta manera se sobreestiman las tasas de colonización asintomática por CA-MRSA.¹⁷ Así mismo, la calidad de las muestras y de las técnicas de cultivo puede generar resultados variables y difíciles de comparar con los obtenidos en otros estudios de colonización por MRSA.¹⁸ El control de cada una de estas variables metodológicas es imprescindible porque la identificación correcta de las cepas CA-MRSA es crucial para la clínica y la epidemiología.

Nuestro estudio es confiable desde el punto de vista metodológico pues se controlaron las variables de laboratorio críticas en la obtención de los resultados

como son la correcta obtención de la muestra y su adecuado procesamiento. Fue así como para la identificación precisa y correcta de las cepas de MRSA se emplearon además de la detección del gen *mecA*, la identificación del gen *Nuc*, específico de *S. aureus*, debido a que el gen *mecA* también se encuentra en cepas de estafilococos coagulasa negativa, que se encuentran de manera más frecuente como colonizadores de la piel.¹⁹

Nuestro trabajo detectó una tasa de colonización del 8,1% para *S. aureus* y del 0,63% para MRSA. A pesar de ser bajos los porcentajes, estos hallazgos son significativos porque evidencian la colonización de las manos por CA-MRSA en individuos de la comunidad, lo que constituye un importante factor de riesgo, no solo por estar asociada con el desarrollo ulterior de infecciones, sino también por el riesgo de diseminar el microorganismo a la población general. De hecho, la colonización por *S. aureus* solo se ha considerado como un problema de salud pública a partir del surgimiento de la colonización por MRSA.

Los estudios de colonización por *S. aureus* y por MRSA se han llevado a cabo principalmente en la parte anterior de la nariz, considerada como su principal nicho ecológico. Investigaciones realizadas en la población general en este sitio han hallado porcentajes de colonización de hasta 36,4% para *S. aureus* y del 9,2% para MRSA.²⁰ En general las tasas de colonización varían de un sitio a otro; recientemente un estudio realizado por Nilsson y colaboradores²¹ mostró colonización más frecuente en la garganta que en la parte anterior de la nariz. Por otro lado, son escasos los estudios de colonización en las manos y se han enfocado principalmente hacia trabajadores del área de la salud, debido probablemente a que en el ambiente hospitalario es más frecuente ese tipo de colonización y mucho más graves sus implicaciones.^{9,22} Sin embargo, es indiscutible que el mecanismo de transmisión de mano a mano juega un papel fundamental tanto en el ambiente hospitalario como en la comunidad. A pesar de lo anterior, no se conoce la frecuencia de colonización en las manos, pero al considerarlas como un sitio secundario de colonización se podría asumir que es más baja que en la parte anterior de la nariz y la garganta. Es necesario hacer estudios que profundicen sobre los diferentes sitios anatómicos de colonización por *S. aureus*.

En el ámbito local, los resultados de nuestro estudio son un aporte significativo e innovador al conocimiento de la epidemiología de *S. aureus* y de MRSA y destacan la importancia de otros sitios anatómicos en la colonización por este microorganismo. En el caso particular del ambiente comunitario, se ha demostrado que el contacto con la piel, incluso sin abrasiones, y con superficies contaminadas representa el modo de transmisión más importante de MRSA.¹¹ De ahí que la colonización de las manos pueda resultar en la transferencia del microorganismo a varias superficies e incluso a la piel de otras personas, con lo que se convierte en una fuente de diseminación a gran escala.

Nuestros hallazgos resaltan la importancia de promover activamente el lavado de las manos como medida primordial para el control las infecciones causadas por *S. aureus* y CA-MRSA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aires de Sousa M, de Lencastre H. Bridges from hospitals to the laboratory: genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 40: 101-111.
2. Zetola N, Francis J, Nuermberger E, Bishai W. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 275-286.
3. Ho P, Cheung C, Mak G, Tse C, Ng T, Cheung C, 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.
4. McClure J, Conly J, Lau V, Elsayed S, Louie T, Hutchins W, et al. Novel Multiplex PCR assay for detection of the staphylococcal virulence marker Pantone-Valentine leukocidin genes and simultaneous discrimination of methicillin-susceptible from-resistant staphylococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1141-1144.
5. Hiramatsu K, Cuil L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 2001; 9: 486-493.
6. von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med*. 2001; 344: 11-16.
7. Huang SS, Platt R. Risk of methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* infection after previous infection or colonization. Clin Infect Dis 2003; 36: 281-285.
8. Henderson DK. Managing methicillin-resistant staphylococci: A paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. Am J Med 2006; 119 (6 Suppl. 1): S45-S52.
 9. Cromer AL, Latham SC, Bryant KG, Hutsell S, Gansauer L, Bendyk HA, et al. Monitoring and feedback of hand hygiene compliance and the impact on facility-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Am J Infect Control 2008; 36: 672-677.
 10. Stepanoviæ S, Cirkoviæ I, Djukiæ S, Vukoviæ D, Svabiæ-Vlahoviæ M. Public transport as a reservoir of methicillin-resistant staphylococci. Lett Appl Microbiol 2008; 47: 339-341.
 11. Scott E, Duty S, Callahan M. A pilot study to isolate *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* from environmental surfaces in the home. Am J Infect Control 2008; 36: 458-460.
 12. Bannerman T. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase positive cocci that grow aerobically. In: Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover FC, Tenover R, eds Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington: ASM Press; 2003: 384-404.
 13. Brakstad O, Aasbakk K, Maeland J. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. J Clin Microbiol 1992; 30: 1654-1660.
 14. Kondo Y, Ito T, Ma X, Watanabe S, Kreiswirth B, Etienne J, et al. Combination of Multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 264-274.
 15. Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. Am J Med 2008; 121: 310-315.
 16. Choi CS, Yin CS, Bakar AA, Sakewi Z, Naing NN, Jamal F, et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. J Microbiol Immunol Infect 2006; 39: 458-464.
 17. Malik S, Vranken P, Silio M, Ratard R, van Dyke R. Prevalence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization outside the healthcare environment. Epidemiol Infect 2009 4: 1-5.
 18. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 505-520.
 19. Rogers KL, Fey PD, Rupp ME. Coagulase-negative staphylococcal infections. Infect Dis Clin North Am 2009; 23: 73-98.
 20. Creech CB 2nd, Kernodle DS, Alsentzer A, Wilson C, Edwards KM. Increasing rates of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. Pediatr Infect Dis J 2005; 24: 617-621.
 21. Nilsson P, Ripa T. *Staphylococcus aureus* throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. J Clin Microbiol 2006; 44: 3334-3339.
 22. McBryde ES, Bradley LC, Whitby M, McElwain DL. An investigation of contact transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect 2004; 58: 104-108.

