

Vicente Aguadero¹
Carmen González-Velasco²
Ana Vindel³
Miguel González-Velasco⁴
Juan José Moreno¹

Situación actual de la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en Extremadura: sensibilidad, clonalidad, y protagonismo de la adquisición extrahospitalaria

¹Sección de Microbiología. Unidad de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida (Badajoz).

²Sección de Microbiología. Unidad de Análisis Clínicos. Hospital de Don Benito- Villanueva (Badajoz).

³Laboratorio de Infecciones Intrahospitalarias. Centro Nacional de Microbiología. Majadahonda (Madrid).

⁴Departamento de Matemáticas. Universidad de Extremadura (Badajoz)

RESUMEN

La correcta vigilancia y control de la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) pasa por el conocimiento actualizado de las propiedades específicas que la caracterizan en cada lugar. El objetivo de este trabajo es describir las características actuales de la infección por SARM en Extremadura. Durante el año 2010 se recogieron 309 SARM, procedentes de muestras clínicas en nuestra comunidad. A cada uno de los aislados se le realizó un estudio de sensibilidad que engloba 17 antibióticos, ensayados mediante tarjeta AST-588 Vitek 2[®] y método E-test. Además se genotipa mediante Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE) una muestra de 100 cepas, escogidas por muestreo aleatorio estratificado. Se obtienen los siguientes resultados: la prevalencia de SARM en Extremadura es 20,2%. Don Benito-Villanueva es el área con mayor prevalencia y una de las de mayor incidencia. Mérida presenta la situación más favorable, con ratios relativamente bajos de prevalencia e incidencia. La adquisición extrahospitalaria alcanza el 44% en la región, mostrando claro predominio en las áreas de menor población (Navalmoral de la Mata y Coria). El patrón de multiresistencia más frecuente es tobramicina-levofloxacino-eritromicina (44%), seguido de tobramicina-eritromicina-clindamicina (20%). No se obtienen cepas resistentes a linezolid, daptomicina o tigeciclina, sin embargo el 42% presentan sensibilidad disminuida a vancomicina. El análisis por PFGE revela la existencia de 27 genotipos, con 3 genotipos mayoritarios: E8a (25%), E7b (17%) y E7a (12%). El estudio estadístico post-hoc, no revela diferencias significativas en la distribución de genotipos entre las diferentes áreas, pero sí algunas tendencias que deben tenerse en consideración.

State of infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Extremadura: susceptibility, clonality and role of community-associated MRSA

ABSTRACT

The correct surveillance and control of infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) needs of update knowledge of its specific properties in each place. Our study aims to describe the current characteristics of infection due to MRSA in Extremadura. During 2010, 309 MRSA were collected from clinical samples in our region. A susceptibility test that included 17 antibiotics tested by AST-588 card Vitek 2[®] and E-test method was performed on all isolates. A sample of 100 strains, selected by stratified random sampling, were genotyped by pulsed field electrophoresis (PFGE). The prevalence of MRSA in Extremadura was 20.2%. Don Benito-Villanueva area showed the most prevalence and a higher incidence. Merida reported the most favourable situation, with a relatively low ratios of prevalence and incidence. The community acquired reached 44 % in the region, showing predominantly in less populated areas (Navalmoral and Coria). The most common multiresistant pattern was tobramycin-levofloxacin-erythromycin (44%), followed tobramycin-erythromycin-clindamycin (20%). No linezolid, daptomycin and tigecycline resistant strains were observed, but 42 % of the MRSA strains showed decreased susceptibility vancomycin (DSV). PFGE analysis reported 27 genotypes, with 3 major genotypes: E8a (25%), E7b (17%) and E7a (12%). The post-hoc statistical analysis did not reveal significant differences in the distribution of genotypes between different areas. However it revealed some trends that should be considered.

INTRODUCCIÓN

La importancia del uso de medidas de control para *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) reside en el protagonismo de este microorganismo en la infección asociada a los cuidados sanitarios (cepas ACS-SARM), tanto en el

Correspondencia:
Vicente Aguadero Acera
Sección de Microbiología. Unidad de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida.
C/ Miguel Servet Street S/N. 06800. Mérida (Badajoz).
Tfno: 924381000.
E-mail: vicente.aguadero@gmail.com.

ambiente hospitalario como extrahospitalario^{1,2}, y el aumento progresivo de aislamientos de cepas resistentes a glucopeptidos³⁻⁵, daptomicina^{6,7} o linezolid⁸⁻¹⁰. A las precauciones en el manejo de los pacientes y los protocolos de higiene de manos del personal sanitario, como estrategias recomendadas para conseguir descender la infección nosocomial y la propagación de SARM¹¹, se le suma actualmente el desarrollo de métodos que permiten tipificar las cepas productoras de enfermedad, y de esta manera, obtener información acerca de reservorios, fuentes de infección y forma de transmisión de cada una de ellas, así como poder distinguir las reinfecciones^{12,13}.

Nuestro trabajo pretende describir las características actuales de la infección por SARM en la Comunidad Autónoma de Extremadura, buscando posibles características exclusivas o particulares con respecto a la descrita por diferentes trabajos multicéntricos sobre sensibilidad antibiótica¹⁴⁻¹⁷ y distribución clonal de SARM a nivel nacional^{18,19}, que ayuden en la mejora y eficacia de los programas de control y vigilancia de este microorganismo en nuestra comunidad. Así, el objetivo del estudio es conocer la incidencia de la infección en Extremadura, los genotipos más prevalentes y su distribución geográfica, el espectro de sensibilidad antibiótica, y la prevalencia de la infección extrahospitalaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

División territorial: En la Comunidad Autónoma de Extremadura existen 8 hospitales que disponen de Unidad de Microbiología, asumiendo cada una de ellas las muestras correspondientes a una zona geográfica específica. Siguiendo este criterio, se definieron ocho *Áreas de Atención Microbiológica en Extremadura* (AAM) (tabla 1).

Colección de los aislados bacterianos Entre enero y diciembre de 2010, se remiten a la Unidad de Microbiología del Hospital de Mérida, 309 aislados SARM procedentes de muestras clínicas sembradas y procesadas en el trabajo rutinario de la Unidad de Microbiología de cada AAM. Las cepas correspon-

den a muestras de exudado, hemocultivos, orina, muestras respiratorias, catéter, y frotis nasal (solo se recibieron del AAM de Badajoz, procedentes de los protocolos de cribaje). Se clasifican como *muestra respiratoria* las muestras de esputos, aspirados traqueales y broncoaspirados. Se clasifican como *exudado*, las muestras tomadas de heridas quirúrgicas, úlceras, aspirados de abscesos, bilis, líquidos normalmente estériles (sinovial, ascítico, pericárdico y cefalorraquídeo), exudados óticos, exudados conjuntivales y exudados de heridas no quirúrgicas.

Estudio de sensibilidad antibiótica: Siguiendo la norma propuesta por la *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), definimos un aislado SARM como todo aislado que muestre un halo de inhibición inferior o igual a 21 mm en un antibiograma disco-placa, incubado a 37°C durante 16-18 h, con un disco de cefoxitina de 30 µg en medio Muller-Hinton.

Cada uno de los aislados se somete a un análisis de tarjeta AST-588 del sistema Vitek 2® (*BioMérieux*), que reporta la interpretación sensible / resistente / intermedio, con respecto a los siguientes antibióticos: gentamicina, tobramicina, levofloxacino, eritromicina, clindamicina, quinupristina / dalfopristina (QN), fosfomicina, nitrofurantoina, ácido fusídico, mupirocina, rifampicina, y trimetoprima / sulfametoxazol (SXT). Estos antibióticos se referencian como *antibióticos no específicos para la infección por SARM*.

Mediante E-test, se realiza para cada aislado la CMI con respecto a los antibióticos: tigeciclina, vancomicina, daptomicina y linezolid. Para ello se realiza para cada cepa una suspensión microbiana de 0,5-0,6 en la escala de McFarland, que se siembra en una placa de 15 cm de diámetro de medio MH, en la que disponemos en forma de cruz las tiras de E-test correspondientes a los cuatro antibióticos. Se incuban 24h a 37°C, y se valora la CMI para cada antibiótico. Estos antimicrobianos se referencian como *antibióticos específicos en la infección por SARM*.

Genotipaje de SARM: Se realiza genotipado de una muestra representativa de 100 aislados. Para ello se lleva a cabo un muestreo aleatorio simple estratificado para escoger una muestra de 100 cepas, en la que se ve reflejada de manera proporcional cada una de las AAM. Los aislados son genotipados mediante Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE) tras digestión del ADN cromosómico mediante Smal. La técnica se realiza de acuerdo al protocolo descrito por Cuevas et al¹⁸. El análisis de los geles es realizado de acuerdo al criterio de Tenover et al²⁰. La asignación de los

Tabla 1	Descripción de cada AAM			
Área de Atención Microbiológica	Ciudad	Provincia	Abreviatura	
Hospital Infanta Cristina de Badajoz	Badajoz	Badajoz	HIC	
Hospital de Mérida	Mérida		HM	
Hospital de Don Benito-Villanueva	Don Benito-Villanueva de la Serena		HDBV	
Hospital de Llerena	Llerena		HLLZ	
Hospital San Pedro de Alcántara	Cáceres	Cáceres	HSPA	
Hospital Campo Arañuelo	Navalmoral de la Mata		HCANM	
Hospital Virgen del Puerto	Plasencia		HVP	
Hospital Ciudad de Coria	Coria		HCC	

AAM = Área de Atención Microbiológica

Tabla 2 Valores de incidencia y prevalencia de la infección SARM en cada una de las AAM.

Área	HSPA	HDBV	HLLZ	HCC	HVP	HIC*	HM	HCANM	EXTREMADURA (TOTAL)
Población (nº hab)	196.400	142.448	106.731	49.530	111.927	270.317	165.750	54.630	1.097.733
Nº aislados de SARM	72	53	38	13	27	46	29	9	287
Nº aislados de <i>S. aureus</i>	360	151	211	50	245	184	181	39	1421
Prevalencia (SARM / <i>S. aureus</i> total) x100	20,0	35,1	18,0	26,0	11,0	25,0	16,0	23,1	20,2
Incidencia (nº SARM / 10.000 hab)	3,7	3,7	3,6	2,6	2,4	1,7	1,7	1,6	2,6

AAM = Área de Atención Microbiológica

* Para el cálculo de la incidencia y prevalencia, no se tienen en cuenta los aislados (n=22) correspondientes a screening de "frotis nasal" remitidas por el Área de HIC, pues no se consideran productoras de infección

pulsotipos sigue los criterios reportados por Vindel et al¹⁶. Definimos como *pulsotipos o perfiles genotípicos mayoritarios* a aquellos cuya frecuencia en el total de aislados genotipados representa más del 3%. Por el contrario, aquellos pulsotipos que engloben el 3% o menos de los aislados genotipados, se denominarán *perfiles minoritarios*.

Criterios para determinar el carácter extra o intrahospitalario de los aislados: Se define *SARM extrahospitalario* a aquel cuyo aislamiento se produce a partir de muestras clínicas obtenidas en la comunidad, incluyendo centros de salud, consultorios de salud, hospitalización domiciliar y centros sociosanitarios; o en un hospital, siempre que la toma de muestra se haya realizado dentro de las primeras 48 horas después del ingreso del paciente. Por el contrario, definimos *SARM intrahospitalario* como aquel cuyo aislamiento se produce a partir de muestras obtenidas en hospital y después de las 48 horas desde el ingreso del paciente.

Estudio estadístico: Se utilizan los índices estadísticos: Test Exacto de Fisher, a través del software informático *IMB Statistics SPSS 19.*, y Test *False Discovery Rate (FDR)*, mediante el programa *Statistical Software and Programming Language R 3.0.1*

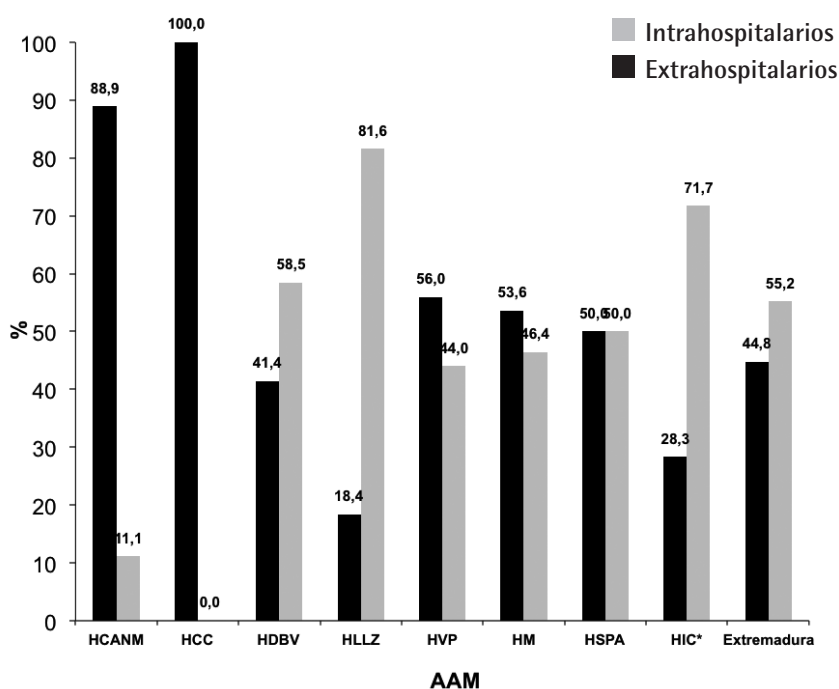


Figura 1 Proporción de aislados SARM intrahospitalarios y extrahospitalarios para cada una de las AAM. * Para el estudio del carácter Intrahospitalario/Extrahospitalario de SARM, no se tienen en cuenta los aislados (n=25) correspondientes a screening de "frotis nasal" remitidas por el Área de HIC, pues no se consideran productoras de infección.

RESULTADOS

La incidencia y prevalencia de la infección producida por SARM, obtenidas para toda la región y en las diferentes AAM, se muestra en la tabla 2.

El tipo de muestra donde se aísla con mayor frecuencia

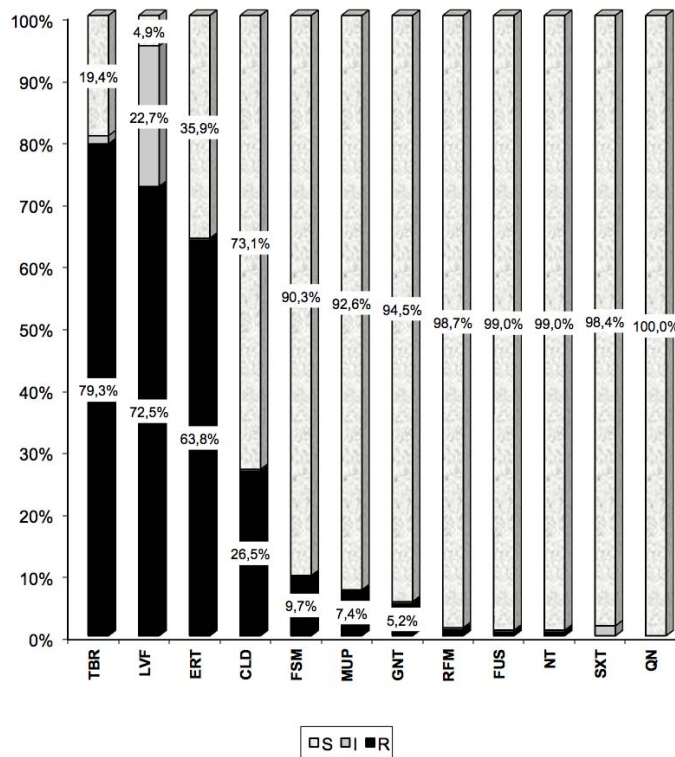


Figura 2 Ratios de sensibilidad obtenidos para los antibióticos no específicos para la infección SARM. R: Resistente. I: Intermedio. S: Sensible

Tabla 3 Resumen de estadísticos descriptivos obtenidos para antibióticos específicos en la infección por SARM.

	TIGECICLINA	DAPTOMICINA	VANCOMICINA	LINEZOLID
Mediana (mg/L)	0,19	0,125	1	0,75
Media (mg/L)	0,186	0,146	1,176	0,96
Desv. típ.	0,06	0,09	0,34	0,43
Mínimo	0,064	0,047	0,38	0,38
Máximo	0,38	1,5	2	2

SARM es el exudado (44%), seguido a distancia por la muestra respiratoria (21%), orina (12%) y hemocultivo (9%). Recibimos aislados de otros tipos de muestra como catéter intravascular o hueso, pero su proporción es mínima en comparación con las cuatro mayoritarias.

En la figura 1, se muestran los porcentajes de aislamientos intrahospitalarios y extrahospitalarios obtenidos en cada una de las AAM y para toda Extremadura.

Los resultados de sensibilidad obtenidos mediante AST-588 se muestran en la figura 2. El patrón de multiresistencia más frecuente que es el que incluye a tobramicina-levo-

floxacino-eritromicina (44%, 136 aislados), seguido del que incluye tobramicina-eritromicina-clindamicina (20%, 63 aislados).

Tomando como referencia los puntos de corte en los valores de CMI dados por EUCAST (http://www.eucast.org/mic_distributions/), se confirma la ausencia de cepas resistentes a linezolid, tigeciclina, vancomicina y daptomicina, en Extremadura (tabla 3 y figura 3). Sin embargo, se registra un importante porcentaje de cepas SARM con sensibilidad disminuida a vancomicina (CMI>1 mg/L) (SDV), con el 42,4% de los aislados.

El análisis de los perfiles obtenidos mediante PFGE tras digestión con la enzima Sma I, reveló la existencia de 27 patrones, y por tanto la existencia de 27 genotipos diferentes (tabla 4 y figura 4). Más de la mitad de los aislados, un 54%, se agruparon en sólo 3 genotipos: E8a (25%), E7b (17%) y E7a (12%). El 46% restante se distribuye en 24 genotipos distintos. De éstos, 8 genotipos se corresponden

con un patrón de bandas con nombre asignado y descritos en estudios previos: E8b (8%), E10 (6%), E20 (4%), E13 (3%), A1 (1%), E16 (1%), E19 (1%), E17 (1%); mientras que obtenemos hasta 16 patrones con perfiles esporádicos y representados únicamente por un aislado, con la excepción de 3 patrones que se repiten en más de un aislado. Estos últimos reciben el nombre de "esporádico" seguidos de un número según el orden de aparición. Así observamos el Esporádico 1 (3% de los aislados), Esporádico 2 (3% de los aislados), y Esporádico 3 (2% de los aislados). A los demás patrones esporádicos, obtenidos cada uno en único aislado, no se les asignan sufijo identificativo concreto (tabla 4).

Los resultados de la distribución de los diferentes pulsotipos y su frecuencia, obtenida en cada una de las AAM, se resume en la tabla 5 y figura 5. Al realizar el estudio post-hoc de comparación por pares entre las diferentes AAM por el método *False Discovery Rate* (FDR)²¹, no se obtienen diferencias significativas entre ninguna de estas AAM. La realización de esta comparación por pares con el estadístico Exacto de Fisher (menos ajustado que el FDR), reporta algunos valores significativos, que demuestran la existencia de algunas tendencias que conviene destacar:

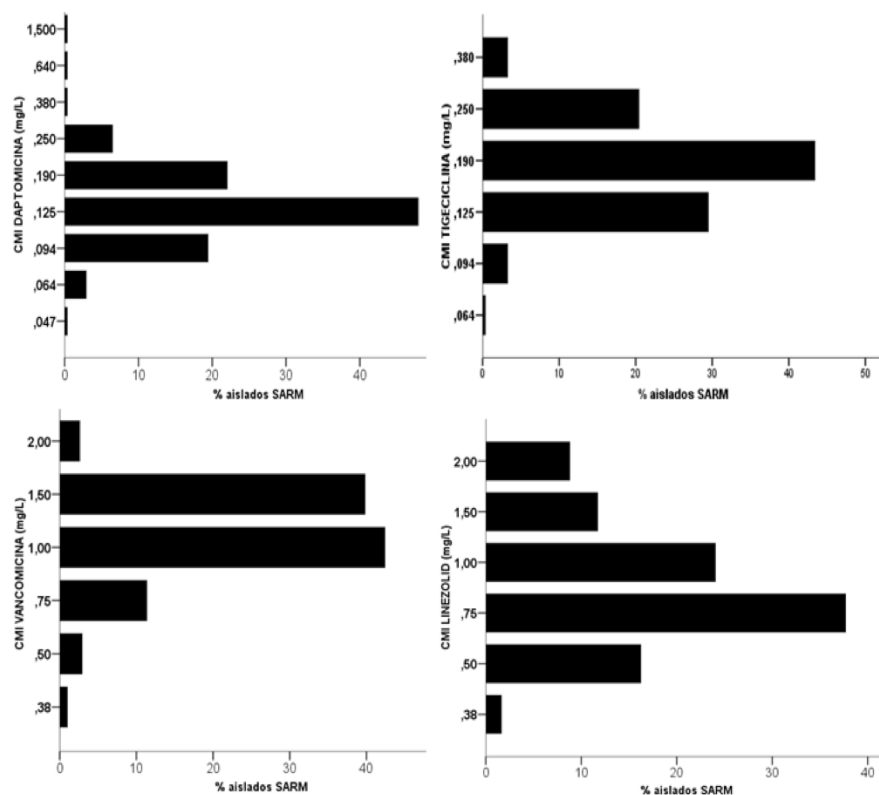


Figura 3 Distribución de valores de CMI mostrados por los aislados SARM, para los antibióticos tigeciclina, linezolid, daptomicina, vancomicina.

- Existen importantes diferencias entre el patrón de genotipos obtenido en el área HIC, donde E8a es el predominante, y los obtenidos en las áreas HLLZ y HCC, donde predominan E8b y E7a, y E8a ni siquiera se detecta.

- Los patrones genotípicos de las áreas HSPA y HVP muestran gran disparidad, mostrándose los pulsotipos E8a y E7b, respectivamente, como los claros dominantes.

- Los patrones genotípicos de las áreas HLLZ y HDBV muestran grandes diferencias, siendo los tipos predominantes E7a y E8b en la primera, y E8a y E7b en la segunda.

- El patrón de genotipos obtenido en el área HCC es muy distinto al obtenido en el área HDBV. En el área HCC, el perfil dominante es claramente el E8b genotipo del que por el contrario no se ha clasificado ningún aislado en el área HDBV.

Todos los aislados de los genotipos E8b y E20 presentan SDV, resultando esta proporción del 100% en E8b significativamente superior con respecto a las proporciones obtenidas en los pulsotipos E10 (33%; $p=0,015$) y E8a (52%; $p=0,030$) (tabla 6).

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados publicados en el último estudio multicéntrico realizado por el Grupo Español para el Estudio

de *Estafilococos*¹⁵, esperábamos obtener un elevado ratio de prevalencia de SARM en Extremadura, pues este estudio cifra en un 34,7% el ratio de SARM con respecto al total de *S. aureus*, para el área geográfica constituida por Extremadura y Castilla-León. Esto significa un porcentaje muy por encima del atribuido por el mismo estudio para todo el país, un 29,2%. Sin embargo, nuestro estudio muestra una prevalencia de SARM para Extremadura de 20,2%. Entendemos que esta discrepancia pueda deberse a la suma de dos factores: a) elevada prevalencia de SARM en la Comunidad de Castilla-León (no existen estudios al respecto), siendo así la principal responsable del ratio tan alto asignado al área geográfica Castilla-León / Extremadura; b) la distancia temporal de cuatro años entre la muestra de nuestro estudio, año 2010, y la del estudio multicéntrico, año 2006, durante la cual habría descendido la incidencia de SARM. Esta última reflexión se apoya en los datos ofrecidos por este último estudio multicéntrico, en relación a una

cierta estabilización en España de la prevalencia de SARM. Entre los años 1996 al 2002, se pasó del 17,9% al 31,2% respectivamente, sin embargo en el año 2006, se obtuvo un 29,2%⁸. Los resultados del último estudio publicado por la Agencia Europea de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana²² con casi 2000 aislados testados, sitúan la prevalencia de SARM en España en un 25,3%, confirmando el estancamiento (26% en el año 2009, y 27% en el año 2008), y situándose lejos de los porcentajes de SARM mostrados por países próximos como Italia o Grecia, con un 36,5 y 39,2% respectivamente. Sin embargo, estos ratios contrastan con las bajas tasas de SARM observadas en la mayoría de los países del norte de Europa (Dinamarca, 1,5%, Noruega, 0,6% o Suecia, 0,5%). Probablemente, esto significa que existe un gran margen para la reducción de las tasas de SARM en los hospitales españoles, incluidos los extremeños, y que hay que seguir haciendo esfuerzos en el control de la infección por SARM. De las 8 AAM en las que se divide Extremadura, cuatro de ellas se sitúan por encima del ratio medio regional. Son las áreas de Navalmoral de la Mata, Badajoz, Coria y Don Benito-Villanueva. Ésta última es la que presenta una mayor prevalencia, con un 35%.

El tipo de muestra de la que procede el aislado SARM, nos da una idea de la patología asociada. Así, siendo el exudado el tipo de muestra claramente predominante en nuestro estudio

Tabla 4
Resultados del genotipaje de la muestra de 100 aislados SARM.

Pulsotipo	nº de aislados ó %
E8a	25
E7b	17
E7a	12
E8b	8
E10	6
E20	4
E13	3
Esporádico 1	3
Esporádico 2	3
Esporádico 3	2
A1	1
E16	1
E19	1
E17	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Esporádico	1
Total	100

En negrita los perfiles genotípicos mayoritarios.

(44%), podemos deducir que las infecciones de piel y partes blandas son las de mayor frecuencia (infecciones de herida quirúrgica, úlceras cutáneas, implantes o prótesis...), siendo por otra parte muy comunes en los cuadros de patología nosocomial. Es importante destacar que el SARM aislado de muestra respiratoria (esputos, broncoaspirados, aspirados traqueales...) y causa de un cuadro clínico grave, como es la infección respiratoria por SARM, representa un importante porcentaje (21%), situándose como el segundo tipo de muestra más frecuente. El SARM aislado de hemocultivo, y causa del otro cuadro clínico grave, la bacteriemia, representa poco más del 9% de los aislados. Estas proporciones resultan similares a los presentados en el último estudio multicéntrico publicado por el Grupo Español

para el Estudio de los Estafilococos¹⁵, donde igualmente el tipo de muestra más común eran los exudados, aunque con un porcentaje más alto, el 52%, a costa de un menor porcentaje para las muestras del tracto respiratorio, que con un 13%, es el segundo tipo de muestra más frecuente. La proporción de hemocultivos resulta idéntica (8%), y no se hizo referencia al ratio de urocultivos positivos por SARM, que en nuestro trabajo resulta el tercer tipo de muestra más frecuente con casi el 12%.

Al comparar los datos publicados en estudios multicéntricos realizados desde 1994 en España^{9,15}, que analizan la resistencia a distintos antimicrobianos de las cepas SARM, con los ratios de resistencia obtenidos en nuestro estudio, comprobamos que estos se muestran muy similares para los antimicrobianos que más efectividad han perdido frente a SARM: tobramicina (79%), quinolonas (representadas en nuestro estudio por levofloxacin, con tasas de resistencia inferiores a las que muestra ciprofloxacino, pero igualmente elevadas con el 73% de los casos) y eritromicina (64%). Según los estudios multicéntricos a los que antes hacíamos referencia, se ha producido a lo largo de los últimos años una recuperación de la efectividad de clindamicina sobre SARM, que en España ha pasado de un 100% de resistencia en 1994 a un 15% en 2010. Nuestro estudio confirma este fenómeno también en Extremadura, donde el ratio de resistencia, sin llegar a ser tan bajo como para España, si resulta significativo con solo 27% de los aislados. Un caso similar es el de rifampicina, que mostraba porcentajes de resistencia en España del 36% en 1994, para ir descendiendo progresivamente hasta el 2,2% en 2006 o el 6,4% en 2010. Con nuestro estudio, se confirma la instauración del bajo ratio de resistencia a rifampicina en Extremadura, con solo el 1% de los aislados. También, de manera similar, los ratios de resistencia a gentamicina han ido descendiendo en el territorio nacional, pasando de un 92,7% en 1994 al 20% en 2006. El descenso se ve agudizado en nuestro estudio, quedando en Extremadura solo un 5% de resistencia. Aportamos información acerca de tres antibióticos que muestran tasas de resistencia prácticamente anecdóticas, como ácido fusídico y nitrofurantoina, o indetectables, como en el caso de quinupristina-dalfopristina o trimetoprim-sulfametoxazol. También fosfomicina resulta una buena opción terapéutica frente a SARM, con solo un 10% de resistencia.

Como se esperaba, la tasa de resistencia en nuestro estudio para daptomicina y tigeciclina es nula. Sobre linezolid, existe una preocupación creciente por el incremento de cepas SARM resistentes a este antibiótico. Éstas se han descrito en Estados Unidos²⁴, en Europa²⁵, y recientemente en España^{10,15}. La recombinación homóloga entre cepas con genes mutantes y cepas salvajes bajo la presión selectiva del linezolid, junto a un uso cada vez más habitual de este antimicrobiano (sobre todo en terapias a largo plazo por sus ventajas farmacocinéticas y especialmente por su disponibilidad de administración por vía oral) provocan una situación favorable a que la resistencia a linezolid pueda extenderse, incluyendo a SARM. Por ello, aunque en nuestra región, no hemos hallado aislado alguno de SARM resistente a linezolid, entendemos que es necesario estar aler-

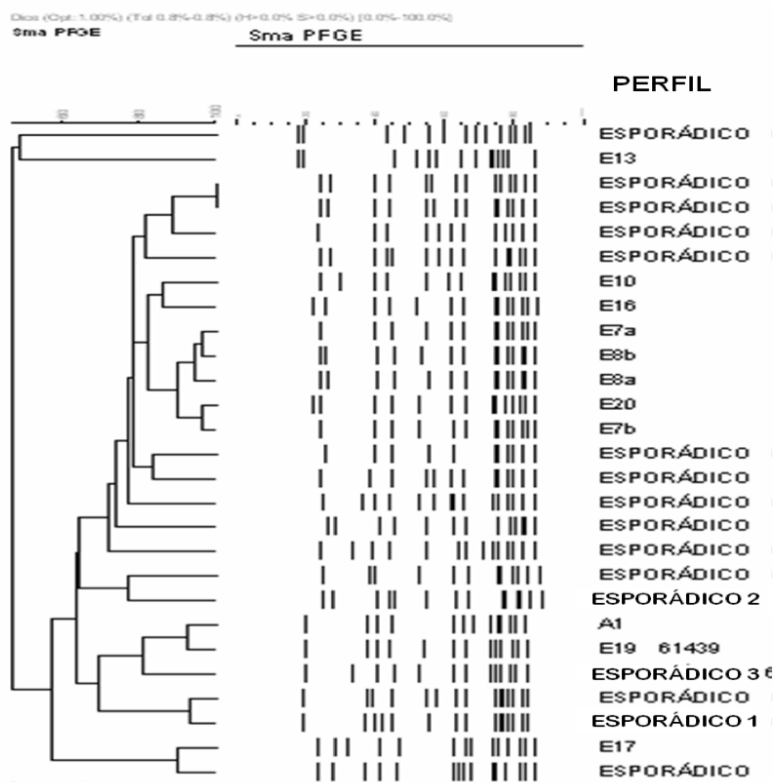


Figura 4 Dendrograma que muestra la relación grupal entre los diferentes pulsotipos descritos y una representación del patrón de bandas correspondiente a cada pulsotipo

Tabla 5 Perfiles genotípicos (pulsotipos) SARM y número de aislados, obtenidos en cada una de las AAM.

ÁREA	PULSOTIPO (nº aislados)
HIC	E8a(7) , E7a(2), E7b(2), E13(2), E10(2), ESP2(1), ESP1(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1)
HSPA	E8a(8) , E7b(3), E20(3), E8b (2), A1(1), E10(1), E17(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1), ESP(1)
HDBV	E8a(6) , E7b(5), E10(2), E7a(1), E16(1), ESP1(1), ESP(1)
HLLZ	E8b(3) , E7a(3), E7b(2), ESP3(2), ESP2(1), ESP(1)
HM	E7a(4) , E7b(1), E8a(1), E10(1), E20(1), ESP1(1), ESP(1)
HVP	E7b(3) , E8a(2), E7a(2), E8b(1)
HCANM	E8a(1) , E7b(1), E13(1), ESP2(1)
HCC	E8b(2) , E19(1)

En negrita los pulsotipos mayoritarios.

ta, sobre todo ante la insistencia de publicaciones que hacen referencia a la descripción en España de cocos gram positivos, como *S.aureus* (sensible a meticilina)²⁶, *Enterococcus*²⁷ o cepas de *Staphylococcus coagulans* negativos²⁸ (éstas en Extremadura), resistentes a linezolid.

Otra de las consecuencias de la multiresistencia antibiótica de las cepas SARM, ha sido el incremento en el consumo de glucopéptidos, lo que ha traído como consecuencia la aparición de cepas SDV (CMI 1-2 mg/L). El porcentaje de estas cepas obtenido en nuestro estudio es del 42,4%, resultado preocupante, pues sostiene que cerca de la mitad de las cepas SARM productoras de infección en Extremadura son susceptibles de asociarse a fracaso terapéutico al tratarse con vancomicina. De ellas, solo 8 cepas (6%) presentan una CMI de 2 mg/L, similar porcentaje (4,4%, de 135 aislados) que el observado en España en el estudio multicéntrico de 2006¹⁵. El resto presentan una CMI de 1,5 mg/L. En cualquier caso, ante estos resultados, es necesario alertar a los responsables clínicos de la región sobre la importancia del valor de CMI para vancomicina en SARM. Por el contrario, no hemos encontrado en nuestro estudio ninguna cepa VRSA (≥ 16 mg/L) o VISA (CMI ≥ 4 mg/L), coincidiendo con lo descrito hasta ahora para el resto del país. Pero igualmente

debemos permanecer alerta, pues en Europa se han descrito cepas SARM con resistencia intermedia, en Francia²⁹, Alemania³⁰, Reino Unido³¹ y Polonia³².

Comparando los resultados de genotipaje SARM que obtenemos con los reportados por el último estudio multicéntrico realizado en España¹⁹, observamos que se identifica un menor número de patrones diferentes (27 vs. 36), de los cuales, casi la mitad (13 pulsotipos) son perfiles esporádicos representados por un único aislado, ratio algo menor que el obtenido por el grupo de Vindel et al.¹⁹, donde de los 36 pulsotipos, 23 eran perfiles esporádicos. El resultado que si comparamos ambos estudios, es el claro predominio de los pulsotipos E7 y E8 dentro de la población SARM: 62% en Extremadura, 52% en el estudio multicéntrico nacional¹⁹. Dentro de los subtipos de estos pulsotipos, también de manera clara, obtenemos que el perfil E8a es el mayoritario en Extremadura con el 25% de los aislados. Resaltar la presencia de tres pulsotipos, con unos perfiles de

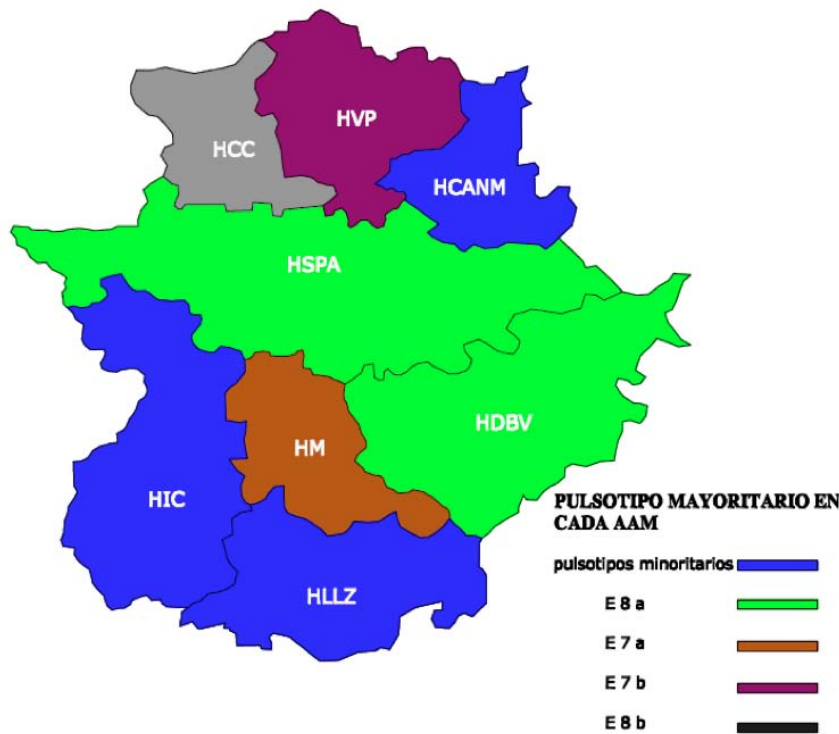


Figura 5 Pulsotipo predominante en cada AAM.

bandas no definidos hasta la fecha, que en conjunto representan el 7% de los aislados, y que se han denominado Esporádico 1 (3 aislados), Esporádico 2 y Esporádico 3 (con 2 aislados cada uno). Además, debemos destacar la importante progresión, que a juzgar por los resultados obtenidos, está teniendo el genotipo E20, que fue descrito en España por primera vez en cepas SARM del año 2006, con un 1,7% de los aislados¹⁹ y en nuestro estudio aparece como sexto pulstipo más frecuente, con el 4% de las cepas. En concordancia con lo descrito hasta la fecha, no hay aislamientos en Extremadura del pulstipo E1 o clon Ibérico, y que fuera predominante en la población SARM de España a principios de la década de los 90¹⁹.

Los resultados en relación a la variabilidad genética de SARM entre las diferentes áreas AAM, denotan claramente una distribución enormemente heterogénea de este microorganismo en la región de Extremadura. De ahí, que no se haya conseguido asociar, de manera estadísticamente significativa, ningún pulstipo a un AAM concreto. Esto puede ser debido al elevado número de comparaciones que hemos realizado en una muestra relativamente pequeña, entendiendo que los resultados del Test de Fisher marcan una tendencia que en estudios con tamaños muestrales más grandes se pueden llegar a corroborar. En cualquier caso, con los resultados de este trabajo y sólo desde un punto de vista descriptivo, podemos

comentar que el pulstipo más abundante en Extremadura, E8a, es el predominante en las dos AAM que mayor población atienden (mayor cantidad de aislados SARM aportados al estudio), Cáceres y Badajoz, además de en AAM de Don Benito-Villanueva. Llama la atención, la situación epidemiológica de las AAM de Llerena y Mérida. Geográficamente se encuentran rodeadas por las AAM donde el E8a es claramente el clon dominante, sin embargo en Mérida éste solo representa un 10% de los aislados (a mucha distancia del E7a, que representa el 40%), y en Llerena ni siquiera se ha descrito su presencia. Esto es más chocante cuando existe un flujo constante de pacientes desde los centros hospitalarios de estas AAM con su hospital de referencia en Badajoz (Hospital Infanta Cristina) y viceversa. En Llerena predominan los pulstipos minoritarios, al igual que en el AAM de Navalmoral de la Mata, aunque ambas áreas se encuentran geográficamente en polos opuestos, por lo que el flujo de pacientes hospitalizados entre

ambas áreas no parece la razón de dicha similitud. Los otros dos pulstipos mayoritarios, el E7b y E8b, tienen cada uno también su área donde son predominantes: Plasencia y Coria, respectivamente. El hecho de que existan 5 situaciones distintas de predominancia de un pulstipo SARM en 8 AAM diferentes, indica, no solo la gran heterogeneidad con la que SARM se distribuye en Extremadura, sino que además refleja que los centros hospitalarios de cada AAM son más estancos de lo que en principio puedan parecer, dificultando así la difusión hacia otras áreas del pulstipo que en esa zona sea el predominante. La excepción a esto serían las áreas de Cáceres, Badajoz y Don Benito-Villanueva, entre las que el pulstipo E8a circula abiertamente. Hasta la fecha no ha sido publicado ningún estudio acerca de la variabilidad clonal de SARM en alguna comarca, provincia o Comunidad Autónoma española.

En conclusión: la prevalencia de SARM en Extremadura se sitúa por debajo del ratio atribuido a toda España en los últimos estudios nacionales^{15, 22}; se observa una mayor incidencia de las muestras respiratorias y de urocultivos que en estos estudios; casi la mitad de las infecciones son de adquisición extrahospitalaria, con claro predominio en las áreas de menor población; las proporciones de resistencias antimicrobianas muestran las mismas tendencias que en el resto del territorio nacional, sin detectarse resistencia a linezolid, daptomicina, ti-

Tabla 6 Porcentaje de aislados con y sin sensibilidad disminuida a vancomicina (SDV) en cada uno de los genotipos mayoritarios.

		CMI Vancomicina	
		≤1 mg/L	>1 mg/L
E10	n° (%)	4 (66,7)	2 (33,3)
	% total	4	2
E7a	n° (%)	2 (16,7)	10 (83,3)
	% total	2	10
E7b	n° (%)	4 (23,5)	13 (76,5)
	% total	4,0	13,0
E8a	n° (%)	12 (48)	13 (52)
	% total	12	13
E8b	n° (%)	0 (0)	8 (100)
	% total	0	8
E20	n° (%)	0 (0)	4 (100)
	% total	0	4
Perfiles minoritarios	n° (%)	17(60,7)	11 (39,3)
	% total	17	11
TOTAL	n° (%)	39 (39)	61 (61)
	% total	39	61

En negrita, los porcentajes de cepas SDV (CMI > 1 mg/L) significativos en la comparación por pares con test Exacto de Fisher respecto al genotipo E8b.

geciclina o vancomicina, aunque si un elevado ratio de cepas SDV; y el genotipaje molecular muestra un predominio de los pulsotipos E8 y E7 e incidencia notable del E20.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo fuimos beneficiados con una beca (PRIS09034) otorgada por la Fundación para la Formación y la Investigación de los profesionales de la Salud de Extremadura (FUNDESALUD).

A las Unidades o Secciones de Microbiología de cada uno de los hospitales extremeños, por la recolección y envío de las cepas SARM. En especial a: Eugenio Garduño, del Hospital Infanta Cristina de Badajoz; Carmen González, del Hospital Don Benito-Villanueva; Rosario Sánchez, del Hospital de Llerena; Purificación Hernández, del Hospital San Pedro de Alcántara de Cáceres; Pedro Aguirre, del Hospital Campo Arañuelo de Navalmoral de la Mata; Carlos García, del Hospital Virgen del Puerto de Plasencia; e Isaías Montes, del Hospital Ciudad de Coria.

BIBLIOGRAFÍA

- Naimi TS, Le Dell K, Como-Sabetti K, Borchardt S, Boxrud D. Comparison of community- and health care-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA* 2003; 290: 2976-84
- Cercenado E, Ruiz de Gopegui E. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina de origen comunitario. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26:19-24.
- Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:398-408.
- Liu C, Chambers HF. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3040-45.
- Morosini MI, Cercenado E, Ardanuy C, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 30:325-32
- Friedman L, Alder JD, Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2137-45.
- Van Hal SJ, Paterson DL, Gosbell IB. Emergence of daptomycin resistance following vancomycin-unresponsive *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a daptomycin-naïve patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30:603-10.
- Cercenado E. Actualización en las resistencias de las bacterias grampositivas. *Med Clin (Barc)* 2010; 135:10-5
- Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López F. Actividad comparativa de la Daptomicina frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y frente a estafilococos coagulasa negativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28:13-6.
- Sánchez-García M, De la Torre MA, Morales G, Peláez B, Tolón MJ, Domingo S, et al. Clinical outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. *JAMA* 2010; 303:2260-64.
- Asensio A. Eficacia de las medidas de control para evitar la transmisión de SARM en las instituciones sanitarias. Una visión actual. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24:147-8.
- Hacek DM, Suriano T, Noskin GA, Kruszynski J, Reisberg B, Peterson LR. Medical and economic benefit of a comprehensive infection control program that includes routine determination of microbial clonality. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 647-54.
- Shutt CK, Pounder J, Page S, Schaecher B, Woods G. Clinical evaluation of the Diversilab microbial typing system using repetitive-sequence based PCR for characterization of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 2005; 43:1187-92.
- Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guinea J, Sánchez-Conde M, Sánchez-Somolinos M, et al. Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:4240-45.
- Cuevas O, Cercenado E, Goyanes MJ, Vindel A, Trincado P, Boquete T, et al. *Staphylococcus* spp. in Spain: present situation and evolu-

- tion of antimicrobial resistance (1986-2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26:269-77.
16. Vindel A, Trincado P, Gómez E, Cabrera R, Boquete T, Solá C, et al. Prevalence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spanish hospitals between 1996 and 2002. *J Clin Microbiol* 2006; 44:266-70.
 17. Picazo JJ, Betriu C, Culebras E, Rodríguez-Avial I, Gómez M, Lopez-Fabal F. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: sensibilidad a la daptomicina a lo largo de un periodo de 10 años (2001-2010). *Rev Esp Quimioter* 2011; 24:107-11
 18. Cuevas O, Cercenado E, Bouza E, Castellares C, Trincado P, Cabrera R, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: a multicentre prevalence. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:250-6.
 19. Vindel A, Cuevas O, Cercenado E, Marcos C, Bautista V, Castellares C, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: molecular epidemiology and utility of different typing methods. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1620-7.
 20. Tenover FC, Arbeit R, Goering R, Mickelsen P, Murray B, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2233-9.
 21. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Soc Series B Stat Methodol* 1995; 57: 289-300.
 22. EARS (Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe). 2010. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network.
 23. García-Rodríguez JA. Estudio multicéntrico de la actividad in vitro de Tigeciclina en aislados clínicos en 30 hospitales españoles. *Rev Esp Quimioter* 2009; 22:76-82.
 24. Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G, Eliopoulos GM, Wennersten C, Venkataraman L, et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001; 358:207-8.
 25. Hentschke M, Saager B, Horstkotte MA, Scherpe S, Wolters M, Kabisch H, et al. Emergence of linezolid resistance in a methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain. *Infection* 2008; 36:85-7.
 26. Quiles-Melero I, García-Perea A, de Pablos M, Gómez-Gil R, Mingorance J. Resistance to linezolid in a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* clinical isolate without previous exposure to oxazolidinones. *Int J Med Microbiol* 2012; 302:145-7.
 27. Gómez-Gil R, Romero-Gómez MP, García-Arias A, Ubeda MG, Busselo MS, Cisterna R, et al. Nosocomial outbreak of linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* infection in a tertiary care hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65:175-9.
 28. Fajardo M, Hidalgo R, Rodríguez S, Gaona C, Sánchez RM, Hernández R, et al. Actividad de vancomicina, teicoplanina y linezolid en *Staphylococcus coagulasa* negativos resistentes a meticilina en aislados de hemocultivos pediátricos. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25:25-30.
 29. Ploy MC, Grélaud C, Martin C, de Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. *Lancet* 1998; 351:1212.
 30. Bierbaum G, Fuchs K, Lenz W, Szekat C, Sahl H-G. Presence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:691-6.
 31. Howe RA, Bowker KE, Walsh TR, Feest TG, MacGowan AP. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1998; 351:602.
 32. Krzysztoń-Russjan J, Gniadkowski M, Połowniak-Pracka H, Hagmajer E, Hryniewicz W. The first *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to vancomycin in Poland. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:1065-9.