

## Carta al Director

Isabel Aleixandre-Górriz<sup>1</sup>  
M<sup>a</sup> Victoria Domínguez-  
Márquez<sup>2</sup>  
Olalla Martínez-Macias<sup>1</sup>  
Javier Colomina<sup>1</sup>  
Antonio Guerrero<sup>3</sup>

### Prevalencia de *Staphylococcus aureus* portadores del gen *mecA* sensibles a cefoxitina: OS-SARM

<sup>1</sup>Área de Diagnóstico Biológico. Hospital Universitario de la Ribera, Alzira (Valencia).

<sup>2</sup>Sección de Microbiología. Hospital Universitario General de Castellón.

<sup>3</sup>Dirección de Investigación y Docencia. Hospital Universitario de la Ribera, Alzira (Valencia).

Sr. Editor: los sistemas automatizados presentan limitaciones en la detección de resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*<sup>1</sup>, ya que pueden no detectar cepas con expresión heterogénea. El CLSI recomienda la utilización de cefoxitina, mejor inductor de la producción de PBP2a que la oxacilina, aunque el método considerado de referencia es la amplificación del gen *mecA* mediante PCR<sup>2</sup>.

Determinamos la resistencia fenotípica a meticilina en 255 aislados clínicos de *S. aureus* obtenidos entre marzo de 2007 y enero de 2009 y remitidos desde 4 hospitales de la Comunidad Valenciana. Las muestras se cultivaron en agar sangre y chocolate, y se incubaron en aerobiosis a 37°C durante 24 horas. La identificación bioquímica y el antibiograma se realizaron en todas las muestras mediante dos métodos: POS-COMBO P32 de MicroScan WalkAway (Siemens) y AST-P626 de Vitek2 (bioMérieux). Ambos incluyen un pocillo de screening con cefoxitina de 4 y 6 mg/L, respectivamente. Para resolver las discordancias o detectar heterorresistencias, se utilizaron discos de 30 µg de cefoxitina (Oxoid) y tiras de E-test de oxacilina (bioMérieux), en medio de Mueller-Hinton (bioMérieux), con un inóculo bacteriano de 0,5 McFarland, incubando 24 horas en atmósfera aerobia a 35°C, y leyendo los halos con luz transmitida (CLSI M2-A9). Se completó el estudio con la detección del gen *mecA* por PCR en todos los aislados, siguiendo el procedimiento descrito por Geha *et al.*<sup>3</sup> que utiliza los iniciadores MecA-1 y el MecA-2, y una secuencia universal de ADNr 16S (Rib-1 y Rib-2) como control interno. Los productos de la PCR se observaron en geles de agarosa al 1%.

Un 40,4% de las cepas a estudio resultaron *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), con CMI para la oxacilina >2 mg/L. Tras la amplificación se observó para todas las cepas una banda de 479pb correspondiente al control interno, y una segunda banda de 310pb en las que presentaban el gen *mecA* (figura 1). De entre las 152 cepas consideradas fenotípicamente

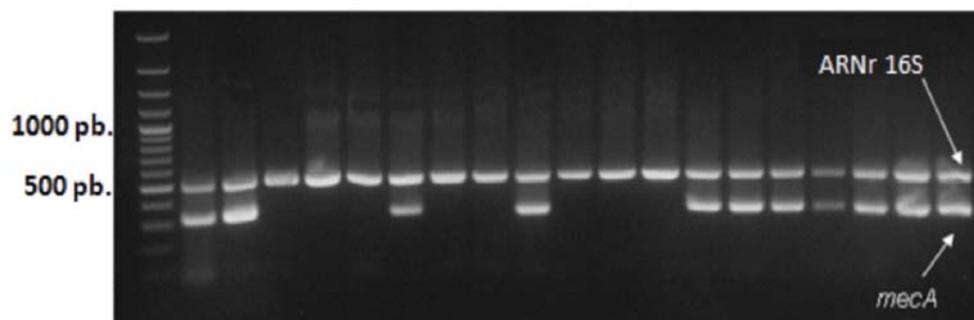
*S. aureus* sensible a meticilina (SASM), dos de ellas (1,3%) presentaron el gen *mecA*; estos aislados reciben el nombre de OS-SARM (oxacilin sensibles-SARM). Los métodos automatizados determinaron CMI de oxacilina de 0,5 mg/L y 1 mg/L; y en el E-test realizado para su confirmación, las CMI fueron de 0,5 y 1,5 mg/L, respectivamente. Ambas cepas eran además sensibles a cefoxitina, tanto por los sistemas automatizados como por el test de difusión en disco (>20mm). La presencia de PBP2a se constató por aglutinación con látex (Oxoid).

Todas las cepas con fenotipo de resistencia a meticilina presentaron el gen *mecA*, lo que en principio descartaría que la resistencia a meticilina pudiera deberse a otros procesos como la hiperproducción de β-lactamasas (cepas BORSA: *boderline S. aureus*)<sup>4</sup>, la modificación de las PBPs habituales (cepas MODSA: *modified S. aureus*)<sup>5</sup> o a cepas con actividad metilasa<sup>6</sup>. Encontramos un 0,7% (2/255) de SASM portadores del gen *mecA*, valor similar al obtenido en otros estudios con porcentajes en torno al 0,3-1%; como el de Sakoulas *et al.* quienes clasifican 203 aislados como SARM por PCR, detectando un OS-SARM (0,5%) en un hemocultivo<sup>7</sup>; o el de Hososaka *et al.* en el que se detectan 6 OS-SARM (1,5%) entre 408 aislados analizados<sup>8</sup>, aunque ninguno de estos autores refiere si las cepas mostraban sensibilidad a cefoxitina. Sharff *et al.* describen dos casos de bacteriemia por OS-SARM, uno de los cuales era además sensible a cefoxitina<sup>9</sup>, al igual que los dos referidos en este trabajo.

Es importante recordar que el gen *mecA* no es el único responsable de la resistencia a meticilina, sino que existen otros factores cromosómicos implicados como los genes que sintetizan las proteínas *femXAB* (factores esenciales de expresión de resistencia a meticilina). Giannouli *et al.* atribuyen la respuesta atípica frente a la oxacilina de aislados oxacilina-sensibles *mecA* positivos, a la acumulación de cambios aminoácídicos en las proteínas *femXAB*<sup>10</sup>.

Los dos aislados OS-SARM de este estudio eran de origen comunitario, procedían de un absceso y un exudado de herida de sendos pacientes. Se trataron con ciprofloxacino y amoxiclavulánico, respectivamente, sin que se refiriesen problemas de respuesta. Consideramos necesario contemplar la existencia de estas cepas ante fracasos terapéuticos en aislados, aparen-

Correspondencia:  
M<sup>a</sup> Victoria Domínguez-Márquez  
Sección de Microbiología. Hospital Universitario General de Castellón.  
Avda. Benicasim s/n; 12004 Castellón de la Plana.  
Tfno. 96.472.68. 02  
Fax 96.472. 67.59  
E-mail: m.victoria.dominguez@uv.es



**Figura 1** Resultado de PCR del gen *mecA*. Primera carrera se corresponde con el control de peso molecular (GeneRuler™ 100bp Plus DNA Ladder de Fermentas®). En los carriles que muestran dos bandas, la superior se corresponde con el control interno y la inferior a la amplificación del gen *mecA*. Control negativo (cepa CCGU 47167).

temente sensibles a meticilina, tratados con  $\beta$ -lactámicos<sup>9</sup>, ya que errores en la detección de SARM podrían favorecer la diseminación de cepas resistentes<sup>8</sup>.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la colaboración por el préstamo de las cepas a los Servicios de Microbiología de los Hospitales Virgen de los Lirios de Alcoy (Alicante) y Hospital Clínico Universitario de Valencia.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## FINANCIACIÓN

Este estudio fue financiado gracias a una beca concedida por el Departamento de Investigación y Docencia del Hospital Universitario de la Ribera (Alzira, Valencia). BR04/2007.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Chung M, Antignac A, Kim C, Tomasz A. Comparative study of the susceptibilities of major epidemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to oxacillin and to the new broad-spectrum cephalosporin ceftobiprole. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 2709-17.
2. Batista N, Gutierrez I, Lara M, Laich F, Mendez S. Evaluation of the cefoxitin 30 microg disk diffusion method for detection of methicillin-resistance in selected *Staphylococcus aureus* isolates. *Rev Esp Quimioter* 2008; 21: 213-6.
3. Geha DJ, Uhl JR, Gustaferrero CA, Persing DH. Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant *Staphylococcus* in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1768-72.
4. Croes S, Beisser PS, Terporten PH, Neef C, Deurenberg RH, Stobberingh EE. Diminished in vitro antibacterial activity of oxacillin against clinical isolates of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 979-85.
5. Tomasz A, Drugeon HB, de Lencastre HM, Jabes D, McDougall L, Bille J. New mechanism for methicillin resistance in staphylococcus aureus: Clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1869-74.
6. Massidda O, Montanari MP, Mingoia M, Valardo PE. Borderline methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains have more in common than reduced susceptibility to penicillinase-resistant penicillins. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2769-74.
7. Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, DeGirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Q. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3946-51.
8. Hososaka Y, Hanaki H, Endo H, Suzuki Y, Nagasawa Z, Otsuka Y, et al. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: A new type of MRSA. *J Infect Chemother* 2007; 13: 79-86.
9. Sharff KA, Monecke S, Slaughter S, Forrest G, Pfeiffer C, Ehrlich R, et al. Genotypic resistance testing creates new treatment challenges: Two cases of oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 4151-3.
10. Stamatina Giannouli, Maria Labrou, Athanassios Kyritsis, Alexandros Ikonomidis, Spyros Pournaras, Constantinus Stathopoulos, et al. Detection of mutations in the Fem XAB protein family in oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 626-33.