

# PROYECTO DE ESTUDIO: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN ESPAÑA (PROTOCOLO GEIH-GEMARA SARM 2003).

## Coordinadores:

Jesús Rodríguez Baño

Sección de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Correo electrónico: [jrb@nacom.es](mailto:jrb@nacom.es)

M<sup>a</sup> Angeles Domínguez Luzón

Servicio de Microbiología. Hospital de Bellvitge. Barcelona.

Correo electrónico: [adominguez@csub.scs.es](mailto:adominguez@csub.scs.es)

## INTRODUCCIÓN

### 1. Epidemiología hospitalaria de las infecciones por SARM

La aparición de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* y la dispersión general de estas cepas por los hospitales de todo el mundo, ha supuesto uno de los retos terapéuticos y de control de infección más importantes de los últimos años.

La incidencia de infecciones nosocomiales por *S.aureus* resistente a meticilina (SARM) se ha ido incrementando desde su aparición en la mayoría de los países. Durante los años 80 las cepas de SARM se extendieron por hospitales de Europa, Australia y Estados Unidos. En Europa se experimentó un notable ascenso desde <1% en 1980 hasta el 30% en 1991, con una distribución desigual según los países: mientras Holanda o Dinamarca presentaron una baja prevalencia (6%), los países del sur de Europa como Grecia, Francia o España presentaron la prevalencia más alta (30%) (1). En los Estados Unidos, según datos del National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) las infecciones nosocomiales causadas por este microorganismo superan el 40% del total de infecciones nosocomiales causadas por *S.aureus* (2).

La prevalencia de SARM en los hospitales españoles también ha seguido un curso ascendente. De los trabajos realizados por el Grupo Español para el Estudio de Estafilococos se puede deducir la tendencia de este patógeno en los hospitales españoles durante la década 1986-1996 (3). Así la resistencia a meticilina que era del 1,5% en el año 1989 ha pasado a ser del 17,9% en 1996. También es destacable la extensión de la epidemia SARM a hospitales pequeños: en 1996 el 22% de estos microorganismos se aislaban en hospitales con <500 camas. Sin embargo, no disponemos de datos referidos al número de pacientes ingresados y desconocemos la situación en los años posteriores a 1996, exceptuando los datos obtenidos en los estudios nacionales de prevalencia de infecciones nosocomiales (EPINE).

Un estudio realizado en el año 2000 en pacientes con bacteriemia en 31 hospitales españoles ha mostrado un porcentaje de resistencia a oxacilina del 28% (4).

### 2. Epidemiología comunitaria de las infecciones por SARM

Inicialmente, los brotes de infección por *S.aureus* resistente a meticilina (SARM) se encontraban asociados a hospitales universitarios y eran la consecuencia de la entrada y diseminación por transmisión cruzada de uno o pocos clones. Actualmente, ciertos centros extrahospitalarios (instituciones sociales y sanitarias), hospitales de crónicos o de cuidados paliativos, son importantes reservorios de SARM. Ello comporta modificaciones en la epidemiología de las infecciones por SARM hospitalaria y, como algunos autores adelantan (14), supone un riesgo de diseminación a la comunidad.

En nuestro país no se ha detectado un aumento entre los aislamientos SARM comunitarios, aunque lo cierto es que no se han realizado estudios de base poblacional amplios, en los que los sujetos estudiados no presenten factores de riesgo en relación con la colonización por SARM (enfermedad de base, adicción a drogas vía parenteral o contacto con instituciones sanitarias o personas que trabajen en ellas).

### 3. Sensibilidad antibiótica de las cepas SARM

Los aislamientos causantes de brotes intrahospitalarios de SARM durante los años 1990-95 se han caracterizado por presentar resistencia a múltiples grupos antibióticos (macrólidos, tetraciclinas, aminoglucósidos, quinolonas o rifampicina) (3-8). Esta situación fue similar en muchos otros países. Así, la estirpe denominada Clon Ibérico (8,9), que se había diseminado por distintos países en Europa (España, Portugal, Escocia, Italia, Bélgica o Alemania) y Estados Unidos, además de presentar

características genotípicas comunes, era homogéneamente resistente a meticilina y presentaba resistencia a casi todos los antibióticos disponibles en la práctica clínica, a excepción de los glicopéptidos. Aparentemente el predominio del clon Ibérico o de otros grupos clonales multirresistentes, ha ido disminuyendo durante los años 1996-2001. Existen algunos datos que sugieren que en algunos centros aumenta el porcentaje de cepas sensibles a gentamicina (10, 11) y desconocemos si se trata de un fenómeno generalizado o local.

En España no se han descrito cepas resistentes a vancomicina, pero sí cepas que han mostrado el fenómeno de heterorresistencia a este antimicrobiano (12) o disminución de la sensibilidad (13).

Asimismo, la frecuencia de resistencia a mupirocina tampoco es conocida más allá de los datos de algún centro concreto.

#### **4. Epidemiología molecular de las cepas SARM**

El desarrollo de técnicas de tipificación molecular ha sido de gran ayuda para el estudio de la epidemiología y la diseminación de las cepas SARM. En particular, la aplicación de técnicas de PCR, técnicas de restricción-hibridación y análisis del DNA en Electroforesis de Campo Pulsátil (ECP).

Una de las desventajas de las técnicas descritas, y de aquellas que comparan visualmente fragmentos de DNA es la subjetividad en la interpretación de los patrones, la dificultad para comparar resultados entre diferentes laboratorios. Una técnica adicional que puede resolver estos problemas es el *Multilocus sequence typing* (MLST)(15). Las secuencias obtenidas pueden compararse fácilmente con secuencias de otros clones ya descritos, actualizados en una base de datos de patrones genéticos que puede consultarse en Internet (<http://mlst.ox.ac.uk>). MLST se ha desarrollado para la identificación de linajes patógenos de *Neisseria meningitidis* o *Streptococcus pneumoniae*. Recientemente se ha iniciado el estudio de cepas epidémicas SARM (16).

#### **5. Control de la infección nosocomial por SARM**

Se han publicado varias guías con recomendaciones sobre el control de infecciones nosocomiales por SARM, tanto en situaciones de brote epidémico (17,18) como de endemia (18). Algunos autores han discutido su eficacia (19,20), por lo que el nivel de aplicación de estas recomendaciones en los distintos centros puede ser muy distinto. No disponemos de datos sobre si el nivel de control de las infecciones por SARM en los distintos hospitales está en relación con el nivel de implantación de las recomendaciones, la existencia de determinados clones con comportamiento epidémico, u otros factores.

#### **BIBLIOGRAFIA**

1. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Eur J Clin Microbiol Inf Dis 1994;13:50-55
2. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1992-June 2002, issued August 2002. Am J Infect Control 2002; 30: 458-475.
3. Cercenado E, Sanchez-Carrillo C, Alcalá L, Bouza E. Situación actual de la resistencia de *Staphylococcus* en España. Rev Clin Esp 1997;2:18-24
4. Oteo J, Cruchaga S, campos J, Saez JA, Baquero F y miembros del Grupo del European Antimicrobial Resistanse Surveillance System. Resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus* aislados de sangre en 31 hospitales españoles de la Red Europea de Vigilancia de Resistencia a Antibióticos (2000). Med Clin (Barc) 2002; 119: 361-365.
5. Parras F, Rodríguez M, Bouza E, Muñoz P, Cercenado E, Guerrero C, Zancada G. Brote epidémico de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en un hospital general. Informe preliminar. Enferm Infec Microb Clin 1991; 9: 200-207.
6. Aparicio P, Richardson J, Martín S, Vindel A, Marples RR, Cookson BD. An epidemic methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* in Spain. Epidemiol Infect 1992; 108: 287-298.
7. Trilla A, Marco F, Moreno A, Prat A, Soriano E, Jiménez de Anta MT y el Comité de Control de Infecciones. Epidemiología clínica de un brote de infección nosocomial por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y aminoglucósidos: eficacia de las medidas de control. Med Clin (Barc) 1993; 100: 205-209.
8. Dominguez MA, de Lencastre H, Liñares J, Tomasz A. Spread and maintenance of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone during an outbreak of MRSA disease in a

Spanish hospital. J Clin Microb 1994; 32: 2081-2087.

9. Santos Sanches I, Ramirez M, Troni H, Abecassis, Padua M, Tomasz A, et al. Evidence for the geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone between Portugal and Spain. J Clin Microbiol 1995;33:1243-6

10. de Valle O, Trincado P, Martín MT, Gomez E, Cano A, Vindel A. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina fagotipo 95 en los Hospitales Vall d'Hebron de Barcelona. Enferm Infecc Microb Clin 1999; 10: 498-505.

11. Sopena N, García-Nuñez M, Prats R, Pedro-Bonet ML, Eña S, Nieto J, Sabriá M. Appearance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sensitive to gentamicin in a hospital with a previous endemic distinct MRSA. Eur J Epidemiol 2001; 17: 317-321.

12. Ariza J, Pujol M, Cabo J, Peña C, Fernández N, Liñares J, et al. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. Lancet 1999; 353: 1587-1588.

13. Pascual A, Rodríguez Baño J, Ramírez de Arellano E, Mola J, Martínez-Martínez L. Sensibilidad disminuida a vancomicina en cepas isogénicas de *Staphylococcus aureus* aisladas de un mismo paciente. Med Clin (Barc) 2001; 117; 416-418.

14. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?. Emerg Infect Dis 2001;7:178-82.

15. Maiden MCJ, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:3140-45.

16. Enright MK, Day NPJ, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2000;38:1008-15.

17. Wenzel RP, Reagan DR, Bertino JS, Baron EJ, Arias K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: a consensus panel's definition and management guidelines. Am J Infect Control 1998;26:102-110.

18. Working Party report. Revised guidelines for the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitals. J Hosp Infect 1998;39:253-290.

19. Paterson JV. Making real sense of MRSA. Lancet 1996;348:836-837.

20. Barrett SP, Mummery RV, Chattopadhyay B. Trying to control MRSA causes more problems than it solves. J Hosp Infection 1998;39:85-93.

21. McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteremia I. Etiology and ecology. Arch Intern Med 1962; 110: 847-855.

22. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method for classifying comorbidity in longitudinal studies: development and validation. J Chronic Dis 1987;40:373-383.

23. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med 1985;13:818-29.

24. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. Am J Infect Control 1988;16:128-140.

25. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992 Jun;20(6):864-74.

## OBJETIVOS

1. Conocer la incidencia de infecciones por SARM en pacientes hospitalizados (a nivel global y por servicios), y obtener información sobre la frecuencia con que se aísla SARM de pacientes no hospitalizados en España.
2. Describir las características clínicas, epidemiológicas y pronósticas de los pacientes con infecciones por SARM en los hospitales españoles.
3. Conocer si están ocurriendo en España infecciones por SARM adquiridas en la comunidad, y si es así, si están relacionadas con la asistencia sanitaria, cuales son su frecuencia, características epidemiológicas, microbiológicas y clínicas, y posible influencia en la aparición de brotes nosocomiales.
4. Analizar los patrones de resistencia de las cepas de SARM a otros antibióticos no beta-lactámicos. Estudiar la sensibilidad a glicopéptidos y mupirocina.
5. Averiguar la relación clonal entre las cepas aisladas, tanto dentro de cada centro como entre ellos mediante la aplicación de técnicas moleculares (PCR, ECP ó MLST).
6. Conocer las medidas de control de las infecciones por SARM que se llevan a cabo en cada centro.
7. Evaluar si existe alguna relación entre la incidencia en los distintos centros y el tipo de medidas de control que se llevan a cabo.
8. Evaluación de la actividad *in vitro* de nuevos antibióticos

## MATERIAL Y MÉTODOS

Hospitales participantes: aquellos que voluntariamente lo deseen. Para obtener cierta representatividad es aconsejable que estén representadas todas las comunidades autónomas; asimismo es aconsejable que participen centros de menos y más de 500 camas. De cada hospital se requiere la participación de al menos un microbiólogo y un infectólogo ó clínico experto en enfermedades infecciosas. Donde sea necesario y posible, puede contarse con un epidemiólogo y/o enfermera de control de infecciones para la encuesta de medidas de control.

Cada hospital participante deberá rellenar una vez el **Anexo 1** (*Protocolo de datos del Hospital*), donde se detallan las características del hospital y los métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica que se llevan a cabo en el Laboratorio de Microbiología correspondiente, y el **Anexo 2** (*Encuesta sobre medidas de control de SARM y datos del año 2002*), además de los protocolos de los casos incluidos en el estudio.

Tiempo del estudio: 1 mes (Junio de 2003)

Tipo de estudio: cohortes

Diseño: desde el 1 al 30 de Junio de 2003 se incluirán en cada centro todos los pacientes nuevos en los que se aísla SARM en una muestra clínica (es decir, una muestra solicitada con la intención de hacer un diagnóstico etiológico de un supuesto cuadro infeccioso); no se incluirán aquellos pacientes detectados solo a partir de cultivos de vigilancia (ejemplo, frotis nasales o de piel realizados con la intención exclusiva de detección de portadores). No se incluirán los pacientes que al inicio del mes ya estén detectados como colonizados ó infectados por SARM, salvo que la detección previa del paciente hubiera sido solo debida a la realización de un cultivo de vigilancia (por ejemplo, un paciente con un frotis nasal positivo previo, sin otras muestras, que durante el mes de Junio desarrolla una bacteriemia sí debe ser incluido; sin embargo, un paciente con SARM aislado de un aspirado traqueal indicado por su médico en el mes de Mayo ya no se incluirá si en Junio vuelve a tener una muestra con SARM). De cada uno de los pacientes se rellenará el **Anexo 3** (*Protocolo de recogida de datos de los casos y de la sensibilidad antibiótica de las cepas SARM*), donde se incluyen datos referentes al paciente y su infección (en su caso) y los datos correspondientes a la sensibilidad antibiótica del microorganismo aislado. Las cepas de SARM correspondientes aisladas se enviarán al centro de referencia. Solo se enviará un aislado por paciente (el primero). Se excluirán los pacientes detectados solamente mediante muestras de vigilancia. Los pacientes serán seguidos hasta 30 días después del día en que se tomó el cultivo, o, en caso de que ocurrieran antes, hasta el fallecimiento o el alta (si es que estaba ingresado).

Los pacientes no ingresados también deben ser incluidos. Los datos se recogerán de la historia clínica (si existe), entrevista con el médico a cargo del paciente, y entrevista con el paciente si es necesario.

### Definiciones:

- Adquisición nosocomial y comunitaria. Dado que la colonización por SARM puede ser muy duradera, no es posible definir con precisión si la adquisición del SARM es nosocomial ó comunitaria en pacientes que hayan sido ingresados con anterioridad. Por tanto, definiremos

- \* Adquisición comunitaria: el *S. aureus* se aísla en las primeras 48 horas de ingreso del paciente, o de un paciente no ingresado, que no haya sido ingresado durante el año previo.
- \* Adquisición incierta: el *S. aureus* se aísla en las primeras 48 horas de ingreso del paciente, o de un paciente no ingresado, que haya estado ingresado durante el año previo en al menos una ocasión.
- \* Adquisición nosocomial: el *S. aureus* se aísla de un paciente que lleva más de 48 horas ingresado.
- \* Adquisición nosocomial importada: cuando el paciente haya sido ingresado directamente desde otro hospital, y el *S. aureus* se aísla en las primeras 48 horas de ingreso en el nuevo hospital.

- Gravedad de la enfermedad de base: se medirá en función de la clasificación de McCabe (21) y el índice de Charlson (22); este último no es necesario rellenarlo. La gravedad de la situación clínica al ingreso se valorará en función del índice APACHE II (23).

\* Clasificación de McCabe (modificada):

- Enfermedad de base no fatal: no enfermedad de base, ó de la que no se espera la muerte en al menos 5 años.
- Enfermedad de base últimamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en menos de 5 años.
- Enfermedad de base rápidamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en los próximos 3 meses.

- Infección y colonización: la diferenciación entre infección y colonización se realizará siguiendo los criterios de los CDC (24). Esta diferenciación es difícil en determinadas situaciones y tipos de pacientes, pero es de gran interés para los resultados del estudio. Por ellos es importante que los datos clínicos sean recogidos por un clínico experto en enfermedades infecciosas.

- Tipo de infección: se seguirán los criterios de los CDC (24).

- Repercusión sistémica (sepsis, sepsis severa, shock séptico): se utilizarán las definiciones de la American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine (25). De forma muy resumida:

\* Sepsis: presencia de al menos dos de los siguientes:

- Fiebre ( $T^a \geq 38^{\circ}\text{C}$ ) ó hipotermia ( $\leq 36^{\circ}\text{C}$ )
- Taquicardia  $> 90$  spm
- Taquipnea  $> 20$  respiraciones por minuto ó  $\text{Pa CO}_2 < 32$  mmHg
- Leucocitosis ( $> 12.000/\text{mm}^3$ ) o leucopenia ( $< 4.000/\text{mm}^3$ ).

\* Sepsis severa: presencia (además) de hipotensión o hipoperfusión que cede con aporte de fluidos.

\* Shock séptico: hipotensión ó hipoperfusión que no cede con aporte de fluidos y que precisa de la administración de aminas vasoactivas (dopamina, etc).

- Tratamiento empírico y dirigido. Se considerará tratamiento empírico al indicado antes de conocer la etiología y sensibilidad del microorganismos ó microorganismos causantes de la infección, y tratamiento dirigido al indicado tras conocerlas.

- Tratamiento antimicrobiano apropiado: cuando incluye al menos 24 horas de tratamiento de un antimicrobiano con actividad in vitro frente al microorganismo en cuestión, a las dosis usuales.

- Recidiva: reaparición de la clínica de infección, con aislamiento del mismo microorganismo, tras haberse observado respuesta clínica y completado el tratamiento antimicrobiano.

- Exitus relacionado: exitus que ocurre, a juicio del investigador, en relación directa con la infección.

Estudios microbiológicos: Durante el periodo de estudio (1 mes) se recogerá un aislamiento por paciente (el primero) de cada uno de los pacientes que se incluyan en el estudio. Las cepas se recogerán en un escobillón que se introducirá en un tubo con el medio de transporte adecuado para remitirlas al centro designado. Asimismo se rellenará el apartado correspondiente a la sensibilidad del microorganismo que figura en el Anexo 3.

1. Se confirmará la resistencia a meticilina de las cepas recibidas mediante PCR

2. Se practicará un estudio de sensibilidad antibiótica a los siguientes antibióticos: penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, gentamicina, tobramicina, rifampicina, tetraciclina, cotrimoxazol, cloramfenicol, ciprofloxacina, vancomicina, teicoplanina y mupirocina

3. Análisis del nivel de resistencia a mupirocina entre las cepas resistentes y detección del gen *mupA*
4. Cribaje de cepas con sensibilidad disminuida a glicopéptidos mediante siembra en placas de Mueller Hinton con 2mg/L de vancomicina. En las cepas en las que se detecte crecimiento a las 24 ó 48 h se determinará la CMI a vancomicina y teicoplanina mediante E-test y se comprobará el grado de disminución de sensibilidad mediante análisis poblacionales.
5. Estudio de mecanismos de resistencia a macrólidos: mediante técnicas de PCR se analizará la distribución de genes de resistencia entre los distintos fenotipos de resistencia MLS<sub>B</sub>
6. Estudio de mecanismos de resistencia a aminoglucósidos: mediante técnicas de PCR se analizará la distribución de genes que codifican para la producción de enzimas modificantes de aminoglucósidos
7. Estudios de los determinantes genéticos de resistencia a quinolonas
8. Tipificación molecular de los aislamientos SARM mediante técnicas de PCR (investigación de nuevos genes ó estrategias de amplificación) y ECP. En una muestra representativa de los distintos tipos clonales se realizará MLST

Análisis estadístico:

- Se calculará la densidad de incidencia de colonización/infección por SARM por centros y por servicios de los casos nosocomiales, así como el porcentaje de casos de infección/colonización por SARM respecto del total de *S. aureus* en el periodo de estudio.
- Relación ecológica entre la incidencia de SARM por centros y las medidas de control.
- La frecuencia de casos de SARM comunitario se expresarán en números absolutos y respecto de la población atendida por el centro.
- Estadística descriptiva de los casos de infección/colonización por SARM, patrones de sensibilidad y clones.
- Estudio de los factores pronósticos de la cohorte de pacientes con infección por SARM. Comparación de porcentajes mediante test de la chi cuadrado y de variables cuantitativas continuas mediante test de la t de Student ó U de Mann-Whitney, según proceda. Análisis multivariante mediante regresión logística.

**Dirección para enviar las hojas de recogida de datos:**

- Correo ordinario: Jesús Rodríguez Baño  
Sección Enfermedades Infecciosas  
Hospital Universitario Virgen Macarena  
Avda Dr Fedriani, 3  
41071 Sevilla

- Correo electrónico: [jrb@nacom.es](mailto:jrb@nacom.es)

**Dirección para el envío de cepas:**

- Correo ordinario: M<sup>a</sup> Angeles Domínguez Luzón  
Servicio de Microbiología  
Hospital Universitario de Bellvitge  
Feixa Llarga s/n

- Correo electrónico: [adominguez@csub.scs.es](mailto:adominguez@csub.scs.es)

**CRONOGRAMA**

Junio de 2003: Periodo de estudio / recogida de datos

Hasta finales de Septiembre: recepción de protocolos y aislados

Octubre de 2003 a Marzo de 2004: trabajo microbiológico y análisis de resultados.

**ANEXOS:** Todos aquellos centros que necesiten bajarse a su Pc los Anexos, pueden acceder y disponer de ellos haciendo click sobre cada uno de los anexos.

**Anexo 1** (*Protocolo de datos del Hospital*)

**Anexo 2** (*Encuesta sobre medidas de control de SARM y datos del año 2002*)

**Anexo 3** (*Protocolo de recogida de datos de los casos y de la sensibilidad antibiótica de las cepas SARM*)

**Dirección para enviar las hojas de recogida de datos:**

- Correo electrónico:

[jrb@nacom.es](mailto:jrb@nacom.es)

**Dirección para el envío de cepas:**

- Correo electrónico:

[adominguez@csb.scs.es](mailto:adominguez@csb.scs.es)