

Staphylococcus aureus resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú.

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates acquired in the community in three hospitals in Lima, Peru.

Jesús Tamariz ¹, Juan Agapito ^{1,2}, Gertrudis Horna ^{1,2}, Elena Tapia ^{1,3}, William Vicente ⁴, María Silva ⁴, Rito Zerpa ⁵, Humberto Guerra ^{1,2}.

RESUMEN

Staphylococcus aureus es un importante patógeno involucrado en una serie de infecciones e intoxicaciones, presenta múltiples factores de virulencia y su impacto se incrementa por su notable resistencia a los antimicrobianos. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquiridos en la comunidad, en hospitales de Lima- Perú. **Material y métodos:** Se realizó un estudio descriptivo multicéntrico. La resistencia a meticilina se determinó por el método Oxacillin Agar Screen. El origen de la cepa fue determinado mediante los criterios de los CDC; la Leucocidina de Pantón Valentine fue identificada por métodos moleculares. **Resultados:** Se aislaron 276 cepas de *Staphylococcus aureus*, 160 fueron resistentes a meticilina (58%), 9 de ellas fueron identificadas como adquiridas en la comunidad (5,6%). La PVL fue identificada en 25 cepas (9,1%), 14 fueron MSSA y 11 MRSA, de éstas últimas solo 4 fueron MRSAcom, 7 fueron MRSAhosp (p<0,001). **Conclusiones:** El estudio revela niveles elevados de resistencia a meticilina, pero niveles bajos de MRSAcom. En nuestro medio la presencia de PVL no constituiría un marcador para la identificación de los MRSAcom. (*Rev Med Hered* 2010;21:4-10).

PALABRAS CLAVE: *Staphylococcus aureus*, resistente, meticilina, comunidad.

SUMMARY

Background : *Staphylococcus aureus* is an important pathogen involved in a series of infections and toxin mediated syndromes, has many virulence factors and its impact increases its resistance to antimicrobial agents. **Objectives:** To determine the frequency of community acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among hospitals in Lima -Peru. **Material and Methods:** We performed a prospective multicenter study. The resistance to methicillin was determined by the Oxacillin Agar Screen method. The origin of the strain was determined using CDC criteria,

¹ Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

² Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt. Lima, Perú.

³ Hospital Nacional Cayetano Heredia. Lima, Perú.

⁴ Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Lima, Perú.

⁵ Instituto Nacional de Salud del Niño. Lima, Perú.

the Pantone Valentine Leucocidin was identified by molecular methods. **Results:** We isolated 276 strains of *Staphylococcus aureus*, 160 were resistant to methicillin (58%). 9 strains were identified as community acquired MRSA (5.6%). The Pantone Valentine Leucocidin was identified in 25 strains (9.1%), 14 were MSSA and 11 MRSA, only 4 of the latter were CA MRSA, 7 were HA MRSA ($p < 0.001$). **Conclusions:** The study showed frequencies of methicillin resistance, but low CA MRSA. In our environment the presence of PVL would not be a marker for the identification of CA MRSA. (*Rev Med Hered* 2010;21:4-10).

KEYWORDS: *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant, community.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus, uno de los patógenos humanos más importantes, se encuentra involucrado en una diversidad de infecciones e intoxicaciones, pudiendo comprometer cualquier órgano del sistema (1-4). El tratamiento de estas infecciones se ve dificultado por su elevada capacidad de generar resistencia a los antimicrobianos.

En 1946, se reportó un 60% de resistencia a penicilinas naturales, en 1960 ésta se incrementó a 80%, obligando a su abandono. Hacia 1961 se reportó en Europa la aparición de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), extendiéndose posteriormente a diversas partes del mundo (5,6), constituyendo en la actualidad un serio problema de salud pública (7,8,9).

Estudios en nuestro país muestran una elevada prevalencia de MRSA, sobre todo a nivel hospitalario (10,11). En un estudio multicéntrico en 6 hospitales de Lima Metropolitana (1996) encontramos 63,3% de cepas MRSA (11).

El mecanismo molecular de resistencia a la meticilina consiste en la producción, por el gen *mec A*, de una proteína de unión a penicilina adicional (PBP2a) que no presenta afinidad por los betalactámicos, originando resistencia a penicilinas semi-sintéticas (meticilina y oxacilina), cefalosporinas de primera a cuarta generación y a los carbapenems; extendiéndose a otras familias antibióticas como las quinolonas y lincosamidas (5,6). El gen *mec A* está localizado en una isla genómica móvil conocida como *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCCmec). En la actualidad se han identificado siete tipos de SCCmec (I al VII), sus tamaños varían de 20,9 a 66,9 kb. El SCCmec tipo I (34,3 kb), IV (20,9–24,3 kb), V (28 kb), VI (20,9 Kb), y VII (35,9 kb) codifican solo resistencia al grupo de betalactámicos, mientras que los SCCmec tipo II (53,0 kb) y III(66,9 kb) generan resistencia a múltiples grupos de antibióticos (12).

En 1993 emergen las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina adquiridos en la comunidad (MRSAcom), cepas de elevada virulencia implicadas principalmente en infecciones severas de piel y tejidos blandos, neumonía necrotizante graves y fulminantes (13-16).

MRSAcom es diferente del *Staphylococcus aureus* meticilino resistente de origen hospitalario (MRSAhosp) conocido hasta entonces. The Centers for Disease Control and Prevention - CDC la define como cepas de MRSA aisladas de pacientes no hospitalizados o dentro de las primeras 48 horas de hospitalización, sin antecedentes de infección o colonización con MRSA, sin hospitalización en el año anterior al aislamiento, ni empleo de dispositivos protésicos permanentes (13).

Genéticamente los MRSA-com poseen el SCCmec de los tipos tipo IV,V y VII a diferencia de los MRSAhos, que poseen los tipos I, II, III y VI (12,14-16). Los MRSA-com poseen factores de virulencia específicos como una exotoxina: Leucocidina de Pantone Valentine (PVL), elemento no solo relacionado con su elevada patogenicidad, sino también empleado como marcador molecular para su identificación. Se ha reportado además que estas cepas tienen mayor rapidez de duplicación y elevada capacidad de diseminación.

Recientemente se ha informado un nuevo factor de virulencia los péptidos modulina soluble en fenol (PSM), con capacidad para aglutinar, activar y lisar neutrófilos humanos, bloqueando de esta manera la primera línea de respuesta inmune celular contra estas infecciones (9,13-20).

Los MRSAcom presentan un perfil de susceptibilidad a antimicrobianos particular: son resistentes a betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, aminopenicilinas asociadas a inhibidores de betalactamasas, carbapenems) así como a los macrólidos-azálidos (eritromicina, claritromicina,

azitromicina). Sin embargo a diferencia de los MRSAhos, son susceptibles a sulfametoxazole/trimetoprim, clindamicina, gentamicina, rifampicina, entre otros (15,16).

La identificación de las cepas MRSAcom es de suma importancia para el abordaje terapéutico adecuado de las infecciones y disminuir la elevada mortalidad, así mismo para la implementación de medidas de control que impidan su propagación. Sin embargo, en nuestro medio no se han realizado estudios orientados a su identificación.

El estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad en hospitales de Lima Metropolitana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio de tipo descriptivo, transversal. Entre mayo 2005 y septiembre 2006, se recolectaron 276 cepas de *Staphylococcus aureus* de los laboratorios de 3 hospitales de Lima: Hospital Nacional Cayetano Heredia (HNCH), Instituto Especializado de Salud del Niño (INSN), Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). Las cepas fueron verificadas mediante pruebas de coagulasa, DNAsa y almacenadas hasta su uso.

Determinación de la Resistencia a Meticilina

Se empleó el método Oxacillin Agar Screen propuesto por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). En placas de agar Mueller Hinton suplementado con oxacilina (6 µg/mL) y NaCl (4%), se inocularon 10⁴ UFC. Las placas fueron incubadas entre 33-35°C durante 24h. La presencia de una o más colonias sobre el inóculo fue indicador de resistencia a meticilina.

Determinación de cepas MRSAcom

Las cepas MRSA-com fueron catalogadas en base a los datos epidemiológicos obtenidos. Las cepas de MRSA aisladas de pacientes no hospitalizados o en las primeras 48 horas de internamiento, sin antecedentes de uso de prótesis o uso de antimicrobianos prolongado, fueron considerados MRSAcom.

Extracción del DNA

La extracción del ADN se realizó a partir de un

cultivo de la cepa, resuspendiendo 2 a 3 colonias de la bacteria en 200 µL de solución tampón TE (1X), conteniendo 50 µL de Lisozima y 25 µL de Lisostafina, incubándose a 37 °C por 20 minutos. Se agregó SDS/Proteinasa K (75/5 µL) y se incubó por 1 hora a 37° C; posteriormente se añadieron 84 µL de NaCl 5M y 60 µL de CTAB incubándose a 65° C por 20 minutos. Se adicionaron 750 µL de una solución de Cloroformo/Alcohol Isoamílico (24:1), se centrifugó por 15 minutos a 12000 g y el sobrenadante fue transferido a un nuevo tubo. El DNA fue precipitado con 400 µL de Isopropanol, e incubado a -20°C por 30 minutos. La muestra fue centrifugada por 15 minutos a 12000 g., lavada con 1 mL de etanol a 70%, centrifugada por 15 minutos a 12000 g y finalmente secada y resuspendida en 100 µL de solución TE. El DNA fue guardado a 4° C hasta su posterior uso.

Detección de la Leucocidina de Pantón Valentine - PVL

La PVL fue identificada mediante PCR, los “cebadores” empleados fueron los diseñados por Lina et al (34) de acuerdo a la secuencia de genes de PVL (Gen Bank N° X72700 y AB006796). Para luk PV-1, 5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3' y para luk-PV-2, 5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCAA AAGC-3'. La amplificación se realizó en un termociclador Perkin Elmer 9700 (Applied Biosystems), según el siguiente esquema: un ciclo inicial de 94° C por 5min; seguido de 30 ciclos de 94° C por 30 seg, 55° C por 30 seg, 72° C por 1 min; extensión final 72° C por 1 min. Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en gel de azarosa al 1,5% conteniendo bromuro de etidio para su posterior visualización con luz UV. Las condiciones de corrida fueron: 60V durante 60 min.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el programa SPSS versión 15,0, se realizaron tablas de frecuencia y contingencia, se utilizó la prueba de chi cuadrado para el análisis de los datos, se consideró como significativo un valor de p< 0,05.

RESULTADOS

De las 276 cepas de *Staphylococcus aureus*, 81 provenían de consultorios externos y 195 de pacientes hospitalizados, la mayoría provenían de hemocultivos, heridas de piel y tejidos blandos, con 90 y 86 cepas respectivamente (Tabla 1).

Resistencia a Meticilina

Ciento sesenta cepas (58%) fueron identificadas como MRSA, la distribución de las cepas MRSA y MSSA fue significativamente diferente según el hospital de origen, procedencia del paciente, y procedencia de la cepa ($p < 0,001$). Los MRSA fueron más frecuentes en pacientes hospitalizados (66,2%) en las cepas aisladas de las bacteriemias y de las infecciones de piel y tejidos blandos. Fueron menos frecuentes en las cepas provenientes de vías respiratorias altas (Tabla 1).

Origen de las cepas MRSA

De las cepas MRSA aisladas, 9 (5,6%) fueron catalogadas como adquiridas en la comunidad (MRSACOM), 129 (80,6%) fueron adquiridas en el hospital (MRSAHOS) y 22 (13,8%) resultaron indeterminadas al no cumplir con los criterios establecidos por CDC o carecer de información concluyente. De las cepas MRSACOM, 5 fueron aisladas de infecciones en piel y tejidos blandos, 3 de infecciones de vías respiratorias bajas y una cepa de hemocultivo. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el origen de las cepas y el lugar anatómico de su aislamiento ($p < 0,001$). Seis cepas fueron aisladas en el HNCH y 3 cepas en el INSN.

Presencia de PVL

La Leucocidina de Pantón Valentine fue identificada en 25 cepas (9,1%); 11 cepas MRSA (6,9%) y 14 cepas de MSSA (12,1%). La mayor proporción de PVL fue

identificada en cepas MSSA frente a las cepas MRSA (12,1% vs 6,9%).

En las cepas MRSAHOS, 7 cepas (5,4%) resultaron positivas para la PVL, en las cepas MRSACOM 4 (44,5%) fueron positivas para PVL (Tabla 2).

El análisis estadístico mostró diferencia significativa en el origen de las cepas respecto a la presencia de la PVL ($p < 0,001$) y muestra independencia en la susceptibilidad a meticilina respecto a la presencia de PVL ($p = 0,138$) (Tabla 2).

DISCUSIÓN

En la actualidad *Staphylococcus aureus* se presenta como un patógeno cada vez más importante, ello debido al arsenal de factores de virulencia que presenta el microorganismo sumada a su elevada capacidad de generar resistencia a los antimicrobianos (1-4).

Nuestro estudio muestra niveles elevados de resistencia a meticilina, el 58% de cepas aisladas resultaron MRSA, los reportes en nuestro medio muestran valores de frecuencia variable entre 50 – 90%, pero empleando metodología y poblaciones diversas.

Es importante destacar que las cepas MRSA manifiestan fenotípicamente homoresistencia o heteroresistencia, siendo éste último el más frecuente y en el que solo una mínima cantidad de bacterias en una población (1 en 100 000), expresan el fenotipo resistente, dificultando su identificación *in vitro*, lo que

Tabla 1. Susceptibilidad a Meticilina en *Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima – Perú.

Parámetro de evaluación	Susceptibilidad a Meticilina N° (%)		Total n(276)	P
	MSSA n(116)	MRSA n(160)		
Hospital de origen				
Hospital Nacional Cayetano Heredia	80 (51,9%)	74 (48,1%)	154	<0,001
Instituto Enfermedades Neoplásicas	30 (37%)	51 (63%)	81	
Instituto de Salud del Niño	6 (14,6%)	35 (85,4%)	41	
Procedencia del paciente				
Consultorio externo	50 (61,7%)	31 (38,3%)	81	<0,001
Paciente hospitalizado	66 (33,8%)	129 (66,2%)	195	
Procedencia de la cepa				
Bacteriemia	29 (32,2%)	61 (67,8%)	90	<0,001
Piel y tejidos blandos	35 (40,7%)	51 (59,3%)	86	
Vías respiratorias bajas	11 (23,4%)	36 (76,6%)	47	
Vías respiratorias altas	38 (82,6%)	8 (17,4%)	46	
Infección del tracto urinario	2 (50%)	2 (50%)	4	
Osteomielitis	1 (33,3%)	2 (66,7%)	3	

Tabla 2. Leucocidina de Pantón-Valentine identificado en *Staphylococcus aureus* aislados en tres hospitales de Lima – Perú.

Tipos de Cepa	PVL Negativo (n=251)	PVL Positivo (n=25)	Total (n=276)	p
MSSA	102 (87,9%)	14 (12,1%)	116	0,138
MRSA	149 (93,1%)	11 (6,9%)	160	
MRSAhos	122 (94,6%)	7 (5,4%)	129	< 0,001
MRSAcom	5 (55,5%)	4 (44,5%)	9	
Indeterminado	22 (100%)	0	22	

obliga al empleo de métodos especiales para su identificación. En nuestro estudio se empleó el "Oxacillin Agar Screen", método recomendado por CLSI y que detecta tanto cepas homoresistentes como heteroresistentes, siendo considerado el método fenotípico de referencia. Con ésta misma metodología, en 1996, en un estudio en 6 hospitales de Lima, encontramos 63,3% de MRSA, resultados similares a los actuales, considerando además que ambos fueron estudios multicéntricos (11).

El incremento en la prevalencia de infecciones por MRSA, está conduciendo a un mayor uso de los glucopéptidos, lo que a su vez origina un incremento notable de los costos de tratamiento de estas infecciones, pero más grave aún es la presión selectiva antibiótica que conduce a la generación de resistencia a estas drogas, que se evidencia en la actualidad por la aparición de las cepas con resistencia intermedia a Vancomicina – VISA y las cepas con resistencia absoluta – VRSA, como lo muestran diversos reportes (21-24).

Tradicionalmente, el *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) ha sido considerado un patógeno nosocomial, con características propias y factores predisponentes bien determinados. Sin embargo en la última década aparecen infecciones por cepas MRSA con características fenotípicas y genotípicas diferentes, denominándoseles como adquiridos en la comunidad (MRSAcom). Este nuevo patógeno constituye una mayor preocupación que las cepas convencionales de MRSA (9).

Nuestro estudio identificó, en base a los criterios de CDC, 5,6% de cepas MRSAcom, ninguno de los pacientes presentaba antecedentes relevantes de contacto directo o indirecto con ambientes hospitalarios, permanencia en instituciones de cuidados crónicos, ni de uso prolongado de antibióticos, que hicieran sospechar la infección previa por MRSA. Las cepas

aisladas provenían de infecciones en piel y partes blandas, neumonías y septicemia. Estos datos coinciden plenamente con las características de los MRSAcom cuyo espectro de infecciones va desde los cuadros cutáneos locales (forúnculos, abscesos, celulitis) hasta enfermedad sistémica severa incluyendo la neumonía necrotizante, bacteriemia y abscesos profundos (13-16).

Este estudio constituye el primer reporte de MRSAcom en nuestro país, su frecuencia es aún baja si la comparamos a reportes en el resto del mundo, incluso países de Sudamérica en los que se han reportado niveles crecientes, llevando a calificarlo como un problema emergente, obligando a implementar diversas medidas para su control (25-27). Sin embargo, el patógeno está presente en nuestro medio y amerita programas de vigilancia epidemiológica constante y la implementación de medidas que permitan el control del problema, más aún si existe el riesgo que estas cepas se diseminen de la comunidad al ambiente hospitalario, con niveles insospechados de mortalidad y consecuencias mucho más severas, dado el mayor compromiso de los pacientes hospitalizados, como ya han sido descritos en Alemania, Israel, Reino Unido y EUA (28).

Diversos reportes asignan a los MRSAcom propiedades particulares como su mayor velocidad de replicación, mayor patogenicidad como consecuencia de factores de virulencia adicionales como la Leucocidina de Pantón-Valentine, citotoxina formadora de poros, que produce destrucción de los leucocitos mononucleares y polimorfonucleares, causando la muerte celular por necrosis o apoptosis, la necrosis tisular en la neumonía necrotizante y las infecciones severas de piel, partes blandas, siendo propuesta como marcador característico de las cepas MRSAcom (15-20). Por esta razón se incorporó en el estudio la identificación de esta proteína.

Nuestro estudio muestra que la PVL, no es exclusividad de las MRSAcom, el factor de virulencia fue identificado tanto en cepas resistentes como susceptibles a meticilina. Así mismo fue encontrada en cepas MRSA de origen hospitalario como adquiridas en la comunidad. Recientes estudios han puesto en discusión la utilidad de la PVL como marcador de las cepas MRSAcom, Rossney et al. (29), en un estudio realizado en Irlanda, encontraron que solo 6,7% de los MRSAcom aislados resultaron positivos para PVL, concluyendo que esta proteína no debería ser usado

como un único marcador para MRSAcom, siendo necesaria la combinación de distintas características fenotípicas y que se requieren posteriores estudios que definan un marcador confiable o una combinación de marcadores que faciliten su reconocimiento (30).

Los resultados del estudio nos permiten concluir que en nuestro medio están presentes cepas de *Staphylococcus aureus* de elevada virulencia, aun en baja frecuencia, pero que amerita la implementación de medidas de control oportunas y efectivas. Así mismo que la PVL no constituye un marcador suficiente para la identificación de cepas de MRSAcom.

Correspondencia:

Jesús Humberto Tamariz Ortiz
Facultad de Medicina Alberto Hurtado
Universidad Peruana Cayetano Heredia
Av. Honorio Delgado N° 430 – San Martín de Porres
Lima Peru.
Correo electrónico: jesus.tamariz@upch.pe

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Archer GL. *Staphylococcus aureus*: a well-armed pathogen. *Clin Infect Dis* 1998;26:1179-81.
2. Murray P. *Manual of clinical microbiology*. 9th edition. Washington D.C: American Society for Microbiology; 2007.
3. Isenberg H. *Clinical microbiology procedures handbook*. 2nd Ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
4. Honeyman A, Friedman H, Bendinelli M. *Staphylococcus aureus* infection and disease. New York: Kluwer Academic Publishers; 2002.
5. Chambers H. Methicillin-Resistant *Staphylococci*. *Clin Microbiol Reviews* 1988; 1(2): 173-186.
6. Chambers H. Methicillin Resistance in *Staphylococci*: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Reviews* 1997; 10(4): 781-791.
7. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a metaanalysis. *Clin Infect Dis* 2003;36:53-9.
8. Engemann JJ, Carmeli Y, Cosgrove SE, et al. Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clin Infect Dis* 2003;36:592-8.
9. Flynn N, Cohen S. The Continuing Saga of MRSA. *J Infectious Diseases* 2008; 197:1217-9.
10. Echevarria J, Iglesias D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Med Hered* 2003; 14:195-2003.
11. Echevarria J, Ore L, Zerpa R, et al. Prevalence of Methicillin Resistant *Staphylococcus* strains, in Hospitalized patients and susceptibility to Teicoplanin in Lima Peru. Sidney – Australia: 20th International Congress of Chemotherapy. International Society of Chemotherapy; Junio 1997.
12. Deurenberg R, Stobberingh E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution* 2008;8(6):747-763.
13. Saïd-Salim B, Mathema B, Kreiswirth BN. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:451-5.
14. Buck JM, Como-Sabetti K, Harriman KH, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Minnesota, 2000-2003. *Emerg Infect Dis* 2005;11(10):1532-8.
15. Tenover F, McDougal L, Goering R, et al. Characterization of a Strain of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Widely Disseminated in the United States. *J Clin Microbiol* 2006; 44:108-118.
16. Huang H, Flynn N, King J, Monchaud C, Morita M, Cohen S. Comparisons of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Hospital-Associated MRSA Infections in Sacramento, California. *J Clin Microbiology* 2006; 44: 2423-2427.
17. Boubaker K, Diebold P, Blan DS, et al. Panton-Valentine leucocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(1):121-124.
18. Diep B, Sensabaugh G, Somboona N, Carleton H, Perdreaux Remington F. Widespread skin and soft-tissue infections due to two Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Harboring the Genes for Panton-Valentine Leucocidin. *J Clin Microbiology* 2004; 42: 2080-2084.
19. Yves G, Bertrand I. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine Leucocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 2002; 359:753-59.
20. Wannet W, Spalburg E, Heck M, et al. Emergence of Virulent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Carrying Panton-Valentine Leucocidin Genes in The Netherlands. *J Clin Microbiology* 2006; 43: 3341-3345.
21. Hiramatsu K. Reduced Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to Vancomycin Japan, 1996. *MMWR* 1997; 46: 624-626.

22. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: dissemination of heterogeneously resistant strains in Japanese hospital. *Lancet* 1997; 350: 1670-1673.
23. Kantzanou M, Tassios PT, Tseleni-Kotsovoli A, Legakis NJ, Vatopoulos AC. Reduced susceptibility to vancomycin of nosocomial isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 729-731.
24. Rotun SS, McMath V, Schoonmaker J, et al. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin isolated from a patient with fatal bacteremia. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 147-149.
25. Paganini H, Della Latta M, Muller Opet B, et al. Estudio multicéntrico sobre las infecciones pediátricas por *Staphylococcus aureus* metilino-resistente provenientes de la comunidad en la Argentina. *Arch Argent Pediatr* 2008; 106(5):397-403.
26. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol* 2005; 43:1985-8.
27. Pereira W, Galiana A. Una nueva clona de *Staphylococcus aureus* con resistencia a Metilina y alta virulencia emergente en la comunidad y en los grandes hospitales en Uruguay. Montevideo, Uruguay: Instituto de Higiene- Universidad de la República; 2002.
28. Strommenger B, Bräulke C, Pasemann B, Schmidt C, Witte W. Multiplex PCR for Rapid Detection of *Staphylococcus aureus* Isolates Suspected to Represent Community-Acquired Strains. *J Clin Microbiology* 2008; 46: 582–587.
29. Rossney A, Shore A, Morgan P, Fitzgibbon M, O’Connell B, Coleman D. The Emergence and Importation of Diverse Genotypes of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Harboring the Panton-Valentine Leukocidin Gene (pvl) Reveal that pvl Is a Poor Marker for Community-Acquired MRSA Strains in Ireland. *J Clin Microbiology* 2007; 45: 2554–2563.
30. Takizawa Y, Taneike I, Nakagawa S, et al. A Panton-Valentine Leukocidin (PVL)-Positive Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strain, Another Such Strain Carrying a Multiple-Drug Resistance Plasmid, and Other More-Typical PVL-Negative MRSA Strains Found in Japan. *J Clin Microbiology* 2006;43: 3356–3363.

Recibido: 27/08/09

Aceptado para publicación: 18/01/10