

Portación nasal, antibiograma y genotipo de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en estudiantes de Medicina y de Enfermería Campus San Felipe, Universidad de Valparaíso, Chile, durante el año 2017

Nasal carriage, antibiotype and genotype of isolated *Staphylococcus aureus* from Medicine and Nursing students of Campus San Felipe, University of Valparaíso, Chile, during 2017

Carmen Aravena¹, Javiera Cáceres¹, Adolfo Bastías A.¹, Juan Francisco Opazo¹, Yasna Magna¹, Claudia Saralegui², Camila Quintana³ y Rosa Del Campo²

¹Laboratorio de Bacteriología y Microbiología Molecular, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Campus San Felipe, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile.

²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigaciones Sanitarias. Madrid, España.

³Programa de Magíster en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile.

La presente investigación no ha recibido beca específica alguna, de agencias de los sectores público, comercial, o sin ánimo de lucro.

Recibido: 17 de abril de 2020 (segunda versión: 24 de junio de 2021) / Aceptado: 13 de octubre de 2021

Resumen

Introducción. *Staphylococcus aureus* es parte de la microbiota nasal en 20-30% de la población general, colonización que constituye un reservorio para su transmisión, lo que es preocupante en cepas resistentes a meticilina (SARM). **Objetivo:** Determinar la prevalencia de *S. aureus* en estudiantes de Medicina y Enfermería del Campus San Felipe y caracterizar sus aislamientos. **Material y Métodos:** El 2017 se midió la portación nasal a 225 estudiantes, a las cepas aisladas se le analizó su antibiograma por difusión en agar, la relación clonal por electroforesis de campo pulsado y MLST. En SARM se determinó el cassette SCCmec y gen de la leucocidina de Panton-Valentine. **Resultados:** 61 estudiantes portaron *S. aureus* (27,1%) incluyendo dos cepas SARM (0,9%). *Staphylococcus aureus* mostró resistencia a penicilina (75%), eritromicina (14%) y clindamicina (10%), cloranfenicol (1,6%) y levofloxacina, oxacilina, cefoxitina (3,3%). Se diferenciaron diecinueve pulsotipos y el secuenciotipo coincidió con complejos clonales descritos a nivel mundial en portadores de *S. aureus*: CC30, CC8, CC97, CC15, CC22 y CC1. Las dos cepas SARM correspondieron con los clones chileno/cordobés y USA100NY/J, ambas del CC5. **Conclusión:** La portación nasal de *S. aureus* y SARM en los estudiantes coincidió con la portación en la población general y las cepas sensibles a meticilina mostraron diversidad clonal y alta susceptibilidad antimicrobiana, exceptuando a penicilina.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; transmisión de enfermedades infecciosas; estudiantes de Enfermería; estudiantes de Medicina; *mecA*; tipificación multilocus de secuencias.

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* is part of the nasal microbiota in 20-30% of the population. This colonization is also a reservoir for its dissemination, which is worrying in the case of strains with resistance to methicillin (MRSA). **Aim:** To determine *S. aureus* nasal carriage in nursing and medical students of San Felipe Campus and characterize their isolates. **Methods:** During 2017, nasal swabs were taken from 225 students and seeded in salt manitol agar. Antibiotypes were determined by agar diffusion and the genetic clonality was assessed by PFGE and MLST in isolated *S. aureus*. SCCmec cassette and Panton-Valentine leukocidin gene (*pvl*) presence were determined in the MRSA isolates. **Results:** 61 students carried *S. aureus* (27.1%) including two MRSA strains (0.9%). *S. aureus* showed resistance to penicillin (75%), erythromycin (14%) and clindamycin (10%), chloramphenicol (1.6%) and levofloxacin, oxacillin, cefoxitin (3.3%). Nineteen PFGE-types were differentiated, and their sequence-types coincided with main clonal complexes described in *S. aureus* carriers from different places worldwide: CC30, CC8, CC97, CC15, CC22 and CC1. MRSA strains belonged to CC5 and they corresponded to the Chilean/Cordobés and USA100NY/J clones. **Conclusion:** Nasal carriage of *S. aureus* and MRSA in students, coincided with the general population and sensitive-methicillin strains showed clonal diversity and high antimicrobial susceptibility except for penicillin.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; infectious disease transmission; students nursing; students medical; *mecA*; multilocus sequence typing.

Introducción

Staphylococcus aureus es un patógeno oportunista causante de un amplio espectro de infecciones humanas, tanto en la comunidad como hospitalarias^{1,2}. Una de sus características es que forma parte habitual de la microbiota humana y de animales, con una prevalencia de portación nasal en la población de 20 a 30%³⁻⁵. La portación es considerada un factor de riesgo para desarrollar infecciones por esta bacteria y constituye un importante reservorio para la transmisión horizontal de este patógeno por contacto indirecto, principalmente a través de las manos o por objetos contaminados⁶⁻⁸. Un estudio de la población general de Santiago de Chile en el año 2010 reportó que 22,7% de la población presentaba colonización nasal por *S. aureus*⁵; sin embargo, otras publicaciones indican que la portación puede ser variable en subgrupos de la población o entre países^{3,4,7-9}. Las cifras de prevalencia de portación nasal de *S. aureus* reportadas en estudiantes de diferentes partes del mundo oscilan entre 17 y 30% en estudiantes de Enfermería y entre 20 y 60% en estudiantes de Medicina^{7,10-13}. En Chile, hace más de 20 años atrás se determinó una portación nasal de *S. aureus* de 37% en estudiantes de Medicina¹⁴; sin embargo, no hay información actualizada al respecto.

La portación nasal, tanto de *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) como de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), incrementa el riesgo de adquirir infecciones en la piel y tejidos blandos, siendo capaz de generar también cuadros graves como patologías osteoarticulares, cardiovasculares, neumonía y sepsis. Las cepas SARM representan una mayor amenaza nosocomial y comunitaria debido a su habitual multiresistencia antimicrobiana y al cúmulo de factores de virulencia¹⁵⁻¹⁷.

Los trabajadores del sector sanitario están en contacto con los pacientes y pueden transmitir este patógeno, pudiendo ser incluso el caso índice en brotes de SARM en pacientes hospitalizados^{9,15}. En este sentido, los estudiantes de Medicina y de Enfermería del Campus San Felipe, Universidad de Valparaíso, realizan tutorías y prácticas clínicas rotando en diferentes centros hospitalarios: Hospital San Juan de Dios de Los Andes, Hospital San Camilo de San Felipe, de Putaendo están el Hospital Psiquiátrico Dr. Philippe Pinel y Hospital San Antonio. Los dos primeros son de alta complejidad, los otros dos de mediana y baja complejidad, respectivamente. Los estudiantes también concurren a trece centros de atención primaria del Servicio de Salud Aconcagua, uno de los 29 servicios que conforman el Sistema Nacional de Salud a lo largo del territorio chileno. En las prácticas y en el contacto con pacientes, los estudiantes portadores pueden ser parte de la cadena de transmisión de este patógeno oportunista.

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de la portación nasal de *S. aureus* y de SARM

en estudiantes de Enfermería y Medicina. Además, caracterizar las cepas aisladas, determinando su fenotipo de resistencia antimicrobiana, la relación clonal por las técnicas de electroforesis en gel de campo pulsado (EGCP) y tipificación multilocus de secuencias (MLST).

Métodos

Bioética, criterios de inclusión y exclusión

Participaron en la investigación estudiantes de todos los cursos académicos de Enfermería (primero a quinto año) y Medicina (primero a séptimo año), que estaban asistiendo normalmente a sus actividades académicas en la Facultad de Medicina, Campus San Felipe, en el período desde mayo a noviembre 2017. Diez a once estudiantes de cada año académico fueron seleccionados al azar accediendo a la toma de muestra luego de conocer y firmar el consentimiento informado. Se excluyeron a estudiantes que en el momento de la toma de muestra tenían infección respiratoria, y a los que habían estado hospitalizados o tratados con antimicrobianos en el último mes. El estudio fue aprobado por el Comité Ético Científico del Servicio de Salud Aconcagua, Valparaíso, Chile, con el expediente, CEC 42/2016.

Toma de muestras nasales

Se tomaron muestras nasales, a todos por igual, usando hisopos Trans System Stuart (Copan, Italia) y el procedimiento según Platzer y cols., 2010⁵. En total se incluyeron 110 estudiantes de Enfermería y 115 estudiantes de Medicina, con un rango de edad entre 18 y 30 años.

Identificación de *S. aureus*

Las muestras fueron inmediatamente sembradas en placas de agar Manitol Salt (BD, USA) y se incubaron entre 24 y 48 horas a 35-37°C. Las colonias sospechosas se identificaron como *S. aureus* según las pruebas de tinción de Gram, catalasa, coagulasa, test de identificación STAPHYTECT PLUS (Oxoid, UK) y confirmadas por Maldi-TOF (Bruker Daltonik MALDI Biotyper).

Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana

Se determinó por técnica de difusión en agar con sensidiscos de clindamicina (20 µg), eritromicina (15 µg), penicilina G (10 IU), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), sulfametoxazol/trimetoprim (cotrimoxazol) (23,75/1,25 µg), rifampicina (5 µg), levofloxacina (5 µg), minociclina (30 µg), oxaciclina (1 µg) y cefoxitina (30 µg) (Oxoid Ltd, UK). La técnica se realizó e interpretó según CLSI, 2020¹⁸ y como control se usó la cepa *S. aureus* ATCC 25923. Para detectar la resistencia inducible a clindamicina en *S. aureus* se utilizó el D-test según Montoya y cols., 2009¹⁹. La detección de SARM se realizó con un sensidisco de cefoxitina 30 µg según

CLSI, 2020¹⁸ y confirmando con la presencia del gen *mecA* por reacción de polimerasa en cadena (RPC) según Okolie y cols., 2015²⁰. A las cepas SARM se les midió la concentración inhibitoria mínima (CIM) para vancomicina por macrodilución en tubo según CLSI, 2015²¹.

Electroforesis en gel de campo pulsado (EGCP)

A las cepas identificadas como *S. aureus* se les determinó su variabilidad genética mediante EGCP, utilizando la enzima de restricción *SmaI* según protocolo de Medina y cols., 2013¹⁷. Posteriormente, el agrupamiento en pulsotipos se realizó con el programa Phoretix 5.0.

Cassette estafilocócico de resistencia a meticilina (SCCmec) y gen *pvl*

Para caracterizar genéticamente las cepas de SARM se les determinó el tipo de cassette SCCmec según lo descrito por Boye y cols., 2007²² y se detectó el gen *pvl* de la leucocidina de Pantón-Valentine según Okolie y cols., 2015²⁰.

Secuenciotipo por tipificación multilocus de secuencias (MLST)

Se seleccionó una cepa por pulsotipo para el MLST, técnica que se realizó según indicaciones en <https://pubmlst.org/saureus/info/primers.shtml>. Los productos de RPC de cada gen estudiado se purificaron utilizando Illustra™ ExoProStar™ (GE, UK) y posteriormente se secuenciaron en secuenciador automático ABI PRISM 377. Se obtuvo el secuenciotipo de cada cepa usando el algoritmo disponible en <https://pubmlst.org/saureus/>.

Estadística

Se utilizó el programa STATA 15.0 (Statistical Data Analysis. Copyright 1985-2017, Stata Corp. LLC,

USA) para calcular las proporciones, el intervalo de confianza de 95% (IC_{95%}) y test Z en la comparación de proporciones.

Resultados

Portación nasal de *S. aureus*

Se detectó portación nasal de *S. aureus* en 61 de los 225 estudiantes muestreados (27,1%; IC_{95%}: 21,4-33,4%), identificándose solo dos aislados SARM (0,9%; IC_{95%}: 0,1-3,1%). Separadamente, en estudiantes de Enfermería la portación de *S. aureus* fue 21,8% (IC_{95%}: 14,5-30,7%) y en los estudiantes de Medicina de 32,2% (IC_{95%}: 23,7-41,5%), no habiendo diferencia significativa entre los resultados. La prevalencia de la portación de SARM fue la misma para ambos grupos, cercana a 0,9% (IC_{95%}: 0,02-4,9%), pues se detectó una cepa SARM en cada grupo.

Susceptibilidad antimicrobiana

Las cepas de *S. aureus* aisladas en los estudiantes mostraron 75,4% de resistencia a penicilina y baja resistencia a otros antimicrobianos como eritromicina (14,8%), clindamicina (10%), cloranfenicol (1,6%) y 3,3% para levofloxacina, oxacilina y cefoxitina. Seis cepas mostraron resistencia a clindamicina y de éstas cuatro mostraron resistencia inducible (Tabla 1). El 96,7% (IC_{95%}: 92,3-100%) de las cepas identificadas como *S. aureus* fueron sensibles a meticilina (SASM), sólo dos cepas fueron positivas para el gen *mecA*, coincidiendo con su fenotipo resistente a penicilina, cefoxitina y oxacilina por lo que se designaron como SARM (Tabla 1). Todos los aislados mostraron susceptibilidad a gentamicina, cotrimoxazol, minociclina y rifampicina. El 24,6% de los aislados fue sensible a todos los antimicrobianos probados, se obtuvieron cuatro antibiótipos de resistencia en las cepas de SASM y en los dos aislados de SARM se detectó multirresistencia a fluoroquinolonas, macrólidos, lincosamidas y cloranfenicol (una cepa). Además, en una de estas cepas la resistencia a clindamicina fue inducible, lo que se observó también en cepas de SASM (Tabla 1). Ambas cepas de SARM fueron sensibles a vancomicina con una CIM igual a 1,56 µg/mL (SA170) y 0,78 µg/mL (SA189).

Genotipificación por campo pulsado y MLST

Las cepas de SASM mostraron una gran diversidad genética por EGCP distribuyéndose en diecinueve clústeres designados como diferentes pulsotipos (PTs): 10 PTs fueron mayoritarios (I-VIII, X y XI) incluyeron uno y hasta 13 aislados con cerca de 80% de cepas de SASM y una SARM. El otro 20% de cepas de SASM se agrupó en 8 PTs, cada uno de ellos incluyó uno o dos aislados (Figura 1). De 18 aislados representativos de

Tabla 1. Distribución de los antibiótipos determinados en *S. aureus* aislados de estudiantes de Medicina y Enfermería, Campus San Felipe, Universidad de Valparaíso (n = 61)

Antibiótipo	Fenotipo de resistencia	Nº cepas (%)
0	Sensible ^a	15 (24,6%)
1	Pen	37 (60,6%)
2	Pen-Eri	3 (5%)
3	Eri-Da ^{ind}	1 (1,6%)
4	Pen-Eri-Da	3 (5%)
5 ^b	Pen-Oxa-Fox-Eri-Da ^{ind} -Lev	1 (1,6%)
6 ^c	Pen-Oxa-Fox-Eri-Da-Lev-Clo	1 (1,6%)

Pen: penicilina G; Oxa: oxacilina; Eri: eritromicina; Lev: levofloxacina; Clo: cloranfenicol; Fox: cefoxitina; Da: clindamicina; Da^{ind}: resistencia inducible a clindamicina. ^aSensible a todos los antimicrobianos probados. ^bAntibiótipo 5, corresponde a una cepa de SARM (SA189). ^cAntibiótipo 6, corresponde a una cepa de SARM (SA170).

cada pulsotipo fueron asignados 14 STs diferentes que se correspondieron con los complejos clonales (CCs): CC30, CC22, CC5, CC15, CC97, CC8, CC10 y CC1 (Tabla 2). Los secuenciotipos ST15, ST5 y 97 se repitieron en dos de los aislados seleccionados. Un aislado no se asignó a ST alguno, por presentar una combinación de alelos no descritas previamente y cinco de ellos, no se asociaron a complejo clonal alguno (Tabla 2). El PTI incluyó a 22% (13/59) de cepas SARM y todas fueron resistentes a penicilina (Pen), detectando en estas el CC30 y CC22. Otro clúster mayoritario fue PTXI con 11,8% (7/59) del total de SARM; de ellas, dos fueron sensibles a todos los antimicrobianos y las otras mostraron diferentes fenotipos de resistencia: Pen (3 cepas), Pen-Eri (2 cepas) y Pen-Eri-Da (una cepa); en este grupo se reconocieron el CC1 y el ST101. El PTX agrupó a 10% (6/59) de cepas de SARM: cuatro fueron resistentes a penicilina, una con fenotipo Pen-Eri y otra sensible a todos los antimicrobianos (resultados no se muestran) y la cepa seleccionada de este cluster fue ST8 (CC8) (Figura 1, Tabla 2). Otros PTs con menos aislados VII y VIII incluyen dos cepas del ST97 (CC97) y en los PTs restantes se reconocieron los STs: 20, 121, 12, 101 y 10, este último del CC10. En PTs menos representativos (PT7 y PT8) se detectaron el ST15 y 496, ambos del CC15 y en el PT2 el ST944 que no se asocia a complejo clonal alguno (Figura 1, Tabla 2). Las dos cepas de SARM mostraron diferentes pulsotipos, pero ambas pertenecen al CC5; de éstas, la cepa SA170 fue multiresistente (Tabla 2), presentó el cassette *SCCmec* I y fue negativa para el gen *pvl* (resultados no se muestran) y correspondió al PTVII junto a otras tres cepas de SARM (Figura 1). La otra cepa de SARM (SA189) fue la única del PTIX (Figura 1), conteniendo el cassette *SCCmec* II, positiva para *pvl* (resultados no se muestran) y mostró similar antibiograma a la otra cepa de SARM, pero fue sensible a cloranfenicol y mostró resistencia inducible a clindamicina (Tabla 2).

Discusión

Diversos trabajos coinciden en que la portación nasal de *S. aureus* y de SARM supone un importante reservorio que contribuye a su transmisión y es un factor de riesgo en las infecciones por este patógeno oportunista^{2,6,7,16}. La prevalencia de la portación nasal de *S. aureus* y de SARM en estudiantes de Enfermería y Medicina de la Facultad de Medicina en el Campus San Felipe, resultó similar a la publicada en estudios de la población general en Chile⁵ y en Europa³. Además, en estudiantes de Medicina coincidió con otro estudio nacional de tipo caso control en estudiantes de Medicina reportado hace más de 20 años¹⁴, aunque la prevalencia de SARM en este último fue significativamente mayor que la que se obtuvo en

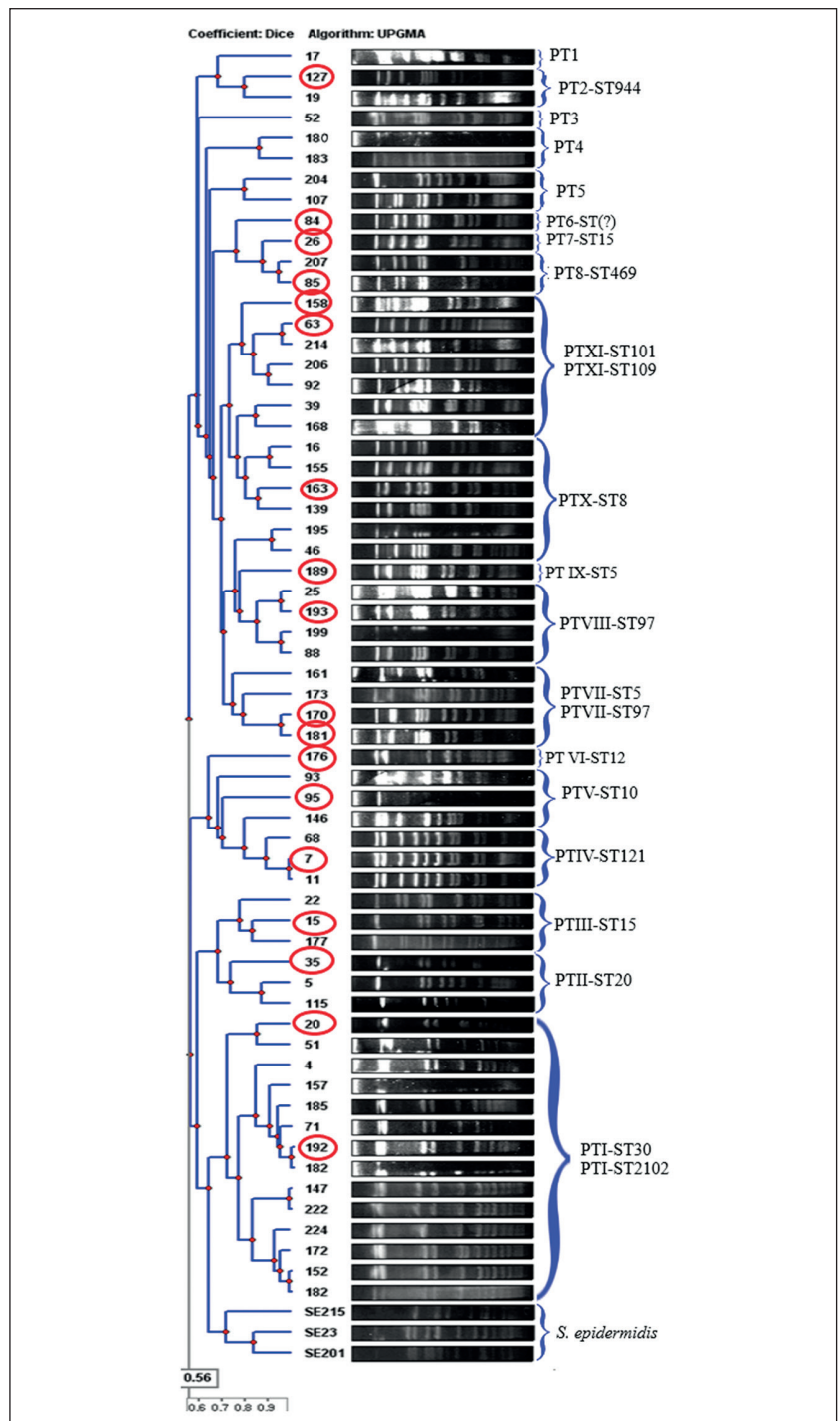


Figura 1. Dendrograma de EGCP de cepas de *S. aureus* estudiadas ($n = 61$). Muestra el agrupamiento de las cepas por pulsotipos asignados (PTs) usando un coeficiente de similitud Dice de 0,7. Se indica con el signo de llave algebraica cada pulsotipo (PT) asignado y el ST de la cepa representativa del mismo (encerradas en círculo las cepas analizadas por MLST). Los PTs más comunes que relacionan a más de dos cepas fueron asignados desde I al XI (parte central y abajo del dendrograma) y los pulsotipos minoritarios que agrupan a una o dos cepas se muestran en la parte superior del dendrograma (PT1 al PT8). Abajo en el dendrograma el clúster separado del resto de los aislados de *S. aureus* corresponde a cepas de *S. epidermidis* aisladas de los estudiantes.

Tabla 2. Características de cepas de *S. aureus* representativas de los diferentes pulsotipos. Se indican el pulsotipo en que se agrupó por EGCP, secuenciotipo (ST), complejo clonal (CC) y fenotipo de resistencia antimicrobiana (n = 18)

Cepa	Pulsotipo	ST/CC	Fenotipo de resistencia
SA192	I	ST2102/CC22	Pen
SA20	I	ST30/CC30	Pen
SA35	II	ST20	Pen
SA15	III	ST15/CC15	Sensible
SA07	IV	ST121	Pen
SA95	V	ST10/CC10	Pen intermedia ^b
SA176	VI	ST12	Pen
SA181	VII	ST97/CC97	Pen
SA170 ^c	VII	ST5/CC5	Pen-Oxa-Fox-Eri-Da ^{ind} -Lev-Clo
SA193	VIII	ST97/CC97	Pen
SA189 ^c	IX	ST5/CC5	Pen-Oxa-Fox-Eri-Da-Lev
SA163	X	ST8/CC8	Pen
SA63	XI	ST109/CC1	Pen-Eri-Da ^{ind}
SA158	XI	ST101	Pen
SA127	PT2	ST944	Pen
SA84	PT6	no descrito	Sensible
SA26	PT7	ST15/CC15	Pen-Eri-Da
SA85	PT8	ST469/CC15	Pen

Pen: penicilina G; Oxa: oxacilina; Eri: eritromicina; Lev: levofloxacina; Clo: cloranfenicol; Fox, cefoxitina; Da: clindamicina y Da^{ind}: clindamicina resistencia inducible. ^aFenotipo susceptible a todos los antimicrobianos probados. ^bFenotipo con rango intermedio de sensibilidad a penicilina. ^cCepas identificadas como SARM.

nuestro estudio y en la población general. Esta diferencia pudiera relacionarse, en parte, con el mayor consumo de antimicrobianos en el momento de la toma de muestras, pues en Chile el uso de antimicrobianos fue restringido por prescripción médica desde septiembre 1999, lo que inmediatamente tuvo como efecto una disminución del uso de éstos por autprescripción²³.

Nuestros resultados fueron comparables a los obtenidos en estudiantes de Medicina de la Clínica de la Universidad de Navarra, España, donde se analizaron cohortes de estudiantes, con y sin entrenamiento clínico²⁴ y también, a de estudiantes de Medicina de tercero y sexto año (Hospital de Cali, Colombia); sin embargo, en ese último hubo mayor prevalencia de SARM¹¹. Otras mediciones en estudiantes de Medicina muestran menor prevalencia de la portación nasal de *S. aureus* con relación a nuestros resultados, por ejemplo, en estudiantes de pre-clínica en la Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú, aunque similar prevalencia de SARM²⁵, y en estudiantes de todos los años académicos de la Universidad de las Américas (Ecuador), aunque la prevalencia de la portación de *S.*

aureus fue similar al incluir muestras faríngeas²⁶. Estos antecedentes indican que la prevalencia de la portación de *S. aureus* y SARM puede variar en grupos humanos con características similares como son los estudiantes de Medicina, según su ubicación geográfica. Así también, hay reportes de una mayor portación nasal de *S. aureus* que la determinada en nuestro estudio en estudiantes de Medicina de primer año en Hong Kong y en Tailandia en un estudio de seguimiento, aunque igual y menor, respectivamente, si se trata de SARM^{12,13}.

La portación nasal de SARM y SARM en estudiantes de Enfermería no fue significativamente diferente a la de los estudiantes de Medicina del Campus San Felipe y su prevalencia coincidió con un estudio longitudinal en estudiantes de Enfermería en Estados Unidos de América (E.U.A.)¹⁰; sin embargo, otro estudio de seguimiento por cuatro años a estudiantes de Enfermería en Portugal mostró que al momento de comenzar su formación e ingresar al estudio, la prevalencia de *S. aureus* era similar a la población general y sin portación de SARM, pero en los siguientes años se evidenció aumento, tanto en la

portación de cepas sensibles como resistentes a meticilina, detectándose portación nasal al menos una vez en 83% de los participantes en el transcurso del estudio, pudiendo diferenciar a portadores persistentes de transitorios⁷.

Investigaciones prospectivas de la incidencia de portación de SASM y SARM en estudiantes de Medicina y Enfermería indicarían que la práctica clínica es un factor de riesgo para la colonización por *S. aureus*^{7,13,27}; no obstante, algunos estudios caso-control no muestran diferencias en la prevalencia entre grupos expuestos a las rotaciones clínicas de los no expuestos^{10,11,14,24,26,28}.

Si bien, se ha establecido que un aumento de la exposición o frecuencia de visitas a un hospital es un factor de riesgo para la colonización por este patógeno^{7,13,26,27}, la portación también se asocia a factores propios del hospedero, lo que pareciera determinar el estado de portador permanente, transitorio o de no portador de *S. aureus*²⁹. También, hay evidencia que la portación de SASM y/o SARM varía según grupo étnico, edad, ocupación, sexo, y algunas condiciones como diabetes mellitus, infección por VIH, obesidad y hemodiálisis que predisponen a la colonización^{4,30-32}. Otros, reconocidos factores protectores de la colonización bacteriana evidenciados en estudiantes de Medicina y Enfermería fueron el uso de antimicrobianos, frecuencia del lavado de manos, el conocimiento y conciencia del control de enfermedades infecciosas^{10,11,13}.

Los aislados de SASM provenientes de los estudiantes del Campus San Felipe, mostraron alta susceptibilidad a la mayoría de los antimicrobianos, a excepción de penicilina. La resistencia a penicilina se atribuye a penicilinasas codificadas en plásmidos y se observa en forma habitual en cepas de *S. aureus* a lo largo del mundo, desde hace más de 60 años¹⁶. Comparativamente con nuestro estudio, cepas de SASM de estudiantes de Medicina de Ecuador mostraron mayor resistencia a penicilina, eritromicina, clindamicina, oxacilina y similarmente, mostraron total susceptibilidad a gentamicina y cotrimoxazol²⁶. Los aislados de SASM en estudiantes de Medicina de Colombia mostraron altos porcentajes de multirresistencia, identificándose también SARM con características típicas de clones hospitalarios y comunitarios¹¹. Y cepas de SASM aisladas de estudiantes en Perú mostraron resistencia a penicilina y clindamicina en porcentaje similar a nuestro estudio; no obstante, y distintamente, las cepas SARM fueron resistentes a vancomicina²⁵. En este sentido, la CIM de vancomicina de las dos cepas de SARM de nuestro estudio estuvieron en el rango de susceptible; sin embargo, antecedentes respaldarían que valores de CIM entre 1-2 µg/ml en SARM pueden contener subpoblaciones bacterianas (1 de 10⁵⁻⁶ bacterias) que se multiplican en 2 µg/ml de vancomicina generando fracaso terapéutico²¹. Cepas de *S. aureus* con susceptibilidad disminuida o hetero-resistencia (SAIVh) tendrían un mecanismo de

resistencia atribuido a la presencia de una pared bacteriana de mayor grosor impidiendo el acceso del antimicrobiano, lo que sería independiente de la presencia del gen *vanA*. Cepas de SARM con estos valores de CIM se detectan con frecuencia en los hospitales de Chile y se diferencian de las cepas con susceptibilidad intermedia –SAIV– pues éstas muestran CIMs entre 4-8 µg/ml de vancomicina^{33,34}. Sin embargo, en nuestro estudio no verificamos si realmente se trataba de una cepa SAIVh.

En Portugal, 20% de cepas de *S. aureus* aisladas de estudiantes de Enfermería mostraron resistencia conjunta a quinolonas y eritromicina⁷, a diferencia con nuestro estudio donde las cepas SASM mostraron resistencia a eritromicina, pero total susceptibilidad a quinolonas. En este aspecto, la bibliografía más reciente de la portación de SASM y SARM en estudiantes de Enfermería y de Medicina de diferentes lugares da cuenta que la resistencia antimicrobiana es variable y evoluciona independientemente según región geográfica, comunidad, institución o centros de salud; de allí la importancia de su vigilancia^{3,7,11-13,16,17}.

El análisis genotípico mostró una alta diversidad en las cepas de SASM de los estudiantes del Campus, lo que coincide con otros estudios de portación en individuos sanos^{3,4,7,11,25,32,35}. Los secuenciotipos (STs) de SASM determinados en nuestro estudio han sido descritos en portadores persistentes y transitorios de los Países Bajos (ST30, ST8 y ST20)⁵, en estudiantes de Enfermería de Portugal (ST30, ST15, ST97, ST22, ST8 y ST10)⁷ y el ST97 que fue de los más frecuentes junto al ST5 en estudiantes de Malasia³⁶. Así, las cepas de SASM de los estudiantes del Campus San Felipe pertenecen a los principales complejos clonales descritos en portadores de diferentes partes del mundo: CC30, CC15, CC5, CC22, CC97, CC8 y CC1^{16,32,35} aunque el CC5 (ST5) sólo se asoció a SARM. Debe tenerse presente que las evidencias apuntan a una portación nasal dinámica y en algunos portadores persistentes es posible aislar, al cabo de tres meses, cepas de *S. aureus* con un secuenciotipo diferente al anterior^{5,7}.

En nuestro estudio, el CC30 fue reconocido en un aislado SASM representativo del pulsotipo PTI mayoritario. Las características de este aislado coinciden con una cepa pandémica resistente a penicilina descrita en Europa y Norteamérica desde los años 50s. Cepas SASM pertenecientes al CC30 sería de los más frecuentes (> 20%), colonizando a personas sanas, con capacidad de adquirir resistencia a meticilina por lo que pueden evolucionar a SARM causando infecciones en hospitales y en la comunidad^{16,30,32,33}.

Entre los aislados de SASM de los estudiantes del Campus se detectó el CC22, el que se aísla con frecuencia en portadores y puede o no presentar resistencia a penicilina^{7,16}. Sin embargo, el CC45, otro complejo clonal frecuente en cepas de SASM de portadores en Europa,

Norteamérica y Australia^{16,32,35}, no se detectó en nuestro estudio, posiblemente, porque no se analizó por MLST a la totalidad de las cepas de SARM aisladas o bien que este complejo clonal no es tan representativo del grupo etario o de la región geográfica. Se han determinado diferentes tipos y distribución de CCs en humanos según edad, ocupación y localización geográfica^{4,32}. En China, por ejemplo, los complejos clonales de SARM más frecuentes (> 75%) en trabajadores de Guangdong fueron CC7, CC6, CC118 y CC59, los que difieren de los descritos en la población general de Europa y E.U.A. Sin embargo, el CC9 se incluye entre los más frecuentes al estudiar a trabajadores de Guangdong, esta vez, con profesiones asociadas al contacto con animales de ganadería y granjas. Actualmente, los cerdos se reconocen como un importante reservorio para este CC⁴. Aunque no está del todo claro qué determina que ciertos CCs predominen en algunos grupos humanos, hay estudios que relacionan algunos CCs con ciertos patrones de genes de virulencia incluidos en el genoma variable y elementos genéticos móviles de *S. aureus*^{32,35}. Los CC1, CC97 y CC398 se asocian a animales de ganadería y pueden adquirir resistencia a metilicina denominándose en inglés *livestock-associated methicillin-resistant S. aureus* (LA-MRSA)⁴, en nuestro estudio se detectaron CC1 y CC97 en cepas de SARM; en estos clones, los marcadores de una historia reciente de *S. aureus* en animales serían la resistencia a tetraciclina y ausencia de genes del complejo de evasión de inmunidad (CEI); contrariamente, la susceptibilidad a tetraciclina y la codificación de CEI, indicarían adaptación a largo plazo del microorganismo en humanos³⁵. Al menos todas las cepas de SARM obtenidas de los estudiantes con dichos CCs, fueron susceptibles a minociclina; sin embargo carecemos del análisis de genes de virulencia. Este tipo de análisis sería importante de abordar en futuros estudios nacionales para establecer mejor las características de virulencia y la dinámica ecológica de la transmisión de *Staphylococcus aureus*.

El estudio de las relaciones clonales de *S. aureus* obtenidos de los estudiantes de Medicina y Enfermería de San Felipe, da cuenta de cuáles son los CCs que circulan en este grupo y sería el primer trabajo publicado en Chile que analiza los complejos clonales de SARM en portadores, aunque hay estudios de linajes de SARM en cepas hospitalarias y de la comunidad^{17,33,37}.

En los estudiantes del Campus San Felipe, se aislaron dos cepas de SARM pertenecientes al CC5, que tuvieron en común presencia de penicilinasas, gen *mecA* positivas y resistencia a eritromicina, levofloxacina y clindamicina. Por otra parte, el análisis de pulsotipo, cassette y *pvl* mostró que son diferentes; la cepa SA170-SARM-ST5/CC5 codifica el cassette SCCmec I (*mec* clase B) y fue negativo para *pvl*, lo que coincide con cepas de SARM hospitalarias descritas en el sur de Chile¹⁷. Estas caracte-

rísticas y su susceptibilidad antimicrobiana coinciden con el clon chileno/cordobés, linaje predominante entre los aislados de SARM clínicos de pacientes hospitalizados en nuestro país y ampliamente diseminado en Sudamérica³⁸. La otra cepa: SA189-SARM-ST5/CC5 subtipo SCCmec II (*mec* clase A), resistente a levofloxacina, eritromicina y clindamicina, tiene características coincidentes con el clon USA100 NY/Japan (USA100); este clon es causante de infecciones invasoras asociadas con atención en salud y también en infecciones en pacientes ambulatorios, descrito en Australia, Canadá, Europa, Japón, Sudamérica, Corea del Sur, E.U.A. y también en Chile^{7,16,39}.

El clon USA100 puede estar en la microbiota nasal de individuos sanos y no relacionados a servicios de cuidados de salud y esta característica podría ser un factor determinante de clones epidémicos exitosos^{39,40}. Al mismo tiempo, la cepa aislada desde los estudiantes fue *pvl*⁺, gen infrecuente en este tipo de clon y que de ser funcional aumentaría su patogenicidad^{1,16,40}. No obstante, la presencia de *pvl* en el clon USA100 se podría explicar por la variabilidad genética descrita en cepas SARM-ST5. Estudios de polimorfismo de un nucleótido (*single nucleotide polymorphism*, SNP), indicarían que este alotipo se diseminó por eventos de inserción del cassette SCCmec en diferentes cepas de SARM provenientes de diversas regiones del mundo y no por una diseminación global de una cepa de SARM-ST5 sobre una extensa región geográfica^{7,41}. Así mismo, está la posibilidad que cepas de SARM puedan adquirir por transferencia genética horizontal los genes *pvl* a través del profago Φ SA2⁴².

Como conclusión, la prevalencia de la portación nasal de *S. aureus* en los estudiantes de Medicina y Enfermería del Campus San Felipe en el año 2017, fue similar a la población general –entre 20 a 30%– así como la baja portación de SARM.

Las cepas de SARM presentes como portación nasal en los estudiantes coinciden con complejos clonales presentes en países occidentales y que circulan en el mundo desde hace por lo menos medio siglo, fueron mayoritariamente resistentes a penicilina, pero con baja resistencia a antimicrobianos usados contra *S. aureus* como son eritromicina, clindamicina y levofloxacina, y al mismo tiempo sensibles a antimicrobianos de la familia de las sulfamidas, tetraciclinas, rifamicinas y a los β-lactámicos: oxacilina y cefoxitina.

Las dos cepas de SARM aisladas de los estudiantes coinciden con clones hospitalarios, el chileno/cordobés y el clon USA100/(NY/J), este último, también reportado en portadores no asociados a instituciones de salud.

Estos resultados, muestran la relevancia de realizar estudios locales sobre las bacterias patógenas prevalentes y su caracterización fenotípica y genotípica en grupos que están en el límite de la comunidad y ambiente hos-

pitalario y que pueden, según sus prácticas, influenciar la transmisión y epidemiología de *S. aureus*. Por ello, consideramos de importancia que los estudiantes de la salud conozcan y apliquen a cabalidad las medidas de precaución de la transmisión de agentes infecciosos en la práctica clínica.

Agradecimientos. A todos los estudiantes voluntarios que participaron en este estudio. A Dra. Ana María Julio, secretaria académica de la Escuela de Medicina y a los docentes de la Escuela de Enfermería del Campus San Felipe, Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso por favorecer la ejecución de este estudio.

Referencias bibliográficas

- Bride LL, Pereira MF, Barbosa MC, Silva NC, Klein NM, et al. Differences in resistance profiles and virulence genes among methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* of different lineages at a public tertiary hospital. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52: e20190095. doi: 10.1590/0037-8682-0095-2019.
- Benoit JB, Frank DN, Bessesen MT. Genomic evolution of *Staphylococcus aureus* isolates colonizing the nares and progressing to bacteremia. *PLoS One*. 2018; 13(5): e0195860. doi: 10.1371/journal.pone.0195860.
- den Heijer CD, van Bijnen EM, Paget WJ, Pringle M, Goossens H, Bruggeman CA, et al; APRES Study Team. Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S. aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(5):409-15. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70036-7. Epub 2013. Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(12): 1011. Flemming, Douglas.
- Ye X, Wang X, Fan Y, Peng Y, Li L, Li S, et al. Genotypic and phenotypic markers of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC9 in humans. *Appl Environ Microbiol*. 2016; 82 (13): 3892-9. doi: 10.1128/AEM.00091-16.
- Platzer ML, Aranís JC, Beltrán MC, Fonseca AX, García CP. Colonización nasal bacteriana en población sana de la ciudad de Santiago de Chile: ¿Existe portación de *Staphylococcus aureus* metilino resistente comunitario? *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*. 2010; 70 (2): 109-16. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162010000200003>.
- Goyal M, Javerliat F, Palmieri M, Mirande C, van Wamel W, Tavakol M, et al. Genomic evolution of *Staphylococcus aureus* during artificial and natural colonization of the human nose. *Front Microbiol*. 2019; 10: 1525. doi: 10.3389/fmicb.2019.01525.
- Conceição T, de Lencastre H, Aires-de-Sousa M. Carriage of *Staphylococcus aureus* among Portuguese nursing students: A longitudinal cohort study over four years of education. *PLoS One*. 2017; 12(11): e0188855. doi: 10.1371/journal.pone.0188855.
- Dulon M, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA carriage among healthcare workers in non-outbreak settings in Europe and the United States: a systematic review. *Infect Dis. (Auckl)*. 2014; 14: 363-75. doi: 10.1186/1471-2334-14-363.
- Olsen K, Sangvik M, Simonsen G, Sollid J, Sundsfjord A, Thune I, et al. Prevalence and population structure of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers in a general population. *The Tromsø Staph and Skin Study*. *Epidemiol Infect*. 2013; 141: 143-52. doi: 10.1017/S0950268812000465.
- Rohde RE, Patterson T, Covington B, Vásquez BE, Redwine G, Carranco E. *Staphylococcus*, not MRSA? A final report of carriage and conversion rates in nursing students. *Clin Lab Sci*. 2014; 27: 21-31. <http://clsjournal.ascls.org/content/ascls/27/1/21.full.pdf>.
- Collazos LF, Estupiñán G, Chavez M. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates that colonize medical students in a hospital of the city of Cali, Colombia. *Int J Microbiol* 2015; 2015: 358489. <https://doi.org/10.1155/2015/358489>.
- Ho PL, Lai E, Chow K. Carriage of methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus* by medical students in Hong Kong. *J Hosp Infect*. 2015; 91:184-5. doi: 10.1016/j.jhin.2015.06.012.
- Treesirichod A, Hantagool S, Prommalikit O. Nasal carriage and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* among medical students at the HRH Princess Maha Chakri Sirindhorn Medical Center, Thailand: A follow-up study. *J Infect Public Health*. 2014; 7: 205-9. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2013.12.003>.
- Cifuentes M, Prado V, Ojeda A. Prevalencia de portación de *Staphylococcus aureus* metilino resistente en estudiantes de medicina y población general. *Rev Chil Infectol*. 1998; 15: 161-9.
- Jernigan JA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among health care personnel in the emergency department: What does it tell us? *J Am Coll Emerg Physicians*. 2008; 52: 534-6. doi: 10.1016/j.annemergmed.2008.09.001.
- Chambers HF and DeLeo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7: 630-41. doi:10.1038/nrmicro2200.
- Medina G, Egea AL, Otth C, Otth L, Fernández H, Bocco JL, et al. Molecular epidemiology of hospital-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Southern Chile. *Eur J Clin Microbiol Dis*. 2013; 32: 1533-40. doi: 10.1007/s10096-013-1907-8.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Information Supplement M100S; 30th Edition. 2020. Wayne PA, USA.
- Montoya C, Mira OI, Álvarez AM, Cofre GI, Cohen VJ, Donoso WG, et al. Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* metilino resistente. *Rev. Chil. Pediatr*. 2009; 80(1): 48-53. <https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062009000100006>.
- Okolie CE, Wooldridge KG, Turner DPJ, Cockayne A, James R. Development of a heptaplex PCR assay for identification of *Staphylococcus aureus* and CoNS with simultaneous detection of virulence and antibiotic resistance genes. *BMC Microbiol*. 2015; 15: 1-7. doi: 10.1186/s12866-015-0490-9.
- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility test for Bacterial Grow Aerobically. Approved Standard Tenth Edition. CLSI document M07-A19 Wayne PA: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2015. https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf.
- Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Møller JA, Westh H. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCC *mec* types I-V. *Clin Microbiol Infect*. 2007; 13: 725-7. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01720.x.
- Bavestrello L, Cabello A, Casanova D. Impacto de medidas regulatorias en la tendencia de consumo comunitario de antibióticos en Chile. *Rev Med Chil*. 2002; 130(11): 1265-72. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872002001100009>.
- Carmona-Torre F, Torrellas B, Rua M, Yuste JR, Del Pozo JL. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among medical students. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17: 477-8. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30188-3.
- Domínguez-Navarrete N, Palomino-Berrios S, Posadas-Ruiz L, Vallejos-Núñez R. Prevalencia

- de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) en mucosa nasal de estudiantes de medicina. Rev Fac Med Hum. 2016; 16: 20-3. doi: <https://doi.org/10.25176/RFMH.v16.n1.329>.
- 26.- Bastidas CA, Villacrés-Granda I, Navarrete D, Monsalve M, Coral-Almeida M, Cifuentes SG. Antibiotic susceptibility profile and prevalence of *mecA* and *lukS-PV/lukF-PV* genes in *Staphylococcus aureus* isolated from nasal and pharyngeal sources of medical students in Ecuador. Infect Drug Resist. 2019; 12: 2553-60. doi: 10.2147/IDR.S219358.
- 27.- Orlin I, Rokney A, Onn A, Glikman D, Peretz A. Hospital clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* are carried by medical students even before healthcare exposure. Antimicrob Resist Infect Control 2017; 6: 15. doi: 10.1186/s13756-017-0175-2.
- 28.- Krishnamurthy V, Saha A, Renushri BV, Nagaraj ER. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage, antibiotic resistance and molecular pathogenicity among healthy individuals exposed and not exposed to hospital environment. J Clin Diagn Res. 2014; 7:DC04-8. doi: 10.7860/JCDR/2014/8409.4638.
- 29.- Nouwen JL, Ott A, Kluytmans-Vandenbergh MF, Boelens HA, Hofman A, van Belkum A, et al. Predicting the *Staphylococcus aureus* nasal carrier state: derivation and validation of a "culture rule". Clin Infect Dis. 2004; 39(6): 806-11. doi: 10.1086/423376.
- 30.- Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis. 2005; 5(12): 751-62. doi: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4.
- 31.- Gosbell IB. Epidemiology, clinical features and management of infections due to community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (cMRSA). Intern Med J. 2005 Suppl 2: S120-35. doi: 10.1111/j.1444-0903.2005.00985.x.
- 32.- Deinhardt-Emmer S, Sachse S, Geraci J, Fischer C, Kwetkat A, Dawczynski K, et al. Virulence patterns of *Staphylococcus aureus* strains from nasopharyngeal colonization. J Hosp Infect. 2018; 100(3): 309-15. doi: 10.1016/j.jhin.2017.12.011.
- 33.- Vega F, Alarcón P, Domínguez M, Bello H, Riedel G, Mella S, et al. Aislamiento de *Staphylococcus aureus* hetero-resistente a vancomicina en Hospital Clínico Regional de Concepción. Rev. Chil. Infectol. 2015; 32(5): 588-90. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600017>.
- 34.- Labarca J. Hetero-resistencia en *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a vancomicina, ¿susceptible o resistente? Rev Chil Infectol. 2015; 32(5), 497-498. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600000>.
- 35.- Holtfreter S, Grumann D, Balau V, Barwich A, Kolata J, Goehler A, et al., Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in the general population in Northeast Germany: Results of the Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-o). J Clin Microbiol. 2016; 54(11): 2774-85; doi: 10.1128/JCM.00312-16.
- 36.- Suhaili Z, Rafee P, Mat Azis N, Yeo CC, Nordin SA, Abdul Rahim AR et al. Characterization of resistance to selected antibiotics and Pantone-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* in a healthy student population at a Malaysian University. GERMS 2018; 8: 21-8. doi: 10.18683/germs.2018.1129.
- 37.- Acuña M, Benadof D, Jadue C, Hormazábal JC, Alarcón P, Contreras J, et al. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad (SARM-AC): comunicación de los primeros cuatro casos pediátricos descritos en el Hospital de Niños Roberto del Río. Rev. Chil. Infectol. 2015; 32(3): 350-6. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000400016>.
- 38.- Aguayo-Reyes A, Mario Quezada-Aguiluz M, Mella S, Riedel G, Opazo-Capurro A, et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. Rev Chil. Infectol. 2018; 35: 7-14. doi: 10.4067/s0716-10182018000100007.
- 39.- Limbago B, Fosheim GE, Schoonover V, Crane CE, Nadle J, Petit S, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in 2005 and 2006 from patients with invasive disease: a population-based analysis. J Clin Microbiol. 2009; 47: 1344-51. doi: 10.1128/JCM.02264-08.
- 40.- Roberts JC. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clone USA100; more than a nosocomial pathogen. Springerplus 2013; 2: 133. doi: 10.1186/2193-1801-2-133.
- 41.- Nübel U, Roumagnac P, Feldkamp M, Song JH, Ko KS, Huang YC, Achtman M. Frequent emergence and limited geographic dispersal of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Proc Natl Acad Sci. USA 2008; 105: 14130-35. doi: 10.1073/pnas.0804178105.
- 42.- Kaneko J, Kimura T, Narita S, Tomita T, Kamio Y. Complete nucleotide sequence and molecular characterization of the temperate staphylococcal bacteriophage ΦPVL carrying Pantone-Valentine leukocidin genes. Gene 1998; 215: 57-67. doi: 10.1016/s0378-1119(98)00278-9.