

2. Díaz R, Maraví-Poma E, Rivero A. Comparison of counter-immunoelectrophoresis with other serological tests in the diagnosis of human brucellosis. Bull World Health Organ 1976; 53: 417-424.
3. Foz A. Enfermedades producidas por gérmenes del género *Brucella*. En: Pedro Pons A, ed. Patología y Clínica Médicas. Tomo VI. Enfermedades infecciosas. Intoxicaciones. Enfermedades profesionales y por agentes físicos. Enfermedades Alérgicas. Barcelona: Editorial Salvat, 1968; 338-374.
4. Marrodan T, Nenova-Poliakova R, Rubio M, Ariza J, Clavijo E, Smits HL, et al. Evaluation of three methods to measure anti-*Brucella* IgM antibodies and interference of IgA in the interpretation of mercaptan based tests. J Med Microbiol 2001; 50: 633-666.
5. Otero J, Fuertes E, Palenque, Noriega AR. Microtiter-adapted method that facilitates the Coombs test for brucellosis. J Clin Microbiol 1982; 16: 737-738.
6. Smits HL, Basah MA, Díaz R, Marrodan T, Douglas JT, Rocha A, et al. Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute brucellosis. J Clin Microbiol. 1999; 37: 4.179-4.182.
7. Serre A, Dana M, Roux J. Nature des anticorps bloquants dans la Brucellose humaine. Path Biol 1970; 18: 367-374.

### Detección de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina mediante una prueba de aglutinación con látex

**Sr. Director.** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es un importante patógeno, fundamentalmente nosocomial, que produce infecciones graves en servicios médicos y unidades de alto riesgo de infección y que se aísla con frecuencia en muestras de sangre, orina y tracto respiratorio inferior<sup>1</sup>. Según los datos del Cuarto Estudio Nacional de *Staphylococcus* (1996), la prevalencia en Madrid y Cataluña de SARM fue del 27,7% y del 30,4% respectivamente<sup>1</sup>.

El mecanismo de resistencia de *S. aureus* a la meticilina, está determinado por el gen *mecA* que codifica la producción de la PBP2a; en estas cepas de SARM la PBP2a tiene una baja afinidad para unirse a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Esta resistencia puede ser homogénea o heterogénea, y en este último caso se observa en una de cada  $10^{5-7}$  células de una población y sólo se expresa en determinadas condiciones de temperatura, pH y osmolaridad. Algunos aislados pueden presentar resistencia homogénea a meticilina *borderline* por sobreproducción de  $\beta$ -lactamasas o de la PBP4<sup>2</sup>.

Para detectar la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*, disponemos de diferentes métodos; el de referencia es la detección de *mecA* mediante hibridación de ADN o por

reacción en cadena de la polimerasa (PCR), pero ninguna de las dos técnicas está al alcance de todos los laboratorios de microbiología debido a su alto coste y a la dificultad de realización<sup>3</sup>.

Otros métodos disponibles usados comúnmente para detectar la resistencia a la meticilina son el agar con 6  $\mu$ g/ml de oxacilina, la difusión con disco y la microdilución en caldo. Algunas modificaciones como la incubación a 30-35°C en lugar de a 37°C, la adición de NaCl al 2% al medio de cultivo y la prolongación del periodo de incubación a 24 o 48 horas en vez de las 16-18 horas habituales, facilitan la detección de la resistencia. Otros métodos rápidos automatizados de microdilución aportan resultados en varias horas (3,5-11 horas). Estos métodos pueden presentar problemas para la detección de cepas con resistencia heterogénea<sup>3</sup>.

Aparte de éstos, existe en el mercado microbiológico la posibilidad de detectar mediante una prueba de aglutinación, la existencia de la PBP2a de SARM, utilizando partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales dirigidos frente a la PBP2a. Algunos estudios han demostrado que esta prueba tiene una sensibilidad del 97% y una especificidad del 100%<sup>4</sup>.

Debido pues a los datos de prevalencia observados en nuestro medio<sup>1</sup> y a la diversidad de cuadros clínicos que este microorganismo puede generar (bacteriemia, endocarditis, infección metastásica, enfermedad mediada por toxinas [síndrome del shock tóxico, impétigo, síndrome de la piel escaldada, enterocolitis, intoxicación alimentaria])<sup>5</sup> su identificación debe realizarse de forma rápida y correcta.

Nosotros hemos realizado un estudio, utilizando esta prueba de aglutinación citada (que detecta la PBP2a de SARM), denominada comercialmente MASTALEX-MRSA. Se estudiaron 96 aislados de *Staphylococcus* spp. procedentes de sangre, catéteres y secreciones respiratorias, recogidas durante el periodo de 1999-2000. La prueba se realizó siguiendo las recomendaciones descritas por la casa comercial (MAST DIAGNOSTIC; Francisco Soria Melguizo). Para extraer la PBP2a de las colonias éstas se resuspenden en cuatro gotas de un reactivo de extracción 1 y se someten a 100°C durante 3 minutos, se deja enfriar a temperatura ambiente y a continuación se añade una gota del reactivo 2. La suspensión se centrifuga a 3.000 rpm durante 5 minutos y se mezclan 50  $\mu$ l del sobrenadante con una gota del látex sensibilizado; una

aglutinación positiva a los 3 minutos indica la presencia de la PBP2a.

Las personas encargadas de la realización de esta técnica no conocían previamente la identificación de la cepa a aglutinar.

La identificación microbiológica rutinaria de las cepas correspondientes a *S. aureus* tuvo lugar observando el crecimiento en placas de agar sangre de colonias pigmentadas amarillentas, visualizando la fermentación del medio con manitol salado, resultando positiva la prueba de la coagulasa y confirmándolo con el sistema WIDER (Francisco Soria Melguizo).

La resistencia de *S. aureus* a meticilina se determinó mediante la difusión con disco a oxacilina y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el anteriormente citado sistema automático WIDER.

De las 96 cepas estudiadas, 48 habían sido identificadas en nuestro laboratorio de forma rutinaria como *S. aureus*, 24 sensibles a oxacilina (CMI menor de 2  $\mu$ g/ml) y 24 resistentes a oxacilina (CMI mayor de 4  $\mu$ g/ml) y las otras 48 cepas restantes correspondían a *Staphylococcus* coagulasa negativa, 24 sensibles a oxacilina (CMI  $\leq$  0,25  $\mu$ g/ml) y 24 resistentes a oxacilina. No se incluyeron en el estudio cepas de *S. aureus* con resistencia *borderline*.

Los 24 SARM presentaron una aglutinación con látex claramente positiva, observándose una sensibilidad del 100%. Ningún *S. aureus* sensible a la oxacilina ni *Staphylococcus* coagulasa negativa sensible o resistente a oxacilina dio un resultado positivo con la prueba de látex, obteniendo por tanto una especificidad del 100% aunque consideramos necesario ampliar el estudio a cepas con resistencia *borderline* para verificar esta especificidad y no obtener falsos positivos.

Para nosotros ha resultado una técnica de metodología sencilla, donde se necesita escaso material (colonias del microorganismo, tubos eppendorf, baño de agua a 100°C, centrífuga a 3.000 rpm y los reactivos específicos incluidos en el kit comercial) y que aporta resultados de fácil interpretación en un tiempo máximo de 20 minutos con buena sensibilidad y especificidad. Además presenta la ventaja de poder ofrecer al clínico, datos de posible resistencia a la meticilina desde el mismo momento en que disponemos de colonias compatibles con *S. aureus* en las placas de agar sangre y por lo tanto susceptibles de ser aglutinadas con partículas de látex sensibilizadas.

Como conclusión final podemos extraer la idea de que MASTALEX

MRSA nos ofrece la posibilidad de detectar SARM en la rutina microbiológica, de una forma rápida, con muy buenos datos de sensibilidad y especificidad y sin necesitar tecnología compleja ni personal especializado debido a su procedimiento sencillo.

Carmen Pazos, Susana Hernando  
y Francisca Sanz  
Servicio de Microbiología. Hospital  
Universitario 12 de Octubre. Madrid.

## Bibliografía

1. Cercenado E, Sánchez-Carrillo C, Alcalá L, Bouza E y Grupo de Trabajo para el estudio de Estafilococos. Situación actual de la resistencia de *Staphylococcus* en España. Cuarto estudio Nacional (1996). Rev Clin Esp 1997; 197 (Supl 2): 18-24.
2. Chambers HF. Methicillin resistance in *Staphylococci*: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 781-791.
3. Van Griethuysen A, Pouw M, Van Leeuwen N, Heck M, Willense P, Buiting A, Kluytmans J. Rapid slide latex agglutination test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1999; 37: 2.789-2.792.
4. Van Leeuwen WB, Van Pelt C, Luijendijk A, Verbrugh HA, Goessens WHF. Rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by the MRSA-screen latex agglutination test. J Clin Microbiol 1999; 37: 3.029-3.030
5. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 1998; 339: 520-532.

## Infarto esplénico asociado con la presencia de inhibidor lúpico en un paciente con sida

**Sr. Director.** Los infartos del bazo pueden ser de origen embólico o trombótico. Los émbolos son habitualmente de naturaleza infecciosa y se producen durante el curso evolutivo de una endocarditis o de cuadros sépticos. Los trombos suelen ocluir las ramas de la arteria esplénica y pueden objetivarse en diversas enfermedades infecciosas; sin embargo, algunos infartos son consecutivos a trombosis de las venas esplénicas. La mayoría de los infartos tienen forma de cuña y asientan en la periferia del órgano.

Clínicamente deben sospecharse ante la existencia de dolor en el hipocondrio izquierdo acompañado de esplenomegalia y frote audible.

Presentamos un paciente con enfermedad por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)/sida que desarrolló un infarto esplénico asociado con altos títulos de inhibidor lúpico.

Un paciente de 25 años, consumidor de drogas por vía intravenosa (CDVI), con diagnóstico de sida, sin antecedentes de tratamientos antirretrovíricos previos, ingresa por presentar cuadro de fiebre, tos productiva y dolor en el hipocondrio izquierdo. El examen físico reveló un paciente con mal estado general, adelgazado, con temperatura axilar de 38,5°C, candidiasis oral, disminución de entrada de aire en base izquierda, hepatomegalia y esplenomegalia con dolor a la palpación en el cuadrante superior izquierdo del abdomen. En la analítica presentaba: hematocrito de 31,2%, glóbulos blancos 4.200 x 10<sup>6</sup>/l con 58% de neutrófilos; 4% eosinófilos; 0% basófilos; 26% linfocitos y 12% monocitos, plaquetas 101.000 x 10<sup>6</sup>/l, sin evidencias de hemólisis. Velocidad de sedimentación globular (VSG) 111 mm en la primera hora y linfocitos T CD4 < 50 cel x 10<sup>6</sup>/l. El electrocardiograma fue normal, igual que el ecocardiograma bidimensional. Un aspirado y biopsia de médula ósea reveló una médula ósea reactiva, con aumento de megacariocitos y células plasmáticas, sin visualización de microorganismos en los exámenes directos ni crecimiento en los cultivos. En los hemocultivos para microorganismos comunes creció *Staphylococcus coagulasa* negativa resistente a metilina; en el cultivo de esputo por BACTEC igual que en los hemocultivos para micobacterias creció *Mycobacterium tuberculosis*. La ecografía abdominal mostró una hepatomegalia homogénea con aumento de ecogenicidad compatible con esteatosis y/o fibrosis, vesícula biliar con litiasis de 6 mm, adenopatías isoecoicas en hilio hepático y esplenomegalia importante con imagen triangular hipoecoica en polo superior de 60 x 63 mm, con área líquida central, compatible con infarto esplénico (fig. 1) e imagen ecogénica en el interior de la rama superior de la vena esplénica, con doppler positivo de aspecto lineal, compatible con trombosis. Los estudios de hemostasia mostraron los siguientes resultados: el tiempo de Quick fue de 12", concentración de protrombina de 100% y razón internacional denominada (RIN) 0,95; el tiempo de tromboplastina parcial con kaolín (KPTT) fue prolongado, de 58", sin corrección con plasma normal; índice de Rosner positivo; la prueba de neutralización de plaquetas (PNP) mostró un KPTT prolongado que acorta con el agregado de plaquetas; tiempo de tromboplastina diluida (TTI) *index*: negativo; tiempo de veneno de víbora Russell (dRVVT) dentro de rangos normales. La determinación de proteína S total (PS) fue de 100% (en rango 1), fibrinógeno 279 mg/dl y anti-

trombina III biológica 102%. Los resultados de estas pruebas son compatibles con la presencia de inhibidor lúpico.

El paciente evolucionó de manera favorable, con buena respuesta al tratamiento antituberculoso más vancomicina a la dosis de 2 g/día por vía intravenosa.

La existencia de autoanticuerpos con especificidad por fosfolípidos cargados en forma negativa se ha descrito desde hace mucho tiempo en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) en los que se asocian con complicaciones trombóticas. Los términos anticoagulante lúpico y anticardiolipinas también se usan para describir este tipo de anticuerpos<sup>1</sup>.

A pesar de que los pacientes con infección por el VIH-1 tienen con frecuencia altos títulos de anticuerpos anticardiolipinas, el verdadero significado clínico de este hallazgo de laboratorio no es bien conocido<sup>2,3</sup>. Entre los factores de riesgo identificados para infarto esplénico se citan, entre otros: la endocarditis, las bacteriemias, el CDVI, la insuficiencia cardíaca, el LES, diversas neoplasias sólidas, los linfomas y leucemias, la sarcoidosis y las hemoglobinopatías<sup>4,5</sup>.

Nuestro paciente presentaba antecedentes de CDVI y tuvo diagnóstico confirmado de bacteriemia por *Staphylococcus coagulasa* negativo resistente a metilina con hemocultivos positivos y tuberculosis (TBC) diseminada con hemocultivos y cultivo de esputo positivos para *M. tuberculosis*, con sensibilidad conservada a los fármacos antituberculosos. El ecocardiograma no mostró evidencias de endocarditis con leve dilatación del ventrículo izquierdo.

La presencia de un infarto esplénico en un paciente joven debe hacer

**Figura 1.** Ecografía abdominal: importante esplenomegalia con diámetro longitudinal de 175 mm, con imagen triangular hipoecoica en polo superior, de aproximadamente 60 x 63 mm con área líquida central, compatible con infarto esplénico y trombosis de la rama superior de la vena esplénica.