



<https://doi.org/10.24245/aorl.v66i4.7011>

Comparación de los patrones de resistencia y factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos

Comparison between resistance patterns and virulence factors in *Staphylococcus aureus* isolates from chronic rhinosinusitis with nasal polyposis patients and healthy subjects.

Juan Carlos Hernaiz-Leonardo,¹ Ivan Hermann Schobert-Capetillo,¹ Marcos Alejandro Jiménez-Chobillon,³ Rafael Franco-Cendejas²

Resumen

OBJETIVO: Comparar la prevalencia de colonización nasal, patrón de susceptibilidad a antibióticos y factores de virulencia de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio transversal en el que de junio de 2018 a mayo de 2019 se aislaron cepas de *S. aureus* del meato medio para determinar sus patrones de susceptibilidad antibiótica, expresión de leucocidina de Panton-Valentine (PVL) y producción de biopelículas en pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos en dos hospitales de referencia otorrinolaringológica.

RESULTADOS: Se incluyeron 54 pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y 40 sujetos sanos. La prevalencia de colonización nasal fue similar en ambos grupos (12/54 pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal vs 8/40 sujetos sanos, $p = 0.52$). No se aislaron cepas resistentes a oxacilina. La resistencia a macrólidos fue alta (un paciente con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal vs 5 sujetos sanos, $p = 0.2$), así como la resistencia inducida a clindamicina (20%, $n = 1$ rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal vs 50%, $n = 4$ sujetos sanos). Ninguna de las cepas aisladas expresó PVL. La producción de biopelículas se encontró en todas las cepas, fue ligeramente mayor en el grupo de rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, sin ser significativo.

CONCLUSIONES: La colonización nasal por *Staphylococcus aureus* fue similar en ambos grupos. La prevalencia de resistencia inducida a clindamicina es alta, lo que puede llevar a fallas terapéuticas si no se busca de manera intencionada.

PALABRAS CLAVE: *Staphylococcus aureus*; macrólido; clindamicina; biopelícula; antibiótico.

Abstract

OBJECTIVE: To compare the prevalence of nasal colonization, antibiotic susceptibility patterns, and virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from chronic rhinosinusitis with nasal polyposis patients and healthy subjects.

¹ Subdirección de Otorrinolaringología.

² Departamento de Infectología.

Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, Ciudad de México.

³ Departamento de Otorrinolaringología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Ciudad de México.

Recibido: 28 de octubre 2021

Aceptado: 9 de noviembre 2021

Correspondencia

Juan Carlos Hernaiz Leonardo
hernaij.c@gmail.com

Este artículo debe citarse como:

Hernaiz-Leonardo JC, Schobert-Capetillo IH, Jiménez-Chobillon MA, Franco-Cendejas R. Comparación de los patrones de resistencia y factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos. An Orl Mex. 2021; 66 (4): 296-308.



MATERIALS AND METHODS: A cross-sectional study was done from June 2018 to May 2019 in which *S. aureus* strains were isolated from the middle meatus of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis patients and healthy subjects to determine antibiotic susceptibility patterns, Panton-Valentine leukocidin expression (PVL), and biofilm production in two reference centers.

RESULTS: Nasal colonization prevalence was similar for both groups (12/54 chronic rhinosinusitis with nasal polyposis patients vs 8/40 healthy subjects, $p = 0.52$). No oxacillin resistant strains were isolated. Macrolide resistance was high (one patient with chronic rhinosinusitis with nasosinusal poliposis vs 5 healthy subjects, $p = 0.2$) as well as induced clindamycin resistance (20, $n = 1$ chronic rhinosinusitis with nasal polyposis patients vs 50%, $n = 4$ healthy subjects). None of the strains expressed PVL. Biofilm production was slightly higher in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis patients, without reaching statistical significance.

CONCLUSIONS: *S. aureus* nasal colonization was similar for both groups. Macrolide and induced clindamycin resistance were high overall, which could lead to therapeutic failure if not properly identified.

KEYWORDS: *Staphylococcus aureus*; Macrolide; Clindamycin; Biofilm; Antibiotic.

ANTECEDENTES

La rinosisinitis crónica con poliposis nasosinusal es una enfermedad con fisiopatología compleja y cuyo tratamiento es complicado. Existen múltiples teorías que buscan explicar su aparición, entre las que destacan la teoría de los superantígenos,^{1,2} la teoría de las biopelículas^{3,4,5} y las alteraciones en la microbiota nasosinusal.^{6,7} En todos los casos *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) parece tener un papel importante facilitando un estado de inflamación persistente. En una revisión sistemática con metanálisis publicada en 2014 la colonización por *S. aureus*, la existencia de IgE específicas para exotoxinas bacterianas y la detección de exotoxinas derivadas de *S. aureus* fueron factores de riesgo independientes asociados con rinosisinitis crónica con poliposis nasosinusal.⁸

En los últimos años, las cepas de *S. aureus* resistentes a oxacilina (MRSA) han incrementado

en frecuencia. La colonización por MRSA en pacientes con rinosisinitis crónica varía entre 4.4 y 20.7% según la serie. Igualmente, la frecuencia de MRSA en los aislamientos de *S. aureus* obtenidos de pacientes externos con rinosisinitis crónica varía de 4.6 a 73.8%.⁹ En casos en los que se determina que MRSA es responsable de los síntomas del paciente, se ha optado por prescribir tratamientos combinados con antibióticos tópicos y sistémicos, aunque no existe un consenso al respecto.^{9,10,11}

A pesar del tratamiento adecuado, muchos pacientes persisten con síntomas asociados con rinosisinitis crónica, incluso después de cirugía. En un estudio prospectivo por Drilling y su grupo¹² efectuado en pacientes con rinosisinitis crónica con exacerbaciones recurrentes, el 79% de los casos tenían la misma clona de *S. aureus* como agente causal, incluso después de tratamientos antibióticos dirigidos. Lo anterior sugiere una colonización persistente facilitada

probablemente por la formación de biopelículas. Un estudio subsecuente por el mismo grupo demostró que la existencia de biopelículas de manera pre y posoperatoria estaba asociada con peores resultados en calidad de vida, síntomas nasales, apariencia endoscópica y aspecto tomográfico en pacientes con rinosinusitis crónica.¹³

Asociado con el incremento en MRSA, la expresión de toxinas como la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) ha incrementado en los últimos años. Se ha reportado que hasta el 36% de las cepas de *S. aureus* aisladas en la comunidad pueden expresar PVL.¹⁴ Esta toxina particularmente se ha asociado con casos graves de rinosinusitis aguda etmoidal.¹⁵ A pesar de que no juega un papel importante en la rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, desconocemos la prevalencia actual de *S. aureus* productor de PVL en pacientes con esta enfermedad.

Definición del problema

La rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal es una enfermedad prevalente que genera gastos importantes a nivel poblacional. En el Instituto Nacional de Rehabilitación contamos con el material y personal suficiente para tratar esta enfermedad. Pocos estudios en el país han estudiado los factores de virulencia en cepas de *S. aureus*. Este conocimiento permitirá guiar la terapia y mejorar la calidad de atención a los pacientes.

Justificación

En nuestro país no existen estudios que describan la prevalencia de MRSA y factores de virulencia de *S. aureus* derivado de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal. Es necesario contar con esta información ya que nos ayudará a mejorar el tratamiento de estos pacientes, particularmente en los casos resistentes.

Hipótesis

La colonización por *S. aureus* es mayor en pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal. Las cepas aisladas de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal mostrarán mayor resistencia a antibióticos, tendrán mayor expresión de PVL y mayor producción de biopelículas en comparación con sujetos sanos.

El objetivo de este trabajo tiene como propósito describir la prevalencia de colonización nasal, patrones de resistencia antibiótica, expresión de PVL y capacidad de producción de biopelículas en cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio transversal que incluyó a todos los pacientes adultos con diagnóstico de rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal que acudieron a valoración al servicio de Otorrinolaringología del Instituto Nacional de Rehabilitación o a la Clínica de Intolerancia a la Aspirina, Poliposis Nasosinusal y Asma (Clínica IAPA) del INER de junio de 2018 a mayo de 2019. Se excluyeron los sujetos menores de 18 años, los pacientes que recibieron tratamiento antibiótico o esteroides sistémicos en los últimos dos meses, pacientes con diagnóstico de rinosinusitis crónica de otro tipo (no polipósica, fúngica alérgica, odontogena, etc.) y pacientes con agudizaciones al momento de su evaluación. Se reclutaron sujetos sanos pareados por edad y sexo de las salas de espera de ambas instituciones como grupo de comparación. Previo a su inclusión se descartó enfermedad otorrinolaringológica mediante una evaluación clínica. Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se obtuvo la aprobación correspondiente por parte del comité de investigación y ética institucional previo al inicio del protocolo.



Los síntomas se valoraron mediante SNOT-22 en su versión en español.¹⁶ En los casos de rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, la severidad de la enfermedad se cuantificó de manera endoscópica utilizando la escala de Lund-Kennedy y de manera tomográfica según la escala de Lund-Mackay.

Para la toma de muestras microbiológicas, se utilizó un hisopo para cultivo con medio de transporte estéril, que fue introducido suavemente en la dirección del meato medio bajo visión endoscópica. En los casos en los que los pólipos no permitieron visualizar el meato medio, se realizó un hisopado del pólipo en su aspecto lateral. Una vez introducido el hisopo, se realizó un barrido durante 5 segundos del meato medio. Posteriormente, se retiró el hisopo evitando contactar con el vestíbulo nasal para disminuir la probabilidad de contaminación. Dichos hisopos se transportaron en las siguientes 2 horas al laboratorio de Infectología para su procesamiento.

Todos los cultivos fueron sembrados en agar sangre. Las cepas que morfológicamente eran compatibles con *S. aureus* se corroboraron mediante un ensayo de aglutinación con látex (Pastorex Staph-Plus, Bio-Rad). Una vez identificadas, las cepas se guardaron a -70°C hasta su procesamiento.

La susceptibilidad a antibióticos de uso común se realizó mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), utilizando agar sangre y discos de ceftioxitina (FOX, 30 µg), eritromicina (E, 15 µg) y clindamicina (CC, 2 µg) de acuerdo con lo establecido por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). A las cepas que mostraron susceptibilidad a clindamicina y resistencia a eritromicina se les realizó la prueba "D" mediante la colocación de discos de ambos antibióticos con una distancia de 20 mm para detectar posible resistencia inducible a clindamicina.

Para valorar resistencia a oxacilina, se utilizó la concentración inhibitoria mínima (CIM) para dicho antibiótico. Los valores mayores de 4 µg/mL se consideraron resistencia, de acuerdo con lo establecido por la CLSI (CLSI M100-S27). Se planeó determinar la expresión de genes *mecA* y *mecC* en las cepas resistentes a oxacilina; sin embargo, no fue necesario, ya que todas las cepas aisladas fueron sensibles.

Para la determinación de PVL se realizó una amplificación de los genes *lukF-PV* *lukS-PV*. A manera de resumen, se aisló el ADN bacteriano utilizando una técnica estándar y se utilizó el ADN aislado para la amplificación de PVL utilizando primers para *lukF-PV* *lukS-PV*. Los productos de la PCR se analizaron en un gel de agarosa al 1%. Se utilizó la cepa de *S. aureus* Rosenbach (ATCC® BAA-1680™) como control positivo para el gen *pvl*, mientras que la cepa de *S. aureus* Rosenbach (ATCC® 29213™) sirvió como control negativo para el experimento.

La formación de biopelícula se valoró en una placa de cultivo de 96 pozos (Nunc, Rochester, NY) basado en el método reportado por Christensen y su grupo.¹⁷ Las bacterias se cultivaron en pozos individuales en la placa a 37°C en agar TSB (Becton Dickinson). Después de 24 horas de crecimiento, las placas se lavaron extensamente, se dejaron secar por 30 minutos a 55°C y se tiñeron con cristal violeta al 0.5% (w/v). Se obtuvo la $A_{492\text{ nm}}$ de las células teñidas y adheridas a la placa utilizando un Multiskan Ex Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific, Lenexa, KS). Según lo reportado con Christensen y su grupo, los valores de $A_{492\text{ nm}} < 0.12$ se catalogaron como no adherente o negativo para biopelículas, mientras que valores de la $A_{492\text{ nm}} > 0.12$ se catalogaron como productores de biopelículas. Los experimentos se realizaron por duplicado y se tomó el valor promedio entre ambos ensayos.

Se obtuvieron estadísticos descriptivos para todas las variables. Las variables categóricas se compararon utilizando una prueba exacta de Fisher, mientras que las variables continuas se compararon utilizando una U de Mann-Whitney. El análisis se realizó utilizando STATA v. 13.

RESULTADOS

Se valoraron 54 pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal (40 de la clínica IAPA del INER y 14 del INR) de los cuales se incluyeron 22 en el estudio (14 de la clínica IAPA del INER, 8 del INR). Se reclutaron 40 sujetos sanos pareados por edad y sexo de las diferentes salas de espera del INR como grupo control. Se realizaron 66 cultivos de meato medio de los que se aisló *S. aureus* en 13 de ellos (**Figura 1**). La prevalencia de colonización nasal fue de 22% (n = 5) en el grupo de rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal en comparación con 20% (n = 8) de los sujetos controles, sin encontrar diferencias significativas (Fisher $p = 0.52$).

El **Cuadro 1** muestra las características demográficas de los pacientes reclutados, el **Cuadro 2** resume las características clínicas de los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y el **Cuadro 3** muestra las características de los pacientes con cultivos positivos para *S. aureus*.

No se observaron diferencias significativas en las características demográficas entre los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y los sujetos sanos, lo que confirma un adecuado pareamiento. De la misma manera, se observó que los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal tuvieron puntajes mayores en SNOT-22 de manera global y en las preguntas enfocadas en síntomas nasales, lo que es esperable. **Cuadro 1**

En el grupo de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, 44/54 pacientes tenían rinitis alérgica, 42/54 tenían diagnóstico de asma concomitante y 39/54 intolerancia a los AINEs; 38/54 pacientes recibían algún tipo de tratamiento tópico previo y 34/54 habían sido operados previamente. **Cuadro 2**

Se compararon los puntajes de síntomas y calidad de vida medida por SNOT-22 en pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos dependiendo de la colonización por *S. aureus* sin encontrar diferencias significativas. De igual manera, no hubo diferencias significativas en los puntajes endoscópicos y tomográficos de los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal dependiendo de la colonización por *S. aureus*. **Cuadro 3**

Ninguna cepa fue resistente a oxacilina, lo que se corroboró posteriormente por método de Kirby-Bauer utilizando discos de cefoxitina (FOX, 30 µg). Se encontró resistencia a eritromicina en 5 (62%) de las cepas aisladas en sujetos sanos en comparación con 1 (20%) de las cepas aisladas de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, sin que esta diferencia fuera significativa (Fisher $p = 0.26$). Ninguna cepa fue resistente a clindamicina de manera basal; sin embargo, 4 (50%) cepas en pacientes controles mostraron resistencia inducida a clindamicina mediante una prueba D positiva en comparación con 1 (20%) cepa proveniente de un sujeto con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, sin que la diferencia fuera significativa (Fisher $p = 0.56$). Ninguna de las cepas aisladas expresó pvl. **Cuadro 4**

Todas las cepas estudiadas fueron productoras de biopelículas; sin embargo, la producción entre ellas fue heterogénea (**Figura 2**). La media de absorbancia para los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal fue de 0.42

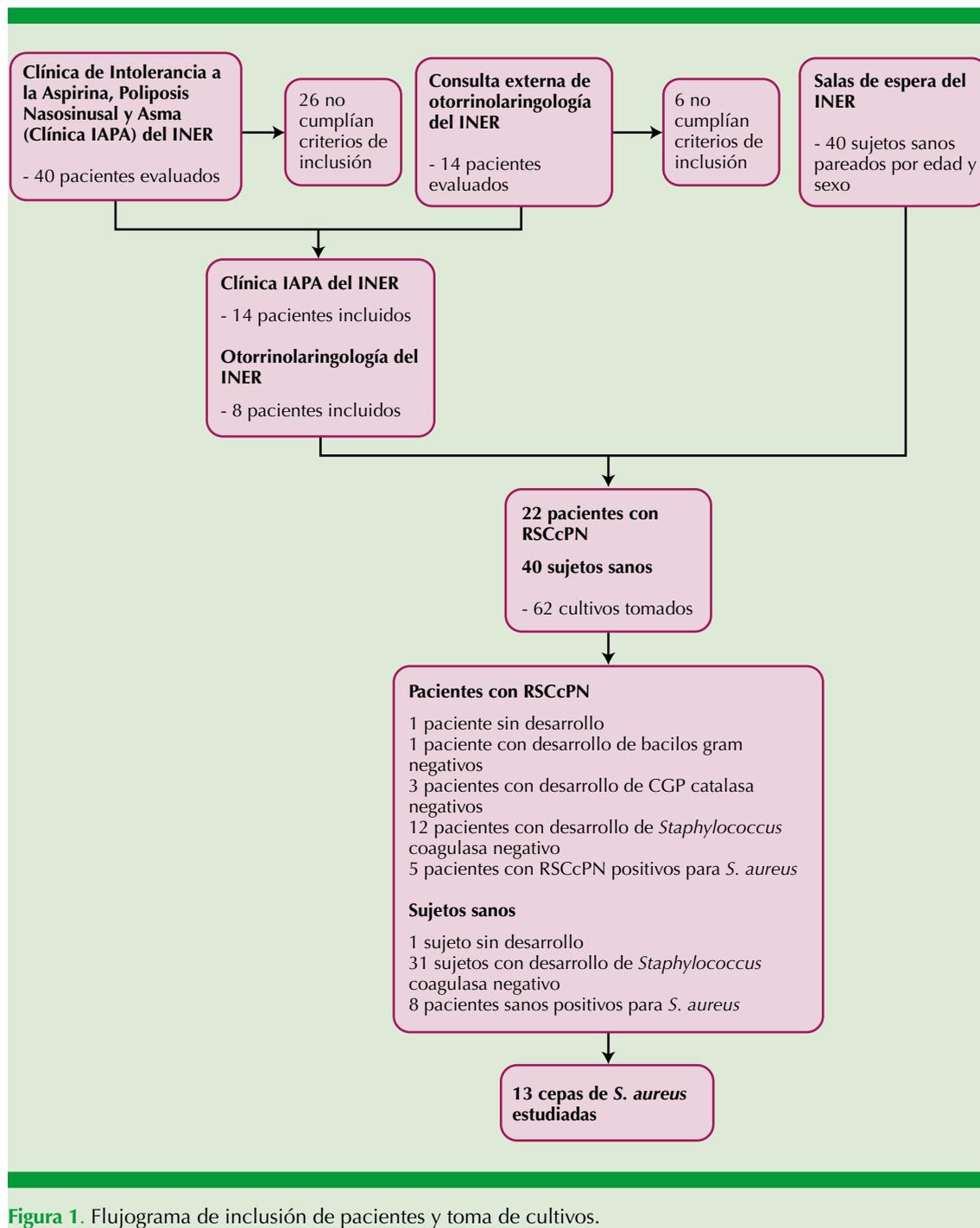


Figura 1. Flujograma de inclusión de pacientes y toma de cultivos.

± 0.16 en comparación con sujetos sanos 0.30 ± 0.18 , sin encontrar diferencias significativas

(U de Mann-Whitney $p = 0.14$). Una vez que se categorizaron los valores de absorbancia,

Cuadro 1. Datos demográficos de ambos grupos

	Rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal (n = 54)	Sujetos sanos (n = 40)	p
Edad, mediana (mín-máx)	50 (28-70)	50 (31-75)	0.90
Sexo femenino, núm.	13	23	0.90
Colonización por <i>S. aureus</i> , núm.	5	8	0.52
SNOT-22, mediana (mín-máx)	34 (4-97)	12 (0-53)	0.001
SNOT nasal, mediana (mín-máx)	17 (2-43)	3.5 (0-24)	0.000018

Cuadro 2. Datos demográficos de los sujetos con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal (n = 54)

Historia clínica	Núm.
Comorbilidades	2
Alergias	3
Rinitis alérgica	18
Asma	17
Intolerancia a AINEs	16
Exposición a humo de leña	
Exposición a tabaco	2
Tratamientos previos	
Esteroides tópicos	17
Otros medicamentos tópicos	2
Lavados nasales	17
Cirugías previas	14
Evaluación clínica	Mediana
Lund-Kennedy inicial	8.5
Lund-Kennedy final	9.5
Lund-Mackay (tomografía)	17

3/5 cepas de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal fueron altamente productoras de biopelículas, mientras que las 2 restantes fueron medianamente productoras. Los sujetos sanos, en comparación, tuvieron 2/8 cepas altamente productoras, mientras que el resto fueron medianamente productoras y con baja producción. No se observaron diferencias en la producción de biopelículas entre los grupos. **Cuadro 5**

Cuadro 3. SNOT-22 según la existencia de *S. aureus*

	<i>S. aureus</i>		p
	Positivo	Negativo	
RSCcPN	Mediana (mín-máx)	Mediana (mín-máx)	
SNOT-22	40 (16-70)	32 (4-97)	0.61
SNOT-22 nasal	18 (11-25)	14 (2-43)	0.83
Lund-Mackay (tomografía)	14 (12-21)	17 (8-19)	0.92
Lund-Kennedy (endoscopia)	10 (5-12)	6 (0-12)	0.38
Control	Mediana (mín-máx)	Mediana (mín-máx)	p
SNOT-22	14 (3-49)	12 (0-53)	0.73
SNOT-22 nasal	6 (0-24)	3 (0-24)	0.17

DISCUSIÓN

La prevalencia de colonización por *S. aureus* fue similar en ambos grupos estudiados (22% en rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal vs 20% en sujetos sanos). Esta prevalencia está dentro del límite superior de los rangos reportados en la bibliografía; sin embargo, llama la atención que no se encontraron cepas resistentes a oxacilina. Esto difiere de manera significativa de lo reportado en la bibliografía estadounidense, donde la resistencia a oxacilina puede llegar a ser hasta del 73% de las cepas aisladas.⁹ En nuestro país, los patrones de susceptibilidad muestran diferencias notorias con los reportados en la bibliografía internacional. En un estudio reali-

**Cuadro 4.** Patrón de resistencia a antibióticos y expresión de PVL de las cepas aisladas

Estado	Cepa	PVL	Oxa	S	FOX	S	Eritro	S	Clinda	S	Prueba D
Sujeto sano 1	S2858	-	0.25	S	26	S	25	S	23	S	-
Sujeto sano 2	S2618	-	1	S	27	S	25	S	23	S	-
Sujeto sano 3	S2859	-	1.5	S	26	S	6	R	22	S	-
Sujeto sano 4	S2865	-	1.5	S	26	S	9	R	23	S	Positivo
Sujeto sano 5	S2912	-	1.5	S	28	S	9	R	23	S	Positivo
Sujeto sano 6	S2908	-	1.5	S	27	S	6	R	22	S	Positivo
Sujeto sano 7	S2887	-	1.5	S	27	S	24	S	23	S	-
Sujeto sano 8	S2869	-	0.75	S	27	S	6	R	23	S	Positivo
RSCcPN 1	S2505	-	0.38	S	25	S	26	S	22	S	-
RSCcPN 2	S2771	-	0.5	S	26	S	27	S	26	S	-
RSCcPN 3	S2786	-	1	S	26	S	6	R	22	S	Positivo
RSCcPN 4	S2829	-	1	S	27	S	25	S	23	S	-
RSCcPN 5	S2818	-	0.5	S	27	S	25	S	23	S	-

La resistencia a oxacilina se evaluó mediante CIM en µg/mL y posteriormente se corroboró con discos de cefoxitina (FOX, 30 µg). Los valores en las columnas de FOX, Eritro y Clinda representan los diámetros de los halos de inhibición en mm obtenidos en el ensayo. Los valores de CIM y halos de inhibición para determinar resistencia antibiótica se establecieron según los parámetros del CLSI.

RSCcPN: rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal; Oxa: oxacilina; FOX: cefoxitina; Eritro: eritromicina; Clinda: clindamicina; S: sensible; R: resistente.

zado en el Instituto Nacional de Cancerología, se analizaron los patrones de susceptibilidad a antibióticos en infecciones de herida quirúrgica en pacientes oncológicos durante 7 años.¹⁸ Los autores reportan que las enterobacterias fueron el principal grupo aislado, encontrando una prevalencia estable en las cepas de *S. aureus* resistente a oxacilina. Específicamente en cirugías de cabeza y cuello, cerca del 30% de los aislamientos correspondieron a *Staphylococcus aureus*, con la minoría mostrando resistencia a oxacilina. Lo anterior pudiera sugerir que la composición de la biota nasosinusal en pacientes mexicanos difiere de manera significativa de la de países industrializados.

Existen múltiples estudios que apoyan el papel de *S. aureus* en la fisiopatología de la rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal, principalmente al estimular una respuesta Th2

y al producir toxinas que actúan como superantígenos.^{2,3,8,19,20,21} Por el contrario, nuestros resultados no mostraron diferencias significativas en la prevalencia o factores de virulencia entre pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y sujetos sanos. Aunque la explicación más probable de nuestros resultados sea un bajo número de cepas aisladas, es posible que *Staphylococcus aureus* sea un factor que exacerba la enfermedad sin que sea necesario para su desarrollo o progresión. Recientemente se demostró que la alteración más importante en la composición del microbioma nasosinusal en la rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal es la disminución en los índices de diversidad microbiológica, sin que *S. aureus* sea la especie predominante.⁷ De la misma manera, la pérdida de bacterias “protectoras”, como *Corynebacterium* spp o *Staphylococcus epidermidis*, puede ser un desencadenante para la aparición de ri-

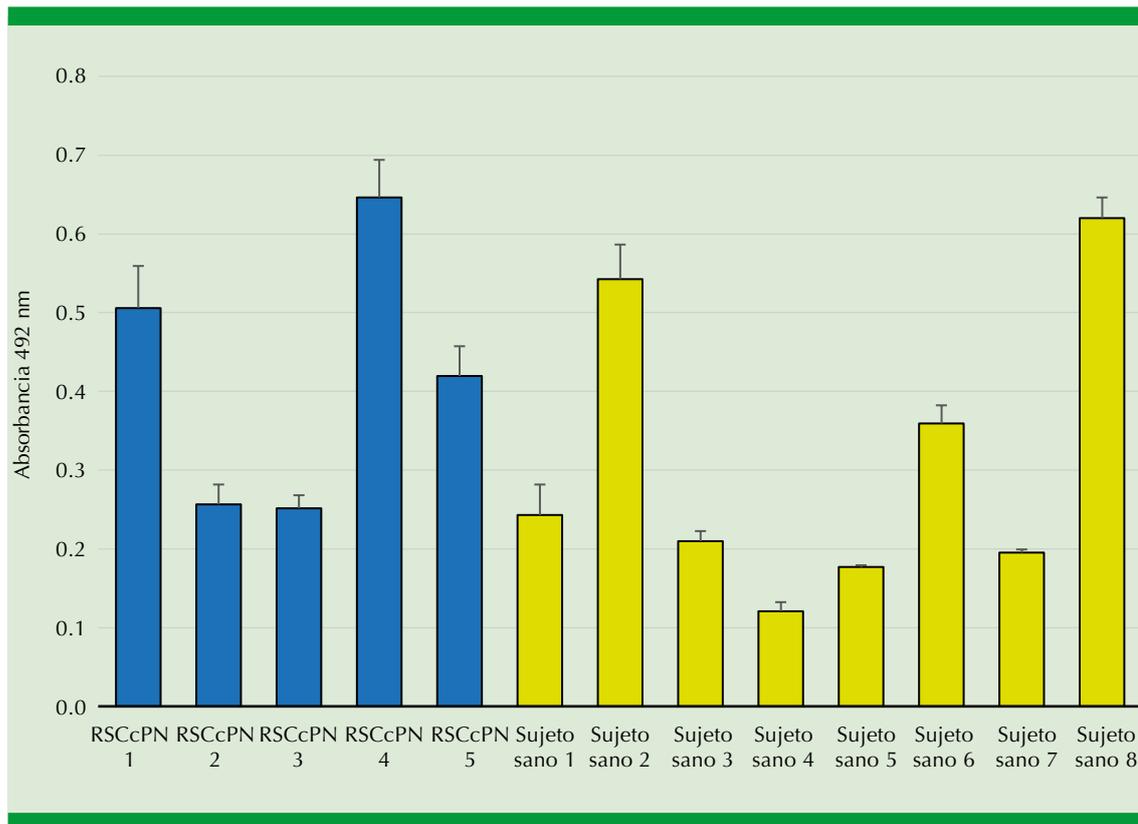


Figura 2. Producción de biopelículas por cepa aislada. Cada barra representa el promedio de dos experimentos independientes. Todos los aislamientos de *S. aureus* fueron productores de biopelículas; sin embargo, la producción de biopelículas no fue homogénea entre ellos. Las cepas RSCcPN 1, RSCcPN 4, RSCcPN 5, Sujeto sano 2 y Sujeto sano 8 fueron cepas altamente productoras de biopelículas, RSCcPN 2, RSCcPN 3, Sujeto sano 1, Sujeto sano 3 y Sujeto sano 6 medianamente productoras y Sujeto sano 4, Sujeto sano 5 y Sujeto sano 7 fueron los que menos biopelículas produjeron.

Cuadro 5. Producción de biopelículas categorizada según el grupo

	Alta producción	Mediana producción	Baja producción
Rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal (n = 5)	3	2	0
Sujetos sanos (n = 8)	2	3	3

Los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal tuvieron mayor porcentaje de cepas altamente productoras de biopelículas en comparación con los sujetos sanos; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre ellos (Fisher p = 0.3).

nosinusitis crónica.²² Es importante destacar que, en los casos de rinosinusitis crónica resistente, *S. aureus* juega un papel muy importante.

Dentro de los perfiles de resistencia obtenidos, el grado de resistencia inducida a clindamicina fue del 20% en pacientes con rinosinusitis crónica



con poliposis nasosinusal y del 50% en sujetos sanos. La resistencia a clindamicina puede ser constitutiva o inducida, siendo esta última mediada por el gen *erm* al modificar el sitio de unión del antibiótico (fenotipo MLS_B inducido).²³ Es importante reconocer este mecanismo ya que puede resultar en tratamientos fallidos. La clindamicina comúnmente se prescribe en rinosinusitis crónica, sobre todo cuando existe alergia a los beta-lactámicos, lo que hace imperativo que el clínico busque de manera intencionada este tipo de resistencias. Los resultados de este trabajo resaltan la importancia de la obtención de cultivos y perfiles de susceptibilidad en la medida de lo posible en el tratamiento de la rinosinusitis crónica.

La resistencia a eritromicina se encontró en el 62% de las cepas obtenidas en sujetos sanos y el 20% de los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal. Los macrólidos son comúnmente prescritos en el tratamiento de la rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal principalmente por su efecto antiinflamatorio. La administración de claritromicina 500 mg c/24 horas durante ocho semanas disminuye las concentraciones de proteína catiónica eosinofílica e IL-6 en pacientes alérgicos y disminuye el tamaño de los pólipos nasales;²⁴ sin embargo, la evidencia disponible de la administración de antibióticos sistémicos es baja, por lo que no puede recomendarse de manera general.²⁵ La administración indiscriminada de estos medicamentos por su efecto antiinflamatorio puede seleccionar cepas resistentes en pacientes con rinosinusitis crónica, por lo que la terapia con dosis bajas de macrólidos debe evaluarse de manera individual en cada paciente.

A pesar de que estudios previos han reportado prevalencias hasta del 30% de *S. aureus pvl*+,¹⁴ ninguna de las cepas estudiadas resultó positiva. Esto puede deberse a múltiples razones, la más probable es un bajo tamaño de muestra.

Independientemente de esta limitante, es poco probable que la PVL tenga un papel importante en la fisiopatología de la rinosinusitis crónica, ya sea como superantígeno o por su efecto directo en el sistema inmunitario debido a la baja probabilidad de ocurrencia en nuestro medio. Su papel como factor de virulencia en casos de rinosinusitis complicada continúa siendo una interrogante. En Estados Unidos, los aislamientos de la clona USA-300 de *S. aureus* han aumentado en frecuencia. Esta clona se caracteriza por mostrar con mayor frecuencia *pvl*+. A pesar de su importancia en infecciones de tejidos blandos, no se ha demostrado que las clonas USA-300 conlleven peor pronóstico en pacientes con rinosinusitis.²⁶ En este estudio, no se caracterizó el tipo de clona de *S. aureus*; sin embargo, es poco probable que contemos con un porcentaje elevado de USA-300 por la nula expresión del gen *pvl*.

Las biopelículas se han estudiado ampliamente. Su presencia es un predictor independiente de falla quirúrgica.¹³ De igual manera, la existencia de biopelículas en las que *S. aureus* está implicado se asocia con peores puntuaciones clínicas en comparación con biopelículas en las que predomina *Haemophilus influenzae*.²⁷ En nuestro estudio destaca que todas las cepas estudiadas fueron productoras de biopelículas, aunque de manera heterogénea. A pesar de no encontrar diferencias significativas, los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal tuvieron mayores niveles de absorbancia en comparación con los sujetos sanos (rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal 0.42 ± 0.16 vs sujetos sanos 0.30 ± 0.18 , U de Mann-Whitney $p = 0.14$). Igualmente, los resultados categorizados mostraron que las cepas de pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal tenían producciones medianas a altas, mientras que las cepas de sujetos sanos mostraban todo tipo de producción, encontrándose el valor más bajo en este grupo.

A pesar de encontrar producción *in vitro* de biopelículas, su presencia no puede corroborarse debido a que no se utilizaron métodos directos para su detección (visualización microscópica e hibridación *in situ*). Por lo anterior, no puede asegurarse al 100% la existencia de biopelículas en los senos paranasales de sujetos sanos o con rinosinusitis crónica. De la misma manera, no podemos asegurar que predomine *S. aureus* sobre las otras especies. A pesar de esta limitante, hay que recordar que todas las cepas aisladas fueron productoras en alguna medida. Este hecho nos debe alertar como clínicos, ya que el 20% de las personas en nuestra comunidad están colonizadas por *S. aureus* potencialmente productor de biopelículas.

Nuestros resultados sugieren que el tratamiento dirigido para erradicar *S. aureus* en pacientes con rinosinusitis crónica debería estar acompañado de terapias tópicas dirigidas a la destrucción de las biopelículas, como los lavados con champú de bebé, miel de manuka o mupirocina.^{10,28} Es probable que, en pacientes seleccionados, la erradicación de *S. aureus* junto con terapias destructoras de biopelículas de manera prequirúrgica pudiera asociarse con mejores resultados posoperatorios. Desgraciadamente, su detección continúa siendo un problema fuera del ambiente de investigación, por lo que el clínico debe guiarse únicamente por el resultado de los cultivos.

Entre los objetivos secundarios se buscó comparar los puntajes de SNOT-22, Lund-Kennedy y Lund-Mackay dependiendo de la colonización por *S. aureus*. Ninguna de las características clínicas, endoscópicas o tomográficas mostró diferencias significativas, independientemente del grupo de estudio. Estos resultados se alejan de lo esperado previo al inicio del estudio y sugieren que la colonización por *S. aureus* no representa un factor que modifique los síntomas de manera basal. Como se mencionó, esto cambia en los casos agudos o resistentes, en donde

el tratamiento dirigido alivia significativamente los síntomas.²⁹

Este estudio tiene múltiples limitantes, la primera y probablemente la más importante es el número de cepas aisladas. Las técnicas de cultivo convencional no reflejan el ecosistema bacteriano real y están sujetas a múltiples falsos negativos, por lo que nuestros resultados pudieran no reflejar la frecuencia real de cepas resistentes y factores de virulencia. A pesar de esto, el hecho de no haber encontrado MRSA en pacientes externos nos hace pensar que la prevalencia en nuestro medio es mucho menor a la reportada en el resto del mundo. Por lo mismo, debemos ser juiciosos en la administración de medicamentos tópicos y sistémicos con el fin de no generar resistencia en la comunidad.

Una posible limitante es el sitio de toma de las muestras para cultivo en sujetos sanos. Las bacterias encontradas en el corredor respiratorio no necesariamente representan la biota de los senos paranasales. A pesar de esto, consideramos que es una limitante menor, ya que todas las muestras se obtuvieron del meato medio y que la contaminación vestibular fue despreciable. Debido a que la presión de selección de cepas resistentes por administración de antibióticos sistémicos es homogénea para toda la nariz y los senos paranasales, consideramos poco probable que existan cepas resistentes dentro de los senos paranasales que no hayan sido detectadas por este método.

CONCLUSIONES

La prevalencia de colonización por *Staphylococcus aureus* no mostró diferencias entre los pacientes con rinosinusitis crónica con poliposis nasosinusal y los sujetos sanos, siendo cercana al 20%. No se aislaron MRSA en el estudio, lo que sugiere que la prevalencia en la comunidad es baja. La resistencia intrínseca a macrólidos e



inducida a clindamicina es alta en cepas de la comunidad independientemente del diagnóstico y no hubo cepas productoras de PVL. La producción de biopelículas se encontró en todas las cepas aisladas, siendo ligeramente mayor en pacientes con rinosisinitis crónica con poliposis nasosinusal, sin ser significativa.

Conocer la prevalencia de colonización por *Staphylococcus aureus* en nuestra comunidad, sus patrones de susceptibilidad y capacidad para producir biopelículas ayudarán a dirigir el tratamiento pre y posquirúrgico de los pacientes con rinosisinitis crónica con poliposis nasosinusal. Estudios posteriores deberán enfocarse en la caracterización completa de la biota nasosinusal para mejorar el entendimiento de la fisiopatología de esta enfermedad.

REFERENCIAS

- Weidinger S, Mempel M, Ollert M, Elser I, Rakoski J, Köhn FM, et al. Anaphylaxis to mizolastine. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114 (4): 979-81. doi: 10.1016/j.jaci.2004.06.056.
- Bernstein JM, Allen C, Rich G, Dryja D, Bina P, Reiser R, et al. Further observations on the role of *Staphylococcus aureus* exotoxins and IgE in the pathogenesis of nasal polyposis. *Laryngoscope* 2011; 121 (3): 647-55. doi: 10.1002/lary.21400.
- Lam K, Schleimer R, Kern RC. The etiology and pathogenesis of chronic rhinosinusitis: a review of current hypotheses. *Curr Allergy Asthma Rep* 2015; 15 (7). doi: 10.1007/s11882-015-0540-2.
- Hekiart AM, Kofonow JM, Doghramji L, Kennedy DW, Chiu AG, Palmer JN, et al. Biofilms correlate with TH1 inflammation in the sinonasal tissue of patients with chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 141 (4): 448-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.otohns.2009.06.090>.
- Brook I. Microbiology of chronic rhinosinusitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35 (7): 1059-68. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-016-2640-x>.
- Gan W, Yang F, Tang Y, Zhou D, Qing D, Hu J, et al. The difference in nasal bacterial microbiome diversity between chronic rhinosinusitis patients with polyps and a control population. *Int Forum Allergy Rhinol* 2019; 9 (6): 582-92. doi: 10.1002/alr.22297.
- Rom D, Bassiouni A, Eykman E, Liu Z, Paramasivan S, Alvarado R, et al. The association between disease severity and microbiome in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2019; 129 (6): 1265-73. doi: 10.1002/lary.27726.
- Ou J, Wang J, Xu Y, Tao Z zhang, Kong Y gang, Chen S ming, et al. *Staphylococcus aureus* superantigens are associated with chronic rhinosinusitis with nasal polyps: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2014; 271 (10): 2729-36. doi: 10.1007/s00405-014-2955-0.
- McCoul ED, Jourdy DN, Schaberg MR, Anand VK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sinusitis in non-hospitalized patients: a systematic review of prevalence and treatment outcomes. *Laryngoscope* 2012; 122 (10): 2125-31. doi: 10.1002/lary.23435.
- Solares CA, Batra PS, Hall GS, Citardi MJ. Treatment of chronic rhinosinusitis exacerbations due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with mupirocin irrigations. *Am J Otolaryngol* 2006; 27 (3): 161-5. doi: 10.1016/j.amjoto.2005.09.006.
- Manarey CR, Anand VK, Huang C. Incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2004; 114 (5): 939-41. doi: 10.1097/00005537-200405000-00029.
- Drilling A, Coombs GW, Tan H leen, Pearson JC, Boase S, Psaltis A, et al. Cousins, siblings, or copies: The genomics of recurrent *Staphylococcus aureus* infections in chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2014; 4 (12): 953-60. doi: 10.1002/alr.21423.
- Singhal D, Psaltis AJ, Foreman A, Wormald PJ. The impact of biofilms on outcomes after endoscopic sinus surgery. *Am J Rhinol Allergy* 2010; 24 (3): 169-74. doi: 10.2500/ajra.2010.24.3462.
- Brown ML, O'Hara FP, Close NM, Mera RM, Miller LA, Suaya JA, et al. Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in the United States. *J Clin Microbiol* 2012; 50 (1): 86-90. doi: 10.1128/JCM.05564-11.
- Foster CE, Yarotsky E, Mason EO, Kaplan SL, Hulten KG. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from children with periorbital or orbital cellulitis. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2018; 7 (3): 205-9. doi: 10.1093/jpids/pix036.
- De los Santos G, Reyes P, del Castillo R, Fragola C, Royuela A. Cross-cultural adaptation and validation of the sino-nasal outcome test (SNOT-22) for Spanish-speaking patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2014; 272 (11): 3335-40. doi: 10.1007/s00405-014-3437-0.
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985; 22 (6): 1-11.
- Hernaiz-Leonardo JC, Golzarri MF, Cornejo-Juárez P, Volkow P, Velázquez C, Ostrosky-Frid M, et al. Microbiology of surgical site infections in patients with cancer: A 7-year review. *Am J Infect Control* 2017; 45 (7): 761-766. doi: 10.1016/j.ajic.2017.02.023.
- Wang M, Shi P, Chen B, Zhang H, Jian J, Chen X, et al. The role of superantigens in chronic rhinosinusitis with nasal

- polyps. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spe.* 2008; 70 (2): 97-103. doi: 10.1159/000114532.
20. Seiberling KA, Conley DB, Tripathi A, Grammer LC, Shuh L, Haines GK, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis: Detection of staphylococcal exotoxins in nasal polyps. *Laryngoscope* 2005; 115 (9): 1580-5. doi: 10.1097/01.mlg.0000168111.11802.9c.
 21. Matsui K, Nishikawa A. Peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* induces T(H)2 immune response in mice. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2012; 22 (2): 80-6.
 22. Iwase T, Uehara Y, Shinji H, Tajima A, Seo H, Takada K, et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010; 465 (7296): 346-9. <https://doi.org/10.1038/nature09074>.
 23. Appalaraju B, Jayakumar S. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *J Commun Dis* 2010; 42 (4): 263-8.
 24. Perić A, Vojvodić D, Matković-Jožin S. Effect of long-term, low-dose clarithromycin on T helper 2 cytokines, eosinophilic cationic protein and the "regulated on activation, normal T cell expressed and secreted" chemokine in the nasal secretions of patients with nasal polyposis. *J Laryngol Otol* 2012; 126 (5): 495-502. doi: 10.1017/S0022215112000485.
 25. Head K, Chong L, Piroomchai P, Hopkins C, Philpott C, Schilder A, et al. Systemic and topical antibiotics for chronic rhinosinusitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; (4). doi: 10.1002/14651858.CD011994.pub2.
 26. Whitby CR, Kaplan SL, Jr EOM, Carrillo-marquez M, Lamberth LB, Hammerman WA, et al. *Staphylococcus aureus* sinus infections in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011; 75: 118-21. doi: 10.1016/j.ijporl.2010.10.021.
 27. Foreman A, Hons B, Wormald P. Different biofilms, different disease? A clinical outcomes study. *Laryngoscope* 2010; 120: 1701-6.
 28. Zhao YC, Wormald PJ. Biofilm and osteitis in refractory chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Clin NA* 2017; 50 (1): 49-60. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2016.08.005>.
 29. Jiang ZY, Kou Y-F, Batra PS. Endoscopic culture-directed antibiotic therapy: Impact on patient symptoms in chronic rhinosinusitis. *Am J Otolaryngol* 2015; 36 (5): 642-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjoto.2015.04.009>.