

## Especializaciones

# Investigación de agentes etiológicos de mediastinitis posquirúrgica cardiovascular en un hospital escuela de adultos

**Autores:** Boumerá Magalí<sup>1</sup>; Cristóbal Sabrina<sup>2,3</sup>; Mendosa María Alejandra<sup>2,3</sup>; Baroni María Rosa<sup>2</sup>; Segovia Glenda<sup>2</sup>; Morera Graciana<sup>3</sup>; Insaurralde Soledad<sup>3</sup>; Mollerach Analía<sup>3</sup>; Ramos Claudia<sup>3</sup>; Nardín María Elena<sup>3</sup>; Manías Valeria<sup>3</sup>; Méndez Emilce de los A.<sup>2</sup>; Nagel Alicia<sup>3</sup>.

- Alumna de la carrera de Especialización en Bacteriología Clínica – FBCB- UNL
- Cátedra de Bacteriología Clínica – Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas – UNL- Santa Fe.
- Sección Microbiología, Laboratorio Central, Hospital J.M. Cullen- Santa Fe.

## RESUMEN

La mediastinitis posquirúrgica es una complicación importante que ocurre en 1 a 2 % de las cirugías cardiovasculares (CCV) y posee una alta morbi-mortalidad.

Los objetivos del presente trabajo fueron: investigar la etiología bacteriana de las mediastinitis posteriores a CCV, analizar las características fenotípicas y genotípicas del agente etiológico prevalente y establecer la relación clonal entre los distintos aislamientos de este último.

Durante el periodo 2013-2016 se registraron 36 casos de mediastinitis en pacientes adultos, 2 de los cuales fueron diagnosticados con criterios clínicos y el resto con documentación microbiológica. De las 34 mediastinitis confirmadas microbiológicamente; 29 resultaron monomicrobianas y 5 polimicrobianas. Se analizaron las monomicrobianas, resultando *Staphylococcus aureus* el agente etiológico prevalente.

A 30 pacientes se les realizó además extracción de sangre para cultivo; se obtuvo desarrollo en 13 (43%) hemocultivos y en 10 de éstos (77%) el aislamiento coincidió con el de muestras esterales.

Los aislamientos de *Sau* estudiados fueron en su mayoría meticilino sensible (SAMS) y sólo uno de ellos fue positivo para leucocidina de Pantón-Valentine (LPV).

Los tipos *spa* hallados fueron diferentes para cada una de las cepas.

En nuestro hospital, el agente etiológico prevalente de mediastinitis posteriores a CCV fue SAMS, hubo baja portación del gen *pvl* y gran diversidad genómica de los aislamientos estudiados durante el periodo de cuatro años.

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus*; mediastinitis posquirúrgica; cirugía cardiovascular; leucocidina de Pantón-Valentine; gen *spa*

**Título corto:** Mediastinitis postcirugía cardiovascular

#### EN INGLES:

#### Investigation of etiologic agents in postoperative mediastinitis in an adult school hospital

#### ABSTRACT

Postoperative mediastinitis is a serious complication in 1 to 2% cardiac surgeries (CS) associated with high morbidity and mortality

The aims of this study were to investigate the bacterial etiology of postoperative mediastinitis after CS, to analyze pheno and genotypical characteristics of the prevalent etiologic agent and to determine clonal relationship between different isolates of this agent.

Thirty-six cases of mediastinitis were registered in adult patients with CS during the 2013-2016 period. Two of them were diagnosed by clinical criteria and the rest had also microbiological documentation; 29 were monomicrobial and 5 polymicrobial. The prevalence was analyzed in the first ones, with *Staphylococcus aureus* (Sau) as the prevalent etiologic agent.

Blood samples were taken for culture in 30 patients, 13 of them were positive with 10 isolates identical to their corresponding strains in sternal samples.

In regard to Sau characteristics, most of the strains were susceptible to methicillin and only one of them was positive for Pantón-Valentine leucocidin (PVL). *Spa*-typing was performed and no matching was found.

We concluded that in our hospital the prevalent etiologic agent was methicillin-sensitive Sau, the carriage rate of PVL was low and there was high genomic diversity between the isolates causing mediastinitis during the analyzed period

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus*, post-operative mediastinitis, cardiac surgery, Pantón-Valentine leucocidin, *spa* gen

## **Título corto:** Post-operative mediastinitis

### **Introducción**

La mediastinitis posquirúrgica es una complicación importante que ocurre en 1 a 2 % de las cirugías cardiovasculares (CCV) y posee una alta morbi-mortalidad (1) (2).

El espacio mediastinal es la región que, dentro del tórax, se encuentra entre los sacos pleurales y se extiende desde el diafragma hasta su abertura superior. El esternón y los cartílagos costales forman el límite anterior y los 12 cuerpos vertebrales limitan al mediastino en su parte posterior. Se divide de forma arbitraria en sectores superior, posterior, anterior y medio.

Una de las causas más frecuentes de mediastinitis es la posquirúrgica.

Según el CDC (Centers for Disease Control and Prevention), la mediastinitis se define como la entidad que cumple con algunos de los siguientes criterios:

- Cultivo bacteriano positivo del espacio mediastínico
- Evidencia de mediastinitis durante el examen anatómico o histopatológico
- Uno o más de los siguientes signos y síntomas:
  - Fiebre (>38 °C)
  - Dolor torácico
  - Inestabilidad esternal
  - Drenaje purulento del área mediastínica
  - Ensanchamiento mediastínico (3)

Los agentes etiológicos más frecuentes son *Staphylococcus aureus* (Sau) y *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) (1) (4).

El Sau es uno de los microorganismos patógenos más importantes debido a sus numerosos factores de virulencia y a su elevada capacidad de generar resistencia a los antimicrobianos.

La resistencia a la meticilina es un hallazgo frecuente y representa un problema de salud pública. La resistencia a la meticilina se debe a la incorporación de un elemento móvil de DNA llamado staphylococcal chromosomal cassette *mec* (SCC*mec*). Esta estructura contiene entre otros al gen *mecA*, el cual codifica una proteína con afinidad disminuida a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos denominada PBP2a (5).

Dentro de los factores de virulencia, uno de los más importantes es la leucocidina de Pantón-Valentine (LPV), codificada por dos genes *lukS-PV* y *lukF-PV*. Este factor es una citotoxina que se une a los fosfolípidos de la membrana de los leucocitos y macrófagos induciendo la formación de poros y apertura de los canales de calcio; en consecuencia se produce liberación de calcio y de especies de oxígeno reactivo (EOR o ROS), lo que deriva en apoptosis y necrosis (5) (6) (7).

Otro factor de virulencia importante es la proteína A, codificada por el gen *spa*. Es una proteína presente en la pared celular de las cepas de *Sau*. Se une selectivamente a la región Fc de la IgG humana, dificultando la opsonización y la fagocitosis del microorganismo.

La proteína A protege a la bacteria de los mecanismos de defensa del huésped y está codificada en el gen *spa*. La secuenciación de un fragmento polimórfico de dicho gen (región X) resultó ser un eficiente marcador para la tipificación de cepas y presenta buena correlación con las metodologías de referencia MLST y PFGE (8) (9).

Los dos factores de virulencia antes mencionados pueden estar presente tanto en aislamientos *Staphylococcus aureus* meticilino sensible (SAMS) como en meticilino resistente (SAMR).

Los objetivos del presente trabajo fueron:

- a- Investigar la etiología bacteriana de las mediastinitis posteriores a CCV
- b- Analizar características fenotípicas y genotípicas del agente etiológico prevalente
- c- Establecer la relación clonal entre los distintos aislamientos de este último

### **Materiales y métodos**

Durante el periodo 2013-2016 se registraron 36 casos de mediastinitis en pacientes adultos sometidos a CCV en el Hospital José María Cullen de la ciudad de Santa Fe; 2 de los cuales fueron diagnosticados con criterios clínicos y el resto con documentación microbiológica.

De estos últimos, a 30 pacientes se les realizó además extracción de sangre para cultivo.

Las muestras procesadas para estudio bacteriológico fueron obtenidas por punción aspiración de material purulento mediastínico, hueso esternal y sangre.

Las muestras de partes blandas y hueso se sembraron en agar suplementado con 5% de sangre carnero (Biomérieux), agar chocolate enriquecido (Biomérieux), CLDE (cistina lactosa deficiente de electrolitos), caldo tioglicolato y se incubaron a 35-37°C durante 48-72h las placas y hasta 5 días el caldo.

Los frascos de hemocultivo se incubaron en sistema automatizado BACTEC 9120 (BD) y los que resultaron positivos se repicaron en placas de agar chocolate enriquecido y se incubaron a 35-37°C con 5% de CO<sub>2</sub> durante 24-48h.

La identificación fenotípica y las pruebas de sensibilidad de los microorganismos recuperados se realizaron mediante método convencional y automatizado Phoenix 100 (BD) en el Hospital J.M Cullen. Todos los aislamientos fueron conservados en leche a -60°C.

De las 34 infecciones que tuvieron documentación microbiológica se estudió la prevalencia de las mediastinitis monomicrobianas. Todos los aislamientos del

microorganismo prevalente se derivaron a la Cátedra de Bacteriología de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL) para el estudio genotípico. En este último se investigó la presencia del factor de virulencia LPV y se tipificó el gen *spa*.

La extracción de ADN bacteriano se realizó mediante la técnica de *boiling* con agua calidad PCR. Como control de extracción, a cada cepa se le realizó la detección de 16S-rRNA mediante PCR simple según Greisen et al (1994) (10).

Se determinó la portación de los genes *lukS/F-PV* que codifican a la LPV (11) y se amplificó el gen *spa* (12). Luego de purificar los productos de amplificación se cuantificaron por espectrofotometría y se enviaron a secuenciar a la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología – CICVyA correspondiente al INTA Hurlingham, provincia de Bs. As., Argentina. Una vez remitidos los resultados, se trabajó sobre los cromatogramas y secuencias enviadas. La serie de repeticiones arrojadas se cargaron en la página <http://spa.ridom.de/spatypes.shtml> obteniendo el tipo de *spa* de cada aislamiento.

### Resultados

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.

De las 34 mediastinitis confirmadas microbiológicamente; 29 resultaron monomicrobianas y 5 polimicrobianas.

Respecto a las mediastinitis monomicrobianas, el agente prevalente fue *Sau* recuperándose en 8 casos de 29 (27,6 %), seguido por *S. epidermidis* y *Corynebacterium minutissimum*.

De los 30 hemocultivos, se obtuvo desarrollo en 13 (43%); en 10 de estos (77%) el aislamiento coincidió en género y especie con el de muestras esternales. Todos los hemocultivos fueron monomicrobianos.

Del total de *Sau*, 7 fueron SAMS y 1 meticilino resistente.

En cuanto al estudio de LPV, solo uno de ellos fue positivo (SAMS).

Los tipos *spa* hallados fueron diferentes para cada una de las cepas resultando: t701, t304, t238 (PVL +), t189, t084, t021 y t010 (SAMR), uno de ellos no pudo ser tipificado.

TABLA 1: BACTERIAS RECUPERADAS DE CULTIVOS DE MUESTRAS ESTERNAL Y SANGRE DEL TOTAL DE PACIENTES CON MEDIASTINITIS POST-CCV

PACIENTE	MUESTRA ESTERNAL	HEMOCULTIVO
1	SAMS <sup>1</sup>	ND <sup>8</sup>
2	SAMS	SAMS
3	SAMS	ND

4	SAMS	SAMS
5	SAMS	SAMS
6	SAMS	SAMS
7	SAMR <sup>2</sup>	<i>Escherichia coli</i>
8	SAMS	SAMS
9	<i>S.</i> <sup>3</sup> <i>epidermidis</i>	ND
10	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
11	<i>S. epidermidis</i>	ND
12	<i>S. epidermidis</i>	ND
13	<i>C.</i> <sup>4</sup> <i>minutissimun</i>	ND
14	<i>C. minutissimun</i>	SAMS
15	<i>C. minutissimun</i>	NR <sup>9</sup>
16	<i>C. minutissimun</i>	ND
17	Kpn <sup>5</sup> BLEE <sup>6</sup>	ND
18	Kpn BLEE	ND
19	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
20	<i>Enterococcus faecalis</i>	ND
21	<i>S. haemolyticus</i>	ND
22	<i>S. warneri</i>	SAMS
23	<i>S. hominis</i>	ND
24	<i>S. xyloso</i>	ND
25	<i>Enterobacter aerogenes</i>	ND
26	<i>Enterobacter cloacae</i> BLEE	<i>Enterobacter cloacae</i> BLEE
27	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
28	<i>Proteus mirabilis</i>	NR
29	<i>Streptococcus grupo mitis</i>	ND
30	SAMR + Kpn BLEE	SAMR
31	SAMS + Kpn BLEE	NR
32	<i>S. warneri</i> + <i>S.</i>	ND



	<i>capitis</i>	
33	<i>C. xerosis</i> + <i>S. hominis</i>	NR
34	<i>S. epidermidis</i> + <i>C. amycolatum</i>	ND
35	SDM <sup>7</sup>	
36	SDM	

- 1: *Staphylococcus aureus* meticilino sensible
- 2: *Staphylococcus aureus* meticilino resistente
- 3: *Staphylococcus*
- 4: *Corynebacterium*
- 5: *Klebsiella pneumoniae*
- 6: Cepa productora de Beta Lactamasa de Espectro Extendido
- 7: Sin documentación microbiológica
- 8: No hubo desarrollo
- 9: Hemocultivo no realizado

### Discusión

A pesar de la optimización de las técnicas quirúrgicas y la profilaxis antibiótica, la incidencia de la mediastinitis postquirúrgica oscila entre 1 y 5% (13). Si bien no son frecuentes, se asocian a una alta mortalidad y a una importante morbilidad (14).

Se obtuvo alta recuperación bacteriológica a partir de material de esternotomía, siendo la mayoría monomicrobiana.

El presente trabajo se focalizó en el análisis de los agentes etiológicos de las mediastinitis posquirúrgicas monomicrobianas.

De los datos recopilados se observó que el principal agente etiológico fue *Sau* lo que concuerda con Vallina et al quienes comunican que la causa más frecuente de mediastinitis es la post-esternotomía derivada de la cirugía cardíaca siendo el microorganismo responsable *Sau* (4).

Respecto a la meticilino resistencia encontrada, se coincide con Mekontso-Dessap et al quienes reportan sobre un total de 41 casos, 26 causados por SAMS. (15)

En cuanto a la producción de LPV, se encontró solo una cepa positiva, la cual correspondió a SAMS. Si bien el número estudiado es bajo, nuestro hallazgo concuerda con lo comunicado por Tomatis et al respecto a la baja presencia de LPV en aislamientos del mismo hospital (9).

Estos últimos autores expresan que encontraron gran diversidad genómica lo que coincide con nuestros hallazgos, pero se difiere en el intervalo de tiempo ya que ellos estudian los

aislamientos recolectados en cuatro meses y en este trabajo se analizaron *Sau* productores de mediastinitis durante cuatro años.

El tipo *spa* del único SAMR resultó t010 que no coincide con Tomatis et al quienes no encuentran este tipo e informan que el prevalente es t019, no hallado en el presente trabajo.

Se coincide con este grupo respecto a algunos tipos *spa* de SAMS tales como t701, t304, t021y t189, siendo este último el más frecuente reportado por estos autores (9).

Contrariamente, se encontraron otros *spa* t238 y t084, destacando que el t238 fue el portador de LPV.

Con respecto a los microorganismos aislados de hemocultivo, en 10 de 13 (77%) también se recuperó el mismo género y especie que en el cultivo de muestras esternas. Estos datos son similares a los reportados por Clara et al quienes informan que, un 87% de los microorganismos aislados de hemocultivo también estuvieron presentes en material esternal (16).

En nuestro hospital, el agente etiológico prevalente de mediastinitis posteriores a CCV fue SAMS, hubo baja portación del gen *pvl* y gran diversidad genómica de los aislamientos estudiados durante un periodo de cuatro años. En este trabajo se destaca la importancia de conocer los agentes etiológicos, determinar su susceptibilidad a los antimicrobianos e investigar sus factores de virulencia para optimizar el control y tratamiento de las infecciones post cirugía cardiovascular.

### Bibliografía

1- González R, Raffo M, Vera M, Alarcón E, Saldías R, Gyhra A, Stockins A, Seguel E, Gutiérrez G. Mediastinitis postquirúrgica en cirugía cardíaca. Revista Chilena de Cirugía. (2005). **57**,3: 203-208.

San Juan R, Chaves F, López Gude MJ, Carmen Díaz P, Otero J, Cortina Romero J, Rupilanchas J, Aguado J..*Staphylococcus aureus* poststernotomy mediastinitis: Description of two distinct acquisition pathways with different potential preventive approaches. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. (2007) 670-676

CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections. 2015. Disponible en:

<https://definedterm.com/a/definition/165992>.

2- Martínez Vallinaa P, Espinosa Jiménez D, Hernández Pérez L, Triviño Ramírez A. Mediastinitis. Arch Bronconeumol. (2011).**47**, 8: 32-36.



Liu J, Chen D, Peters BM, Li L, Li B, Xu Z, Shirliff ME.. Staphylococcal chromosomal cassettes mec (SCCmec): A mobile genetic element in methicillin - resistant Staphylococcus aureus. MicrobPathog. (2016).101: 56-67.

Nagel A, Mollerach A, Giusti A, Ochoteco C, Méndez E, Mendosa M. et al Staphylococcus aureus meticilino resistente adquirido en comunidad: Detección de Leucocidina de Pantón-Valentine y su relación con el sitio de aislamiento en pacientes de la ciudad de Santa Fé-Argentina. Rev Panam Infectol. (2011).13, 2: 8-11. Disponible en: <http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/125/10> [HYPERLINK "http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/125/109"](http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/125/109)

Alfonso González M, Pérez Elías Y. 2017. Elementos de interés clínico en la microbiología molecular de Staphylococcus aureus. Revista cubana de medicina militar. (2017) Volumen 46,4. Disponible en: [www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/68/117](http://www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/68/117)

Hallin M, Friedrich A, Struelens MJ. Spa typing for epidemiological surveillance of Staphylococcus aureus. Methods Mol Biol. (2009).551:189-202.

Tomatis C, et al. Tipos de spa no reportados en nuestro país en Staphylococcus aureus de pacientes adultos de un hospital escuela, Santa Fe, Argentina. Revista argentina de microbiología. (2018) doi: 10.1016/j.ram.2017.09.001

Gresien K, Loeffelholz M, Purohit A & Leong D.. PCR primers and probes for the 16S rRNA gene of most species of pathogenic bacteria, including bacteria found in cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol. (1994).32, 2: 335-351.

Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Meter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Pantón-Valentine leukocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. (1999).29: 1128-1132.

Harmsen D, Claus H, Witte W, Rothgänger J, Claus H, Turnwald D, Vogel U. Typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. J Clin Microbiol. (2003).41; 12: 5442-8.

Careaga Reyna G, Aguirre Baca G, Medina Concebida L, Borrayo Sánchez G, Prado Villegas G, Argüero Sánchez R. Factores de riesgo para mediastinitis y dehiscencia esternal después de cirugía cardíaca. Rev Esp Cardiol. (2006).59 (2):130-5. DOI: 10.1157/13084640

12- Meszaros K, Fuehrer U, Grogg S, Sodeck G, Czerny M, Marschall J, Carrel T. Risk Factors for Sternal Wound Infection After Open Heart Operations Vary According to Type of Operation. *Ann Thorac Surg.* (2016).**101**:1418–25.

13- Mekontso-Dessap A, Kirsch M, Brun-Buisson C. et al. Poststernotomy mediastinitis due to *Staphylococcus aureus*: comparison of methicillin-resistant and methicillin-susceptible cases. *Clin Infect Dis.* (2001).**32**:877.

14- Clara L, Stern L, Barcan L, Marchetti M, Grecco G. Mediastinitis post-quirúrgica: Estudio caso - control. *Rev. Chil. de Infectol.* (2002). **19**, 1: 37-38.  
<https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182002000100006>