

# Colonización por *Staphylococcus aureus* en una población de pacientes VIH positivos de la ciudad de Medellín: perfil de sensibilidad antimicrobiana y caracterización de la resistencia a la meticilina

Luz Astrid Velásquez<sup>1</sup>, Diana Marcela Sanchez<sup>1</sup>, Orville Hernandez<sup>1</sup>, Andrés Gonzalez<sup>2</sup>, Diana Henao<sup>3</sup>, Ángela Perez<sup>3</sup>, Clara María Duque<sup>1</sup>

1. Grupo Biociencias Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia
2. Dinámica IPS
3. Estudiantes Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia

Correspondencia: clara.duque@colmayor.edu.co

Recibido: 14-07-10 / Aceptado: 22-10-10

## Resumen

El objetivo del estudio fue determinar prevalencia de colonización nasal por *S. aureus*, así como el perfil de sensibilidad antimicrobiana, resistencia a meticilina en las cepas aisladas y relación entre el estado de portador, estado inmunológico y administración de antimicrobianos en un grupo de pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) en la ciudad de Medellín. De esta forma, se tomaron muestras nasales de 151 pacientes ambulatorios VIH positivos. A los aislamientos de *Staphylococcus aureus* se les evaluó el perfil de sensibilidad antimicrobiana utilizando la técnica de Kirby-Bauer. A los aislamientos resistentes a cefoxitin, se les determinó concentración inhibitoria mínima para oxacilina y vancomicina. A las cepas de *S. aureus* meticilino resistentes (SARM) se les realizó reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para confirmar la presencia del gen *MecA*.

Se encontró una prevalencia de colonización nasal por *S. aureus* en 37.7% de los pacientes; la colonización por SARM fue 1.9% y por *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) de 35.7%. Los aislamientos SARM se observó sensibilidad para eritromicina 66.6%, clindamicina 100%, gentamicina 100%, tetraciclina 66.6% y vancomicina 100%. La PCR mostró el gen *MecA* en los aislamientos SARM.

Se determinó la prevalencia de colonización por *S. aureus* en la población estudiada, no se observó relación estadísticamente significativa entre el estado de portador, estado inmunológico, administración de antimicrobianos, períodos previos de hospitalización o sexo en la población estudiada. Los hallazgos microbiológicos se correlacionaron con la presencia del gen *MecA*. No se detectaron cepas con sensibilidad disminuida a glicopéptidos ni resistentes a vancomicina.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, resistencia a la meticilina, colonización, virus de la inmunodeficiencia humana, PCR.

## Abstract

### Colonization by *Staphylococcus aureus* in an HIV-positive patient population of the city of Medellín: antimicrobial susceptibility patterns and characterization of resistance to methicillin

To determine the prevalence of nasal colonization of *S. Staphylococcus aureus*, its antimicrobial sensitivity profile, methicillin-resistance in strains isolated and the relation between carrier state, immunological status and use of antimicrobials in a group of patients infected with human immunodeficiency virus (HIV) in Medellín. 151 nasal samples were obtained from ambulatory patients with HIV. Antimicrobial sensitivity profile of *S. aureus* isolates were evaluated using the Kirby-Bauer method. In addition, we also determined minimum inhibitory concentrations (MIC) for oxacillin and vancomycin. Presence of the *mecA* gene in methicillin-resistant *S. aureus* isolates (MRSA) was confirmed through polymerase chain reaction. Results: The prevalence of *S. aureus* nasal colonization was 37.74%. The colonization for MRSA was 1.98%, while *S. aureus* methicillin sensitive isolates were detected in 35.76% of the patients.

In the MRSA isolates we observed the following antibiotic sensitivity profile: erythromycin 66.6%, clindamycin 100%, gentamycin 100%, tetracyclin 66.6%, and vancomycin 100%. We confirmed the presence of *mecA* gene in all MRSA isolates.

We determined the prevalence of nasal colonization for *S. aureus* in the studied population. No statistically significant relation was observed among the state of the carrier, the immunological status, antimicrobial therapy, hospitalization period or gender in the studied population. We correlated the microbiological findings with the presence of the *mecA* gene. Neither vancomycin resistance nor diminished susceptibility to glycopeptides isolates were detected.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, methicillin resistance, colonization, human immunodeficiency virus and PCR.

## Introducción

Las enfermedades infecciosas constituyen una causa muy importante de morbilidad y mortalidad en el ámbito mundial, por lo que se espera que el tratamiento adecuado en el momento oportuno para dichas entidades, genere un impacto positivo en la salud pública de la mayoría de los países, especialmente en países subdesarrollados, como lo es Colombia (1). Sin embargo, el tratamiento convencional puede no ser el adecuado cuando se deben combatir microorganismos que han desarrollado mecanismos de resistencia a los antibióticos de primera línea de elección (2). Este ha sido un problema que ha incrementado en los últimos años, afectando de forma negativa el tratamiento de los pacientes, aumentando los costos hospitalarios y los esfuerzos invertidos para lograr la remisión de los pacientes infectados (1,2).

*S. aureus* también puede comportarse como un microorganismo comensal, colonizando

frecuentemente fosas nasales, manos, axilas, vagina, área perineal y boca de neonatos, niños y adultos; pudiendo causar procesos infecciosos, cuando se expresan los factores de virulencia propios del microorganismo y cuando se alteran las barreras naturales del hospedero por trauma, cirugía o alteración del estado inmune (3, 4, 5).

*S. aureus* es uno de los principales agentes etiológicos de infección adquirida en la comunidad pudiendo causar desde infecciones cutáneas leves hasta infecciones severas y potencialmente fatales (3,5). También es un importante agente etiológico de infección intrahospitalaria, causando infección de herida quirúrgica, neumonías y bacteriemias. (3,5). Las infecciones por *S. aureus* fueron inicialmente tratadas con penicilina, sin embargo este microorganismo desarrolló rápidamente la producción de B-lactamasas, responsables de la resistencia a este antimicrobiano (2). Posteriormente se desarrollaron penicilinas semi-sintéticas como la

meticilina, oxacilina y sus derivados fluorados, los cuales son los antibióticos de elección en el tratamiento de infecciones producidas por *S. aureus* (2, 3, 4).

En 1960 se reportó por primera vez en Europa una cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) posteriormente en Estados Unidos en 1968 se reportó una cepa con iguales características. Actualmente la resistencia a la meticilina es un hallazgo frecuente y representa un problema importante de salud pública a nivel mundial (2, 3, 4). Las infecciones causadas por SARM usualmente son tratadas con glicopéptidos tales como vancomicina y teicoplanina, sin embargo se han reportado cepas de *S. aureus* con sensibilidad intermedia a los glicopéptidos (cepas GISA) con una concentración inhibitoria mínima para vancomicina de 4 a 16 ug/ml, y cepas de *S. aureus* resistentes a vancomicina (cepas VRSA) con una concentración mínima inhibitoria mayor de 32 ug/ml. Estos aislamientos pueden comportarse como sensibles o resistentes a oxacilina, lo que demuestra la importancia de realizar una minuciosa vigilancia epidemiológica de esta resistencia en todos los aislamientos de *S. aureus* (6).

El gen *MecA*, responsable de la meticilinoresistencia en *S. aureus*, no es endógeno y se encuentra integrado al cromosoma bacteriano, pudiendo ser detectado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), (8,12). El producto de expresión de este gen es una proteína de unión a la penicilina de 78 kDa, con baja afinidad por los antibióticos B-lactámicos, llamada PBP2' o PBP2a (2,3). Este gen se encuentra dentro de un elemento cromosomal móvil (SCCmec) el cual es una isla genética que ha sido utilizada en diversos estudios para caracterizar la resistencia a meticilina (3).

La prevalencia de SARM en la comunidad en general es baja, pero aumenta en algunos grupos poblacionales, los cuales, se encuentran en contacto frecuente con personal de servicios salud (7, 8). Dentro de estos grupos poblacionales se encuentran los pacientes infectados con el VIH, la población pediátrica, pacientes en hemodiálisis o en diálisis peritoneal ambulatoria, usuarios de drogas intravenosas y pacientes con diabetes mellitus insulino dependientes.

Un estudio realizado durante 10 años en pacientes homosexuales infectados con VIH en san francisco, demostró un aumento en la prevalencia de infección por SARM de 7% en 1996 a 76% en 2005 (9). El 90% de los aislamientos tenían un SCCmec tipo IV; los autores concluyen que SARM desplazó las cepas circulantes de SASM en esta población. En otro estudio con 32 pacientes VIH positivos y con infección de origen comunitario en piel y tejidos blandos por SARM, se pudo establecer una relación entre la presentación de una infección por SARM y el aumento de la replicación viral (10).

A. Uche, 2006 encontró que la mortalidad en pacientes VIH con bacteriemia causada por SARM aumenta dependiendo de la severidad de la enfermedad inicial y de la selección inicial de la terapia antimicrobiana (11, 13).

J.S Villacian y colaboradores 2004, en Singapur encontraron una prevalencia de colonización por SASM de 23% y por SARM de 3% (15). Adicionalmente, otro estudio realizado en 554 pacientes de un hospital en Nairobi, Kenia también detectó un 3% de colonización nasal por SARM (16). Contrariamente L Clifford McDonald y colaboradores 2003, encontraron en un grupo de 162 pacientes ambulatorios una prevalencia de colonización nasal por *S. aureus* de 30% y por SARM de 6% (17).

La información descrita anteriormente demuestra que existen diferencias contundentes en los resultados de prevalencia de colonización, según la población estudiada, lo cual nos lleva a comprender la importancia de realizar estudios en nuestro medio que permitan dar a conocer la situación epidemiológica actual de la colonización nasal por *S. aureus* en grupos poblacionales que hagan parte de nuestra comunidad.

## Materiales y métodos

### Consideraciones éticas.

El proyecto cuenta con la aprobación del Comité de investigaciones de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, teniendo en cuenta las

consideraciones que garantizaron el cumplimiento de los lineamientos éticos del estudio y la obtención del consentimiento informado de los pacientes.

#### **Tipo de estudio, población y muestra.**

Estudio de tipo descriptivo prospectivo, la población objetivo estuvo representada en los individuos infectados con el VIH de la ciudad de Medellín y la población accesible fue conformada por un grupo de pacientes VIH positivos que acudieron a los servicios de salud, en el área de consulta externa, y que realizaron sus para clínicos de control en Dinámica IPS de la ciudad de Medellín. El tamaño muestral fue de 151 pacientes con un error admisible del 3% y un nivel de confianza del 97%. El tamaño muestral se calculó teniendo en cuenta un 3% de prevalencia de colonización nasal por SARM en pacientes VIH positivos, de acuerdo con lo reportado en la bibliografía (15,16). Estos cálculos fueron realizados utilizando el programa EPIDAT. En este estudio se utilizaron los siguientes criterios de inclusión: pacientes ambulatorios infectados con VIH que acuden a los servicios de salud, de dinámica IPS de la ciudad de Medellín, sin diferencia de edad, sexo, raza u ocupación.

#### **Recolección de las muestras y aislamiento de cepas bacterianas.**

Todos los pacientes aceptaron participar del estudio y diligenciaron un formato único de información. Las muestras se obtuvieron mediante frotis nasal, las cuales fueron transportadas en el medio Stuart, y posteriormente cultivadas en agar sangre de carnero, con una siembra por agotamiento, en una atmósfera de 5 al 10% de CO<sub>2</sub> a 37°C, durante 24 a 48 horas y en agar cromogénico Chromid MRSA de BioMerieux. Las colonias compatibles con cocos gram positivos se confirmaron mediante coloración de GRAM, prueba de la catalasa, prueba de la coagulasa y el método comercial semiautomatizado API Staph de BioMerieux, para clasificarlo como *Staphylococcus aureus*.

Todos los aislamientos identificados como *S. aureus* meticilino sensibles y *S. aureus* meticilino resistentes, se conservaron en caldo BHI glicerol al 30% en ultra congelación.

#### **Determinación del patrón de susceptibilidad**

A las colonias aisladas de *S. aureus* se les realizaron antibiogramas por la técnica de Kirby - Bauer, en agar Mueller-Hinton, utilizando los sensidiscos que corresponden a la terapia antimicrobiana de elección en infecciones por *S. aureus*, (gentamicina, clindamicina, eritromicina, cefoxitin, y tetraciclina). Adicionalmente se realizó, el test de difusión en disco (D test) para detectar resistencia inducible a clindamicina. Los halos de inhibición se midieron a las 24 horas de incubación, siguiendo las normas estandarizadas por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (14). En los aislamientos resistentes a cefoxitin, se determinó la concentración inhibitoria mínima para oxacilina. En los cultivos de *S. aureus* resistentes a oxacilina se estudió la sensibilidad a vancomicina determinando la concentración inhibitoria mínima respectiva. A todos los aislamientos se les realizó la prueba de supresión a vancomicina para estudiar la sensibilidad a dicho antibiótico, como lo indican las normas del CLSI (14). Como control interno para la validación de las pruebas de identificación y de sensibilidad antimicrobiana se utilizaron Cepas de referencia ATCC (American Type Culture) de *S. aureus* meticilino resistente (ATCC 43300) y meticilino susceptible (ATCC 29213).

#### **Extracción del ADN bacteriano y Reacción en cadena de la polimerasa.**

Los cultivos identificados como *S. aureus* meticilino resistente se les sometió a un protocolo de extracción de ADN genómico utilizando el kit comercial de Promega "Wizard® Genomic DNA Purification Kit cat A1120", siguiendo las instrucciones del fabricante. <http://www.promega.com/tbs/tm050/tm050.pdf>.

A partir del ADN bacteriano obtenido por el método previamente descrito, se amplificó mediante PCR convencional un fragmento correspondiente al gen Mec A, utilizando los iniciadores reportados por Jaffe y col. 2000 (13). Como controles se utilizaron 16S RNAr específico de *Staphylococcus* y 16S RNAr de bacterias. La secuencia de los iniciadores y el tamaño fragmento que se obtuvo se especifican en la Tabla

**Tabla 1.** Iniciadores y tamaño del producto de amplificación. (Jaffe y col. 2000) (13).

Gen	Pareja de Primers	Tamaño (pb)
Mec A	5'-CAT TTT GAG TTC TGC ACT ACC-3' 5'-GCA ATA CAA TCG CAC ATA CAT TAA TAG-3'	967
16S RNAr Staphylococcus	5'-GTT ATT AGG GAA GAA CAT ATG TG-3' 5'-CCA CCT TCC TCC GGT TTG TCA CC-3'	750
16S RNAr Bacteriano	5'-GCG GAT CCT GAC TGC AGT GCC AGC AGC CGC GGT AA-3' 5'-GCG GAT CCG CGG CCG CGG ACT ACC AGG GTA TCT AAT-3'	292

1. Las condiciones de PCR utilizadas en este estudio fueron las siguientes: Desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, 35 ciclos de 95°C durante 1 minuto, 57°C por 1 minuto y 70°C por 45 segundos; y una elongación final de 10 minutos a 70°C. La reacción se hizo en un volumen 50 µl así: 5 µl de Buffer 10X, 1.5 µl de MgCl<sub>2</sub>, 5 µl de dNTP's, 2 µl de Primer 1, 2 µl de Primer 2, 0.5 µl de polimerasa (Biolasa), 33 µl de H<sub>2</sub>O y 1 µl de ADN, Tabla 1.

### Análisis estadístico

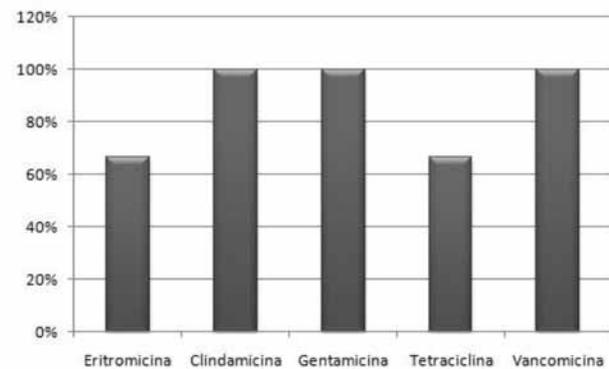
Con los resultados obtenidos se realizó una base de datos en el programa Excel, la cual fue analizada utilizando el programa SPSS versión 15 para su respectivo análisis estadístico descriptivo. Se realizó análisis univariado para caracterizar las variables. Posteriormente, se realizó análisis bivariado para conocer la relación entre variables por medio de la prueba Chi cuadrado de independencia. Valores de P <0.5 se consideraron estadísticamente significativos.

## Resultados

**Prevalencia de colonización.** De las 151 muestras analizadas, se obtuvieron 57 aislamientos de *S. aureus*, de los cuales 54 fueron sensibles a meticilina y 3 fueron resistentes. La prevalencia de colonización nasal por SARM fué 1.9% y por SASM de 35.7%.

**Pruebas de sensibilidad.** En las pruebas de sensibilidad realizadas para los aislamientos resistentes a meticilina se observó una sensibilidad para eritromicina de 66.6% y para tetraciclina de 66.6%. Todas las cepas evaluadas mostraron una sensibilidad de 100% para gentamicina, clindamicina y vancomicina, Figura 1.

**Análisis estadístico de variables:** No se encontró



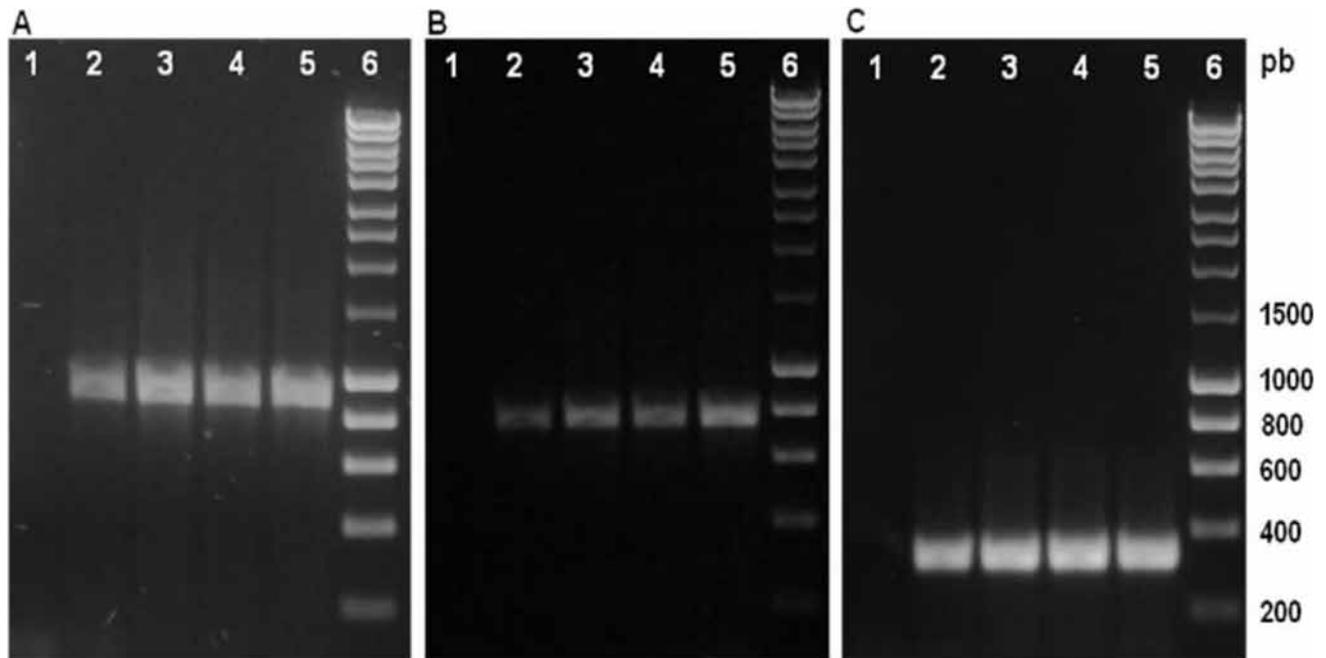
**Figura 1.** Perfil de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos SARM

una relación estadísticamente significativa entre el estado de portador nasal de SARM o SASM, y el sexo, la administración de tratamiento antimicrobiano o los períodos previos de hospitalización. Tampoco se encontró una relación estadísticamente significativa entre el estado de portador nasal y el estado inmunológico del paciente.

**Presencia del gen MecA en cepas SARM:** En todos los aislamientos de *S. aureus* resistentes a la meticilina se encontró la presencia del gen Mec A, permitiendo correlacionar los hallazgos microbiológicos con los resultados de las pruebas moleculares, Figura 2.

## Discusión

En el presente estudio se evidenció la presencia de *S. aureus* en el 37.7% de los pacientes VIH, de los cuales 1.9% eran cepas SARM y el 35.7% cepas SASM, siendo esta una población susceptible a las infecciones por *S. aureus*, en especial, cuando se encuentra previa colonización nasal, este dato es de gran importancia para aportar al conocimiento sobre la circulación de cepas SARM en una población de pacientes VIH.



**Figura 1.** Amplificación mediante PCR. (A) gen Mec A. (B) 16S RNAr Staphylococcus. (C) 16S RNAr Bacteriano. Carril 1: control negativo. Carril 2: control positivo. Carril 3: aislamiento 39. Carril 4: aislamiento 132. Carril 5: aislamiento 147 y Carril 6: Marcador de peso molecular.

Debido a que no se observó una relación estadísticamente significativa entre las variables estudiadas con el estado de portador de cepas SARM o SASM no es posible establecer grupos poblacionales para aplicar terapia preventiva, por lo tanto es necesaria una estricta vigilancia epidemiológica en grupos poblacionales susceptibles para los cuales ser portador de cepas SARM presenta un alto factor de riesgo para el desarrollo de infecciones complicadas que comprometen seriamente su vida.

En el año 2009, el grupo para el estudio de la resistencia a antibióticos en Medellín (GERMEN) a partir de la información obtenida de 14 Instituciones hospitalarias y 1 Laboratorio clínico del área metropolitana del Valle del aburrá, reportó un perfil de sensibilidad para *S. aureus* en pacientes ambulatorios de eritromicina 69.3%, clindamicina 79.7%, tetraciclina 69%, gentamicina 90.3% y vancomicina 100%. [www.grupogermen.org](http://www.grupogermen.org). En el presente estudio encontramos los siguientes porcentajes de sensibilidad para la población estudiada, con respecto a los aislamientos SARM: eritromicina 66.6%, clindamicina 100%, tetraciclina 66.6%, gentamicina 100% y vancomicina 100%.

Los resultados de la sensibilidad a vancomicina, indican que no existe circulación de cepas GISA o VRSA en el grupo de pacientes que participaron en el estudio, sin embargo se debe continuar con una evaluación de la presencia de esas cepas en diferentes grupos poblacionales.

Según los resultados obtenidos en la PCR, todos los aislamientos identificados como *S. aureus* meticilino resistentes mostraron la presencia de un fragmento correspondiente al gen MecA. Lo anterior concuerda con lo reportado en la literatura, ya que la prueba de oro para estudiar meticilino resistencia en *Staphylococcus* es la PCR, según lo indican las normas del CLSI, lo cual podría simplificar posteriores estudios, ya que la presencia del gen MecA se puede determinar mediante PCR convencional, posiblemente omitiendo la realización de pruebas bioquímicas (13). Adicionalmente con la implementación de técnicas como PCR en tiempo real se podría evaluar no solo la presencia de este gen, sino su actividad en los aislamientos en estudio.

También es importante tener en cuenta la evaluación de la resistencia a mupirocina en estudios posteriores, debido a que el tratamiento de elección

para decolonizar pacientes en fosas nasales es la aplicación de mupirocina tópica.

El establecimiento de *S. aureus* como colonizador de fosas nasales y el fenómeno de la resistencia a meticilina en este microorganismo, se vuelve un aspecto cada vez más importante en la epidemiología de nuestro medio, ya que afecta tanto a la población general, como a grupos poblacionales expuestos a diversos factores de riesgo. Por lo anterior, tiene gran pertinencia la realización de estudios que busquen la circulación de estas cepas en diferentes grupos poblacionales y que estén orientados a la detección oportuna de portadores asintomáticos, ya que este tipo de estudios, darán origen al establecimiento de futuras medidas de prevención que permitirán disminuir la propagación de dichos aislamientos en el ambiente comunitario e intrahospitalario, y por ende permitirán impactar positivamente el perfil epidemiológico de nuestro medio. Finalmente, la detección temprana de estos aislamientos en grupos poblacionales susceptibles ayuda a disminuir la tasa de infecciones y por tanto la incidencia de complicaciones y el costo en los tratamientos, favoreciendo desde todo punto de vista el contexto epidemiológico de los pacientes.

## Referencias

1. Velázquez Meza ME. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* Meticilinorresistente. *Salud Publica Mex* 2005; 47: 381-387.
2. Daza Pérez R.M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud* 1998; 22: 57-67.
3. Justos JA, Handan A, Gutierrez M. *Staphylococcus aureus*: La Reemergencia de un Patógeno en la comunidad. 2006 *Rev Biomed* 17 (4): 287-305.
4. Echevarria Zarate J, Iglesias Quilca D. Estafilococo Meticilinorresistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Med Hered* 2003; 14 (4): 195-199 Rev
5. Koneman EW. Capitulo 11 parte I: Estafilococos y microorganismos relacionados. En: *Diagnostico Microbiológico Texto y Atlas Color*. Montevideo, Uruguay: Editorial médica panamericana, 2004: 528-540
6. Tenover FC, Lancaster MV, Hill B, Steward CD. Characterization of *Staphylococci* with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. *J Clin Microbiol*. 1998; 36: 1020-7.
7. Po-Liang Lu, Lien-Chun Chin, Chien-Fang Peng, Yi-Hsiung Chiang, Tyen-Po Chen, Ling Ma, L. K Siu. Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant *staphylococcus aureus* carriage. *Journal of clinical microbiology* 2005; 43 (1):132-139.
8. Cortes JA, Gómez CA, Cuervo SI, Leal AL, GREBO. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Bogotá, Colombia: Public Health implications. *Revista de salud pública*, 2007; 9 (3): 448-454.
9. Carleton H. A Ten Year Survey of *Staphylococcus aureus* (*Saur*) Isolates Causing Infections Among Gay Men and People with HIV in San Francisco: ICAAC San Francisco Septiembre 2006. pg. 123 Abstract C2-1142
10. Williamson JC. Community-Acquired MRSA (CA-MRSA) Infection Among HIV-Positive Patients Is Associated with Active Viral Replication: ICAAC San Francisco Septiembre 2006. pg. 364 Abstract K-1674
11. A. Uche. Outcomes of MRSA Bacteremia in HIV Infected Patients: ICAAC San Francisco Septiembre 2006. pg. 324 Abstract K-779
12. Safdar N, Narans L, Gordon B, Maki DG. Comparison of Culture Screening Methods for Detection Of Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Prospective Study Comparing 32 Methods. *J Clin Microb*. 2003 41 (7): 3163-3166.
13. Jaffe RI, Lane JD, Albury SV, Niemeyer DM. rapid Extraction from and Direct Identification in Clinical samples of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Using the PCR. *J Clin Microb*. 2000 38 (9): 2407-3412
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement*. CLSI document M 100-S17
15. J.S Villacian, T.Barkham, A.Earrest, N.I. Paton. Prevalence of and Risk Factors for Nasal Colonization with *Staphylococcus aureus* Among Human Immunodeficiency Virus- Positive Outpatients in Singapore. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:438-440.
16. M. Amir, J. Paul, B. Batchelor, S. Kariuki, J. Ojoo, R Waiyaki and C. Gilks. Nasopharyngeal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Carriage of Tetracycline-Resistant Strains Associated with HIV-Seropositivity. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1995, 14:34-40.
17. L Clifford McDonald, Tsai-Ling Lauderdale, Hsiu-Jung Lo, Jih-Jin Tsai and Chien-Ching Hung. Colonization of HIV-infected outpatients in Taiwan with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Int J STD AIDS*.2003; 14: 473-477