

Brote de *Enterococo faecium* vancomicina resistente (VREfm) en un hospital de la Ciudad de Buenos Aires

L. Lopez Moral¹, A. Corso², N. Gomez¹, P. Gagetti², M. Rodríguez², E. Cassini¹, M. Badia¹, M. Galas²

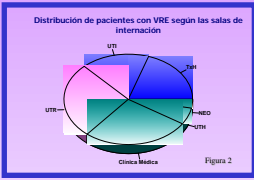
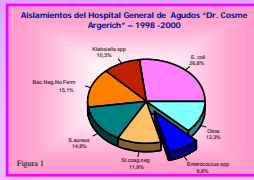
¹ Servicio de Microbiología, Hospital General de Agudos "Dr. Cosme Argerich", ² Servicio Antimicrobianos, INEI ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".

RESUMEN

BROTE DE ENTEROCOCCO FAECIUM VANCOMICINA RESISTENTE (VREfm) EN UN HOSPITAL DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES
 L. Lopez Moral¹, A. Corso², N. Gomez¹, P. Gagetti², M. Rodríguez², E. Cassini¹, M. Badia¹, M. Galas²
 Servicio de Microbiología, Hospital General de Agudos "Dr. Cosme Argerich", ² Servicio Antimicrobianos, INEI ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".

Los primeros enterococos resistentes a vancomicina (VRE) fueron identificados en Francia en 1986, desde entonces han sido reportados en muchos países del mundo. Actualmente los VRE son agentes causales de muchos casos de bacteriemia, infecciones urinarias y de tracto aéreo. En el Hospital General de Agudos "Dr. Cosme Argerich", en octubre de 1999 se detectó el primer aislamiento de VREfm en un líquido abdominal de un paciente internado en la sala de Terapia Intensiva (UTI). Desde entonces se fueron detectando en el resto del hospital. En el presente estudio se analizaron 18 aislamientos de *E. faecium* y *E. faecalis* durante el año 2000, 44 VRE (42 *E. faecium* y 2 *E. faecalis*) fueron aislados de 20 pacientes internados en 5 unidades clínicas (UTi de cirugía, 6 de cirugía abdominal y 6 de otras). Los 44 VRE se aislaron de 30 pacientes internados 11 en UTI de cirugía abdominal, 17 en UTI de cirugía general, 8 en Clínica Médica, 8 en Unidad de Transplante Renal y 1 en Neonatología. La proporción de VRE aumentó de 0,5% en 1998 a 7,9% en 1999 (p<0,001) y disminuyó a 4,5% en el año 2000 (Figura 3). Con el objetivo de establecer el tipo clonal entre los VREfm detectados en nuestro hospital, se realizó un estudio genético de los VREfm. Se determinó la CIM del aislado de clon en agar BAP, de NCLCS de vancomicina (VAN), tetraciclina (TET), ampicilina (AMP), gentamicina (GEN), estreptomomicina (STR), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CMP), eritromicina (ERY) y ciprofloxacina (CIP). También se caracterizó el genotipo responsable de la resistencia a vancomicina (vanA) por PCR. Los 18 VREfm fueron resistentes a VAN, TET, AMP, ERY y CIP. Solo 3 y 2 VREfm mostraron sensibilidad a GEN y STR respectivamente. De los tipos clonales, solo TET y CMP mostraron buena actividad in vitro frente a los VREfm. Los tipos clonales mostraron resistencia: TET 100% y CMP 50%. Los 18 VREfm portaron el gen vanA. Se identificaron 5 tipos clonales por PFGE. Trece aislamientos (72%) del tipo clonal como tipo A y 2 como tipo B. Los tipos clonales C, D y F se detectaron representados por un aislamiento cada uno. El clon A fue dominante durante 7 meses consecutivos (de mayo a diciembre del 1999). Durante los períodos previos y posteriores al mencionado, se detectaron los tipos 4 tipos clonales B, C, D y F. Conclusión: El aumento en la incidencia de VREfm ocurrido en el año 1999 se debe a un brote intrahospitalario de un clon de *Enterococcus faecium* Van A multiresistente.

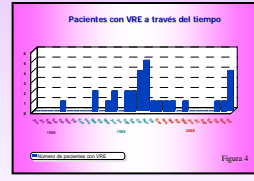
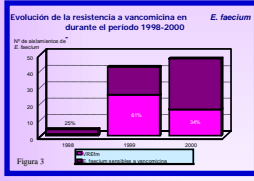
INTRODUCCION



En las últimas dos décadas, se ha observado un importante incremento en la incidencia de los enterococos como patógenos hospitalarios. Este problema se ha agudizado en los últimos años con la emergencia de cepas con resistencia adquirida a glicopeptidos. La mayoría de los enterococos vancomicina resistentes (VRE) presentan el fenotipo Van A, caracterizado por alto nivel de resistencia a vancomicina y teicoplanina. Se han reportado numerosos brotes de infecciones por *Enterococcus faecium* vancomicina resistentes (VREfm) asociados al fenotipo Van A, especialmente en pacientes internados en salas de cuidados intensivos.

En el Hospital Argerich de la Ciudad de Buenos Aires, el género *Enterococcus* sp. representó el 8,8% del total de los aislamientos del período comprendido entre abril de 1998 y diciembre del 2000 (Figura 1). El primer VREfm se detectó en una muestra de líquido abdominal de un paciente internado en la sala de terapia intensiva (UTI), en octubre de 1998. Desde entonces y hasta diciembre del año 2000, se recuperaron 44 VRE (42 *E. faecium* y 2 *E. avium*) de 30 pacientes hospitalizados, 11 internados en UTI (6 de ellos transplantados hepáticos - TxH -), 10 en Clínica Médica (dos de los cuales pertenecían a la Unidad de Transplante hepático - UTH -), 8 en la Unidad de Transplante Renal (UTR) y 1 en Neonatología (NEO) (Figura 2).

La proporción de VRE aumentó de 0,5% en 1998 a 7,9% en 1999 (p<0,001) y disminuyó a 4,5% en el 2000 (NS) (Figura 3). El 52,4% de los VREfm (22/42) se aislaron durante 7 meses consecutivos (entre mayo y diciembre de 1999). Durante dicho período se observó un pico entre octubre y noviembre que representó el 28% de los VREfm detectados (Figura 4).

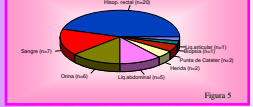


OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio fueron: (i) la caracterización fenotípica y genotípica de VREfm del Hospital General de Agudos "Dr. Cosme Argerich" de la Ciudad de Buenos Aires durante el período comprendido entre abril de 1998 y diciembre del 2000, y (ii) establecer la posible relación clonal entre una muestra representativa de los mismos.

MATERIALES Y METODOS

Aislamientos: De abril de 1998 hasta diciembre del año 2000 se colectaron un total de 44 VRE, 20 de hisopados rectales (provenientes de los cultivos de vigilancia) y 24 de otras muestras clínicas (Figura 5). Los hisopados rectales fueron sembrados sobre agar bilis esculina azida con 6 µg/ml de vancomicina. Las colonias marrones oscuras o negras sospechosas de *Enterococcus* sp. fueron identificadas a nivel de especie. La tipificación bioquímica se realizó según el esquema recomendado por Facklam y col. (1989. J. Clin. Microbiol. 27: 731-734.), y confirmada por el sistema API-Strep (Bio Merieux).



Pruebas de Sensibilidad: Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a ampicilina (AMP), vancomicina (VAN), teicoplanina (TEI), gentamicina (GEN), estreptomomicina (STR), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CMP), eritromicina (ERY) y ciprofloxacina (CIP), por el método de dilución en agar según NCCLS M7-A5.

PCR: El determinante genético de la resistencia a glicopeptidos se investigó por PCR utilizando un ciclador térmico Biometra con los primers específicos para el gen *vanA* (Courvalin P. 1995. J. Clin. Microbiol. 33:24-27). Como control positivo de la extracción de ADN se usaron primers para el gen 16S (Greisen, K. 1994. J. Clin. Microbiol. 2:335-351). El templado de ADN se preparó por el método de ebullición, y 5 µl de sobrenadante se utilizaron en la mezcla de reacción.

PFGE: Se extrajo el ADN total de los enterococos y se digirió con *Sma*-I, según lo descrito previamente por De Lencastre y col. (1999. Microb. Drug Resist. 5:113-128). Los fragmentos de ADN se separaron en un gel de agarosa 0,8% usando un equipo CHEF-DRIII (Bio-Rad Laboratories, CA). Los aislamientos cuyo patrón de restricción mostraron el mismo número y tamaño de bandas, se consideraron genéticamente indistinguibles y fueron asignados al mismo tipo clonal (ej. tipo A). Los aislamientos con 1-6 bandas de diferencia se consideraron estrecha o posiblemente relacionados y fueron considerados subtipos clonales (ej. subtipo A1). Los aislamientos con más de 6 bandas de diferencia fueron considerados como no relacionados y se asignaron a distintos tipos clonales. La similitud entre los aislamientos se determinó por comparación visual.

Un número representativo de 18 aislamientos se seleccionaron para los estudios posteriores de fenotipo y tipificación genotípica.

RESULTADOS

Características fenotípicas y genotípicas de 18 VREfm del Hospital Argerich

Nº de aislamiento	Fecha	Servicio	Muestra	CPI*	CIM (µg/ml)										PCR vanA	Tipo Clonal	
					VAN	TEI	AMP	GEN	STR	TET	CAL	ERY	CIP				
2228	20/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2229	21/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2230	22/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2231	23/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2232	24/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2233	25/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2234	26/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2235	27/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2236	28/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2237	29/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2238	30/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2239	31/12/1998	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2240	01/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2241	02/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2242	03/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2243	04/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2244	05/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2245	06/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2246	07/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2247	08/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2248	09/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2249	10/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2250	11/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2251	12/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2252	13/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2253	14/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2254	15/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2255	16/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2256	17/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2257	18/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2258	19/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2259	20/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2260	21/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2261	22/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2262	23/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2263	24/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2264	25/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2265	26/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2266	27/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2267	28/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2268	29/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2269	30/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2270	31/01/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2271	01/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2272	02/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2273	03/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2274	04/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2275	05/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2276	06/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2277	07/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2278	08/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2279	09/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2280	10/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2281	11/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2282	12/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2283	13/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2284	14/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2285	15/02/1999	UTI	Líquido abdominal	+	1	16	128	128	128	128	128	128	128	128	128	+	A
2286	16/02/1999	UTI	L														