

Primeros aislamientos de *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina (EVR) en una clínica de Buenos Aires

J. Pace¹, A. Corso², M. Boutureira¹, P. Gagetti², M. Pampin¹, M. Rodríguez², M. Galas²

¹ laboratorio de análisis



²



Instituto Nacional de
Enfermedades Infecciosas

ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"
Argentina

Resumen

PRIMEROS AISLAMIENTOS DE ENTEROCOCCUS FAECIUM RESISTENTES A VANCOMICINA (EVR) EN UNA CLÍNICA DE BUENOS AIRES. Pace J, Corso A, Boutureira M, Gagetti P, Pampin M, Rodríguez M, Galas M. *Revista de Microbiología, Laboratorio French Echevarne, French 2009; 142:Capítulo Federal "Servicio Anatómico Patológico, INEI ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Viala Suriani 198; 129:Capítulo Federal "servicio clínico".*

El primer EVR se aisló en Francia en el año 1983 y en nuestro país durante 1997. En noviembre del mismo año y enero de 1999 se aislaron otros dos EVR de un paciente internado en la unidad de terapia intensiva (UTI). En diciembre del mismo año y enero de 1999 se aislaron otros dos EVR de los pacientes internados en la misma sala. A continuación, se describen los tres casos clínicos. **Caso 1:** hombre de 67 años, que ingresa con diagnóstico de shock séptico. Luego de varios episodios infecciosos y de 30 días de tratamiento con VAN se aísla EVR de una muestra de líquido biliar. Por un diagnóstico erróneo se inicia tratamiento con cloranfenicol (CIP) hasta su fallecimiento 6 días después. **Caso 2:** mujer de 60 años de edad, que ingresa por neumonía de la comunidad y debido a evolución desfavorable permanece internada por tiempo prolongado, durante el cual por varios episodios infecciosos, recibe durante 20 días VAN. En una punción de tejido celular subcutáneo se aísla EVR. Por evolución al aislamiento como colonizante no se realiza tratamiento específico. La paciente evoluciona favorablemente y es dada de alta. **Caso 3:** mujer de 52 años, que ingresa para cirugía de tumor de cerebro. Se realiza en UTI durante shock séptico, por lo que comienza tratamiento con VAN. Luego de 10 días de tratamiento con VAN se aísla EVR de una biopsia de escara. No se realiza tratamiento específico por diagnóstico erróneo. La paciente presenta buena evolución. Se determina la sensibilidad a VAN, teicoplanina (TEI), estreptomicina (STR), eritromicina (ERY), ciprofloxacina (CIP), ampicilina (AMP), vancomicina (VAN), cloranfenicol (CIP), gentamicina (GEN) y ciprofloxacina (CIP), por el método de dilución en agar según normas NCCLS. La CIM a VAN fue de 256 µg/ml y la a ERY y CIP de 1 µg/ml. CIMs se muestran en tabla.

Antibiótico	Concentración (µg/ml)	Resultado
Vancomicina (VAN)	256	R
Teicoplanina (TEI)	16	R
Streptomicina (STR)	128	R
Eritromicina (ERY)	1	S
Ciprofloxacina (CIP)	1	S
Ampicilina (AMP)	16	R
Gentamicina (GEN)	128	R
Cloranfenicol (CIP)	16	S

Introducción

Las especies del género *Enterococo* son parte de la flora habitual del hombre y se las ha asociado a infecciones, tanto en pacientes hospitalizados como de la comunidad.

Su importancia como patógeno nosocomial, ha adquirido relevancia clínica en los últimos años, debido a la capacidad de este género, de adquirir resistencia a drogas como ampicilina, quinolonas, alto nivel de resistencia a aminoglicósidos y glicopéptidos.

La resistencia adquirida a vancomicina en *Enterococcus* spp., se ha reportada en 1988 en Francia y EEUU; y desde entonces se han comunicado aislamientos de EVR en varios países del mundo. En Argentina el primer EVR se detectó en el año 1997.

Si bien se han descrito varios fenotipos de

resistencia a glicopéptidos, los de mayor prevalencia clínica en *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*, corresponden a los fenotipos Van A y Van B. Las cepas que presentan fenotipo Van A, son altamente resistentes a vancomicina (CIMs ≥ 64 µg/ml) y moderada o altamente resistentes a teicoplanina (CIMs ≥ 16 µg/ml). Este genotipo al igual que el *vanB*, es transferible, lo facilita su diseminación en el medio hospitalario. En la Clínica Bazterrica, donde especies del género *enterococo* representan el 5 % del total de los aislamientos de muestras pertenecientes a pacientes internados, el primer EVR se aisló en noviembre de 1998 de un paciente internado en la Unidad de Terapia Intensiva. En diciembre del mismo año y en enero de 1999 se aislaron EVR de dos pacientes internados en la misma sala.

Materiales y Métodos

Identificación bioquímica: Los aislamientos se identificaron a nivel de especie de acuerdo a lo recomendado por Facklam y col. (Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. 1989. J. Clin. Microbiol. 27:731-734) y se confirmaron por el sistema API 20 StrepT (Bio Merieux).

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

Reacción en cadena de polimerasa (PCR): El determinante genético de la resistencia a glicopéptidos 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.

Electroforesis en campo pulseado (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 Laboratorios, 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.

Objetivos

- Describir los casos clínicos de aquellos pacientes en los que se aisló *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (EVR).
- Establecer la relación epidemiológica entre los casos.
- Determinar la sensibilidad a distintos antimicrobianos de los EVR aislados.
- Caracterizar el mecanismo de resistencia a glicopéptidos.
- Determinar la relación clonal entre los aislamientos de EVR.

Resultados

DESCRIPCIÓN DE LOS CASOS CLÍNICOS

CASO 1: Paciente de sexo masculino, de 67 años, que ingresa con diagnóstico de CA de cabeza de páncreas. Luego de varios episodios infecciosos y de 30 días de terapia con vancomicina se aísla de una muestra de líquido biliar *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina y teicoplanina. Se instaura tratamiento específico con cloranfenicol hasta su fallecimiento 6 días después.

CASO 2: Paciente de sexo femenino, de 60 años de edad, que ingresa con diagnóstico de neumonía de la comunidad y, por evolución desfavorable, permanece internada por un tiempo prolongado, en el cual, debido a varios episodios infecciosos, es tratada 20 días con vancomicina. Se le aísla de una punción de tejido celular subcutáneo *Enterococcus faecium* resistente a glicopéptidos. Por considerarse el aislamiento como colonizante, no se inicia tratamiento específico. La paciente evoluciona favorablemente y es dada de alta.

CASO 3: Paciente de sexo femenino de 52 años, ingresa para cirugía de tumor de cerebro y se complica con falla neurológica debido a shock. Luego de una evolución favorable se complica con shock séptico, por lo que comienza tratamiento con vancomicina. Luego de 10 días de tratamiento se aísla de una biopsia de escara *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina. No se realiza tratamiento específico por considerar que se trata de una colonización.

Conclusiones

- Los tres casos se produjeron en pacientes internados en la sala de Terapia Intensiva.
- Todos los aislamientos fueron identificados como *Enterococo faecium* con CIM a vancomicina de 256 µg/ml y a teicoplanina de 16 a 32 µg/ml. Fueron resistentes a ciprofloxacina y eritromicina, y mostraron alto nivel de resistencia a ampicilina, gentamicina y estreptomicina, lo que impediría el uso de estas drogas, en terapias combinadas. De los antimicrobianos probados solo el cloranfenicol mostró actividad frente a estas cepas (Tabla).
- Los tres EVR fueron portadores del gen de resistencia a glicopéptidos *vanA* (Figura 1).
- El análisis del PFGE, mostró que los tres EVR fueron indistinguibles entre sí, es decir pertenecían al mismo clon (Figura 2).
- La emergencia de EVR en la Clínica Bazterrica surge de la diseminación clonal de los mismos, probablemente debido al contacto indirecto entre los pacientes a través de las manos del personal, y/o contacto con instrumental, ambientes y/o superficies contaminadas.

Tabla

Caso	Fecha	Servicio	Muestra	CA*	CIM (µg/ml)										PCR <i>vanA</i>	Tipo Clonal								
					VAN	TEI	AMP	GEN	STR	TET	CIP	ERY	CIP											
Caso 1	24/11/98	UTI	Liq. Biliar	I	256	R	32	R	64	R	>2048	R	>2048	R	0.5	S	8	S	>512	R	>128	R	+	A
Caso 2	05/12/98	UTI	Punción de tejido	C	256	R	16	R	128	R	>2048	R	>2048	R	0.25	S	4	S	>512	R	>64	R	+	A
Caso 3	18/01/99	UTI	Punción de tejido	C	256	R	16	R	128	R	>2048	R	>2048	R	0.25	S	4	S	>1024	R	128	R	+	A

* CR: Colonizante o Infección

VAN: Vancomicina; TEI: Teicoplanina; AMP: Ampicilina; GEN: Gentamicina; STR: Streptomicina; TET: Tetraciclina; CIP: Cloranfenicol; ERY: Eritromicina; CIP: Ciprofloxacina

Figura 1

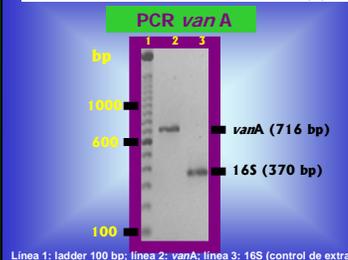


Figura 2

