

## **BROTE DE INFECCIÓN POR *ENTEROCOCCUS FAECIUM* RESISTENTES A GLICOPÉPTIDOS EN UN HOSPITAL DE ROSARIO, ARGENTINA**

Laura All, Marcela Vera Blanch, Nicolás Mocarbel, Alejandro M. Limansky, Alejandro M. Viale, Rodolfo D. Notario

Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe 3100. 2000 Rosario. Argentina

Dirección postal: Laura All - Sarmiento 1417 PB "B" - 2000 Rosario

Dirección electrónica: lauraall@arnet.com.ar - Teléfono: 54-341-4263208

### **RESUMEN**

Los enterococos habitan el tracto gastrointestinal y genitourinario pero también son causantes de infección severa, incluso de origen nosocomial. La adquisición de resistencia a los beta lactámicos y de alto nivel a los aminoglucósidos es un problema terapéutico. Desde 1986 se describen cepas de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina (EVR) y a otros glicopéptidos. Entre septiembre y diciembre de 2000 se registraron en el Hospital Provincial de Rosario tres casos con aislamiento de EVR. Un hombre de 54 años internado para un by-pass iliaco popliteo recibe múltiple tratamiento antibiótico que incluye vancomicina, aislándose a los 2 meses EVR del sitio quirúrgico. Un hombre de 65 años neutropénico con antecedente de leucemia mieloide aguda y carcinoma esofágico que recibe tratamiento con vancomicina, se aísla EVR de catéter venoso central al los 12 días de su ingreso. El tercero, una mujer de 65 años, quien recibe terapia con ceftriaxona, ciprofloxacina, y clindamicina desarrolla una infección urinaria por EVR. Las tres cepas aisladas presentan el mismo antibiograma con una CIM de 256 µg/ml de vancomicina. La caracterización del ADN genómico reveló una estrecha similitud. El hallazgo de EVR en el hospital requiere de estrictas medidas de aislamiento para evitar su transmisión.

Palabras clave: *Enterococcus faecium* - *Enterococcus* vancomicina resistente - brote - glicopéptidos

### **ABSTRACT**

Enterococci causes serious illness in immunocompromised patients and in severely ill, hospitalized patients. They are commonly isolated from the human gastrointestinal tract, and resistance to vancomycin has increased in frequency during the past few years. We report three cases of nosocomial vancomycin resistant *Enterococcus faecium* (VRE) infections from September to December of 2000. A 54-year-old man presented post surgical wound infection due to VRE after 2 months of hospitalization. The second is a 65-year-old neutropenic patient with a medical history of acute myeloid leukemia and esophageal carcinoma. In this case, central venous catheter was colonized with EVR. The third, a 65-year-old woman who received therapy with ceftriaxone, ciprofloxacin and clindamicin had a urinary tract infection due to EVR. The three isolates were resistant to vancomycin (MIC value > 256 µg/ml). The DNA amplification pattern obtained by OD-PCR were similar in the three cases

Key words: *Enterococcus faecium* - vancomycin resistant *Enterococcus* - outbreak - glycopeptides

## INTRODUCCIÓN

Los enterococos son microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal y genitourinario del ser humano (1). Las variedades más frecuentemente halladas son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, encontrándose en una relación aproximada de nueve a uno respectivamente (1). Son productores de enfermedades tales como endocarditis, septicemia, infección urinaria, infección de herida quirúrgica y abscesos abdominales, siendo además importantes agentes de infección intrahospitalaria (2). Los enterococos presentan una resistencia creciente a los antimicrobianos. Es a partir de 1986 cuando se describen en Europa y luego en 1988 en Estados Unidos, especies de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina (EVR) (3). Esta resistencia puede ser determinada bien por su fenotipo teniendo en cuenta los niveles de CIM de los antimicrobianos, vancomicina y teicoplanina o bien por su genotipo. Así los aislamientos que presentan genotipo *Van A* muestran resistencia de alto nivel tanto a la vancomicina (CIM mayor a 64mg/ml) como a la teicoplanina (CIM mayor o igual a 8mg/ml). Las cepas con genotipo *Van B* presentan resistencia a diversas concentraciones de vancomicina (CIM de 8 mg/ml a 64 mg/ml) pero son sensibles a la teicoplanina con pocas excepciones. Los aislamientos con genotipo *Van C* muestran resistencia constitutiva entre 8 y 32 mg/ml y son sensibles a teicoplanina (menor o igual 4 mg/ml). El genotipo *Van D*, presenta resistencia a vancomicina entre 16 y 256 mg/ml y teicoplanina entre 2 y 32 mg/ml. (4). Las cepas *Van A* y *Van B* son capaces de transferir sus genes de resistencia y por lo tanto presentan un mayor problema clínico epidemiológico (4). A continuación se presenta la descripción de tres casos de infecciones a *Enterococcus faecium* resistente a los glicopéptidos en el Hospital Provincial de Rosario en el período noviembre 1999 - enero de 2000.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron estudiados aislamientos de EVR de tres pacientes internados en el Hospital Provincial de Rosario.

### Bacteriología

La identificación fue hecha con Api 20S. Para los estudios de sensibilidad se usaron los siguientes antimicrobianos: vancomicina, teicoplanina, ampicilina, gentamicina y estreptomycinina de alta carga, minociclina, cloranfenicol y nitrofurantoína de acuerdo a las recomendaciones de NCCLS (5). Para el resto de las bacterias se efectuaron estudios de sensibilidad por difusión según las recomendaciones de NCCLS (5). La concentración inhibitoria mínima se realizó mediante E-test.

### Caracterización genotípica de la cepa

El análisis del polimorfismo genómico se efectuó mediante amplificación del ADN con oligonucleótidos degenerados (OD-PCR) empleando los cebadores 5314, 19 y PS20 (6) o reo-PCR (7).

### Casos clínicos

Primer caso: Paciente de 54 años de sexo masculino que ingresa al hospital el 19-9-2000 por cirugía electiva de by-pass periférico de miembro inferior derecho. Antecedentes: Fumador, etilista, con previo by-pass en miembro inferior izquierdo con posterior amputación. A los tres días de su ingreso se le efectúa by pass ilíaco poplíteo con vena safena interna. Recibe profilaxis con vancomicina (1g c/6hs.), durante cinco días debido a que requiere una reexploración quirúrgica. Desarrolla un hematoma en el sitio quirúrgico, que se infecta con secreción purulenta en el extremo proximal de la herida. En el cultivo se aísla *Acinetobacter baumannii* sensible a imipenem y meropenem y resistente a gentamicina, colistin, ciprofloxacina, ampicilina sulbactam, amikacina, trimetoprima-sulfametoxazol, cefoperazona, cloranfenicol y cefepima. El paciente permanece internado durante 81 días recibiendo tratamiento antimicrobiano

que incluye seis semanas de vancomicina (1g c/12hs.), metronidazol (500mg c/8hs) y ceftazidima (1g c/8hs). En el día 68 de su internación se aísla EVR del sitio quirúrgico. El paciente fallece con un cuadro de septicemia a pesar de que los hemocultivos resultaron negativos.

Segundo caso: Paciente de 65 años de sexo masculino que ingresa al hospital el 30-11-2000 por cuadro de abdomen agudo y fiebre.

Antecedentes: leucemia mieloide aguda, carcinoma esofágico, úlcera péptica y litiasis biliar. Inicia tratamiento con ciprofloxacina (400 mg c/12hs) y metronidazol 500 mg c/8hs). A los cuatro días desarrolla neutropenia (325 neutrófilos/mm<sup>3</sup>), persistiendo la fiebre. Se realiza tratamiento empírico con vancomicina a los 11 días de su ingreso. El día 4-12-2000 se le coloca un catéter venoso central. El día doce de su internación se aísla de dicho catéter EVR. Los hemocultivos son negativos. El paciente es dado de alta a los 20 días de su ingreso. No recibe tratamiento antibiótico para el EVR ya que fue interpretado como colonizante.

Tercer caso: Mujer de 65 años diabética insulino dependiente, hipertensa con enfermedad de Parkinson. Ingresó el 5-12-2000 por fiebre, pérdida de peso, disuria, polaquiuria, tos productiva y radiología con infiltrado pulmonar basal derecho, con diagnóstico probable de neumonía aguda de la comunidad e infección urinaria. Recibe tratamiento con ceftriaxona (2 g/día). Al ingresar se le coloca una sonda vesical durante siete días. Habiendo recibido ocho días de ceftriaxona se suspende, por reaparición de la fiebre y se toman muestras para cultivo. Se inicia tratamiento con ciprofloxacina (400 mg c/12hs) y clindamicina (600 mg c/8hs). A los 13 días de su ingreso se aísla *Klebsiella pneumoniae* en 2/2 muestras de hemocultivo. Se inicia nuevo plan antibiótico con ceftazidima (1 g c/8hs) amikacina (1 g c/día) continuando con clindamicina (600 mg c/8hs). A los 21 días de su ingreso el urocultivo resulta positivo para EVR. Se efectúa

tratamiento con nitrofurantoina con evolución favorable.

## RESULTADOS

### Bacteriología

Los tres aislamientos se identificaron como *Enterococcus faecium*.

Las cepas aisladas de los tres pacientes resultaron sensibles a minociclina, cloranfenicol y nitrofurantoina y resistentes a vancomicina, teicoplanina, ampicilina, ampicilina-sulbactam, estreptomina y gentamicina de alta carga. La concentración inhibitoria mínima de vancomicina fue mayor a 256 µg/ml para los tres aislamientos.

Caracterización genotípica de las cepas:

Los EVR presentaron por genotipificación, resistencia de tipo Van A.

Las metodologías de amplificación del ADN empleadas revelaron semejantes perfiles de amplificación para los aislamientos correspondientes a los tres casos estudiados (aislamiento 243 del primer paciente, aislamiento 643 del segundo paciente y aislamiento 771 del tercer paciente), según puede observarse en Figs. 1 y 2 para OD-PCR con cebador 5314 (Fig. 1) y rep-PCR, respectivamente (Fig. 2)

## DISCUSIÓN

Estos son los primeros EVR descritos en nuestra institución. Los tres aislamientos se efectuaron en un período de tres meses de septiembre a diciembre del año 2000. En los pacientes estudiados se presentaron las características asociadas al aumento de riesgo por EVR, como son: tiempo de hospitalización prolongado, múltiple curso de antibióticos, instrumentación e inmunosupresión (8). Así el tiempo de hospitalización se extendió de 20 a 81 días, los tres recibieron múltiple curso de antibióticos incluidos vancomicina y

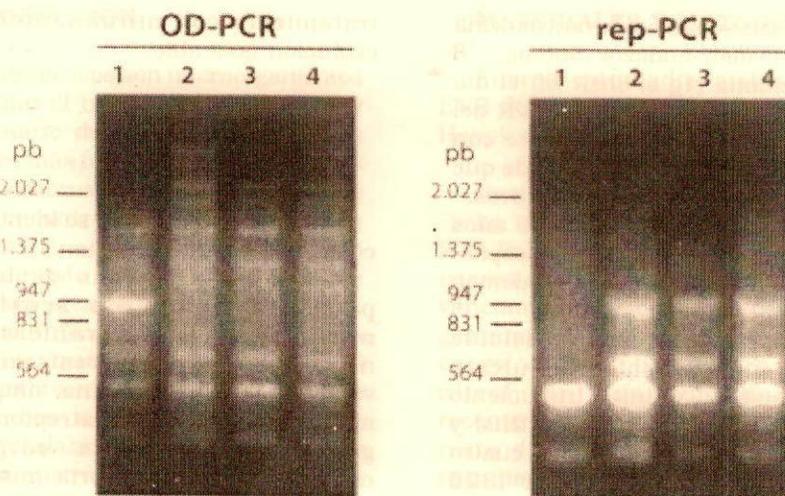


Fig. 1: Perfiles de amplificación de los aislamientos de *E. faecium* incluidos en este estudio, obtenidos mediante OD-PCR empleando el oligonucleótido 5314. Calle 1: *E. faecium* CECT 410; calle 2: aislamiento 243; calle 3: aislamiento 643; calle 4: aislamiento 771. A la derecha de la figura se observa el marcador de tamaños moleculares (ADN de fago lambda digerido con *HindIII* y *EcoRI*)

Fig. 2: Perfiles de amplificación obtenidos mediante rep-PCR. Calle 1: *E. faecium* CECT 410; calle 2: aislamiento 243; calle 3: aislamiento 643; calle 4: aislamiento 771.

cefalosporinas de tercera generación. En cuanto a la instrumentación se practicó cirugía por by-pass en el primer paciente y canalización (catéter venoso central y catéter urinario) en el segundo y tercer paciente. Uno de los pacientes recibió tratamiento quimioterápico por leucemia mieloide aguda y cáncer esofágico, otro paciente era diabético. Las cepas aisladas de EVR presentaron múltiple resistencia, así la resistencia a la vancomicina se acompañó de resistencia a otros antibióticos: ampicilina, ampicilina-sulbactam, gentamicina y estreptomina de alta carga. Se han informado brotes provocados por enterococos con esta multiresistencia ya a comienzos de los años 90 en Estados Unidos (9). Estudios de genotipificación de estos aislamientos describieron una resistencia para el gen *Van A*. Es sabido que esta forma de resistencia es transferible ya sea bien por plásmidos o por trasposones (4) aumentando así la posibilidad de diseminación. La caracterización del ADN

genómico reveló una estrecha similitud genómica entre las cepas analizadas, sugiriendo la diseminación clonal de la misma. Es reconocido que la transmisión puede efectuarse a través de las manos del personal, o bien por contaminación del ambiente (7,10). Por lo mencionado, las medidas de control deben ser estrictas e instituidas rápidamente ante la identificación de estos microorganismos (5,11).

#### BIBLIOGRAFIA

1. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W: Diagnóstico Microbiológico, Editorial Panamericana S.A., Buenos Aires 1999, p 583.
2. CDC. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin, United States, 1989-1993. MMWR 42:597-9, 1993.
3. Uttley A, Collins C, Naidoo J, George R: Vancomycin resistant enterococci. Lancet, 1988. 1:57-8.

4. Woodford N. Glycopeptide - resistant enterococci: A decade of experience: J Med Microbiol, 1998. 47:849-62.

5. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Suceptibility testing, Eleventh Informational Supplement NCCLS document M 100 S11 NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, 2001.

6. Limansky A, Sutich EG, Guardati MC, Toresani I, Viale A: Genomic diversity among *Streptococcus agalactiae* isolates detected by a degenerate oligonucleotide-primed amplification assay. J Infect Dis, 1998. 177:1308-13.

7. Van der Zee A, Verbakel H, Van Zon JC, Frenay I, Van Belkum A, Peeters M, Buiting A, Bergmans A: Molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* strains: comparison of repetitive element sequence-based PCR with various typing methods and isolation of a novel epidemicity marker. J Clin Microbiol, 1999. 37:342-349.

8. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep, 1995. 44:1-13.

9. Handwerger S, Raucher B, Altarac D, Monka J, Marchione S, Singh K, Murray BE, Wolff J, Walters B: Nosocomial outbreak due to *Enterococcus faecium* highly resistant to vancomycin, penicillin and gentamicin. Clin Infect Dis, 1993. 16:750-5.

10. Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, van Voorhis J, Matushek M, Slaughter S, Rice T, Weinstein RA: Epidemiology of colonization of pathogen and environment with vancomycin resistant enterococci. Lancet, 1996. 348:1615-19.

11. Pegues D, Pegues C, Ford D, Hooper D: Emergence and dissemination of a highly vancomycin resistant *van A* strain of *Enterococcus faecium* at a large teaching hospital. J Clin Microbiol, 1997. 35:1565-1570.