

Presencia de *Enterococcus* VanB a nivel intestinal en pacientes de la Unidad de hemodiálisis y cuidados intensivos del Hospital “Luís Ortega”, en Porlamar, Estado Nueva Esparta

Lorena Abadía-Patiño^{1*}, Yusmary Cedeño²

¹Grupo de Resistencia Bacteriana, Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, Vicerrectorado Académico, Universidad de Oriente. ²Departamento de Bioanálisis del Núcleo de Sucre de la UDO, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela

RESUMEN

Introducción: Pacientes hospitalizados, portadores de enterococos resistentes a los glicopéptidos, son una bomba de tiempo, ya que largas estadias y terapias antibióticas prolongadas, permiten la translocación de esas cepas y la aparición de endocarditis o infecciones del tracto urinario. **Metodología:** En un estudio realizado en las Unidades de hemodiálisis y Terapia Intensiva en el Hospital “Luís Ortega” de Porlamar en el primer semestre del año 2008, se muestrearon 54 pacientes. **Resultados:** El estudio molecular mostró la presencia de la especie *E. faecalis* (475 pb), sensible a linezolid, gentamicina, estreptomycin y teicoplanina. El genotipo de resistencia encontrado en las cepas fue *vanB* (647 pb). La prevalencia de cepas VanB fue de 4 % en el servicio de HD. Ninguno de los pacientes de Terapia Intensiva estaba colonizado por cepas con alto nivel de resistencia a glicopéptidos. **Conclusiones:** Los estudios de vigilancia epidemiológica son fundamentales para la detección de bacterias multiresistentes en pacientes hospitalizados y evitar su diseminación en los servicios.

Palabras clave: Enterococcus, resistencia, glicopéptidos.

SUMMARY

Introduction: Hospitalized patients with resistant to glycopeptides enterococci, are a time bomb, since long stays and prolonged antibiotic therapies allow the translocation of these strains and the occurrence of endocarditis or infections of the urinary tract. **Methodology:** In a study carried out on Hemodialysis and Intensive care wards on “Luís Ortega” Hospital, from Porlamar, during the first semester of 2008, 54 patients were sampled. **Results:** Molecular study shown *E. faecalis* specie (475 pb), susceptible to linezolid, gentamycin, streptomycin, and teicoplanin. Resistance genotype found was *vanB* (647 pb). Prevalence of VanB strains on HD ward was 4 %. No one patient of Intensive Care Unit had high level glycopeptides-resistant strains. **Conclusions:** Epidemiological surveillance studies are essential for the detection of multiresistant bacteria in hospitalized patients and avoid their dissemination in services.

Key words: Enterococcus, resistance, glycopeptides.

INTRODUCCIÓN

Enterococcus es una bacteria poco virulenta y se encuentra principalmente colonizando el intestino humano y de animales⁽¹⁾. De hecho, es más común la colonización intestinal de personas, que las infecciones causadas por esta bacteria⁽²⁾, pero se conoce como el principal patógeno de infecciones de vías urinarias, endocarditis e infecciones neonatales⁽¹⁾. Estudios epidemiológicos han demostrado que los principales factores de riesgo para adquirir infecciones asociadas al cuidado de la salud causadas por *Enterococcus* resistentes a vancomicina (VRE), son el uso de antibióticos, hospitalizaciones previas, hemodiálisis

*Autor de correspondencia: labadia@udo.edu.ve

crónica requerida⁽³⁾, procedimientos invasivos⁽⁴⁾, hospitalizaciones prolongadas⁽⁵⁾, entre otros. En Venezuela se han aislado VRE de pacientes con infecciones serias⁽⁶⁻¹¹⁾, pero no se habían hecho estudios de vigilancia epidemiológica de la colonización intestinal por estas bacterias. El laboratorio de Resistencia Bacteriana del IBCAUDO, realizó el primer y único proyecto multicéntrico de Venezuela para la detección de pacientes colonizados con VRE en los servicios de hemodiálisis (HD) y la unidad de cuidados intensivos (UCI), para evitar su diseminación y autoinfección⁽¹²⁻¹³⁾.

Debido a que la colonización intestinal por bacterias multirresistentes es un factor de riesgo de infecciones graves prevenibles por VRE, en este trabajo se planteó buscar los pacientes colonizados en hemodiálisis y UCI del Hospital "Luís Ortega" en Porlamar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de las muestras

El presente estudio se llevó a cabo en 54 pacientes, 31 eran del género masculino y 23 del género femenino, ingresados en UCI y HD del Hospital del Seguro Social "Luís Ortega" de Porlamar, Estado Nueva Esparta, durante los meses enero a junio de 2008, previo consentimiento firmado por cada paciente y cumpliendo con los criterios de bioética profesional. En la Unidad de hemodiálisis había 46 pacientes y en terapia intensiva 8 pacientes. Los pacientes de hemodiálisis tenían entre 3 meses y 4 años y los de UCI eran muestreados al ingresar al servicio. Dichos pacientes debían estar recibiendo tratamiento antibacteriano como cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos y/o glicopéptidos, por ser un factor de riesgo descrito. A cada paciente se le tomaron 3 hisopados rectales, uno por semana, para un total de 162 hisopados. Los hisopos se colocaron en medio de transporte Cary-Blair. Todos los hisopos fueron sembrados en placas con agar bilis esculina, en presencia y ausencia de 16 µg/ml de vancomicina, y se incubaron a 35°C durante 72 horas, con la finalidad de seleccionar *Enterococcus* con alto nivel de resistencia a vancomicina. Las colonias características, que crecieron en la placa en presencia del antibiótico fueron guardadas a -20°C.

Detección molecular a nivel de especie y de los genotipos de resistencia a los glicopéptidos

La identificación a nivel de especies de *Enterococcus* y las posibles ligasas de resistencia

se determinaron por medio de la reacción en cadena de la polimerasa múltiple, según metodología del alfabeto *van*⁽¹⁴⁾.

Realización de pruebas de susceptibilidad a los antibióticos

El perfil de susceptibilidad de las cepas se realizó por el método de difusión en agar. Los antibióticos probados fueron, vancomicina 30 µg, teicoplanina 30 µg, linezolid 30 mg, ciprofloxacina 5 µg, estreptomina 300 µg, gentamicina 120 µg y ampicilina 10 µg. Los discos de antibióticos se colocaron según normas establecidas por el manual MS100-S18 del Instituto de Control y Estándares de Laboratorio (CLSI), 2008. La cepa control para este estudio fue *E. faecalis* ATCC29212. La concentración mínima inhibitoria se determinó por el método de dilución en agar Mueller-Hinton, según el manual MS100-S18⁽¹⁵⁾. Las placas de agar que contenían diferentes concentraciones de vancomicina (0,5 a 128 µg/mL). La cepa control para este estudio fue *E. faecalis* V583.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las últimas décadas, se ha incrementado la frecuencia de aislamiento de *Enterococcus*, así como han ido adquiriendo nuevos mecanismos de resistencia a la mayoría de los antibióticos disponibles. La aparición de resistencia a glicopéptidos ha alarmado a la comunidad científica por varias razones: primero, la resistencia a vancomicina deja pocas opciones terapéuticas para su tratamiento; segundo, se han encontrado aislamientos clínicos de *S. aureus* que albergan el genotipo *vanA* proveniente de *Enterococcus*; tercero, los estudios epidemiológicos muestran diferentes presiones selectivas para la emergencia de ERV⁽¹⁶⁾.

Del total de pacientes muestreados, 85% procedía de HD y 15 % de UCI. Se obtuvieron 2 cepas de *Enterococcus* con crecimiento en presencia de vancomicina (16 µg/mL). Ambas cepas procedían de pacientes hemodializados de género masculino, quienes tenían 2 años (65 años) y 6 meses (30 años) asistiendo al servicio, respectivamente. El estudio molecular mostró que esas 2 cepas pertenecían a la especie *E. faecalis* (475 pb), presentando sensibilidad a linezolid, gentamicina, estreptomina y teicoplanina. La cepa 3G8 fue resistente para vancomicina y la cepa 3H9 presentó susceptibilidad disminuida a vancomicina. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de ambas cepas fue de 4 µg/mL a vancomicina. El genotipo de resistencia

encontrado en ambas cepas fue *vanB* (amplificado de 647 pb). La prevalencia de cepas VanB fue de 4 % en el servicio de HD.

El tracto gastrointestinal es indudablemente el mayor reservorio de ERV; varios estudios subrayan las características críticas de la colonización por ERV, señalando que el paciente portador "silencioso" de ERV es un importante factor en la diseminación nosocomial del microorganismo⁽¹⁷⁾. La relación infección /colonización de ERV difiere en cada población, en particular. Montecalvo y col.⁽¹⁸⁾, en una unidad oncológica, hallaron una relación de 10 pacientes con colonización intestinal por cada paciente infectado con ERV. Elizaga y col.⁽¹⁹⁾ observaron que 11 (19 %) de 59 pacientes colonizados con ERV serían identificados con los resultados de los cultivos clínicos únicamente. También, en un hospital sin casos clínicos conocidos de infección con ERV se encontraron portadores fecales de este microorganismo⁽²⁰⁾. Las evidencias sugieren que la emergencia y diseminación de estos patógenos son promovidas por pobres técnicas de control de infecciones y por la presión antibiótica selectiva⁽²¹⁾.

Debido a que estas cepas no fueron obtenidas de pacientes infectados sino colonizados, los médicos podían disminuir la posibilidad de que los pacientes se autoinfectaran siguiendo recomendaciones de control y diseminación de bacterias multirresistentes una vez conocidas las características de estas cepas, como hacer un uso racional de los antibióticos, ya que ambos pacientes estaban recibiendo vancomicina. Según Mutters y col.⁽⁵⁾, cuando se detectan pacientes infectados o colonizados por VRE, se deben observar al máximo todas las medidas higiénicas y de aislamiento. En dado caso de que se desarrolle un brote, se debe disponer de un personal exclusivo para atender a los pacientes implicados en el brote, emplear uniformes desechables y material de uso único o en su defecto, autoclavable. Otra medida que se debe adoptar, es la realización de estudios de colonización gastrointestinal por *E. faecalis* resistentes a glicopéptidos a los pacientes que hayan compartido habitación e incluso, en ocasiones, a todos los que se encuentren en la misma unidad donde se ha detectado el caso. Además, se deben realizar estudios transversales periódicos para evaluarla situación epidemiológica en la que se encuentra el hospital⁽²⁶⁾.

En Venezuela, la mayoría de los hallazgos reportados de *Enterococcus* son *E. faecium*^(6,11) identificados como *vanA* en el Hospital Militar "Carlos Arvelo" y en el Hospital "Dr. Domingo Luciani" en Caracas⁽⁸⁾. Sin embargo, Vásquez

y col.⁽²³⁾, reportan un caso de endocarditis por *E. faecalis* en el Hospital Militar "Carlos Arvelo".

En el oriente del país, los resultados obtenidos en el proyecto multicéntrico de despistaje de portadores de ERV desarrollado por el laboratorio de Resistencia Bacteriana del IIBCA UDO en el Hospital "Dr. Santos Aníbal Dominicci" en Carúpano, se aislaron cepas de *E. casseliflavus* y *E. gallinarum vanC* de pacientes de UCI y HD⁽²⁴⁾ y en el hospital Universitario "Dr. Luis Razetti" en Barcelona, se identificaron *E. faecalis vanB*, *E. gallinarum* y *E. casseliflavus vanC* en pacientes provenientes de UCI y HD⁽¹²⁾. Aumentar la concentración de vancomicina en el cribado redujo el número de aislamientos de enterococos móviles en este estudio.

En el Hospital "Luís Ortega" de Porlamar, se encontraron pacientes colonizados con cepas de *E. faecalis* genotipo *vanB*. En la literatura se ha informado que las cepas portadoras del operón *vanB* se caracterizan por niveles variables de resistencia a vancomicina CMI entre 4 y $\geq 1\ 000$ $\mu\text{g/mL}$) y sensibilidad a teicoplanina, hechos que se observaron en el presente estudio. En estos casos, a diferencia de la cepas *vanA*, la resistencia estaría inducida por vancomicina, pero no por teicoplanina, a pesar de que se han descrito mutantes resistentes a teicoplanina *in vivo*, tras tratamiento con vancomicina, y en animales de experimentación tratados con teicoplanina⁽²⁶⁾.

Como se puede observar, los resultados a partir de pruebas fenotípicas como (antibiogramas y CMI) no infieren el genotipo de resistencia. Las técnicas de epidemiología molecular resultan de gran utilidad para la detección, seguimiento y control de los brotes, pudiendo identificar en cada caso el elemento de diseminación, ya sea la propagación de un mismo clon, o la transmisión de elementos genéticos móviles como plásmidos o transposones. Por último, la correcta información y preparación del personal médico-sanitario, así como el uso racional de los antimicrobianos son también factores cruciales que contribuyen a evitar que este importante problema epidemiológico, se convierta en una alarma real⁽²²⁾.

La presencia de al menos una cepa portadora de un operón de resistencia a glicopéptidos transferible, constituye un enorme riesgo, debido al potencial de diseminación y transferencia bacteriana, por lo cual no debe subestimarse cuando de resistencia a glicopéptidos se refiere. La presencia de cepas de *E. faecalis* genotipo *vanB*, constituye un problema grave, al no estar el personal de salud en conocimiento de la presencia de portadores de VRE, convirtiéndose en los principales diseminadores⁽²⁶⁾.

CONCLUSIONES

En el Hospital "Luís Ortega" de Porlamar, se debe implementar un sistema de vigilancia de detección de colonizados por esta bacteria entre los pacientes críticos, ya que la presión selectiva antibiótica en los servicios de HD y UCI es alta, aumentando el riesgo de translocación de las bacterias intestinales, generando infecciones endógenas. Por otro lado, la metodología de asepsia y desinfección, debe ser revisada continuamente, ya que cuando un paciente colonizado está en un servicio, las bacterias pasan a su ambiente, permaneciendo por semanas de forma viable.

AGRADECIMIENTOS

Al consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (CI-2-040400-1254/05), así como a la Dirección de Planificación de la Universidad de Oriente (POA 2.4), por el financiamiento al Proyecto Estudio epidemiológico de cepas de *Enterococcus* resistentes a los glicopéptidos, aislados en pacientes hospitalizados en los cinco hospitales de referencia de la región nor-oriental.

REFERENCIAS

1. Arias C, Murray B. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2012;10:266-278.
2. Klare I, Witte W, Wendt C, Werner G. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Aktuelle Daten und Trends zur Resistenzentwicklung. *Bundesgesundheitsbl*. 2012;55:1387-1400.
3. Kee SY, Park CW, Lee JE, Kwon YJ, Pyo HJ, Western Dialysis Physical Association, et al. Healthcare-associated risk factors of vancomycin-resistant enterococci colonization among outpatients undergoing hemodialysis. *Jpn J Infect Dis*. 2012;65:57-60.
4. Haas EJ, Zaoutis TE, Prasad P, Li M, Coffin SE. Risk factors and outcomes for vancomycin-resistant *Enterococcus* bloodstream infection in children. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:1038-1042.
5. Mutters N, Mersch-Sundermann V, Mutters R, Brandt C, Schneider-Brachert W, Frank U. Control of the spread of vancomycin-resistant enterococci in hospitals. *Epidemiology and clinical relevance*. *Dtsch Arztebl Int*. 2013;110:725-731.
6. Guzmán A, Merentes A, Rizzi A, Ossenkopp J, Echeverría J, Valenzuela P, et al. Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* en el Centro Médico de Caracas, Enero 2002-Junio 2003. *Bol Ven Infectol*. 2003;14:1.
7. Mejías F, Montilla N, Payares D, Ojeda X, Paraqueimo M. Resistencia bacteriana a los antibióticos en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital "Dr. Domingo Luciani" Laboratorio de Bacteriología. Enero-Julio 2001. *Bol Ven Infectol*. 2003;14(1):20.
8. Montilla N, León Y, Payares D, Parequeimo M, Machado Y, Ojeda X, et al. *Enterococcus faecium* resistente

- a vancomicina con genotipo *vanA* en el Hospital "Dr. Domingo Luciani", Caracas Venezuela. *Bol Venez Infectol*. 2007;18(2):54.
9. Pineda M, Perozo-Mena A, Lleras A, Bonilla X, Méndez A, González M, Villalobos H. Primer reporte de *Enterococcus* resistente a vancomicina en el Estado Zulia. Centro de referencia Bacteriológica. Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo. Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. Jornadas Nacionales de Infectología "Homenaje al postgrado de Infectología pediátrica. Hospital JM de los Ríos". Abstract BA-16. 2007.
 10. Ruiz N, Velásquez de Azocar Y, Gayoso E, Moy F, Spadola E, Guzmán M, Hernández M. *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, reporte del primer caso en el Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo" y revisión de la literatura. *Bol Ven Infectol*. 2007;18(2):54.
 11. Silva M, Pitteloud J, Villarroel E, Figueredo A, Payares A, Sánchez D, et al. Aislamiento de *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina: características clínicas y epidemiológicas de los pacientes. Hospital Universitario de Caracas. 2005-2007. *Bol Venez Infectol*. 2007;18(2):73.
 12. Abadía-Patiño L, Tineo A. Pacientes colonizados con *Enterococcus faecalis* VanB, internalizados en el Hospital Universitario "Luis Razetti", Barcelona, Venezuela. *Bol Venez Infectol*. 2016;27:100-103.
 13. Abadía-Patiño L, Torrens M. Ausencia de pacientes colonizados con cepas de *Enterococcus* resistentes a antibióticos glicopéptidos en el Hospital Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar. *SABER*. 2016;28:363-365.
 14. Depardieu F, Périchon B, Courvalin P. Detection of the *van* alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2004;42:5857-5860.
 15. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility testing; 2008. 18th informational supplement, M100-S18. Wayne, Pa, USA.
 16. Muto C, Jernigan J, Ostrowsky B, Richet H, Jarvis W, Boyce J. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24(5):362-386.
 17. Beltrami E, Singer D, Fish L. Risk factors for acquisition of vancomycin-resistant enterococci among patients on a renal ward during a community hospital outbreak. *Am J Infect Contr*. 2000;28(4):282-285.
 18. Montecalvo M, De Lencastre H, Carraher M. Natural history of colonization with vancomycin resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1995;16(12):680-685.
 19. Elizaga M, Weinstein R, Hayden M. Patients in long-term care facilities: A reservoir for vancomycin resistant enterococci. *Clin Infect Dis*. 2002;4(4):441-446.
 20. Gordts B, Van Landuyt H, Ieven M, Vandamme P, Goossens H. Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *J Clin Microbiol*. 1995;33(11):2842-2846.
 21. Rice L. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis*. 2001;7(2):183-187.
 22. Maciá M, Juan C, Oliver A., Hidalgo O, Pérez J. Caracterización molecular de un brote por *Enterococcus faecalis* resistente a los glucopéptidos en una unidad de cuidados intensivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(8):460-463.

23. Vázquez I, Guzmán M, Ruiz N, Gayoso E, Moy F, Hernández M, et al. Endocarditis por *Enterococcus faecalis* en paciente trasplantado renal en el Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo" a propósito de un caso. Bol Venez Infectol. 2007;18(2):73.
24. Boada Y. Determinación de cepas de *Enterococcus* resistentes a antibióticos glicopéptidos en pacientes hospitalizados en el Hospital "Dr. Santos Aníbal Dominicci", Carúpano, Estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela. 2008.
25. Ardite J. Resistencia a la vancomicina en el género *Enterococcus*. Servicio de Microbiología C.S.U. de Belvitge. Hospital de Hobregat. 2000. <<http://www.seimc.org/control/reviBacte/pdf/envancor.pdf>>.
26. Panesso D, Reyes J, Rincón S, Díaz L, Galloway-Peña J, Zurita J, et al. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: A prospective, multicenter study in South American hospitals. J Clin Microbiol. 2010;48(5):1562-1569.