

Informe corto

Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”

Susceptibilidad *in vitro* a vancomicina de cepas de enterococos aisladas

Dr. Rafael Nodarse Hernández¹

Resumen

Se realizó la identificación hasta especie y se estudió la susceptibilidad *in vitro* de 50 cepas de enterococos, aisladas en el Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto” desde noviembre de 2001 hasta abril de 2002, frente a vancomicina. Esta investigación tuvo como objetivo conocer la posible aparición de cepas resistentes frente a este antibiótico, considerado como última opción en nuestro medio contra enterococos. La susceptibilidad fue estudiada por los métodos de difusión y dilución en agar, para lo cual hubo de construirse primero una curva de crecimiento del enterococo con el fin de estandarizar el inóculo inicial. La especie más identificada fue *Enterococcus faecalis* (78 %). No se detectó resistencia a vancomicina. Todos los enterococos estudiados resultaron ser altamente sensibles a este antibiótico.

Palabras clave: Enterococos, resistencia a antibióticos, vancomicina, susceptibilidad antimicrobiana.

El enterococo es una bacteria comensal del tracto intestinal del hombre, que fue reclasificada dentro del nuevo género *Enterococcus* en 1984 y cuyas principales especies son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, en primer y segundo orden, respectivamente. Desde finales de la década de los 80 e inicios de los 90 comenzó a emerger como uno de los más importantes agentes nosocomiales, responsables de bacteriemias, infecciones de heridas quirúrgicas y sepsis del tracto urinario.¹

El principal problema médico que comporta la infección por enterococos es su resistencia a los agentes antimicrobianos; esta puede ser de 2 tipos: intrínseca, derivada de sus genes cromosómicos, y extrínseca, como resultado de una diseminación clonal, plasmídica o por transposones, y se debe mayormente a la producción de enzimas que inactivan al agente antimicrobiano o a cambios en los sitios diana moleculares de este.²

Para el tratamiento de las infecciones enterocócicas se ha usado convencio.

nalmente la combinación de un antibiótico betalactámico (penicilina, ampicilina) más un aminoglucósido (gentamicina) lo que ejerce un efecto sinérgico y bactericida.¹

El aumento de la resistencia a esos fármacos, llevó al uso del glicopéptido vancomicina como principal alternativa terapéutica para tratar infecciones graves por enterococos, fundamentalmente de la especie *faecium*; pero ya desde mediados y finales de la década de los 80 se ha venido reportando resistencia a vancomicina, primero en Europa y después en Estados Unidos donde su incidencia ha ido en aumento en los últimos años.³⁻⁵

En la actualidad se han usado nuevas variantes terapéuticas como son Synercid, una combinación de las estreptograminas quinupristin-dalfopristin; la oxazolidinona Linezolid (Zyvox), así como evernimomicina y daptomicina, que han mostrado potente actividad antienterocócica.^{6,7}

En el hospital el enterococo ha ido aumentando paulatinamente su incidencia, tanto en número de aislamientos, como en salas y muestras donde está presente.

Motivados por todo lo anteriormente expuesto, se decidió realizar un estudio de la susceptibilidad *in vitro* de los enterococos aislados en este hospital frente a vancomicina, para detectar si ya la resistencia antes enunciada estaba presente en este medio.

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto” desde noviembre de 2001 hasta abril de 2002.

Se utilizaron 50 cepas de enterococos aisladas de pacientes, tanto ingresados como ambulatorios, así como la cepa de referencia *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

La identificación de las cepas se realizó según esquemas establecidos y su clasificación hasta especie se efectuó utilizando los carbohidratos arabinosa y sorbitol en medio líquido.⁸

La susceptibilidad *in vitro* de los enterococos frente a vancomicina fue estudiada por el método de difusión con discos, que es el normado para pruebas rutinarias de sensibilidad, y por el método de dilución en agar, utilizado en estudios muy puntuales, que brinda el valor de la concentración mínima inhibitoria cuando no se observa crecimiento en la placa correspondiente a la menor concentración del antibiótico.⁹

Por la imposibilidad del enterococo en alcanzar la turbiedad requerida para estandarizar el inóculo inicial en los métodos ya señalados, se hizo necesario realizar una curva de crecimiento siguiendo la técnica ya descrita por el autor de este trabajo,¹⁰ con la finalidad de ajustar debidamente dicho inóculo.

En la tabla 1 se muestran las especies de enterococos que fueron identificadas.

Tal y como está reportado en el humano, *Enterococcus faecalis* fue la especie más aislada (78 %), seguida por *Enterococcus faecium*, (12 %), y en menor medida otras especies (*durans* y *avium*).

TABLA 1. Especies de enterococos aisladas

Especies	No.	%
<i>E. faecalis</i>	39	78
<i>E. faecium</i>	6	12
<i>E. durans</i>	3	6
<i>E. avium</i>	2	4
Total	50	100

En la tabla 2 se puede observar, de forma combinada, los resultados obtenidos al probar las 50 cepas de enterococos frente a vancomicina, por ámbos métodos.

Por el método de difusión todas las cepas fueron sensibles a vancomicina, con halos de inhibición promedios de 15 mm. Dichas cepas fueron todas inhibidas igualmente por el método de dilución, desde la concentración más alta utilizada (8 µg/mL), hasta la más baja (1µg/mL). Es conveniente aclarar que no fue posible probar concentraciones más bajas del antibiótico debido a no contar con balanzas que permitieran pesadas tan extremas.

TABLA 2. Susceptibilidad *in vitro* de las cepas de enterococos aisladas frente a vancomicina (n=50)

Método de difusión	Método de dilución (CMB)					
Categoría	No.	X halos	8 µg/mL	4 µg/mL	2µg/mL	1 µg/mL
Sensibles	50	15	50	50	50	50
Intermedios	0					
Resistentes	0					

CMB: concentración mínima bactericida.

Criterios de sensibilidad: difusión=12 mm; dilución=4 mm.

En relación con las especies de enterococos aisladas, estos resultados coinciden ampliamente con lo hallado por otros autores, si bien el porcentaje de aislamiento nuestro, *E. faecalis* 78 % y *E. faecium* 12 %, difiere un poco en cuanto a valor numérico, ya que en esos trabajos el porcentaje es mayor del 80 % y menor de 10 %, respectivamente, tanto en el extranjero^{11,12} como en Cuba.^{1,2} Es posible que la diferencia sea debida a los esquemas clasificadores utilizados.

En cuanto a la susceptibilidad a vancomicina quedó bien establecido que ninguna cepa fue resistente a

dicho antibiótico e incluso todas los enterococos estudiados resultaron ser muy sensibles a este, como lo demuestran los valores de los halos de inhibición (promedio: 15 mm), muy superiores a la cifra criterio de sensibilidad de 12 mm y la baja concentración bactericida alcanzada (1µg/mL), muy por debajo de la cifra criterio de sensibilidad de 4 µg/mL.

Este resultado confirma lo planteado por otros autores nacionales, tanto de instituciones hospitalarias como de centros referenciales que plantean que en nuestro país todavía no existe resistencia a vancomicina (D. Quiñones, del IPK; L. González, del Hospital “América Arias” y O. Bello, del CIMEQ-CQF, en sus respectivos trabajos sobre el tema, presentados en el VI Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología, celebrado en La Habana, en noviembre de 2002).

Por lo tanto, en nuestro hospital vancomicina sigue constituyendo una herramienta segura en manos del médico de asistencia para enfrentar sepsis graves producidas por enterococos.

Summary

In vitro susceptibility of isolated *Enterococcus* strains to vancomycin

50 *Enterococcus* strains isolated at “Luis Díaz Soto” Institute of Military Medicine from November 2001 to April 2002 were identified up to the species category and their in vitro susceptibility to vancomycin, was studied. This research was aimed at knowing the possible appearance of strains resistant to this antibiotic, considered as the last option against *Enterococcus* in our environment. The susceptibility was studied by the methods of diffusion and dilution in agar, for which an *Enterococcus* growth curve was constructed to standardize the initial inoculum. *Enterococcus faecalis* was the most identified species (78 %). No resistance to vancomycin was detected. All the studied *Enterococcus* proved to be highly sensitive to this antibiotic.

Key words: *Enterococcus*, antibiotic resistance, vancomycin, antimicrobial susceptibility.

Referencias Bibliográficas

1. Quiñones D. Enterococos. En: Llop A. Microbiología y Parasitología Médicas. Cap. 20, tomo 1. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 2001. p. 179-92.
2. _____. Fenotipos de resistencia antimicrobiana y genes de resistencia en *Enterococcus* sp de importancia clínica en Cuba. Rev Latinoam Microb. 2002;44(4):150.
3. Routsis C. First emergence of glycopeptide-resistant enterococci infection in Greece. Scand J Inf Dis. 2001;33:80.
4. Schouten MA. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. Antimicrob Agents Chem. 1999;43:2542-6.
5. Murray BE. Vancomycin-resistant infections. N Eng J Med. 2000;342:700.
6. Hussain Z. Successful treatment of vancomycin-resistant *E. faecium* meningitis with Linezolid. Scand J Inf Dis. 2001;33:75-9.

7. Murray BE. Problems and perils of vancomycin-resistant enterococci. *Braz J Infect Dis.* 2000;4(1):9-14.
8. Bridson E. *The OXOID Vade-Mecum of Microbiology.* Basingstoke: Unipath Ltd; 1993. p. 32.
9. Rodríguez C. Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos. En: Llop A. *Microbiología y Parasitología Médicas.* Cap 151, t 3. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 2001. p. 609-18.
10. Nodarse R. Modificación de la técnica de discos estandarizada de Kirby y Bauer para pruebas de sensibilidad del estreptococo beta-hemolítico del grupo A. *Rev Cubana Pediatr.* 1987;59(2):173-6.
11. Wallrauch C. Antibiotic resistance of enterococci in Germany. *Med Klin.* 1997; 92(8):464-8.
12. Mc Namara EB. A survey of antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Enterococcus* sp from Irish hospitals. *J Antimic Chemoth.* 1995;35(1):85.

Recibido: 18 de julio de 2005. Aprobado: 22 de agosto de 2005.

Dr. *Rafael Nodarse Hernández.* Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”. Avenida Monumental, Habana del Este, CP 11 700, Ciudad de La Habana, Cuba.

¹**Especialista de II Grado en Microbiología. Profesor Asistente. Investigador Auxiliar.**