

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
“ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES”**

**“BÚSQUEDA DE HETERORESISTENCIA A VANCOMICINA EN
STAPHYLOCOCCUS COAGULASA NEGATIVA, EN LAS
UNIDADES DE CUIDADOS NEONATALES DEL INSTITUTO
NACIONAL DE PERINATOLOGIA”**

**TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN:**

INFECTOLOGIA

PRESENTA: DR. ALDO FRAGOSO DÍAZ

**TUTOR: DR. JESUS REYNA FIGUEROA
COTUTOR: QBP. GRACIELA VILLEDA GABRIEL**

MÉXICO, DF. 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**“BÚSQUEDA DE HETERORESISTENCIA A VANCOMICINA EN
STAPHYLOCOCCUS COAGULASA NEGATIVA, EN LAS
UNIDADES DE CUIDADOS NEONATALES DEL INSTITUTO
NACIONAL DE PERINATOLOGIA”**

APROBACION DE TESIS

**DR. JOSE JORGE ESPINOZA CAMPOS
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”**

**DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE INFECTOLOGIA
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”**

**DR. JESUS REYNA FIGUEROA
DIRECTOR DE TESIS
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”**

**QBP. GRACIELA VILLEDA GABRIEL
COTUTORA DE TESIS
INPer “Isidro Espinosa De Los Reyes”**

INDICE

1. INDICE	3
2. INTRODUCCION	4
3. RESUMEN	6
4. ABSTRACT	7
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
6. MARCO TEORICO	9
7. JUSTIFICACION	13
8. OBJETIVO	14
9. HIPOTESIS	15
10. MATERIAL Y METODOS	16
11. RESULTADOS	19
12. DISCUSION	23
13. CONCLUSIONES	25
14. BIBLIOGRAFIA	26

INTRODUCCION

La sepsis es una importante causa de morbilidad y mortalidad en nuestro país ,principalmente en el grupo neonatal, Siendo causa de muerte de 5000 neonatos al año, el 90% en países en vías de desarrollo, en estos es la causa del 30 al 40% de las muertes. En México la tasa es de 4 a 15.4 casos por cada 1000 recién nacidos vivos.

La sepsis neonatal se puede clasificar en temprana y tardía, la primera tiene gran relación con factores maternos por lo tanto las bacterias mas frecuentemente aisladas son las enterobacterias; y la tardía es la que se adquiere posterior a los tres días de vida con implicación de los factores del huésped y de los microorganismos, los factores del huésped que influyen son la prematuridad principalmente (lo cual implica mas días de estancia hospitalaria , además de invasión con catéteres intravasculares, cánulas endotraqueales, nutrición parenteral) y patologías asociadas (en relación con cirugías).

Los microorganismos relacionados con mas frecuencia en la sepsis neonatal tardía son los *Staphylococcus* coagulasa negativa (aislamientos en INPer del 62%), estas bacterias tenían la peculiaridad de haber sido consideradas hace algunos años como microorganismos colonizadores (los neonatos en 24 hrs ya se encontraban con colonización en región umbilical) por lo tanto en su mayoría se asumían como contaminantes de cultivos de líquidos corporales y no se le daba la importancia clínica que merecía.

Posteriormente sobrevino el cambio en la epidemiología de los agentes etiológicos de la sepsis neonatal tardía donde los cocos gram positivos se posicionaron de la causa principal, desplazando a los bacilos gram negativos, esto puede deberse además por el incremento de sobrevivencia de los pacientes prematuros (vide supra), el uso de antimicrobianos, y principalmente el considerar a los *Staphylococcus* coagulasa negativa como agentes patógenos.

A finales del siglo pasado surgieron cepas de *Staphylococcus aureus* que desarrollaron resistencia a la penicilina , para que en los 80's se describieran los primeros casos de resistencia a meticilina por *S. aureus* en pacientes con infecciones nosocomiales, lo que ocasiono un incremento en el uso de vancomicina para este tipo de microorganismos a principios de los 90's , lo que creo una selectividad en algunas cepas de *S. aureus* y en los *S. coagulasa*

negativa que fueron disminuyendo la susceptibilidad a los glucopeptidos, fue en el año de 1997 cuando en Japón se reporto el primer caso de *S. aureus* con susceptibilidad reducida a vancomina y teicoplanina, en ese mismo año se reportaron dos casos en E.U.A. En base a eso se han continuado realizando trabajos en todo el mundo en búsqueda de resistencia a vancomicina no solamente de *Staphylococcus aureus* sino también por los *Staphylococcus coagulasa negativa*.

Una de las características principales de los *Staphylococcus coagulasa negativa* es la resistencia que presentan a la meticilina por lo cual el tratamiento empírico en las unidades de cuidados neonatales en el INPer es a base de vancomicina desde hace mas de una década. La detección de estos microorganismos se realiza mediante el sistema automatizado Bact/Alert 3D con antibiogramas reportados con sensibilidad menor de 2 µg/ml con lectura automatizado lo cual solo nos mencionaría la ausencia de resistencia homogénea, pero como saber si estas mismas cepas presentan resistencia heterogénea, lo cual se explica que 1 de cada 100,000 células hijas va presentar resistencia mayor de 8 µg/ml para vancomicina. Esto no sabemos si pueda ser un factor predisponente, transmitiendo información para generar resistencia a toda la cepa, para posteriormente presentar resistencia homogénea.

Hay reportes de pacientes con mala evolución clínica en bacteremias por *Staphylococcus* con sensibilidad reducida a vancomicina.

De ahí la importancia de detectar este tipo de resistencia en las cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa* del Instituto Nacional de Perinatología para preparar el escenario si se llegase a aislar una bacteria con resistencia homogénea.

RESUMEN

INTRODUCCION: La sepsis neonatal es una enfermedad frecuente en esta edad y causa de hospitalizaciones en las terapias neonatales. La etiología ha variado en si por el uso de antimicrobianos, incremento en la sobrevida y la invasión que requieren estos pacientes. Los agentes frecuentemente aislados son los *Staphylococcus* coagulasa negativa, estos microorganismos se caracterizan por la resistencia que presentan a oxacilina, lo cual ha implicado tratamiento de manera inicial con vancomicina en infecciones nosocomiales. La resistencia de los *Staphylococcus* a antimicrobianos se ha presentado desde el siglo pasado, primero a penicilinas, posterior a penicilinas semisintéticas y en la última década a vancomicina.

OBJETIVO: Conocer la epidemiología hospitalaria de los *Staphylococcus* coagulasa negativa aislados en los pacientes en las unidades de cuidados neonatales presentan heteroresistencia a Vancomicina y saber si se han incrementado los casos.

MATERIAL Y METODOS: Los aislamientos de *S. coagulasa* negativa a partir de hemocultivo, LCR y puntas de catéter de pacientes con sepsis, diagnóstico que se realizó de acuerdo a los criterios de la escala NOSEP – 1. Ya identificadas se indujo heteroresistencia con aztreonam, aquellas que presentaron satelitismo, se sembraron cada 24 hrs en 5 ocasiones y las cepas obtenidas se colocaron en discos con vancomicina a concentraciones de 0,4,8,16 y 32 µg/ml considerándolo estable a vancomicina si desarrollaba colonias a 8 µg/ml.

RESULTADOS: Se revisaron 52 cepas de *S. coagulasa* negativa de las cuales en 17 cepas presentaron inducción a la heteroresistencia de vancomicina a 4 µg/ml lo cual corresponde al 32%, solo 4 continuaron con estabilidad ante la vancomicina (concentración de 8µg/ml de vancomicina) los cual nos da un 7.6%.

CONCLUSIONES: La heteroresistencia a vancomicina de los *Staphylococcus* coagulasa negativa se ha incrementado, no se sabe si es un paso previo para una disminución de la susceptibilidad a vancomicina, resistencia; y ya conociéndose algunos factores de riesgo, tratar de actuar a este nivel para evitar el fenómeno que pareciera ser cada vez más frecuente.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Sepsis neonatal is a frequent disease in this age and cause of hospitalizations in the neonatal therapies. Aetiology has varied by the use of antimicrobials, premature and the invasion that require these patients. The frequently isolated agents are the *Staphylococcus coagulase negative*, these microorganisms characterize themselves by the resistance that present to oxacilina, which has implied treatment of initial way with vancomycin in hospital-acquired infections. The resistance of the *Staphylococcus* to antimicrobials has appeared from the last century, first a penicillins, subsequent to semisynthetic penicillins and in it decade to vancomycin.

OBJECTIVE: To know hospitable epidemiology the *Staphylococcus coagulase negative* isolated in the patients in the units of neonatal cares presents heteroresistance to Vancomycin and knowledge if the cases have been increased.

MATERIAL AND METHODS: The isolations of *S. coagulase negative* from hemoculture, LCR and catheter of patients with sepsis, diagnosis according to the criteria of scale NOSEP - 1. Already identified heteroresistance with aztreonam was induced, those that presented satelitismo, to cultivate each 24 hrs in 5 occasions and the obtained stocks were placed in discs with vancomycin with concentrations of 0,4,8,16 and 32 μ g/ml, having considered it stable to vancomycin if grow up in 8 μ g/ml.

RESULTS: 52 stocks of *S. coagulasa negative* were revised of which in 17 stocks presented induction to the heteroresistance which corresponds to 32%, 4 only continued with stability of vancomicina to 8 μ g/ml of vancomycin what gives (concentration of 8 μ g/ml) 7,6% .

CONCLUSIONS: The heteroresistance to vancomycin of the *Staphylococcus coagulase negative* has been increased, is not known if it is a previous step for a diminution of the susceptibility to vancomycin, resistance; and already knowing some factors risk, to try to act at this level to avoid the phenomenon that more and more seemed to be frequent.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En el Instituto Nacional de Perinatología existen reportes de cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa que presentan heteroresistencia a vancomicina, será importante investigar si se continua presentando este fenómeno en las cepas del Instituto Nacional de Perinatología o incluso si se han incrementado los casos.

MARCO TEORICO

Los *Staphylococcus*, son cocos grampositivos, de la familia Micrococcaceae productores de catalasa, formando grupos en formas de racimos. De manera inicial se diferencia entre los *Staphylococcus* con la falta de producción de la enzima coagulasa.

Los estafilococos más importantes clínicamente son 15 especies. Siendo *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* los patógenos más importantes en los humanos (1).

Los *Staphylococcus* coagulasa negativa aparecen a menudo como contaminantes en los cultivos de muestras clínicas, pero pueden ser patógenos verdaderos. Las infecciones por *Staphylococcus* están relacionadas con la presencia de cuerpos extraños, como es el caso de catéteres intravasculares.

S. epidermidis es la especie más frecuentemente aislada en la piel limpia y mucosas, constituye del 65 a 95% de los *Staphylococcus* implicados; *S. hominis* es el segundo en frecuencia (1).

La importancia de estos microorganismos es que en un 83% de los neonatos a los 4 días de vida se encuentra colonizado por *S. epidermidis*. La mayoría de los infantes se coloniza por contacto con el medio, incluyendo el personal, y solo un pequeño porcentaje son colonizados por transmisión vertical.

La ubicuidad de estos organismos y la resistencia a los cambios de temperatura explican el porque el incremento como agentes patógenos en la etapa neonatal (2).

Se han observado cambios en la microbiota, en los cuales se ha reducido la colonización de un microorganismo y se ha incrementado por otros; tal es el caso de los cuidados en el neonato como la asepsia y antisepsia; el uso de antimicrobianos que han disminuido la colonización por *S. aureus* y han favorecido la presencia de *S. epidermidis* y otros *Staphylococcus* coagulasa negativa (2).

En las últimas décadas la etiología de la sepsis de inicio tardío (> 3 días) ha sufrido cambios por situaciones explicadas anteriormente, en la década de los 80's los microorganismos que con más frecuencia se aislaban fueron

Staphylococcus aureus y bacilos gram negativos para que en la actualidad los *Staphylococcus* coagulasa negativa se encuentren como la principal causa (4). La susceptibilidad para infecciones nosocomiales en neonatos prematuros resulta por la suma de diversos factores, como son la inmadurez del sistema humoral y celular, incremento de procedimientos invasivos como colocación de catéteres intravasculares, por el tipo de material que los conforma, la nutrición parenteral prolongada.

The North American SENTRY Antimicrobial Surveillance Program reporta en un periodo de enero de 1997 a septiembre del 2000 la frecuencia de bacterias aisladas de 25 745 hemocultivos, fueron tres los agentes causales aislados principalmente: *S. aureus*, *Escherichia Coli* y *Staphylococcus* coagulasa negativa, de manera conjunta sumaron el 55% de los microorganismos aislados. Los *Staphylococcus* coagulasa negativa fueron los microorganismos patógenos aislados con mas frecuencia de hemocultivos en lactantes menores de 1 año (3).

La Vancomicina es un glucopeptido descubierto en 1955 a partir de una cepa de *Streptomyces orientalis*, obtenida a partir de tierra de Borneo, se introdujo a la clínica en el año 1958, como tratamiento para especies de cocos gram positivos.

El mecanismo de acción es en la segunda fase de la síntesis de la pared bacteriana inhibiendo la formación de peptidoglucano, interfieren en la formación del precursor D-alanil –D-alanina, afectando la permeabilidad de la membrana citoplasmática.

El espectro es contra bacterias grampositivas, entre ellos *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus* coagulasa negativa; *Enterococcus faecalis* y *E. faecium*, *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina, con espectro secundario contra *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Listeria spp.*, y *Bacillus spp.*

Su uso se incremento en los últimos 20 años principalmente por el surgimiento de *Staphylococcus* meticilinoresistente.

El reporte de diciembre del 2000 del National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS); menciona que los *Staphylococcus* coagulasa negativa resistentes a meticilina en las unidades de cuidados intensivos es de un 75%, mientras que para *Staphylococcus aureus* es de 47%. Por lo que vancomicina

ha sido el antibiótico de elección en la última década en infecciones nosocomiales; lo cual puede seleccionar las cepas de acuerdo a su susceptibilidad.

En los *Staphylococcus* coagulasa negativa, Hanaki y cols. mencionan que la heteroresistencia de los *Staphylococcus* se debe a la producción de tres a cinco veces más de la proteína fijadora de penicilina 2 y 2' lo cual incrementaría el número de precursores de la membrana celular y provocaría el atrapamiento de la vancomicina de manera extracelular. (12).

Además otra teoría es la de la amidación de los residuos de glutamina en los muropeptidos de la membrana celular, lo cual reduciría los enlaces cruzados lo cual disminuiría los blancos donde actuaría la vancomicina (13).

En las guías de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) designan como *Staphylococcus* **susceptible** a Vancomicina cuando la MIC es menor de 4 µg/ml, considerando **intermedia** la que va de 8 a 16 µg/ml y **resistente** aquellos cuya MIC es mayor de 32 µg/ml.

Heteroresistencia de un aislamiento es aquel que contiene en la misma cepa, dos tipos de células, una que es la población mayoritaria susceptible a Vancomicina y la minoría con resistente, la relación sería de 1:100,000 con la característica de que esta célula hija presenta una CMI de 8 µg/ml para la vancomicina (14).

Los métodos de identificación de la susceptibilidad a los glucopeptidos se describe que puede ser a través de la difusión en disco o también por el MicroScan (6).

Uno de los primeros estudios al respecto de la heteroresistencia se realizó en Hong Kong el Dr. Wong en el cual detalla su técnica para inducir heteroresistencia a vancomicina, y posteriormente analizó los factores de riesgo encontrados en sus pacientes que presentaron bacteremia por *Staphylococcus* heteroresistente, los datos que él menciona son el ingreso a la unidad de cuidados intensivos, el uso previo de vancomicina o betalactámicos como tratamiento.

En base a sus aislamientos realizó un estudio de casos y controles, en los cuales la mortalidad del grupo de heteroresistencia fue del 44% y del grupo control del 10% (16).

S. haemolyticus es el primer estafilococo en mostrar resistencia a la vancomicina, aunque algunos *S. epidermidis* han evidenciado una reducida sensibilidad a glucopeptidos.

En Sudamérica existe el reporte de un caso en Colombia de *Staphylococcus cohnii* en el 2006 en el cual se encontró con una Concentración Mínima Inhibitoria para vancomicina de 64 mcg/ml, esto en liquido pleural de un niño de 5 años, con diagnostico de empiema recibiendo dos dias el tratamiento con vancomicina posteriormente falleció. (10).

En el Instituto Nacional de Perinatología en el año 2005 en México se reporto un caso en neonato con una Neuroinfección por *Staphylococcus haemolyticus* con heteroresistencia a vancomicina detectada mediante la técnica de Wong, esta cepa con el sistema semiautomatizado presento sensibilidad a vancomicina (11).

JUSTIFICACION

Los *Staphylococcus* coagulasa negativa aislados en las Unidades de Cuidados Neonatales del Instituto Nacional de Perinatología son los microorganismos mas frecuentes en relación con la sepsis neonatal tardía. Tienen la característica de presentar resistencia a oxacilina, por lo que desde hace más de 14 años la terapia empírica inicial es con vancomicina aunado a una cefalosporina de tercera generación.

Es bien conocido que los antibióticos pueden ejercer selección de cepas en las cuales solo las que presentan algún mecanismo de resistencia son las que sobrevivirán.

Existen teorías como la de la adquisición del gen *mecA* (gen de resistencia a oxacilina) por parte de *S. aureus* que fue transferido de los *Staphylococcus* coagulasa negativa. Se piensa que la condición de heteroresistencia presentada por *S. coagulasa* negativa pueda en algún momento generar que todas las células hijas presenten resistencia a vancomicina y que la cepa presente disminución en la sensibilidad a vancomicina.

Además de que será importante conocer si la heteroresistencia puede afectar la respuesta al tratamiento, ya que en ese aspecto algunos autores describieron incremento de la mortalidad en las infecciones por estas cepas, esto demostrado por estudio de casos y controles.

OBJETIVOS

1. Conocer la epidemiología intrahospitalaria de los *Staphylococcus* coagulasa negativa aislados en los pacientes en las unidades de cuidados neonatales presentan heterorresistencia a Vancomicina.
2. Conocer si se ha incrementado el numero de cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa con heteroresistencia en las unidades de cuidados neonatales.

HIPOTESIS

1. En las Unidades de Cuidados Neonatales del Instituto Nacional de Perinatología existen cepas con *Staphylococcus* coagulasa negativa que presentan heteroresistencia a Vancomicina y son causantes de sepsis en este grupo de edad.

MATERIAL Y METODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Descriptivo, transversal, observacional.

SITIO DE REALIZACION

Instituto Nacional de Perinatología en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales y de Cuidados Intermedios, Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes".

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO Y PROCEDIMIENTOS:

PACIENTES

Se incluyeron en el estudio cultivos de recién nacidos hospitalizados en la UCIN o UCIREN con sospecha de sepsis según el criterio de neonatólogo tratante y a quienes se les solicitó estudios por sospecha de infección después de las 72 hrs. de vida, dentro los cuales se encuentran hemocultivo, toma de líquido cefalorraquídeo, punta de catéter, de donde se puede aislar alguna especie de *Staphylococcus* coagulasa negativa como microorganismo único, biometría hemática y proteína C reactiva; independientemente de la edad gestacional, el sexo, uso de antimicrobianos, sin límites en el número de eventos por paciente durante su estancia hospitalaria.

Para descartar que se trate de contaminación, todos los pacientes contarán con la escala de NOSEP- 1 positiva, además considerando que el cultivo por *Staphylococcus* coagulasa negativa se considerará como patógeno si es positivo el cultivo antes de las 72 hrs., si es microorganismo único, y presenta escala NOSEP 1 positiva.

IDENTIFICACION:

Los estafilococos coagulasa negativa aislados de hemocultivo, líquido cefalorraquídeo, punta de catéter.

1. Se inocularon las muestras de sangre o LCR en las botellas pediátricas del Sistema BacT- ALERT, una vez detectado como cultivo

- positivo se realizo tinción de Gram para ver morfología microscópica y se sembrara la muestra en medios selectivos.
2. Si se trato de una punta de catéter esta se coloca en un medio de cultivo, y si posteriormente viro el color del medio se sembró la muestra en medios selectivos.
 3. Si el aislamiento corresponde a un coco gram positivo se sembró en el medio de agar sangre de carnero, y se incubo en una estufa de CO₂ a 37oC durante 24 hrs.
 4. Con el sistema Pront se picaron 3 a 5 colonias aisladas con la misma morfología y se suspenden en una solución de agua estéril, agito en varias ocasiones.
 5. La suspensión bacteriana se vació en una charola y se inoculo el panel con ayuda del Renok y se adiciono aceite mineral a las reacciones enzimáticas que requieren llevarse a acabo en condiciones de anaerobiosis, se tapo el panel y se incubara en la estufa a 37oC durante 24 hrs.
 6. Posteriormente la lectura del panel se realizo mediante el sistema automatizado de Micro scan (Auto Scan) se utilizo los paneles para cocos grampositivos PC 20 el cual interpreto las reacciones enzimáticas, dando como resultado la identificación de la especie, de igual modo interpreto la concentración mínima inhibitoria de los antibióticos, en donde se reporto también la susceptibilidad a los antimicrobianos amoxicilina/clavulanato, ampicilina, cefazolina, ciprofloxacina, clindamicina, cloramfenicol, eritromicina, gentamicina, imipenem, levofloxacino, linezolid, nitrofurantoina, oxacilina , penicilina, Piperacilina tazobactam, rifampicina, tetraciclina, trimetropim /sulfametoxasol y vancomicina.
 7. Al ser identificados con *Staphylococcus* coagulasa negativa y corroborada la susceptibilidad y en dado caso la resistencia a metilicina se procede a inducir heteroresistencia.

INDUCCIONDE HETERORESISTENCIA A VANCOMICINA:

1. Se sembraron las cepas en el medio de agar de sangre de carnero, y se incuban a 37oC durante 24 horas.

2. Se realizo una suspensión bacteriana en caldo BHI ajustando al número 1 de Mc Farland. Se inocularon 100 μ l de la suspensión bacteriana a una placa de agar BHI que contiene una concentración de vancomicina a 8 μ g/ml, el inculo se difundió en toda la superficie del agar, se dejo secar el inculo aproximadamente 5 minutos y se adiciona un disco de aztreonam 30 μ g/disco. Se inocularon placas por duplicado.
3. Se revisaron a las 24 y 48 horas, buscando satelitismo alrededor del disco de Aztreonam.

- ESTABILIDAD A VANCOMICINA:

1. Las colonias crecidas alrededor del disco se resembraron durante 5 días consecutivos en agar sangre de carnero.
2. La ultima resiembra se inculo en un tubo con caldo BHI, se ajusto a una turbidez de 2 de Mc Farland, y se depositaron 40 mcl a una serie de placas que contienen diferentes concentraciones de vancomicina 0, 4, 8, 16 y 32 mcg/ml. Revisaron a las 24 y 48 hrs.

Las cepas que volvieron a crecer hasta la concentración de 8 mcg/ml, se consideraran como estables a la vancomicina.

RESULTADOS

Se analizaron 52 cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa* las cuales se obtuvieron de 21 de hemocultivos, 27 de puntas de catéter y 4 de LCR, estas muestras procedían de 45 pacientes.

	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
Hemocultivo	21
LCR	4
Catéter	27

Respecto a las especies aisladas 46 se trataron de *Staphylococcus epidermidis* (88%), 4 de *S. hominis* (8%) y 2 de *S. haemolyticus* (4%).

	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. hominis</i>
Hemocultivo	17	1	2
LCR	2	1	1
Catéter	27	0	1

De estos pacientes solamente en 14 se pudo sustentar el diagnóstico de sepsis mediante la escala de NOSEP-1 positiva, 9 de ellos con aislamiento de hemocultivos, 4 de puntas de catéter y 1 de LCR.

De las 52 cepas analizadas, de las cuales 17 cepas presentaron inducción a la heteroresistencia de vancomicina a 4 µg/ml 32% , de las cuales solo 4 continuaron con estabilidad ante la vancomicina (concentración de 8µg/ml de vancomicina) los cual nos da un 7.6% .

De las 4 cepas fueron de *S. epidermidis*, de los cuales 2 fueron de punta de catéter y otras 2 de hemocultivo.

De estos aislamientos 3 pacientes cursaron con sepsis con Escala NOSEP – 1 positiva, dos fueron de punta de catéter y uno de hemocultivo.

La evolución clínica de los pacientes con sepsis (avalado por Escala de NOSEP-1) en los dos casos que se aislaron de catéter no se encontró mala evolución clínica, un caso falleció pero una vez terminado el tratamiento, por una causa no relacionada con infección (hemorragia intraventricular).

Pero en el caso del aislamiento de hemocultivo de *S. epidermidis* la evolución fue mala en los primeros 7 días, persistencia de fiebre y taquicardia, posteriormente con mejoría en datos clínicos.

La sensibilidad reportada a otros antibióticos de los 4 casos de *Staphylococcus* heteroresistentes a vancomicina fue de resistencia a oxacilina (100%), clindamicina (100%), eritromicina (100%), linezolid (25%), rifampicina (0%), cloranfenicol (100%) y vancomicina (0%).

Durante la identificación de las cepas, sucedió que en el caso 1 en la identificación después de 48 hrs de incubación la cepa del *Staphylococcus epidermidis* presento disminución de la susceptibilidad a vancomicina incrementándose de > 2 µg/ ml a 4 µg/ml sin haber realizado inducción a la heteroresistencia.

CASO 1.

Fue el aislamiento de *Staphylococcus epidermidis* de una punta de catéter de febrero de 2008 durante la estancia en UCIREN 2, el paciente Femenino con 40 días de estancia hospitalaria, con los diagnósticos de ingreso de recién nacido de término hipotrofico, hijo de madre hipotiroidea, gastrosquisis; durante su nacimiento con liquido amniótico meconial en neonato no vigoroso, laringoscopia positiva con APGAR 2-9 , requiriendo de manejo por 40 hrs con fase III de ventilación , periodo en el cual se realiza cierre de pared abdominal,

durante este episodio, se manejo con esquema de cefotaxima vancomicina a dosis neonatales por tres dias antes del cierre del defecto abdominal posterior a la cirugía se suspenden antibióticos. A los 24 dias de vida con presencia de fiebre, taquicardia, cambios vasomotores, con una Biometría hemática solo con plaquetopenia (26 mil) de manera empírica se inicia cefotaxima / vancomicina por tres dias como esquema empírico, se toma hemocultivo hallando *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii* y *Enterococcus faecalis* se hacen ajustes al manejo de acuerdo a la sensibilidad, se deja con meropenem y amikacina por 14 dias, a los dos dias de este manejo se menciona mejoría en la clínica presentada , para finalmente egresarse sin complicaciones, se retira catéter en el cual se aisló el *S. epidermidis* con heteroresistencia, después de 22 dias de colocación y además contó con 29 dias de NPT.

Caso 2.

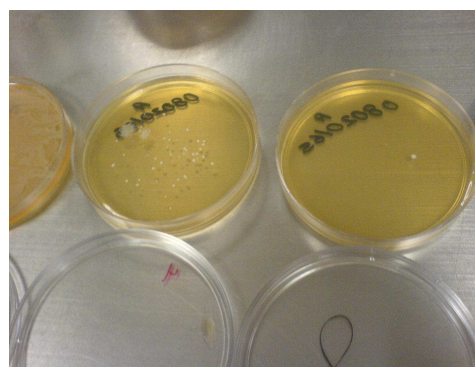
Aislamiento de *S. epidermidis* de punta de catéter de enero de 2008, paciente femenino con 52 dias de estancia hospitalaria, con diagnósticos de ingreso Recien nacido pretérmino hipotrofico, gastrosquisis. Manejado con fase III de ventilación por 18 dias por requerirlo por patología de base, como procedimiento quirúrgico se le realizo colocación de SILO y se realizo cierre de pared abdominal se manejo con cefotaxima/ vancomicina por 14 dias previo a la cirugía. A los 15 dias de vida presenta fiebre, cambios vasomotores, taquicardia, taquipnea la biometría hemática sin leucocitosis, bandemia o plaquetopenia, solo la Proteína C reactiva de 34 mg/dL, por lo que se toma hemocultivo sospechando episodio de sepsis, por lo que se inicia manejo empírico con cefotaxima/ vancomicina por tres dias, reportándose al tercer dia el aislamiento de un hemocultivo con *S. epidermidis* por lo que se reajusta esquema monoterapia con vancomicina por once dias mas, se retira catéter (no se realiza cuantificación de colonias por la técnica de Maki) reportándose nuestro aislamiento con heteroresistencia a la vancomicina de *S. epidermidis* aislado de catéter colocado por 18 dias, mismas dias que recibió Nutrición Parenteral.

Caso 3.

Aislamiento de *S. epidermidis* de hemocultivo de diciembre 2007, paciente femenino de 149 días de estancia hospitalaria, con diagnóstico de ingreso de Hidrometrocolpos, malformación anorrectal alta, recién nacido de término. El embarazo fue aparentemente normal, se resuelve por vía eutocia, por pobre esfuerzo ventilatorio se decide dejar en fase III de ventilación, en total cumpliéndose 18 días por los procedimientos quirúrgicos realizados los cuales fueron colostomía, vesicostomía, bridolisis. En lo infectológico a los 5 días de vida con sepsis por *Klebsiella pneumoniae* y *S. haemolyticus* manejada con cefotaxima/ vancomicina por 14 días, a los 4 días de iniciado el tratamiento se corrobora la presencia de un absceso de pared el cual se drena, al mes de este episodio (noviembre de 2007) con datos de respuesta inflamatoria sistémica cefotaxima / vancomicina por 7 días; repitiéndose los datos de respuesta inflamatoria sistémica al mes (noviembre 2007), con aislamiento bacteriológico de *S. epidermidis* en hemocultivo, con proteína C reactiva de 18 mg/dL, se maneja con cefotaxima / vancomicina por 14 días con mala evolución los primeros 7 días, sospecha de micosis en piel cercana a la vesicostomía por lo que se inicia manejo con antimicóticos tópicos por 7 días, posteriormente con fluconazol por 14 días con ligera mejoría. Valorada en ese mismo mes por oftalmología con diagnóstico de conjuntivitis infecciosa por lo que se dio tratamiento con quinolona tópica por 10 días. En enero recibió el último esquema de cefotaxima / vancomicina por 14 días por datos de respuesta inflamatoria sistémica. Se egreso a finales de febrero por mejoría clínica.



1. Satelitismo con el disco de aztreonam.



2. Estabilidad a la concentración 8 µg/ml

DISCUSION

La inquietud por este tema de heteroresistencia ha estado presente desde 1997 cuando se identifico la primera cepa de *S. aureus* con susceptibilidad disminuida a la vancomicina.

Existen reportes ya de países con condiciones similares a las de nuestro país como Colombia donde se han encontrado con el fenómeno de resistencia a vancomicina por parte de los *Staphylococcus coagulasa negativa*.

En nuestro país el primer reporte se llevo a cabo en el 2005 por Reyna y Cols. se trato de un *Staphylococcus haemolyticus* aislado de LCR, lo cual correspondió al 2% de las cepas trabajadas en comparación a lo encontrado en este trabajo en el cual fue el 7.6% un incremento que tal vez se puede deber a que también se trabajo con cultivos de catéter, tomando en consideración el trabajo de Wong donde el 38% de las cepas con heteroresistencia se aislaron de catéteres, de los 4 aislamientos encontrados con heteroresistencia en el Instituto 2 corresponden a cultivos de catéteres lo que es igual al 50%.

Aquí hay que considerar que las puntas de los catéteres se mandan a cultivar aunque no haya datos de infección relacionada a catéter o hemocultivo a través del catéter positivo, además de que no se realiza la prueba cuantitativa de Maki para apoyarnos para el diagnostico.

Pero por otro lado estos aislamientos de catéteres nos pueden reflejar una situación que puede estar sucediendo en nuestra microbiota en este momento no patógena, con la exposición a betalactamicos y vancomicina, y tomarlo en cuenta por que se sabe que las infecciones nosocomiales se deben a la microbiota del hospital.

De nuestros 4 aislamientos, 3 se relacionaron con proceso séptico, 2 fueron de punta de catéter y 1 de hemocultivo. Los 2 pacientes que tuvieron el aislamiento de punta de catéter presentaron buena evolución con el tratamiento con vancomicina. El caso del único aislamiento de hemocultivo fue en el que se reporto mala respuesta al tratamiento con vancomicina.

Existen reportes de *S. aureus* en el cual la evolución clínica no se relaciona con el nivel de CMI presentado a vancomicina Fridkin (6) . Nuestro caso 1 presento disminución a la sensibilidad a vancomicina después de 48 hrs de incubación, esto se demostró a través de sistema semiautomatizado, sin haber recibido ninguna inducción con aztreonam, en este caso el aislamiento fue de punta de catéter pero presento buena respuesta al tratamiento con vancomicina en relación al aislamiento del caso 3 en el cual la evolución fue mala en el cual por sistema semiautomatizado fue sensible > 2 mcg/ml.

CONCLUSIONES

La heteroresistencia a vancomicina es un fenómeno que va en incremento por el uso nosocomial de vancomicina, desde hace mas de una década se han reportado cepas con estas características. En nuestro Instituto se publico un caso de Neuroinfección por *S. haemolyticus* heteroresistencia a vancomicina (2%), se incremento el numero de casos a un 7% en un lapso de dos años, además de que un aislamiento ya se reporto disminución de sensibilidad a vancomicina por un sistema semiautamatizado.

Esto nos pone una vez mas en alerta de que la heteroresistencia es un fenómeno que puede ser la punta del iceberg de lo que significaría una alerta en el mundo el incremento de las cepas con resistencia homogénea, por lo que hacemos énfasis de acuerdo a los factores de riesgos uso de vancomicina, ser mas críticos en el uso de este medicamento.

BIBLIOGRAFIA

1. Mandell G, Bennett J, Dolin R. Enfermedades infecciosas Principios y práctica. 6ª edición. España 2006, Editorial Elsevier, 2352-2359.
2. Remington J, Klein J, Wilson B, Baker C. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infants. 6a edición. United States of América 2006, Editorial Elsevier, 513- 544.
3. Weisman L. Coagulase-negative staphylococcal disease: emerging therapies for the neonatal and pediatric patient. Current Opinion in Infectious Diseases 2004, 17:237–241.
4. Saltigeral P, Valenzuela F, Avendaño B, Plascencia I, Martínez N. Agentes causales de sepsis neonatal temprana y tardía: una revisión de diez años en el “Hospital Infantil Privado” Revista de Enfermedades Infecciosas 2007, 20 :99- 105.
5. Fridkin S, Hageman J,1 McDougal L, Mohammed J, Jarvis W, Trish M. Perl,et- al. Epidemiological and Microbiological Characterization of Infections Caused by *Staphylococcus aureus* with Reduced Susceptibility to Vancomycin, United States, 1997–2001. Clinical Infectious Diseases 2003; 36:429–39
6. Srinivasan A, Dick J, Perl T. Vancomycin Resistance in Staphylococci. Clinical Microbiology Reviews, 2002, 15: 430–438.
7. Center K, Reboli A, Hubler R, et al. Decreased vancomycin susceptibility of coagulase-negative staphylococci in a neonatal intensive care unit: evidence of *Staphylococcus warneri*. J Clin Microbiol 2003; 41:4660–4665.
8. Tenover F, Arbeit R, Goering R, Mickelsen P, Murray B, Persing D, et-al Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. Journal Of Clinical Microbiology, 1995; 33: 2233–2239.
9. Mahieu M, de Muynck OA, de Dooy J, Laroche MS, Van Acker J. Prediction of nosocomial sepsis in neonatos by jeans of a computer

- weighed bedside scoring system (NOSEP score). Crit Care Med 2000; 28: 2026- 33.
10. Martínez P, Máttar S. Posible aislamiento clínico de *Staphylococcus cohnii* resistente a vancomicina. Infectio 2006; 10(3): 175-177.
 11. Reyna J, Ramirez A, Villeda G, Ortiz F. Primer informe de *Staphylococcus haemolyticus* con susceptibilidad reducida a vancomicina aislado en una neuroinfección neonatal en una institución mexicana. Gac Med Mex 2007; 2: 163 – 165.
 12. Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, Daum RS, Labischinski H, Hiramatsu K. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. J Antimicrob Chemother 1998;42:199-209.
 13. Hanaki H, Labischinski H, Inaba Y, Kondo N, Murakami H, Hiramatsu K. Increase in glutamine-non-amidated mucopeptides in the peptidoglycan of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain Mu50. J Antimicrob Chemother 1998;42:315-20
 14. Tenover F, Biddle J, Lancaster M. Increasing Resistance to Vancomycin and Other Glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 2001 ; 7(2): 327-332.
 15. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet 1997;350:1670-3.
 16. Wong SS, Ho PL, Woo PC, Yuen KY. Bacteremia caused by staphylococci with inducible vancomycin heteroresistance. Clin Infect Dis 1999;29:760-7.