



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICION  
SALVADOR ZUBIRAN

**FACTORES DE RIESGO PARA COLONIZACION GASTROINTESTINAL E  
INFECCION POR ENTEROCOCCUS RESISTENTE A VANCOMICINA EN  
PACIENTES HOSPITALIZADOS EN LAS UNIDADES DE CUIDADOS  
CRITICOS EN EL INSTITUTO NACIO.NAL DE CIENCIAS  
MEDICAS Y NUTRICION “SALVADOR ZUBIRAN” (INCMNSZ).**

T E S I S DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

**ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

P R E S E N T A

**DR. IVAN ROMARICO GONZALEZ ESPINOZA**

TUTOR PRINCIPAL:

**DR. JOSE SIFUENTES OSORNIO**

ASESORES DE TESIS:

**ARTURO GALINDO FRAGA**

**LUIS ALFREDO PONCE DE LEON GARDUÑO**

**ALFONSO GULIAS HERRERO**

**MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE**

MÉXICO, D. F.

AGOSTO, 2008



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.

**Dr. Luis Federico Uscanga Dominguez**  
Director de Enseñanza

**Dr. José Sifuentes Osornio**  
Tutor Principal de la Tesis

**Dr. Alfonso Gulias Herrero**  
Profesor titular de Medicina Interna

**ARTURO GALINDO FRAGA**

Asesor de tesis.

**LUIS ALFREDO PONCE DE LEON GARDUÑO**

Asesor de tesis.

**MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE**

Asesor de tesis.

## **DEDICATORIAS**

A mis padres, Romarico y Anita, por todo el apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de mi vida.

A mis hermanas, Anita y Claudia, que me han regalado su cariño y apoyo interminable.

A una amiga y compañera, Carolina, quien me apoyó monumentalmente para que este proyecto saliera adelante.

A mis amigos y compañeros, por estar a mi lado cuando lo he necesitado.

A mi novia, Karen, que ha sido un gran apoyo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este ha sido un proyecto colaborativo desde el principio (trabajo de equipo), por lo cual le agradezco a mi tutor y asesores de tesis, por las aportaciones a este proyecto, por los conocimientos que me han transmitido y el apoyo brindado.

A los pacientes que sin ellos este protocolo no se hubiera realizado y quienes son la razón de nuestra existencia.

A todo el personal de este gran Instituto quienes me han enseñado muchos valores, sobre todo al servicio de microbiología clínica.

A Christianne Bourlon por ser una compañera fiel.

Nuestras disculpas de todos los que participamos en la tesis si omitimos mencionar a alguien.

“Nada en la vida esta para ser temido, si no para ser entendido”.  
Marie Curie

“Nosotros estamos aquí en la tierra para hacer el bien a otros, para que los otros están aquí?  
Eso no lo se”.  
W. H. Auden

“Donde quiera que se ame el arte de la medicina, se ama también a la humanidad”.  
Platón

“Ningún hombre realmente se convierte en un tonto, hasta que se deja de preguntarse las  
cosas”.

## ÍNDICE

	Página
<b>Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>3</b>
1. El género <i>Enterococcus</i> .	
2. Infecciones ocasionadas por <i>Enterococcus</i> .	
3. Resistencia a aminoglucósidos en <i>Enterococcus</i> .	
4. La Emergencia del <i>Enterococo</i> resistente a vancomicina.	
5. Mecanismos moleculares de resistencia a vancomicina en <i>Enterococcus</i> .	
6. Colonización fecal por <i>Enterococo</i> resistente a vancomicina.	
7. Factores de riesgo para colonización gastrointestinal por <i>Enterococo</i> resistente a vancomicina	
8. <i>Enterococo</i> resistente a vancomicina en México.	
9. <i>Enterococo</i> resistente a vancomicina en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán	
10. Tratamiento.	
11. Problemas emergentes.	
<b>Justificación.....</b>	<b>15</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>16</b>
<b>Objetivos generales.....</b>	<b>16</b>
<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>16</b>
<b>Método.....</b>	<b>17</b>
1. Diseño del estudio.	
2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.	
3. Pacientes.	
4. Procedimientos.	
5. Cálculo del tamaño de muestra.	
6. Aspectos éticos del estudio.	
7. Análisis estadístico.	

**Resultados.....24**

1. Características demográficas y clínicas de los pacientes colonizados y no colonizados por ERV
  - a. Factores de riesgo durante la hospitalización
    - *Uso de antibióticos*
    - *Eventos quirúrgicos durante el seguimiento*
    - *Traslado de otro hospital*
    - *Sitio de estancia hospitalaria previo al ingreso a terapia intensiva*
  - b. Análisis multivariado
2. Características demográficas y clínicas de los pacientes colonizados y no colonizados por ERV
  - a. Factores de riesgo durante la hospitalización
    - *Uso de antibióticos*
    - *Eventos quirúrgicos durante el seguimiento*
    - *Traslado de otro hospital*
    - *Sitio de estancia hospitalaria previo al ingreso a terapia intensiva*
  - b. Análisis multivariado
2. Pacientes infectados y no infectados por ERV
3. Cultivos de colonización
4. Infecciones concomitantes durante la hospitalización
  - *Casos de bacteriemia y sepsis*
  - *Casos de urosepsis*
  - *Casos de infección intraabdominal*
  - *Casos de neumonía*
  - *Otros hallazgos*
5. Pruebas de susceptibilidad de los aislados

<b>Discusión.....</b>	<b>31</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>36</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>36</b>
<b>Tablas.....</b>	<b>37</b>
<b>Figuras.....</b>	<b>46</b>
<b>Apéndices.....</b>	<b>51</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>59</b>

## RESUMEN

**Título.-** Factores de riesgo para colonización gastrointestinal e infección por *Enterococcus* resistente a vancomicina (ERV) en pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados críticos en el Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).

**Introducción.-** *Enterococcus* spp. patógeno nosocomial emergente ha ganado relevancia mundial por el desarrollo de resistencia a vancomicina desde 1986. De acuerdo al estudio SENTRY, la prevalencia en de infecciones por ERV en Estados Unidos (E.U.) es de 17% y en Latinoamérica de 2%. La relación colonización/infección es de 10:1 y los pacientes colonizados y hospitalizados constituyen el reservorio más grande de este germen en los E.U. El sitio principal de colonización es el tubo digestivo. Los factores de riesgo descritos, para colonización e infección son: hospitalización en unidades de terapia intensiva (UTI), neoplasias hematológicas, trasplante de órgano sólido, insuficiencia renal crónica, exposición prolongada a antibióticos y proximidad a un paciente colonizado. Recientemente, Cuellar et al. describieron un brote de infecciones por ERV en el INCMNSZ en 2005, en el cual se encontraron 27 casos ocasionados por una clona de *E. faecium* con genotipo/fenotipo *vanA*. Posteriormente, Pérez-Jiménez et al., en un reporte preliminar del estudio de cohorte, describieron 19 casos de colonización intestinal por ERV con siete casos de infección (36.8%), durante el verano de 2007. Como factores de riesgo se encontraron: uso previo de fluconazol ( $p = 0.005$ ), uso previo de clindamicina ( $p = 0.001$ ), nutrición parenteral ( $p = 0.004$ ), cirugía ( $p = 0.05$ ), cirugía abdominal ( $p = 0.01$ ) y sepsis abdominal nosocomial ( $p = 0.002$ ) como motivo de ingreso a la UTI. Nuevamente, todas las cepas colonizantes fueron del fenotipo/genotipo *vanA* y el 85% de los aislados pertenecieron a una clona dominante. Debido a que esto representa sólo una fracción del problema, consideramos necesario conocer los factores de riesgo para la colonización intestinal por ERV y para desarrollo de infección en la población atendida en el INCMNSZ.

**Objetivos.-** Determinar factores de riesgo para colonización gastrointestinal e infección por ERV en los pacientes que se hospitalizan en las UTI en el INCMNSZ.

**Métodos.-** Se realizó un estudio de cohorte, prospectivo, de vigilancia activa mediante la toma de exudados rectales a todos los pacientes que ingresaban a las UTI una vez por semana, desde 22 de mayo a 20 diciembre del 2007. Se obtuvieron datos del expediente clínico. Las muestras se cultivaron en agar bilis esculina adicionado con 8µg/mL de vancomicina. Los gérmenes aislados en este medio se identificaron con el Sistema Vitek 2®; se corroboró susceptibilidad con el método de microdilución en placa y prueba E. Se realizaron determinaciones de genes de resistencia y electroforesis en gel por campos pulsados (EGCP). Se analizaron todos los aislados clínicos que se encontraron en los pacientes durante su seguimiento en el estudio.

**Resultados.-** Durante el periodo de estudio invitamos a participar a 244 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión, 11 rechazaron firmar el consentimiento informado y 2 no fueron incluidos por otras causas, por lo que incluimos 231 pacientes. De éstos, 68 (29.4%) se encontraron colonizados por ERV en algún momento de su estancia en las UTI y 163 (70.5%) nunca desarrollaron colonización. La mediana de edad fue de 51 años (15–87) en general, 53 años (17-82) la mediana del grupo colonizado y 51 años la del grupo no colonizado (15–87). Ciento cuatro (45%) fueron hombres, así como el 50% del grupo colonizado y el 43% grupo no colonizado. La mediana del tiempo de hospitalización previo al ingreso a la UTI en todo el grupo fue de 2 días (1–75), para el grupo

colonizado fue de 4.5 días (1–75) y para el grupo no colonizado fue de 2 días (1–32), con diferencia significativa ( $p=0.003$ ). La mediana de la escala de SOFA, al ingreso de todos los pacientes, fue de 7 (1–16), para el grupo colonizado fue 8 (2–16) y para el grupo no colonizado fue 6 (1–16). Las comorbilidades más frecuentes fueron: diabetes mellitus, 37 pacientes (16%); uso de inmunosupresores, 45 (19.5%); patologías cardíacas y pulmonares, 47 (20.3%); neoplasias sólidas, 29 (12.6%); neoplasias hematológicas, 10 (4.3%); trasplante de órgano sólido, 6 (2.6%); trasplante de médula ósea, uno (0.4%); otras comorbilidades en 42 (18.2%). Sólo se encontró predominio de las neoplasias hematológicas en el grupo colonizado ( $p=0.027$ ). Como factores de riesgo para colonización por ERV se encontraron: 1) Los siguientes procedimientos invasivos: uso de ventilación mecánica ( $p=0.01$ ), uso de sonda nasogástrica ( $p=0.0079$ ), nutrición enteral ( $p=0.002$ ) y nutrición parenteral ( $p=0.002$ ). 2) Uso previo de antimicrobianos del tipo de: clindamicina ( $p=0.01$ ), carbapenémicos ( $p=0.02$ ), aminoglucósidos ( $p=0.03$ ), vancomicina ( $=0.03$ ) y caspofungina ( $=0.03$ ). De los 68 pacientes colonizados 22 desarrollaron infección (32.4%), urosepsis 13, bacteriemia 4, sepsis abdominal 4 e infección de herida quirúrgica 1. Todas las cepas colonizantes tuvieron fenotipo y genotipo *vanA*. El análisis genómico por EGCP mostró que todas las cepas colonizantes e infectantes tuvieron una relación clonal  $\geq 85\%$ ; se comparó el análisis genético de las cepas de este estudio con el de las cepas del brote de infecciones por ERV descrito previamente y se encontró que todas tienen entre sí un parentesco  $\geq 85\%$ .

**Conclusiones.-** Los datos de nuestro estudio de cohorte documentaron como hallazgo más importante, que alarmantemente uno de cada tres pacientes colonizados por ERV desarrolla infección; uno de cada 5 pacientes infectados por ERV puede desarrollar un episodio de infección grave como bacteriemia; ratificamos que los factores de riesgo para colonización e infección por ERV, en la población atendida en el INCMNSZ fueron semejantes a aquellos descritos en otros estudios, lo cual confirma que este fenómeno es común en los pacientes críticamente enfermos, y finalmente que todos los aislados de ERV provenientes de infección o de colonización tienen un parentesco genético mayor de 85%, por lo que pueden considerarse como la misma clona, probablemente residente en el Instit

# FACTORES DE RIESGO PARA COLONIZACIÓN GASTROINTESTINAL E INFECCIÓN POR *ENTEROCOCCUS* RESISTENTE A VANCOMICINA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN LAS UNIDADES DE CUIDADOS CRÍTICOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”. (INCMNSZ).

## INTRODUCCIÓN

### 1. El género *Enterococcus*.

Los enterococos fueron originalmente clasificados como cocos grampositivos entéricos y más tarde se incluyeron en el género *Streptococcus*. En 1930, con el establecimiento del sistema de tipificación serológica de Lancefield, el enterococo fue clasificado como estreptococo del grupo D y se diferenciaba de otros estreptococos del grupo D no entéricos como el *Streptococcus bovis* por sus características bioquímicas distintivas.(1,2)

Sherman posteriormente recomendó el término “*Enterococcus*” para nombrar específicamente a los estreptococos que crecían a 10 y a 45°C, pH de 9.6, en solución de NaCl al 6.5% y que podían sobrevivir a 60°C por 30 minutos. Estos organismos además hidrolizaban la esculina en presencia de bilis. En 1980, finalmente, basándose en sus características genéticas distintas, los enterococos fueron removidos del género *Streptococcus* y colocados en su propio género, *Enterococcus*.(1)

### 2. Infecciones ocasionadas por *Enterococcus*.

Aunque se ha identificado más de una docena de especies de *Enterococcus*, sólo dos son responsables de la mayoría de las infecciones en humanos. Hasta hace algunos años, *E. faecalis* se consideraba como la especie predominante, aproximadamente 80% a 90% de todos los aislados clínicos de enterococos; *E. faecium* se encontraba sólo en 5% a 15% de los casos. Otras especies de enterococos (*E. gallinarum*, *E.*

*casseliflavus*, *E. durans*, *E. avium* y *E. raffinosus*) se encuentran de manera mucho menos frecuente, sólo en 5% de los aislados clínicos.(3)

Desde hace más de un siglo se reconoce el papel patógeno de enterococo en endocarditis. Además, a finales de los años setenta comenzó a ser reconocido como una causa común de infecciones nosocomiales. Esto coincidió con una tendencia al aumento en el uso de las cefalosporinas de tercera generación a las cuales el enterococo es intrínsecamente resistente.(1)

Actualmente, enterococo es un patógeno nosocomial emergente y se ha colocado como el segundo organismo más común en infecciones urinarias nosocomiales e infecciones de herida quirúrgica, así como el tercer germen más común en bacteremia nosocomial en los Estados Unidos (E. U.).(4)

Una de las razones principales por las que estos organismos han sobrevivido en los ambientes hospitalarios es por su resistencia intrínseca a varios antibióticos comúnmente usados y, quizás la más importante sea su habilidad de adquirir resistencia a prácticamente todos los antibióticos disponibles, ya sea por mutaciones o por adquisición o transferencia de plásmidos o transposones.(5)

Las dificultades en el tratamiento de las infecciones por enterococo se han descrito desde principios de los años cincuenta, cuando las tasas de respuesta a penicilina en casos de endocarditis por enterococo eran muy bajas, comparadas con las de endocarditis por estreptococos.

### **3. Resistencia a aminoglucósidos en *Enterococcus*.**

La resistencia a aminoglucósidos es usualmente de bajo nivel (concentración inhibitoria mínima [CIM] de 62 a 500  $\mu$ /mL) y se debe a baja permeabilidad de la pared al antibiótico; sin embargo, algunas cepas presentan resistencia de alto nivel a estos antibióticos (CIM > 2,000  $\mu$ g/mL), la cual es mediada por la producción de enzimas modificadoras o inactivadoras de aminoglucósidos. La resistencia a gentamicina y estreptomycin ocurre por mecanismos diferentes, la primera es mediada por la enzima 2''-

fosfotransferasa-6'-acetiltransferasa que confiere resistencia a gentamicina, tobramicina, netilmicina, amikacina y kanamicina. La resistencia a estreptomycinina es secundaria a la presencia de la enzima adeniltransferasa, estas cepas permanecen susceptibles a gentamicina. (1) Múltiples estudios han demostrado que los genes que codifican la resistencia de alto nivel a aminoglucósidos se encuentran codificados dentro de plásmidos conjugativos y transposones, lo que permite la transmisión horizontal de estos determinantes de resistencia.(6)

La resistencia de alto nivel a aminoglucósidos tiene una alta prevalencia a nivel mundial, que incluso ha ido en aumento en los últimos años. El Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY reportó, en 1999, una prevalencia de resistencia de alto nivel a gentamicina de 30% en los E. U., 16% en Latinoamérica, 26% en Europa y 30% en Asia.(7)

Este tipo de resistencia cobra relevancia debido a que se requiere de sinergia bactericida entre  $\beta$ -lactámicos o glicopéptidos, con un aminoglucósido para tratar la mayoría de las infecciones serias ocasionadas por enterococo, especialmente en pacientes con endocarditis y meningitis. Sin embargo, esta actividad bactericida sinérgica se pierde si se encuentra resistencia de alto nivel a aminoglucósidos, lo cual es relativamente frecuente. Además, muchos aislados de *E. faecium* son altamente resistentes a penicilinas, por la baja afinidad de sus proteínas ligadoras de penicilina (PLP). Hasta hace algunos años, la vancomicina se consideró como el único antibiótico útil en las infecciones causadas por enterococos multirresistentes.(1, 8).

#### **4. La emergencia de *Enterococcus* resistente a vancomicina.**

Vancomicina y teicoplanina son los dos glicopéptidos con mayor disponibilidad a nivel mundial. Debido a su actividad contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y contra estafilococos coagulasa negativa, estos medicamentos han sido ampliamente utilizados para el

tratamiento y profilaxis de las infecciones causadas por este microorganismo. Además, la vancomicina oral, que se absorbe pobremente, ha sido usada frecuentemente para el tratamiento de la enterocolitis por *Clostridium difficile* en los Estados Unidos.(1, 3).

En 1988, Uttley fue el primero en reportar el aislamiento de *E. faecium* y *E. faecalis* resistentes a vancomicina (ERV) en Inglaterra(9). Pocos años después, cepas similares fueron detectadas en Francia y en hospitales de la costa este de Estados Unidos, las que subsecuentemente se han diseminado con rapidez inesperada y ahora se encuentran no sólo en todo el territorio de los E.U., sino también en Canadá, Australia, Bélgica, Dinamarca, Alemania, Italia, Holanda, España, Suecia, Malasia y Latinoamérica.(1, 3).

La prevalencia de ERV ha aumentado de manera importante en la última década y actualmente se encuentra dentro de las cuatro primeras causas de infecciones nosocomiales en E.U. La NNIS (*National Nosocomial Infections Surveillance System*) reportó una prevalencia de infecciones nosocomiales causadas por *Enterococcus* sp de 28.5% en 2003. De acuerdo a los estudios de vigilancia antimicrobiana SENTRY, la prevalencia de ERV en los E. U. oscila entre 13% y 17%, mientras que en América Latina la prevalencia se ha mantenido menor a 2%.(10)

La resistencia, puede ser inducida por glicopéptidos (vancomicina, teicoplanina, avoparcina y ristocetina) y por agentes no glicopéptidos como polimixina B, bacitracina y robenidina, estos últimos se utilizan para tratar infecciones en aves de corral.(3)

Las infecciones causadas por ERV se han asociado con tasas elevadas de mortalidad y morbilidad en particular entre los pacientes inmunosuprimidos. La tasa de mortalidad cruda entre los pacientes con bacteremia por ERV se ha estimado entre 17% y 73%. En algunos estudios, la mortalidad de la bacteremia por ERV es mayor a la de los pacientes con bacteremia por enterococo sensible; mientras que otros estudios han mostrado que la mortalidad es similar en ambos grupos.(3, 11)

La mayoría de los pacientes con infecciones por ERV se encuentran en las unidades de cuidados intensivos sin embargo, también se ha visto una frecuencia incrementada en aquellos con: insuficiencia renal crónica, neoplasias, trasplante de órganos, hospitalización prolongada, tratamiento antibiótico previo, exposición a equipo médico contaminado, realización de procedimientos invasivos y proximidad a pacientes colonizados con el mismo germen.(5,12,13)

Hasta la fecha, todos los brotes descritos por ERV han sido causados por *E. faecium* o *E. faecalis*, con fenotipos *vanA* y *vanB*. Además se ha descrito que el ERV puede transferir el gen *vanA* de resistencia a vancomicina a otros patógenos más virulentos como *Staphylococcus aureus*.(3)

## **5. Mecanismos moleculares de resistencia a vancomicina en *Enterococcus*. Fenotipo y genotipo.**

Existen cinco fenotipos de resistencia a vancomicina reconocidos en enterococo, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD* y *vanE*. Las cepas *vanA* poseen resistencia inducible y de alto nivel a vancomicina (CIM  $\geq 64$   $\mu\text{g/mL}$ ) y a teicoplanina (CIM  $> 16$   $\mu\text{g/mL}$ ). Las cepas *vanB* inicialmente se consideraban como resistentes de manera inducida y de bajo nivel a vancomicina (CIM 32 a 64  $\mu\text{g/mL}$ ), pero sensibles a teicoplanina; ahora se sabe que los niveles de resistencia a vancomicina de las cepas *vanB* pueden variar de 4 a  $\geq 1000$   $\mu\text{g/mL}$ , aunque se mantiene la sensibilidad a teicoplanina. Los determinantes de resistencia en las cepas *vanA* y *vanB* se encuentran en el transposon Tn1546, es decir son transferibles. El fenotipo *vanC* se describió en *E. casseliflavus* y *E. gallinarum*, los cuales tienen resistencia intrínseca y de bajo nivel a vancomicina (CIM 4 a 32  $\mu\text{g/mL}$ ) y son sensibles a teicoplanina.(Ver tabla 1).(1, 2)

En condiciones normales, la síntesis de peptidoglicanos en el enterococo incluye la unión de dos moléculas de D-alanina mediante una ligasa para formar D-Ala-D-Ala, la cual se une al tripéptido UDP-N-Acetilmuramilo para formar el pentapéptido UDP-N-Acetilmuramilo, que finalmente se incorpora al peptidoglicano en formación (transglicosilación), permitiendo la construcción de puentes entre las

moléculas (transpeptidación), lo que contribuye a la resistencia de la capa de peptidoglicanos. La vancomicina se une con alta afinidad a la terminación D-Ala-D-Ala de las unidades de pentapéptidos precursores, bloqueando su adición a los peptidoglicanos en formación, previniendo así la construcción correcta de la capa de peptidoglicanos.(Ver figura 1).(5)

El gen *vanA* y otros genes involucrados en la regulación y expresión de la resistencia a vancomicina (*vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanX*, *vanY* y *vanZ*) se localizan en el transposon Tn1546, el cual frecuentemente se encuentra dentro de un plásmido. El hecho de que el Tn1546 y elementos similares hayan sido localizados en péptidos conjugativos o, en ocasiones en plásmidos que responden a feromonas sexuales, puede explicar en parte porque la resistencia a vancomicina se ha diseminado rápidamente entre diferentes cepas de *E. faecium* y *E. faecalis*.(1,3)

La expresión de estos genes resulta en la síntesis anormal de los péptidos precursores de peptidoglicano, al producir moléculas terminadas en D-Ala-D-lactato, en lugar de D-Ala-D-Ala. La vancomicina se une a la terminación D-Ala-D-lactato con mucha menos afinidad que a la terminación normal.

La proteína VanA es una ligasa que se encarga de producir D-Ala-D-lactato en lugar de D-Ala-D-Ala, la proteína VanH es una D-hidroxi-acidodeshidrogenasa que proporciona la fuente de D-lactato para ser utilizado en la reacción anterior. La proteína VanX es una D,D-dipeptidasa que reduce los sustratos de D-Ala-D-Ala que utiliza la ligasa nativa del enterococo, minimizando la síntesis competitiva del pentapéptido normal. La proteína VanS aparentemente funciona como un sensor para detectar la presencia de vancomicina y posteriormente enviar una señal a la proteína VanR, que funciona como regulador para activar la síntesis de otras proteínas (VanH, VanA y VanX) involucradas en la resistencia.

En cuanto a la resistencia con fenotipo *vanB*, ésta es mediada por una ligasa anormal (la proteína VanB), que es estructuralmente muy parecida a la ligasa VanA. La proteína VanB también favorece la producción de pentapéptidos con terminación D-Ala-D-lactato.(1)

## **6. Colonización fecal por ERV.**

El tracto gastrointestinal provee un importante reservorio para muchos patógenos nosocomiales, incluyendo especies de *Enterococcus*, *Enterobacterias*, *Clostridium* y *Cándida*. (46)

En la mayoría de los hospitales afectados por ERV, el germen se encuentra como colonizante más frecuentemente que como patógeno. La relación colonización/infección es tan alta como 10:1 en aquellas instituciones que realizan exudados rectales o perirrectales de rutina en búsqueda de ERV, en pacientes de alto riesgo.(3,14) Las infecciones más frecuentes ocasionadas por ERV son intraabdominales, urinarias, sanguíneas, relacionadas a catéteres vasculares y de herida quirúrgica. Sin embargo no siempre es fácil decidir la significancia clínica del aislamiento de VRE en cultivos de rutina, o diferenciar colonización de infección, sobre todo en orina.(2)

Las infecciones por ERV típicamente son precedidas por la colonización por este mismo germen. Hasta el momento, se considera que los pacientes hospitalizados y colonizados por ERV forman el gran reservorio de este germen en los hospitales de los E.U.(5,3,15) Dado que, que estos pacientes son asintomáticos, este reservorio puede pasar inadvertido a menos que se realicen cultivos de vigilancia. El tracto gastrointestinal es, sin duda, el mayor reservorio de ERV. Sin embargo, también se ha reportado colonización por este tipo de gérmenes en vía aérea superior, lo que puede deberse a contaminación por las manos del personal paramédico durante la manipulación de tubos endotraqueales o traqueostomías.(1)

La colonización intestinal por ERV depende básicamente de dos factores: 1) exposición a un paciente colonizado y 2) susceptibilidad del hospedero. En cuanto a la exposición al ERV, los aspectos importantes son la proximidad y la duración de la exposición al paciente colonizado previamente. Cuando la proporción de pacientes colonizados por ERV en una unidad en particular, es superior a 50%

(“presión de colonización”), otros factores de riesgo para colonizarse por ERV se vuelven menos importantes.(5,16)

Una vez que ocurre la colonización gastrointestinal por ERV, ésta persiste durante meses, ya que no se conoce aún un método definitivo para erradicarla. (5,19) En un estudio realizado en la Clínica Mayo, en el que se consideraba “aclaramiento de la colonización” como 3 cultivos rectales para ERV negativos, con una semana de diferencia, se encontró que sólo 34% de 53 pacientes con transplantes de órganos sólidos, presentaban descolonización espontánea.(20) Ocasionalmente se han reportado casos de pacientes que permanecen colonizados durante un año.(21)

En la literatura se encuentran múltiples reportes de colonización fecal por ERV, en los que se han obtenido las muestras para cultivo mediante exudado rectal.(22,23,24,25,26,27). Se ha demostrado que este tipo de cultivos realizados de manera semanal o dos veces por semana, tiene un valor predictivo negativo para colonización por ERV de 99%.(28) Además, parece ser el método mas eficiente y menos costoso para la detección de colonización por ERV.(48) La colonización del tracto digestivo superior es menos conocida y se ha descrito en pacientes en unidades de cuidados intensivos quirúrgicos, en los que se obtuvieron muestras para cultivos mediante aspirados gástricos.(29)

Se ha reportado una prevalencia de colonización fecal por ERV muy variable, desde 0.82% hasta 20%, obtenidas mediante cultivos de vigilancia en pacientes hospitalizados en diversas series.(23,30)

Calfee y cols. reportaron un seguimiento de 5 años de 128,266 pacientes, en el cual encontraron una tasa de colonización de 0.82%, además, 14% de los pacientes colonizados por ERV tuvieron un aislamiento clínico del mismo germen dentro de los 15 días siguientes a la detección de la colonización.(23)

El control adecuado de la transmisión del ERV en el ambiente hospitalario puede ser muy difícil de lograr. Esto se debe a múltiples factores, entre ellos que el ERV puede permanecer viable en superficies inertes por semanas, ya que es capaz de soportar la desecación y las temperaturas extremas, por lo que

puede transmitirse fácilmente de las superficies ambientales a las manos del personal de salud y así, de un paciente a otro, a pesar del uso de precauciones de contacto. Las habitaciones de los pacientes pueden contaminarse con ERV y funcionar como reservorio para este organismo en los hospitales, esto sucede con mayor frecuencia en las habitaciones de pacientes con diarrea.(1,3, 5)

La diseminación del ERV en los hospitales se ha atribuido a múltiples factores: deficientes prácticas de control, admisión de pacientes previamente colonizados y estancia prolongada; además, se ha descrito que los pacientes colonizados pueden reintroducir el ERV a la misma institución en múltiples ocasiones. Por ello, la CDC publicó en 1995, guías para la prevención de la diseminación del ERV, en donde se incluyen medidas como: desarrollo de métodos para la identificación temprana de los pacientes colonizados, vigilancia activa con exudados rectales para búsqueda de ERV, aislar a los pacientes colonizados en cada hospitalización desde el momento de su ingreso, uso prudente de vancomicina y otras.(3,5,31,32) Perencevich et al, desarrolló un modelo matemático interesante en la Universidad de Maryland, con el que demostró que, mediante la vigilancia activa de los pacientes de las unidades de terapia intensiva, podría obtenerse una reducción significativa (39%) de la transmisión del ERV.(33,34) Es importante mencionar que la tasa de mortalidad para pacientes con colonización gastrointestinal por ERV fue de 24.5% en un estudio griego. (50)

## **7. Factores de riesgo para colonización gastrointestinal por ERV.**

En referencia a los factores de susceptibilidad para colonización por ERV, se ha descrito en pacientes gravemente enfermos que requieren atención en unidades de terapia intensiva, además de pacientes con enfermedades hematológicas, trasplantes de órganos sólidos, insuficiencia renal crónica y aquellos que requieren de múltiples cursos de antibióticos por tiempo prolongado (en especial cefalosporinas de tercera generación, anaerobicidas como clindamicina y metronidazol y vancomicina) (17,18); también se ha descrito que los trabajadores de hospitales de zonas urbanas y sus familiares están en riesgo de

colonizarse por este germen (1,3,5,13). Además, se han descrito otros factores que incrementan la susceptibilidad de colonización por ERV en estudios experimentales en ratones como lo son los inhibidores de la bomba de protones (49) y medicamentos con actividad anaerobicida. (51)

### **8. Enterococo resistente a vancomicina en México.**

En México se han descrito pocos casos de infecciones por ERV, en la literatura se encuentran únicamente dos reportes. Miranda y cols. estudiaron 289 aislados clínicos de *Enterococcus*, colectados en un periodo de 18 meses, de un hospital pediátrico de tercer nivel. Setenta y seis por ciento de los aislados fueron *E. faecalis*, 10% *E. avium*, 5.2% *E. faecium* y 5.2% *E. raffinosus*, el resto fueron otras especies. Encontraron una prevalencia de resistencia global a vancomicina de 3%, aunque no se realizaron fenotipos ni genotipos de resistencia.(35)

Calderón-Jaimes y cols. realizaron un estudio prospectivo de enero de 1998 a diciembre de 1999, en un hospital pediátrico, en el cual encontraron 97 cepas de *Enterococcus* spp, 60 *E. faecalis* y 37 *E. faecium*, todas provenientes de infecciones graves, como endocarditis, bacteremia, meningitis e infecciones intraabdominales. Se les realizó sensibilidad *in vitro* a las 97 cepas, de las cuales 7 fueron resistentes a vancomicina, todas ellas *E. faecium*, 5 con el fenotipo *vanA* y 2 con el fenotipo *vanB*, aunque esto no se corroboró por determinación de genes de resistencia.(36) Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios de colonización fecal por ERV en este país.

### **9. Enterococo resistente a vancomicina en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ).**

Cuellar-Rodríguez et al. analizaron un brote de infecciones por ERV ocurrido en nuestra Institución durante el verano de 2005 (37). Encontramos 30 pacientes con aislados clínicos de ERV, el diagnóstico de ingreso más común fue sepsis abdominal (56.7%). El EVR se aisló de muestras intraabdominales en

53.3% de los casos, de orina en 26.7% y de sangre en 10%. Treinta por ciento de los casos se encontraron en los pisos de hospitalización, 20% se encontraron en la UTI y el restante 20% en áreas diversas; además el 40% de los pacientes (12) había requerido internamiento y/o ventilación mecánica en una de las unidades de cuidados críticos del Instituto durante su evolución. La mediana de duración de la hospitalización previa al aislamiento fue de 21 días; 93.3% de los pacientes habían recibido antibióticos antes del aislamiento de ERV. Durante la hospitalización, 23.3% de los pacientes fallecieron. Se aisló *E. Faecium* en 27 pacientes, 26 de éstos (96.3%) con genotipo y fenotipo *vanA*. Mediante el análisis de la electroforesis en gel por campos pulsados (ECP), se observó que el 70% de los aislados correspondió a una clona. (Ver figura 2).(37) La proporción de aislados clínicos de ERV fue de 0.27% entre mayo de 2004 y abril de 2005 y este porcentaje incrementó a 6.23% de mayo 2005 a abril 2006 (aumento en la frecuencia de aislamiento de 23 veces).

Recientemente, Pérez-Jiménez et al. realizaron un primer reporte del estudio de cohorte, describieron 19 pacientes colonizados por ERV detectados durante el verano de 2007. De ellos, siete (36.8%) desarrollaron un episodio de infección. De los 19 pacientes, 10 estuvieron colonizados desde el primer cultivo, 3 en el segundo cultivo, 2 en el tercer cultivo y 4 en el cuarto cultivo tomado al mes de hospitalización. La mediana de tiempo del ingreso al estudio hasta el primer cultivo positivo fue de 4.6 días. La mediana de edad fue de 52 años; para el grupo colonizado por ERV, la mediana fue de 48 años (17 – 84) y para el grupo no colonizado fue de 61 años (27 – 77), ( $p = 0.03$ ). Del grupo colonizado por ERV, 13 pacientes fueron hombres (68.4%) y 6 fueron mujeres; en el grupo no colonizado, 18 pacientes (40%) fueron hombres y 27 fueron mujeres (60%), ( $p = 0.05$ ). La mediana del tiempo de hospitalización previo al ingreso al estudio, para el grupo colonizado fue de 13 días y para el grupo no colonizado fue de 1 día ( $p < 0.0001$ ). Como factores de riesgo significativos para colonización se encontraron: uso previo de fluconazol ( $p = 0.005$ ), uso previo de clindamicina ( $p = 0.001$ ), nutrición parenteral ( $p = 0.004$ ), cirugía de cualquier tipo ( $p = 0.05$ ), cirugía abdominal ( $p = 0.01$ ) y tener como diagnóstico de ingreso

sepsis abdominal nosocomial ( $p = 0.002$ ). Igualmente, los investigadores observaron 2 episodios de infección por ERV en el grupo control (no colonizado). Todas las cepas colonizantes fueron del fenotipo y del genotipo *vanA*. Además, el 85% de los aislados pertenecieron a una clona dominante. (52)

## 10. Tratamiento

A pesar, de que actualmente no hay agente antimicrobiano que pueda erradicar la colonización, existen diversas opciones de tratamiento para erradicar la infección por ERV. Antes de 1999, el armamento terapéutico contra la infección por ERV era muy limitado. Nuevos medicamentos están disponibles para el tratamiento de la infección por ERV, entre los que se encuentran, quinupristina-dalfopristina y linezolid, que se comercializaron en EUA a principios del año 2000(53,54). Además, hay otros agentes que se encuentran en investigación (ramoplanina, oritavancin, daptomicina, tigeciclina, mannopeptimicinas y dalbavacina) (47, 5) y que muestran resultados prometedores. Otras medidas que se deben implementar para el tratamiento de las infecciones por ERV son; utilizar prudentemente los antibióticos, medidas de detección oportuna (exudado rectal), medidas de aislamiento y adecuada higiene para prevenir la diseminación a otros pacientes.

## 11. Problemas emergentes

Los *Enterococos*, son considerados como importantes patógenos difíciles de erradicar, debido a su resistencia intrínseca a múltiples agentes antimicrobianos (ampicilina, aminoglucósidos y glicopéptidos), y a su facilidad para adquirir resistencia. Existen varios reportes de resistencia emergente a nuevos medicamentos como el linezolid (42,43,44,45), así como a otros antibióticos, como la quinupristina-dalfopristina(53,54). También otro problema emergente, es que estudios recientes, han reportado la aparición de nuevos casos de colonización gastrointestinal por ERV originados fuera del hospital. (25).

## JUSTIFICACIÓN

El género *Enterococcus* se ha convertido en causa importante de infección nosocomial en todo el mundo, particularmente en las unidades de cuidados intensivos. Esta condición ocurre como consecuencia de hospitalización prolongada de pacientes en riesgo, uso excesivo de antibióticos en estos sujetos, empleo de numerosos aparatos y dispositivos médicos invasivos para el paciente, adquisición relativamente fácil de resistencia a antibióticos por este microorganismo. Varios grupos de investigadores han señalado, en estudios recientes, que las especies más relevantes entre el ERV están *E. faecium* y *E. faecalis*, por ello se han realizado diversos estudios para explicar su prevalencia, los factores de riesgo, sus características genéticas y biológicas, el tratamiento administrado e los pacientes con estas infecciones, la forma de prevención, el peso específico en la morbi-mortalidad y los costos que representan estas infecciones en los hospitales donde ocurren. En México, existe información reciente en adultos sobre los factores de riesgo para colonizarse o infectarse por este microorganismo. Por todo ello, es necesario conocer cuales son los factores de riesgo para desarrollar una infección por ERV entre los pacientes del INCMNSZ, porque el conocimiento de ellos permitirá desarrollar las medidas de prevención y las estrategias de control del problema.

## **HIPÓTESIS**

Existen factores clínicos y de tratamiento que aumentan la posibilidad de colonización y de infección por *Enteroccus* spp. resistente a vancomicina en los pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados críticos del INCMNSZ.

## **OBJETIVOS GENERALES**

1. Determinar factores de riesgo para colonización gastrointestinal e infección por ERV en los pacientes que se hospitalizan en las unidades de cuidados críticos en el INCMNSZ.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir características clínicas, factores de riesgo y la evolución con el tratamiento de los pacientes infectados por ERV.
2. Describir características clínicas, factores de riesgo y la evolución con el tratamiento de los pacientes colonizados por ERV.

## **MÉTODO.**

### **1. Diseño del estudio.**

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo y observacional, de vigilancia activa, en pacientes que ingresaron a las unidades de terapia intensiva y hospitalización de urgencias de esta institución, durante el periodo de 22 de mayo al 20 de diciembre de 2007. El estudio evaluó la prevalencia de colonización fecal, así como la tasa de infección por *Enterococcus* resistente a vancomicina (ERV).

### **2. Criterios de inclusión, de exclusión y de eliminación.**

#### a) Criterios de Inclusión

- Hombres o mujeres que ingresaron a las unidades de terapia intensiva (UTI) u hospitalización de urgencias (HU) del INCMNSZ, durante el periodo mencionado anteriormente.
- Pacientes con estancia en HU o UTI de por lo menos 24 hrs.
- Individuos mayores de 18 años de edad, o en caso de que fueran menores de edad, que tuvieran un familiar responsable para autorización de ingreso al estudio.
- Firma de consentimiento informado.

#### b) Criterios de Exclusión

- Pacientes con historia clínica de infección previa por ERV en el INCMNSZ, considerada así por el médico tratante y que hubiera sido meritoria de tratamiento antibiótico específico.
- Pacientes que no aceptaron participar en el estudio.

#### c) Criterios de Eliminación

- El paciente que retire su consentimiento.

### **3. Pacientes.**

### ***Reclutamiento.***

Se invitaron a participar a todos los pacientes que ingresaron a las UTI y hospitalización de urgencias durante el periodo de estudio y que cumplieron los criterios de inclusión. A los que aceptaron participar se les realizó una toma de exudado rectal a las 24 hrs del ingreso a la unidad de cuidados críticos, luego a las 72 hrs y posteriormente una vez por semana, hasta que tuvieron un cultivo positivo para ERV (colonización) o hasta su egreso de la unidad en caso de que sus cultivos permanecieran negativos. Los pacientes con colonización desde el ingreso fueron seguidos clínicamente y se les tomó un cultivo de vigilancia al momento de alta de la unidad.

### ***Obtención de datos.***

Se obtuvo la siguiente información del expediente clínico, mediante el llenado de una hoja de captura: edad, sexo, diagnósticos de ingreso, fecha de ingreso al hospital, fecha de ingreso a la UTI, tiempo de estancia hospitalaria previo a su ingreso a UTI, enfermedades concomitantes, uso previo de antibióticos, realización de procedimientos invasivos, tipo de nutrición (parenteral o enteral), tiempo de cada uno de éstos, cirugías abdominales y de cualquier otro tipo previas al desarrollo de ERV; índices de gravedad y pronósticos (SOFA y APACHE II).

## **4. Procedimientos.**

### ***Obtención de muestras de exudado rectal.***

El exudado rectal se realizó de la manera siguiente: se introdujo un hisopo de algodón hasta 4 cm. del margen anal, se rotó 6 veces y se extrajo, la muestra se colocó en un tubo de ensayo con 2 mL de solución salina a 0.85% y se homogeneizó manualmente. Las muestras obtenidas fueron transportadas al laboratorio de microbiología, en un lapso no mayor de una hora.

### ***Procesamiento de las muestras.***

En el laboratorio, cada muestra se homogeneizó con agitación en vórtex durante 30 segundos; posteriormente se inoculó 1µL de la muestra en dos medios de cultivo: una placa de agar bilis esculina adicionado con vancomicina (8 µg/mL)(38) para aislar el ERV y otro agar bilis esculina sin antibiótico, como control de desarrollo; las placas fueron sembradas en forma radiada. Además, por cada lote de muestras sembradas diariamente, se incluyeron las cepas control ATCC 700221 de *E. faecium* resistente a vancomicina y la ATCC 29212 de *E. faecalis* susceptible en un medio de agar bilis esculina con vancomicina. Todos los cultivos se incubaron a 37°C durante 48 hrs., en condiciones aerobias. Las placas de cultivo se leyeron a las 24, 48 y 72 hrs.

### ***Interpretación del cultivo en medio de bilis esculina.***

Se consideró un cultivo positivo de ERV, cuando hubo desarrollo de colonias con halo de color negro en el medio de bilis esculina con vancomicina. Cuando hubo desarrollo de colonias en el medio sin antibiótico se reportó como control de desarrollo positivo, esta placa se desecho.

En los cultivos positivos con ERV se realizó la cuenta de unidades formadoras de colonias/mL, se resembraron en medio de agar sangre de carnero (ASC) y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Después de la incubación se revisaron los cultivos y si se observaron varios tipos de colonias, se realizó la separación de cada una de ellas en ASC para obtener cultivos puros y realizar la identificación.

### ***Identificación y pruebas de susceptibilidad de los aislados de ERV.***

La identificación y susceptibilidad se realizó en el sistema automatizado Vitek 2® (bioMérieux, Durham NC, USA). Se utilizaron las tarjetas de identificación GP y para la susceptibilidad, las tarjetas de AST- GP61. Los antibióticos que se probaron fueron los siguientes: ampicilina, bencilpenicilina,

cefazolina, cloramfenicol, clindamicina, eritromicina, gatifloxacina, gentamicina de alto nivel, levofloxacina, linezolid, moxifloxacina, nitrofurantoína, quinupristina/dalfopristina, rifampicina, estreptomicina de alto nivel, tetraciclina y vancomicina. Estas tarjetas se leen mediante el método colorimétrico y contienen 64 pocillos de prueba y 2 pocillos control cada una.

Los aislados incluidos en el estudio fueron todos aquellos identificados como *E. faecium* o *E. faecalis* resistentes a vancomicina. Posteriormente, a todos los aislados incluidos en el estudio se les realizó susceptibilidad por el método de microdilución en placa, a los siguientes antibióticos: ampicilina, ciprofloxacino, levofloxacina, gentamicina, teicoplanina y vancomicina, según recomendaciones del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI). La determinación de la susceptibilidad a quinupristina/dalfopristina y linezolid se realizaron con la prueba E. En cada lote de pruebas se utilizó como control la cepa de *E. faecalis* ATCC 29212.

### ***Identificación de los genes de resistencia a vancomicina.***

#### ***a) Extracción de DNA.***

Se resembró la cepa en ASC, se incubó a 37°C durante 18-24 horas. En un vial Eppendorff se agregaron 100µL de amortiguador TE (10-1mM), se tomaron de una a cinco colonias de la cepa a probar y se resuspendió en el amortiguador, se calentó en un baño seco a 95°C durante 10 min. y se centrifugó 2 min. a 8000 rpm, posteriormente se transfirió el sobrenadante a un vial Eppendorff limpio. Este se utilizó como DNA blanco.

#### ***b) Amplificación de los genes *vanA* y *vanB*.***

Para la identificación de los genes *vanA* y *vanB*, se realizó una amplificación múltiple mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las condiciones de la reacción fueron: volumen final de reacción 25 µL, una mezcla de los oligonucleótidos *vanA* (5' GGG AAA ACG ACA ATT GC),

*vanA1* (5' GTA CAA TGC GCC GTT A 3'), *vanB* (5' ATGGGAAGCCGATAGTC 3') y *vanB1* (5' GATTTCGTTTCCTCGACC 3'), 15pM de cada uno, MgCl<sub>2</sub> 2mM; mezcla de dCTP, dATP, dGTP, dTTP 5 mM (Gibco BRL, NY, EUA) y *Taq* polimerasa 5U (Gibco BRL, NY, EUA); se utilizaron 5 µL DNA de cada cepa prueba como blanco. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador DNA Engine Tetrad 2 (MJ Research Inc. Watertown, Mass. EUA). El programa consistió de un ciclo a 94°C 5 minutos, 30 ciclos de 94°C 30 seg., 54°C 30 seg., 72°C por 45 seg., y 1 ciclo a 72°C por 7 minutos.

En cada lote de pruebas se incluyeron un control positivo para *vanA*, con DNA de una cepa de *E. faecium* aislada de muestra clínica (AC 22440), un control positivo de *vanB*, con DNA de *E. faecalis* ATCC 29212 y un control negativo de reactivos. (39)

Los productos de amplificación fueron separados en un gel de agarosa al 2% y se tiñeron con bromuro de etidio (10 mg/mL), Se tomó fotografía en una cámara Polaroid (MP4, Cambridge, Mass, EUA).

### ***c) Interpretación.***

La interpretación positiva para *vanA*, fue la presencia de una banda de 732pb y para *vanB* la presencia de una banda de 635 pb.

### ***Método de electroforesis en gel por campos pulsados.***

Las cepas se sembraron en agar sangre de carnero y se incubaron a 37°C por 20 - 24 hrs. Del cultivo se tomó una colonia y se inoculó en un tubo con 3 ml de caldo de BHI, se incubaron a 37°C con agitación (250 rpm) toda la noche. Se tomaron 150 µL de cada cultivo en tubos Eppendorff y se centrifugaron a 14,000 rpm durante 2 min. El sobrenadante se decantó. El paquete celular se lavó con 400 µL de buffer PIV (Tris-HCL 1M, NaCl 1M, pH= 7.6) y se resuspendió en 150 µl del mismo buffer. Los tubos se incubaron a 50°C para equilibrar la temperatura, posteriormente se agregaron 150 µL de agarosa de bajo

punto de fusión al 1.6%, se tomaron 100  $\mu$ L para preparar los bloques en los moldes. Los bloques se dejaron solidificar y se colocaron en un tubo Eppendorff, se resuspendieron con 500  $\mu$ L de buffer de lisis pH=7.6 (Tris 1M, NaCl 1M, EDTA 100mM, Brij 58 0.5%, desoxicolato ácido 0.2%, laurilsarcosinato de sodio 0.5%, ribonucleasa A 50  $\mu$ g preparado al momento) y se incubaron a 50°C toda la noche. Se eliminó el buffer de lisis y se agregaron 500  $\mu$ L de buffer ESP (EDTA 0.4M, laurilsarcosinato de sodio 0.1%, pH 9-9.5 y 0.5 mg/mL de proteinasa K, preparado al momento) y se incubaron a 50°C durante 24 hr. Los bloques se lavaron 7 veces con buffer TE 1X (Tris 5mM, EDTA 5mM, pH=7.5, fenil-metil-sulfonil-fluorido 1mM), a 37°C 30 min, después se lavaron 3 veces con buffer TE 0.1 durante 30 min. Se colocaron en 300  $\mu$ L de buffer de restricción 1 para equilibrar por 45 min y después a cada bloque se le adicionaron 50U de enzima *Sma* I (Bio-Rad Laboratories® , Hercules CA, EU) y se incubaron a 37°C toda la noche.

Se preparó el gel de agarosa al 1% con buffer TBE 0.5 para realizar el campo pulsado y se colocó la mitad de cada bloque en cada pozo de gel, colocando marcador de peso molecular lambda ladder (New England Biolabs® Inc.) en los carriles 1 y 15. La electroforesis se corrió en el programa de switch inicial 5.5, switch final 40 durante 19 horas en el equipo GenePath System Bio-Rad Laboratories®. Después de la electroforesis el gel fue teñido con bromuro de etidio (1 $\mu$ g/mL), se lavó con agua durante 15 minutos y se tomó fotografía. (40)

Las fotografías de cada gel fueron analizadas con el software GelCompar (Applied Maths, Kortrijk, Bélgica), se usó el Coeficiente de Dice, con una tolerancia de bandas del 3% . Se seleccionó un coeficiente de similitud > 80% para definir el parentesco genético. (41)

## **5. Cálculo del tamaño de la muestra.**

El objetivo de este estudio fue conocer la prevalencia de la colonización e infección por ERV en los pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados críticos en nuestra Institución, por lo que no es necesario realizar un cálculo del tamaño de muestra, y se incluyeron a todos los pacientes que ingresaron durante el período de estudio.

## **6.Aspectos éticos del estudio.**

Este estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Investigación en Humanos del INCMNSZ. Se otorgó la autorización por escrito por parte de este comité previo al inicio del estudio.

Todos los pacientes incluidos firmaron un consentimiento informado, previa explicación detallada de los procedimientos a realizar por parte del investigador.

## **7. Análisis estadístico**

Las variables continuas se expresaron como promedios y desviación estándar (DE) o mediana y valores mínimo-máximo. Las variables categóricas se reportan como frecuencias absolutas y relativas(%). Se realizó un análisis univariado utilizando las pruebas t de Student, U de Mann-Whitney, prueba de chi cuadrada o exacta de Fisher, según fueran adecuadas a su distribución. Posteriormente se construyeron modelos de regresión logística incluyendo variables que en el análisis previo alcanzaron valores de p iguales o menores a 0.1. En el análisis multivariado se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes colonizados y no colonizados por ERV.

Durante el periodo de estudio invitamos a participar a 244 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión, 11 rechazaron firmar el consentimiento informado y 2 no fueron incluidos por otras causas, por lo que incluimos 231 pacientes en total. De éstos, 68 (29.4%) se encontraron colonizados por ERV en algún momento de su estancia en las UTI y 163 (70.5%) nunca se encontraron colonizados durante su seguimiento. Las características clínicas y demográficas de esta población se describen en la tabla 1.

La mediana de edad fue de 51 años (17–87) en general; para el grupo colonizado por ERV, la mediana fue de 53 años (17–82) y para el grupo no colonizado fue de 51 años (15–87), la diferencia de edad entre estos dos grupos no fue significativa, (chi cuadrada,  $p = 0.86$ ).

De los 231 pacientes estudiados, 104 (45%) fueron hombres y 127 (55%) mujeres. Del grupo colonizado por ERV, 34 pacientes fueron hombres (50%) y 34 fueron mujeres; mientras que en el grupo no colonizado, 70 pacientes (42.9%) fueron hombres y 93 fueron mujeres (57%), esta diferencia tampoco fue estadísticamente significativa ( $p = 0.38$ ).

La mediana del tiempo de hospitalización previo al ingreso a la UTI en todo el grupo fue de 2 días (1–75), para el grupo colonizado fue de 4.5 días (1–75) y para el grupo no colonizado fue de 2 días (1–32). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0.003$ ).

La mediana de la escala de SOFA al ingreso de los pacientes fue de 7 (1–16); para el grupo de pacientes colonizados fue de 8 (2–16) y para el grupo de pacientes no colonizados fue de 6 (1–16), la diferencia entre ambos grupos no fue significativa.

La mediana de la escala de APACHE II al ingreso a las UTI fue de 17 (2–40); para el grupo de pacientes colonizados fue de 18 (8–32) y para el grupo no colonizado fue de 17 (2–40), con una diferencia significativa ( $p = 0.04$ ).

Los diagnósticos de ingreso más frecuentes entre los 231 pacientes fueron: neumonía, 62 pacientes (26.8%); sepsis abdominal comunitaria, 14 pacientes (6.1%); sepsis abdominal nosocomial, 14 pacientes (6.1%); posquirúrgico de cirugía programada abdominal, 22 pacientes (9.5%); posquirúrgico de otras cirugías, 19 pacientes (8.2%); eventos cardiopulmonares agudos, 30 pacientes (13%); infecciones diseminadas, 10 pacientes (4.3%); y otros diagnósticos en 60 pacientes (26 %). Aunque se encontró una tendencia hacia la diferencia entre ambos grupos en cuanto a los diagnósticos de ingreso de sepsis abdominal nosocomial y eventos cardiopulmonares agudos, ninguno de los dos alcanzó diferencia estadísticamente significativa.

Sólo 14 de los 231 pacientes no tenían ninguna enfermedad concomitante (6%). Las comorbilidades más frecuentes fueron: diabetes mellitus, 37 casos (16%); uso de inmunosupresores, 45 pacientes (19.5%); patologías cardíacas y pulmonares, 47 pacientes (20.3%); neoplasias sólidas, 29 pacientes (12.6%), neoplasias hematológicas, 10 pacientes (4.3%); trasplante de órgano sólido, 6 pacientes (2.6%), trasplante de médula ósea, 1 pacientes (0.4%); 42 pacientes tenían otras comorbilidades (18.2%). Sólo se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el grupo colonizado y el no colonizado, en relación a las neoplasias hematológicas.

#### **a. Factores de riesgo durante la hospitalización**

En cuanto a los procedimientos invasivos, se encontraron con diferencia significativa entre el grupo colonizado y el grupo no colonizados, los siguientes: uso de ventilación mecánica, 62 pacientes en el grupo colonizado (91.2%) y 127 pacientes en el grupo no colonizado (77.9%),  $p= 0.01$ ; uso de sonda nasogástrica, 56 pacientes (82.4%) en el grupo colonizado y 107 (65.6%) en el grupo no

colonizado,  $p= 0.007$ ; nutrición enteral, 49 pacientes colonizados (72.1%) y 83 pacientes no colonizados (50.9%),  $p= 0.002$ ; nutrición parenteral, 18 pacientes colonizados (26.5%) y 16 pacientes no colonizados (9.8%),  $p= 0.002$ .

### ***Uso de antibióticos.***

El uso previo de antimicrobianos tales como clindamicina, carbapenémicos, aminoglucósidos, vancomicina y caspofungina, se asoció con una mayor probabilidad de colonización.

Dieciséis pacientes del grupo colonizado utilizaron clindamicina (23.5%) vs. 17 pacientes del grupo no colonizado (10.4%);  $p = 0.01$ , razón de momios de 0.44, IC 95% 0.23–0.82.

Cuarenta y cinco pacientes del grupo colonizado (66.2%) utilizaron meropenem o imipenem, vs. 81 del grupo no colonizado (49.7%);  $p = 0.01$ , razón de momios de 0.75 (IC 95% 0.59–0.94).

Doce pacientes (17.6%) del grupo colonizado vs. 12 pacientes (7.4%) del grupo no colonizado, utilizaron ertapenem;  $p= 0.02$ , razón de momios de 0.41 (IC 95% 0.19–0.88).

Cincuenta y cuatro pacientes del grupo colonizado (79.4%), vs 106 pacientes (65%) del grupo no colonizado, utilizaron aminoglucósidos,  $p= 0.03$ , razón de momios 0.81 (IC 95% 0.69-0.96).

Cincuenta y cinco pacientes del grupo colonizado (80.9%) utilizaron vancomicina vs. 99 (60.7%) del grupo no colonizado,  $p= 0.003$ , razón de momios de 0.75 (IC 95% 0.63-0.88).

Cinco pacientes del grupo colonizado (7.4%) utilizaron caspofungina vs. 3 pacientes del grupo no colonizado (1.8%),  $p= 0.03$ , razón de momios 0.25 (IC 95% 0.06-1.01).

### ***Eventos quirúrgicos durante el seguimiento.***

No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en cuanto a la realización de procedimientos quirúrgicos de cualquier tipo. Cuando se analizó por grupos aquéllos que fueron sometidos a cirugía abdominal vs. Cirugía de otro tipo, tampoco se encontró una

diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos con respecto a colonizados y no colonizados.

#### ***Traslado de otro hospital.***

No se encontró diferencia entre los pacientes trasladados de otro hospital y los pacientes que provenían de las salas de internación del Instituto para la colonización por ERV.

#### ***Sitio de estancia hospitalaria previo al ingreso a terapia intensiva.***

Los pacientes que habían estado hospitalizados en primer y segundo pisos tuvieron mayor riesgo para colonización por ERV; 28 pacientes (41.2%) vs. 94 pacientes (57.7%),  $p = 0.02$ , razón de momios de 1.4 (IC 95% 1.02–1.9).

#### **b. Análisis multivariado.**

Para el análisis multivariado de los factores de riesgo para colonización, se incluyeron las siguientes variables que se consideraron significativas: Estancia previa en hospitalización, uso de nutrición enteral, uso de nutrición parenteral, ventilación mecánica y uso de sonda nasogástrica. El análisis corroboró como factores de riesgo significativos para colonización por ERV, los siguientes: Uso de nutrición enteral, con un riesgo relativo de 3.09 (IC 95% 1.52-6.28) ; uso de nutrición parenteral, con un riesgo relativo de 3.2 (IC 95% 1.3 – 7.9); por cada día de estancia previa al ingreso a UTI, en hospitalización, el riesgo de colonización aumenta 1.13 (IC 95% 1.06 – 1.19). La estancia previa en pisos de hospitalización, tanto colectivos como privados, se encontró como factor protector; en pisos colectivos, el riesgo relativo fue de 0.15 (IC 95% 0.07 – 0.33), en pisos privados fue de 0.1 (IC 95% 0.32 – 0.38). El modelo utilizado explicó el 34% de la variación estadística.

Se realizó también un análisis multivariado para el uso de los siguientes antibióticos: vancomicina, amikacina, clindamicina, meropenem, fluoroquinolonas y ceftriaxona. El único antibiótico que conservó significancia estadística fue clindamicina ( $p= 0.02$ , razón de momios 2.53 (IC 95% 1.16 – 5.5)). Este modelo explicó únicamente el 10.4% de la variación estadística.

## **2. Pacientes infectados y no infectados por ERV.**

Veintidós de los 68 pacientes colonizados (32.4%) presentaron infección por ERV. De los aislamientos clínicos, 13 casos se encontraron en orina en pacientes colonizados y 3 casos en no colonizados, sin trascendencia clínica, con  $p < 0.001$  En sangre y en muestras intraabdominales en pacientes colonizados se aislaron 4 casos y 4 casos respectivamente, y ningún caso en el grupo control,  $p = 0.007$ . También se aisló uno en herida quirúrgica, sin diferencia estadísticamente significativa. Es decir, de los 22 pacientes que presentaron infección por ERV con significado clínico, 22 (100%) estaban previamente colonizados por este germen. Ver tabla 5.

Encontramos 22 pacientes que desarrollaron infección por ERV entre los 68 individuos colonizados (32.4%). Al comparar 20 (casos con expediente completo) de los 22 pacientes, contra los 46 individuos colonizados sin infección, encontramos que no hubo diferencia significativa, en cuanto al diagnóstico de ingreso, comorbilidades, procedimientos invasivos, uso previo de antibióticos, eventos quirúrgicos, traslado de otro hospital y estancia previa al ingreso a UTI; no se encontró diferencia estadísticamente significativa en ninguna de las variables. Ver tabla 3.

## **3. Cultivos de colonización.**

De los 68 pacientes colonizados con ERV, 34 (50%) lo estaban desde el primer cultivo, 15 (22%) en el segundo cultivo, 9 (13%) en el tercer cultivo y 8 (11%) en el cuarto cultivo, 5(7%) en el quinto cultivo, 1(1.4%) en el sexto cultivo, 2(2.9%) en el séptimo cultivo,

1(1.4%) en el octavo cultivo, 1(1.4%) en el noveno cultivo y ningún paciente en el décimo cultivo (Ver Tabla 4). Esto revela, que la mitad de los pacientes ingresaban a la unidad de cuidados críticos colonizados por ERV, dicho hallazgo, documentó que la adquisición del germen, era predominantemente en servicios de hospitalización.

#### **4. Infecciones concomitantes durante la hospitalización.**

Los resultados completos se muestran en la tabla 5. A continuación se describen los hallazgos más relevantes:

##### ***Casos de bacteriemia y sepsis***

El aislamiento, de *Pseudomonas aeruginosa* sensible en sangre, fue mayor en el grupo colonizado (6 casos) que en el grupo no colonizado (1 caso),  $p = 0.003$ .

##### ***Casos de urosepsis***

También se encontró, de manera más frecuente *Pseudomonas aeruginosa MR* en orina, en el grupo colonizado (6 casos), que en el grupo no colonizado (3casos),  $p = 0.021$ . Además se encontró de manera más frecuente *Candida* spp en orina en el grupo colonizado (32 casos), que en el grupo no colonizado (35 casos),  $p = 0.000$ .

##### ***Casos de infección intraabdominal***

Otro hallazgo significativo, fue el aislamiento de *Escherichia coli sensible*, en muestras intraabdominales más frecuentemente en el grupo colonizado (3 casos), que en el grupo no colonizado (0 casos),  $p = 0.025$ . El aislamiento de *Escherichia coli BLEE*, en muestras intraabdominales, fue encontrado más frecuentemente en el grupo colonizado (5 casos), que en el grupo no colonizado (2 casos),  $p = 0.025$ . El aislamiento de *Klebsiella BLEE*, en muestras intraabdominales, fue encontrado más frecuentemente en el grupo colonizado (4 casos), que en el grupo no colonizado (0 casos),  $p = 0.007$ .

### ***Casos de neumonía***

Se encontró, de manera más frecuente, *Pseudomonas aeruginosa* MR en expectoración, en el grupo colonizado (11 casos), que en el grupo no colonizado (10 casos),  $p = 0.023$ . Otro hallazgo significativo fue, el aislamiento de *Escherichia coli* sensible en muestras de expectoración, en el grupo colonizado (5 casos) y en el grupo control (2 casos),  $p = 0.025$ .

### ***Otros hallazgos***

Encontramos, que el número de aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus*, en ambos grupos no tuvo diferencias con significancia estadística.

En cuanto, al aislamiento de *Enterococcus* sensible a vancomicina, no hubo diferencias significativas entre el grupo colonizado y el no colonizado.

## **6. Pruebas de susceptibilidad de los aislados**

La corroboración de susceptibilidad mediante microdilución en placa mostró lo siguiente: Todas las cepas, excepto una fueron resistentes a ampicilina, ciprofloxacina y levofloxacina. Dentro del estudio, 8 cepas fueron susceptibles a gentamicina de alta concentración, y el resto fueron resistentes. Todas las cepas fueron resistentes a vancomicina. Una sola cepa fue sensible a teicoplanina y todas las demás fueron resistentes. Solo tres cepas fueron resistentes a quinupristina/dalfopristina y una con sensibilidad intermedia. Todas las cepas fueron sensibles a linezolid. Ver tabla 6.

## DISCUSIÓN

Los datos de nuestro estudio de cohorte muestran como hallazgo mas relevante, que 1 de cada 3 pacientes (22/68) colonizados por ERV desarrollaron un evento infeccioso, alguno de estos eventos tan graves como bacteriemia en (4/20). Otro hallazgo importante de este estudio, es que después del análisis multivariado, confirmamos como factores de riesgo para desarrollo de colonización por ERV, el empleo de las siguientes herramientas de tratamiento en pacientes graves: nutrición enteral, nutrición parenteral, e igualmente observamos que el riesgo de colonización por ERV se incremento por 1.13 veces por cada día de estancia hospitalaria. El tercer hallazgo relevante, fue que >85% de los microorganismos estudiados (colonizantes como no colonizantes), están relacionados genéticamente y conforman un gran brote ocasionados por una clona dominante.

En nuestro estudio encontramos una prevalencia de colonización por ERV en las unidades de cuidados críticos de 30%, durante el periodo del estudio. Sin embargo, 50% de éstos se encontraban colonizados al momento de su ingreso a la UTI; podemos inferir de este hallazgo, que la colonización por ERV no se encuentra restringida a las UTI de nuestra Institución, sino que es relativamente frecuente en los pisos de hospitalización, debido a que estos pacientes que tienen una estancia más prolongada, una patología más compleja y un estado de gravedad mayor, además de que en la mayoría de las ocasiones tiene una larga exposición a antibióticos y se encuentran con medidas terapéuticas mas invasivas(28). Estos pacientes, al encontrarse colonizados en los pisos de hospitalización, han funcionado como reservorio del ERV en nuestro hospital y favorecen la diseminación del germen(9,18). Esto coincide con los factores de riesgo encontrados en el análisis del brote de infecciones por ERV en nuestra institución (52), donde 30% de los pacientes infectados se encontraron en los pisos de hospitalización, 20% en la UTI y otro 20% en diversas áreas. Con respecto a los pacientes que se colonizaron durante su estancia en

UTI, todos lo hicieron dentro de los primeras 3 semanas de su estancia, es decir, la colonización por ERV, cuando ocurre en la UTI, es temprana.

Entre las características demográficas y clínicas, destacó la mediana del tiempo de hospitalización previo al ingreso a la UTI, que para el grupo colonizado fue mayor, esto puede ser debido a que los pacientes, que se encuentran colonizados tienen factores asociados a su enfermedad, que los hacen tener una hospitalización mas prolongada, antes del ingreso a unidades de cuidados críticos . Otro hallazgo relevante, es la mediana de la escala de APACHE II al ingreso a las UTI que fue mayor, para el grupo de pacientes colonizados. Este resultado se explica, porque los pacientes colonizados se encontraban mas graves y requerían de más medidas terapéuticas invasivas, antibioticoterapia, que los hacían más susceptibles a la colonización por este germen (28). Ningún diagnóstico de ingreso se relacionó con colonización por ERV con significancia estadística, sin embargo, dentro de las comorbilidades, las neoplasias hematológicas 10 (4.3%) fueron mas comunes en el grupo colonizado 6(8.8%), que en el no colonizado 4 (2.5%) ( $p=0.04$ ). Se ha descrito previamente en la literatura, que los pacientes con hospitalizaciones prolongadas, escala de APACHE con valores elevados, y pacientes inmunosuprimidos (entre las que destacan las neoplasias hematológicas), se encuentran en mayor riesgo para colonizarse por ERV. Los resultados se explican porque en nuestra institución, tenemos pacientes que poseen muchas de esas características, y eso los hace susceptibles a la colonización e infección por este germen. Sin embargo, seria adecuado indagar, que tipo de neoplasias hematológicas son más comunes en pacientes colonizados, ya que en la literatura se reporta que es más común, en leucemias que en linfomas, muy probablemente secundario al tipo de quimioterapia que reciben.

En cuanto a los factores de riesgo durante la hospitalización relacionados a colonización por ERV fueron: uso de ventilación mecánica, uso de sonda nasogástrica, nutrición enteral, nutrición parenteral, el uso previo de antimicrobianos, tales como clindamicina, carbapenémicos, aminoglucósidos, vancomicina y caspofungina. Estos factores de riesgo han sido descritos previamente en la literatura(50,5), ya que los

pacientes con procedimientos invasivos múltiples, tienen un mayor riesgo de colonización por ERV, por estar expuestos a una amplia gama de antibióticos, con lo que la flora intestinal se modifica, seleccionando a cepas que son resistentes a dichos antibióticos; de la misma manera, el uso previo de antibióticos como las cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, vancomicina y clindamicina, también son un factor de riesgo conocido para colonización por ERV.(1,10,5) En nuestro estudio llama la atención, la colonización por ERV en pacientes con uso previo de carbapenémicos, situación que se ha descrito como factor predisponente para colonización por gérmenes gramnegativos no fermentadores, mas que para ERV, sin embargo esto puede ser debido a su acción anaerobicida (51), esto es algo alarmante ya que en nuestras UTI el uso de este agente es muy común.

Es interesante, que el uso de vancomicina fue mayor en el grupo colonizado, en comparación con el grupo no colonizado, siendo estadísticamente significativo, es posible que esta diferencia no se haya observado en el estudio de mayo del 2007 en esta institución, debido al pequeño tamaño de la muestra; y refleja claramente, el uso extensivo de vancomicina, sobretodo para el manejo de pacientes en quienes se sospecha infección por estafilococo resistente a meticilina, dicha practica constituye un factor de riesgo para colonización por ERV descrito previamente en otros estudios (5,6).

En el caso de la caspofungina, en particular, no se ha descrito en la literatura una asociación con la colonización por ERV; sin embargo, en nuestra población de pacientes colonizados, se encontró una frecuencia incrementada de aislamiento de *Candida* en orina, por lo que estos dos fenómenos pudieran no guardar asociación entre sí. Llama la atención que en el estudio de mayo del 2007, el antifúngico asociado con incremento en los casos de colonización por ERV fue fluconazol muy probablemente debido a las mismas razones.

Los pacientes que habían estado hospitalizados en primer y segundo pisos (colectivos), tuvieron mayor riesgo para colonización por ERV. Esto se explica, por la distribución de los pacientes y el

personal de enfermería en el primero y segundo pisos, donde se distribuyen más pacientes por cada enfermera, y no se cuenta con suficientes cubículos para aislamiento de los pacientes, con lo que los pacientes no colonizados se exponen de manera más prolongada a los que están colonizados, aún más si esta colonización pasa inadvertida por falta de realización de cultivos de vigilancia en pacientes de riesgo (19, 20, 21,38).

Se estudiaron también los aislados clínicos más frecuentes de todos los pacientes del estudio, los que se encontraron relacionados a la colonización por ERV fueron: *P. aeruginosa* en expectoración, orina y sangre; *E. coli* en muestras intraabdominales y expectoración. *Candida* spp en orina. *Klebsiella* a nivel abdominal. Uno de los diagnósticos de ingreso más frecuentes de los pacientes que estudiamos fue neumonía nosocomial, lo que explica la mayor cantidad de aislamientos de *P. aeruginosa* en muestras de tracto respiratorio; el aislamiento de este mismo germen en orina de manera más frecuente puede deberse a que un gran porcentaje de nuestros pacientes requirieron el uso de sonda urinaria durante periodos prolongados, lo que también explicaría el hallazgo de *Candida* en la orina de manera frecuente. El aislamiento de *E. coli* y *Klebsiella* en muestras intraabdominales, puede deberse a que el 10% de los pacientes colonizados por ERV, requirieron de por lo menos una intervención quirúrgica abdominal y que la mayoría de ellos presentaron sepsis abdominal (11,12).

En cuanto a la infección por ERV ocurrida en 25 pacientes, está fue más frecuente en el grupo colonizado 22/68, en contraste con el grupo no colonizado 3/163, la mayoría de los pacientes con infección por ERV estaban previamente colonizados. La colonización gastrointestinal por ERV precede claramente a la infección, y 1 de cada 3 pacientes colonizado puede desarrollar infección, además que 1 de cada 5 pacientes infectados, puede desarrollar infección grave (bacteriemia) que pueda provocar desenlaces fatales. Por tal motivo, lo anterior corrobora, que la colonización precede en la mayoría de los casos a la infección por ERV, y en aquellos en los que no se encontraron colonizados, muy

probablemente se deba, a que se encontraron transitoriamente colonizados, o que no los detectamos con los exudados rectales.

Con respecto a la resistencia a antibióticos por ERV en nuestro hospital, cabe resaltar que la gran mayoría de las cepas, son resistentes a los siguientes antibióticos (vancomicina, ampicilina, quinolonas, aminoglucósidos y teicoplanina), lo cual ya se encuentra descrito en la literatura, y muy probablemente sea debido, a la selección de cepas que provengan de una misma clona, y que por medio de transmisión horizontal adquieran resistencia, mas que a la adquisición de manera vertical de resistencia por uso indiscriminado de antibióticos(1,3,5,7,9).

Con respecto a la determinación de genes de resistencia, todas las cepas de ERV presentaron el gen *vanA*, lo cual coincide con lo descrito en la literatura mundial, ya que este gen tiene una penetrancia en *E. faecium* de hasta 80%, y se describe con mayor frecuencia en la mayoría de los estudios de colonización por ERV (1,6,7,8) . Específicamente en nuestra Institución, todos los casos reportados de infección por ERV han sido causados por *E. faecium* con fenotipo y genotipo *vanA*.

Finalmente, la epidemiología molecular de las infecciones ha permitido establecer líneas de transmisión de patógenos dentro y fuera de las áreas hospitalarias. En nuestro caso el estudio de huellas digitales muestra claramente que existe una clona predominante que se encuentra presente en los pacientes colonizados e infectados, tanto en los estudiados en este periodo como en la comparación de nuestros pacientes con los del brote de infección descrito anteriormente en el Instituto. La diseminación horizontal de esta clona demuestra la facilidad con que estos gérmenes, tal vez más indolentes pero no por ello menos peligrosos, se transmiten a través de las manos del personal y por contacto con los mismos pacientes. Por ello, los hallazgos de epidemiología molecular junto con la corroboración de los factores de riesgo, descritos previamente, son fundamentales para disminuir en el futuro las infecciones por este patógeno en nuestro hospital.

## **CONCLUSIONES.**

1. Los datos de nuestro estudio de cohorte, documentaron como hallazgo mas importante, que 1 de cada tres pacientes colonizado por ERV, desarrolla infección.
2. La colonización gastrointestinal por ERV precede claramente a la infección, y 1 de cada 3 pacientes colonizados puede desarrollar infección, y 1 de cada 5 pacientes infectados, puede desarrollar infección grave (bacteriemia).
3. Ratificamos que los factores de riesgo para colonización e infección por ERV, en la población atendida en nuestro instituto, fueron semejantes a aquellos descritos en otros estudios, lo cual confirma, que este fenómeno es común en pacientes críticamente enfermos.
4. Todos los aislados de ERV provenientes de infección o de colonización tienen un parentesco genético mayor de 85%, por lo que pueden considerarse como la misma clona, probablemente residente en esta institución.

## **RECOMENDACIONES**

Debido a que la colonización intestinal por ERV puede prolongarse durante meses, sin progresar a infección aparente, es necesario:

1. El reconocimiento temprano de los pacientes colonizados a través de cultivos de vigilancia.
2. Instalar medidas de asilamiento temprano para evitar la diseminación del germen.

## RESULTADOS (TABLAS).

<b>TABLA 1. Características demográficas y clínicas de los 231 pacientes incluidos en el estudio de cohorte: individuos colonizados por <i>Enterococo resistente a vancomicina</i> e individuos no colonizados.</b>				
<b>Característica</b>	<b>TOTAL (n = 231)</b>	<b>Colonizados ERV (n = 68)</b>	<b>No colonizados ERV (n = 163)</b>	<b>p / RM (IC 95%)</b>
Edad (años)	51 (17 - 87)	53 (17 - 82)	51 (15 - 87)	0.86
Género				
Masculino	104 (45%)	34 (50%)	70 (42.9%)	0.384
Femenino	127 (55%)	34 (50%)	93 (57%)	
Tiempo de estancia previa a UTI (días)	2 (1 - 75)	4.5 (1 - 75)	2 (1 - 32)	0.003
SOFA al ingreso	7 (1 - 16)	8 (2 - 16)	6 (1 - 16)	0.102
APACHE II al ingreso	17 (2 - 40)	18 (8 - 32)	17 (2 - 40)	0.04
<b>Diagnóstico de ingreso</b>				
Neumonía nosocomial y comunitaria	62 (26.8%)	20 (29.4%)	42 (25.8%)	0.87 (0.5 - 1.3)
Sepsis abdominal comunitaria	14 (6.1%)	3 (4.4%)	11 (6.7%)	1.53 (0.44-5.3)
Sepsis abdominal nosocomial	14 (6.1%)	7 (10.3%)	7 (4.3%)	0.4 (0.15-1.14)
Posquirúrgico de cirugía abdominal	22 (9.5%)	4 (5.9%)	18 (11%)	1.87 (0.66-5.34)
Posquirúrgico de otras cirugías	19 (8.2%)	7 (10.3%)	12 (7.4%)	0.71 (0.29 - 1.73)
Eventos cardiovasculares y pulmonares ag	30 (13%)	13 (19.1%)	17 (10.4%)	0.54 (0.28 - 1.06)
Infecciones diseminadas	10 (4.3%)	3 (4.4%)	7 (4.3%)	0.97 (0.25 - 3.6)
Otros	60 (26%)	11 (16.2%)	49 (30.1%)	1.85 (1.03 - 3.35)
<b>Comorbilidades</b>				
Diabetes mellitus tipo 1 y 2	37 (16%)	9 (13.2%)	28 (17.2%)	1.29 (0.64 - 2.6)
Uso de inmunosupresores	45 (19.5%)	16 (23.5%)	29 (17.8%)	0.75 (0.44 - 1.29)
Patología cardíaca y pulmonar	47 (20.3%)	12 (17.6%)	35 (21.5%)	1.21 (0.67 - 2.1)
Neoplasias sólidas	29 (12.6%)	8 (11.8%)	21 (12.9%)	1.09 (0.51 - 2.35)
Neoplasias hematológicas	10 (4.3%)	6 (8.8%)	4 (2.5%)	0.27 (0.08-0.9)
Trasplante de órgano sólido	6 (2.6%)	2 (2.9%)	4 (2.5%)	0.83 (0.15-4.4)
Trasplante de médula ósea	1 (0.4%)	1 (1.5%)	0 (0%)	-
Otros	42 (18.2%)	12 (17.6%)	30 (18.4%)	1.04 (0.56-1.9)

**Tabla 2. Factores de riesgo durante la hospitalización de los 231 pacientes incluidos en el estudio: individuos colonizados por ERV y no colonizados.**

<b>Factor de riesgo</b>	<b>TOTAL N= 231</b>	<b>Colonizados ERV N=68</b>	<b>No colonizados ERV N=163</b>	<b>P</b>	<b>RM (IC 95%)</b>
<b><i>Procedimientos invasivos</i></b>					
Catéter venoso central	224 (97%)	68 (100%)	156 (95.7%)	0.08	0.95 (0.9–0.98)
Línea arterial	79 (34.2%)	27 (39.7%)	52 (31.9%)	0.16	0.8 (0.5 – 1.16)
Ventilación mecánica	189 (81.8%)	62 (91.2%)	127 (77.9%)	0.01	0.85 (0.76-0.95)
Sonda de urinaria	225 (97.4%)	68 (100%)	157 (96.3%)	0.12	0.96 (0.93-0.99)
Sonda nasogástrica o nasoyeyunal	163 (70.6%)	56 (82.4%)	107 (65.6%)	0.007	0.79 (0.68-0.93)
Nutrición enteral	132 (57.1%)	49 (72.1%)	83 (50.9%)	0.002	0.70 (0.57-0.87)
Nutrición parenteral	34 (14.7)	18 (26.5)	16 (9.8)	0.002	0.37 (0.2-0.68)
<b><i>Uso previo de antibióticos</i></b>					
Ampicilina / amoxicilina-clavulanato / dicloxacilina	60 (26)	15 (22.1)	45 (27.6)	0.38	1.25 (0.75-2.08)
Cefalosporinas Ira. Y 2ª. generación	9 (3.9)	3 (4.4)	6 (3.7)	0.52	0.8 (0.2-3.2)
Tetraciclinas	6 (2.6)	0 (0)	6 (3.7)	0.12	-
Fluoroquinolonas	51 (22.1)	19 (27.9)	32 (19.6)	0.16	0.7 (0.4-1.1)
Cefalosporinas tercera generación	156 (67.5)	43 (63.2)	113 (69.3)	0.36	1.09 (0.8-1.3)
Ceftriaxona	113 (48.9)	28 (41.2)	85 (52.1)	0.12	1.26(0.9-1.7)
Ceftazidima	74 (32)	27 (39.7)	47 (28.8)	0.10	0.72(0.4-1.06)
Macrólidos	69 (29.9)	23 (33.8)	46 (28.2)	0.39	0.8(0.5-1.2)
Clindamicina	33 (14.3)	16 (23.5)	17 (10.4)	0.01	0.4(0.2-0.8)
Metronidazol	81 (35.1)	23 (33.8)	58 (33.6)	0.79	1.05(0.7-1.55)
Meropenem/Imipenem	126 (54.5)	45 (66.2)	81 (49.7)	0.02	0.75(0.5-0.9)
Ertapenem	24 (10.4)	12 (17.6)	12 (7.4)	0.02	0.4(0.1-0.8)
Amikacina/Gentamicina	160 (69.3)	54 (79.4)	106 (65)	0.03	0.8(0.69-0.9)
Vancomicina	154 (66.7)	55 (80.9)	99 (60.7)	0.003	0.75(0.63-0.88)
Piperacilina/Tazobactam	83 (35.9)	27 (39.7)	56 (34.4)	0.44	0.86(0.6-1.24)
Fluconazol	38 (16.5)	12 (17.6)	26 (16)	0.75	0.9(0.48-1.68)
Anfotericina	57 (24.7)	22 (32.4)	35 (21.5)	0.08	0.66(0.4-1.04)
Casposfungina	8 (3.5)	5 (7.4)	3 (1.8)	0.03	0.25(0.06-1.01)
Voriconazol	4 (1.7)	3 (4.4)	1 (0.6)	0.07	0.13(0.01-1.3)
<b><i>Cirugías</i></b>					
Cirugía de cualquier tipo	119 (51.5)	33 (48.5)	86 (52.8)	0.55	1.08(0.8-1.4)
Cirugía abdominal	73 (31.6)	22 (32.4)	51 (31.3)	0.87	0.96(0.6-1.4)

<b>Tabla 2. (CONTINUACION) Factores de riesgo durante la hospitalización de los 231 pacientes incluidos en el estudio: individuos colonizados por ERV y no colonizados.</b>					
<b>Factor de riesgo</b>	<b>TOTAL N= 231</b>	<b>Colonizados ERV N=68</b>	<b>No colonizados ERV N=163</b>	<b>P</b>	<b>RM (IC 95%)</b>
Cirugía de otro tipo	46 (19.9)	13 (19.1)	33 (20.2)	0.84	1.05(0.5-1.8)
<i>Traslado de otro hospital</i>	30 (13)	7 (10.3)	23 (14.1)	0.43	1.37(0.6-3.04)
<i>Estancia previa en el hospital</i>					
Urgencias	168 (72.7)	52 (76.5)	116 (71.2)	0.25	0.93 (0.79-1.09)
Hospitalización de urgencias	147 (63.6)	45 (66.2)	102 (62.6)	0.35	0.94 (0.76-1.16)
UTI	120 (51.9)	38 (55.9)	82 (50.3)	0.26	0.9 (0.69-1.16)
Primer y segundo pisos	122 (52.8)	28 (41.2)	94 (57.7)	0.01	1.4 (1.02-1.91)
Tercer y cuarto pisos	35 (15.2)	6 (8.8)	29 (17.8)	0.05	2.01 (0.87-4.6)
DESENLACE					
Alta por mejoría	137 (59.8)	36 (53.7)	101 (62.3)		
Defunción	81 (35.4)	28 (41.8)	53 (32.7)	0.51	
Alta voluntaria	9 (3.9)	2 (3)	7 (4.3)		
Continúa hospitalizado	2 (0.9)	1 (1.5)	1 (0.6)		

<b>TABLA 3. Factores de riesgo para infección por ERV dentro del grupo colonizado en el estudio de cohorte.</b>					
<b>Característica</b>	<b>TOTAL</b>	<b>Infección por ERV</b>	<b>No infección</b>	<b>P</b>	<b>RM</b>

**TABLA 3. (CONTINUACION) Factores de riesgo para infección por ERV dentro del grupo colonizado en**

	(n = 68)	(n = 20)	por ERV (n = 48)		
<b>Procedimientos invasivos</b>					
Carácter venoso central	68(100%)	20(100%)	48(100%)	-	-
Línea arterial	27(39.7%)	9(45%)	18(37.5%)	0.56	0.83(0.45-1.52)
Ventilación mecánica	62(91.2%)	20(100%)	42(87.5%)	0.11	0.87(0.78-0.97)
Sonda de urinaria	68(100%)	20(100%)	48(100%)	-	-
Sonda nasogástrica o nasoyeyunal	56(82.4%)	18(90%)	38(79.2%)	0.24	0.88(0.71-1.08)
Nutrición enteral	49(72.1%)	16(80%)	33(68.8%)	0.34	0.85(0.64-1.14)
Nutrición parenteral	18(26.5%)	7(35%)	11(22.9%)	0.3	0.65(0.29-1.44)
<b>Uso previo de antibióticos</b>					
Ampicilina / amoxicilina-clavulanato / dicloxacilina	15(22.1%)	4(20%)	11(22.9%)	0.53	1.14(0.41-3.17)
Cefalosporinas 1ra. Y 2ª. Generación	3(4.4%)	2(10%)	1(2.1%)	0.20	0.2(0.02-2.16)
TMP/SMX	12(17.6%)	4(20%)	8(16.7%)	0.49	0.83(0.28-2.4)
Fluoroquinolonas	19(27.9%)	8(40%)	11(22.9%)	0.15	0.57(0.27-1.2)
Cefalosporinas tercera generación	44(64.7%)	13(65%)	31(64.6%)	0.97	0.99(0.67-1.45)
Ceftriaxona	28(41.2%)	7(35%)	21(43.8%)	0.5	1.25(0.63-2.46)
Ceftazidima	27(39.7%)	10(50%)	17(35.4%)	0.26	0.7(0.39-1.26)
Macrólidos	23(33.8%)	6(30%)	17(35.4%)	0.66	1.18(0.54-2.55)
Clindamicina	16(23.5%)	5(25%)	11(22.9%)	0.54	0.91(0.36-2.2)
Metronidazol	23(33.8%)	6(30%)	17(35.4%)	0.66	1.18(0.54-2.55)
Meropenem/Imipenem	45(66.2%)	13(65%)	32(66.7%)	0.89	1.02(0.7-1.49)
Ertapenem	12(17.6%)	4(20%)	8(16.7%)	0.49	0.83(0.28-2.45)
Amikacina/Gentamicina	54(74.4%)	17(85%)	33(71.1%)	0.35	0.90.71-1.15)
Vancomicina	55(80.9%)	15(75%)	40(83.3%)	0.31	1.11(0.83-1.47)
Piperacilina/Tazobactam	27(39.7%)	11(55%)	16(33.3%)	0.09	0.66(0.34-1.06)
Fluconazol	12(17.6%)	4(20%)	8(16.7%)	0.49	0.83(0.28-2.45)
Anfotericina	22(32.4%)	5(25%)	17(35.4%)	0.4	1.40.6-2.31)
Casposfungina	5(7.9%)	1(5%)	4(8.3%)	0.53	1.66(0.19-14)
Voriconazol	3(4.4%)	2(10%)	1(2.1%)	0.2	0.2(0.02-2.16)
<b>Cirugías</b>					
Cirugía de cualquier tipo	33(48.5%)	12(60%)	21(43.8%)	0.22	0.7(0.45-1.17)
Cirugía abdominal	21(30.9%)	6(30%)	15(31.3%)	0.91	1.04(0.47-2.2)
Cirugía de otro tipo	12(17.6%)	6(30%)	6(12.5%)	0.08	0.4(0.15-1.13)
<b>Traslado de otro hospital</b>	7(10.3%)	3(15%)	4(8.3%)	0.33	0.55(0.13-2.26)
<b>Estancia previa en el hospital</b>					
Urgencias	52(76.5%)	14(70%)	38(74.2%)	0.3	1.13(0.8-1.56)
Hospitalización de urgencias	45(66.2%)	13(65%)	32(66.7%)	0.89	1.02(0.7-1.49)
UTI	38(55.9%)	11(55%)	27(56.3%)	0.92	1.02(0.6-1.63)
Primer y segundo pisos	28(41.2%)	10(50%)	18(37.5%)	0.34	0.75(0.42-1.32)
Tercer y cuarto pisos	6(8.8%)	3(15%)	3(6.3%)	0.23	0.41(0.09-1.89)

<b>estudio de cohorte.</b>					
<b>Característica</b>	<b>TOTAL (n = 68)</b>	<b>Infección por ERV (n = 20)</b>	<b>No infección por ERV (n = 48)</b>	<b>p</b>	<b>RM</b>
<b>Diagnóstico de ingreso</b>					
Neumonía nosocomial y comunitaria	20(29.4%)	8(40%)	12(25%)	0.21	0.62(0.3-1.3)
Sepsis abdominal comunitaria	3(4.4%)	0(0%)	3(6.3%)	0.34	-
Sepsis abdominal nosocomial	7(10.3%)	5(10%)	5(10.4%)	0.66	1.04(0.2-4.9)
Posquirúrgico de cirugía abdominal	4(5.9%)	1(5%)	3(6.3%)	0.66	1.25(0.1-11.3)
Posquirúrgico de otras cirugías	7(10.3%)	2 (10%)	5(10.4%)	0.66	1.04(0.2-4.9)
Eventos cardiovasculares y pulmonares agudo	13(19.1%)	3(15%)	10(20.8%)	0.42	1.38(0.4-4.5)
Infecciones diseminadas	3(4.4%)	1(5%)	2(4.2%)	0.65	0.83(0.08-8.6)
Otros	11(16.2%)	3(15%)	8(16.7%)	0.58	1.11(0.3-3.6)
<b>Comorbilidades</b>					
Diabetes mellitus tipo 1 y 2	9(13.2%)	1(5%)	8(16.7%)	0.18	3.3(0.4-4.9)
Uso de inmunosupresores	16(23.5%)	4 (20%)	12(25%)	0.45	1.25(0.45-3.4)
Patología cardíaca y pulmonar	12(17.6%)	5 (25%)	7(14.6%)	0.24	0.58(0.21-1.6)
Neoplasias sólidas	8(11.8%)	4(20%)	4(8.3%)	0.17	0.41(0.11-1.5)
Neoplasias hematológicas	6(8.8%)	1 (5%)	5(10.4%)	0.42	2.08(0.26-16.7)
Trasplante de órgano sólido	2(2.9%)	1(5%)	1(2.1%)	0.50	0.41(0.02-6.3)
Trasplante de médula ósea	1(1.5%)	1(5%)	0(0%)	0.29	-
Otros	12(17.6%)	3(15%)	9(18.8%)	0.50	1.25(0.37-4.14)

**TABLA 4. Tiempo al que presentaron desarrollo de ERV en cultivo de exudado rectal en 68 aislamientos clínicos.**

<i>Número de cultivo</i>	<i>Número de pacientes (n = 68)</i>	<i>Porcentaje</i>
Cultivo 1 (24 hrs.)	34	50%
Cultivo 2 (72 hrs.)	15	22%
Cultivo 3 (1 semana)	9	13%
Cultivo 4 (2 semanas)	8	11%
Cultivo 5 (3 semanas)	5	7%
Cultivo 6 (4 semanas)	1	1.4%
Cultivo 7 (5 semanas)	2	2.9%
Cultivo 8 (6 semanas)	1	1.4%
Cultivo 9 (7 semanas)	1	1.4%
Cultivo 10 (8 semanas)	0	0%

**TABLA 5. Aislados clínicos más frecuentes durante la hospitalización de los 68 pacientes colonizados con ERV incluidos en el estudio.**

<b>Organismo/Sitio de aislamiento</b>	<b>Colonizado ERV N=68 (%)</b>	<b>No colonizado ERV N=163 (%)</b>	<b>P</b>
<b><i>Pseudomonas aeruginosa S</i></b>			
Sangre	6	1	0.003
Orina	3	2	0.153
Intraabdominal	2	1	0.208
Expectoración	5	14	1
<b><i>Pseudomonas aeruginosa MR</i></b>			
Sangre	1	3	1
Orina	6	3	0.021
Intraabdominal	0	0	-
Expectoración	11	10	0.023
<b><i>Acinetobacter S</i></b>			
Sangre	1	0	0.294
Expectoración	1	3	1
<b><i>Acinetobacter MR</i></b>			
Sangre	1	0	0.294
Orina	1	1	0.503
Intraabdominal	1	1	0.503
Expectoración	4	4	0.239
<b><i>E. Coli S</i></b>			
Sangre	3	5	0.696
Orina	14	18	0.056
Intraabdominal	3	0	0.025
Herida quirúrgica	0	3	0.557
Expectoración	5	2	0.025
<b><i>E. Coli BLEE</i></b>			
Sangre	1	2	1
Orina	5	4	0.128
Intraabdominal	5	2	0.025
Herida quirúrgica	1	2	1
Expectoración	5	3	0.051

**TABLA 5. Aislados clínicos más frecuentes durante la hospitalización de los 68 pacientes colonizados con ERV incluidos en el estudio.**

<b>Organismo/Sitio de aislamiento</b>	<b>Colonizado ERV N=68 (%)</b>	<b>No colonizado ERV N=163 (%)</b>	<b>P</b>
<b><i>Klebsiella S</i></b>			
Sangre	0	2	1
Orina	1	2	1
Intraabdominal	0	2	1
Expectoración	4	8	0.751
<b><i>Klebsiella BLEE</i></b>			
Sangre	4	0	0.007
Orina	1	0	0.294
Intraabdominal	0	1	1
Expectoración	3	1	0.078
<b><i>Candida spp.</i></b>			
Sangre	5	5	0.164
Orina	32	35	0.000
Intraabdominal	2	3	0.633
<b><i>Staphylococcus aureus Oxa S</i></b>			
Sangre	2	1	0.208
Expectoración	4	5	0.455
<b><i>Staphylococcus aureus Oxa R</i></b>			
Sangre	1	2	1
Expectoración	5	7	0.343
<b><i>Enterococco sensible a vancomicina</i></b>			
Sangre	1	4	1
Orina	2	11	0.355
Intraabdominal	5	5	0.164
Herida quirúrgica	1	4	1
<b><i>Enterococco resistente a vancomicina</i></b>			
Sangre	4	0	0.007
Orina	13	3	0.000
Intraabdominal	4	0	0.007
Herida quirúrgica	1	0	0.294

<b>TABLA 6. Resistencia a los antibióticos por ERV en cultivo de exudado rectal de los 68 aislamientos clínicos.</b>			
<i>Antibiótico</i>	<i>Sensible n (%)</i>	<i>Resistente n (%)</i>	<i>Intermedio n (%)</i>
Ampicilina	1 (1.4)	67(98.5)	0(0)
Ciprofloxacina	1(1.4)	67(98.5)	0(0)
Levofloxacina	1(1.4)	67(98.5)	0(0)
Gentamicina	8(11.7)	60(88.2)	0(0)
Teicoplanina	1(1.4)	67(98.5)	0(0)
Linezolid	68(100)	0(0)	0(0)
Quinupristina-dalfopristina	64(94.1)	3(4.4)	1(1.4)
Vancomicina	0(0)	68(100)	0(0)

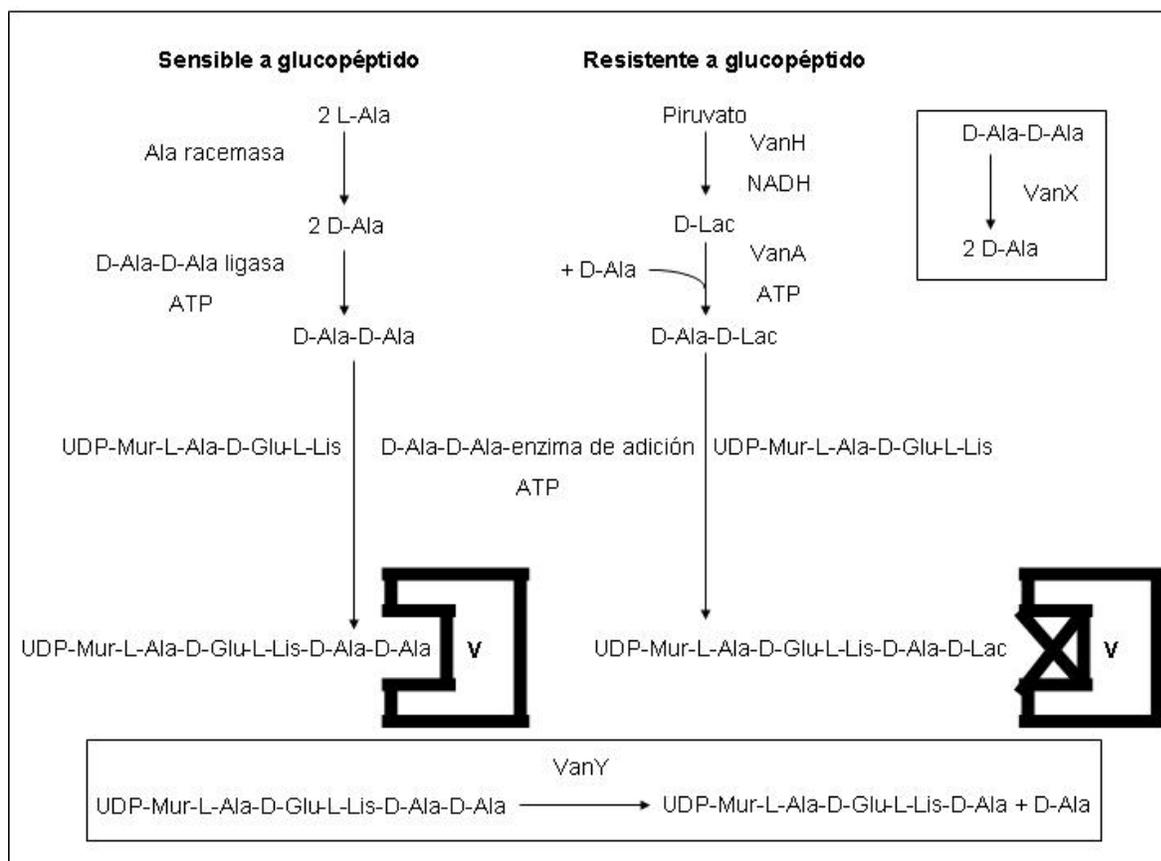


FIGURA 1. Mecanismo de acción de la vancomicina y mecanismos de resistencia a glicopéptidos en Enterococos con resistencia a la vancomicina asociada al gen *vanA*. V = vancomicina. Adaptado de Patel R. Vancomycin-resistant enterococci in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 1999;4:271-280.

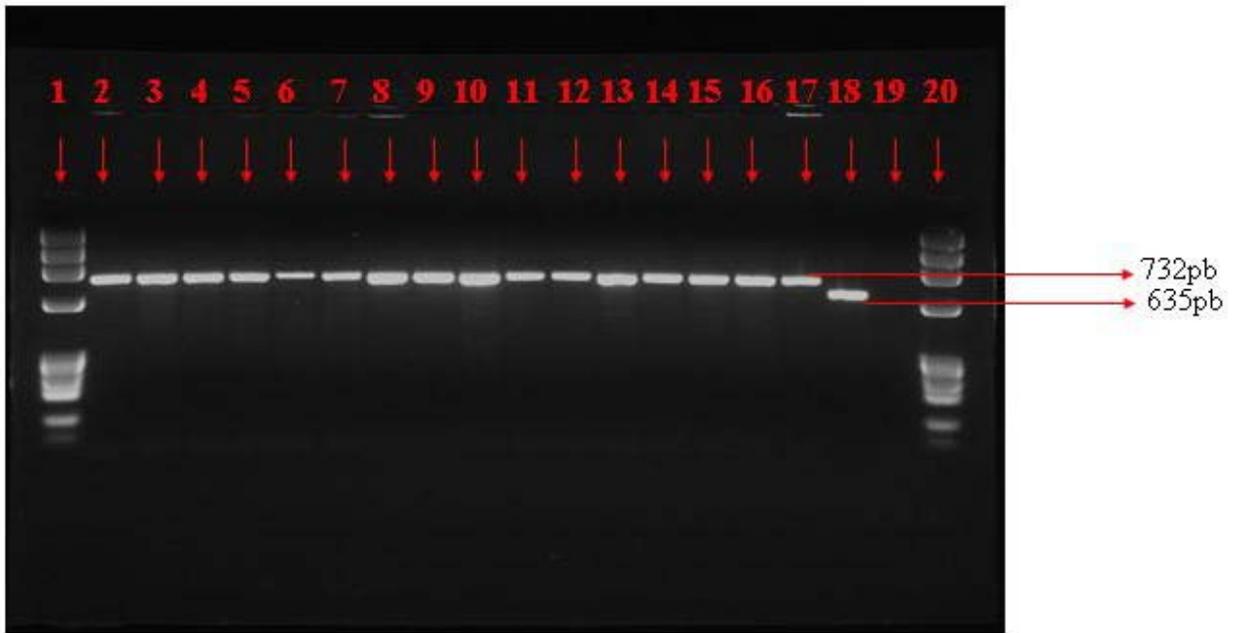


FIGURA 2. Amplificación de genes *vanA* (732pb) y *VanB* (635pb) mediante PCR múltiple. Carril 1 y 20, marcador de peso molecular ( $\phi$ X174), carriles 2-16 aislados clínicos de *Enterococo* resistentes a vancomicina (*vanA*), carril 17 control positivo de *vanA*, carril 18, control positivo de *vanB*, carril 19 control negativo de reactivos.

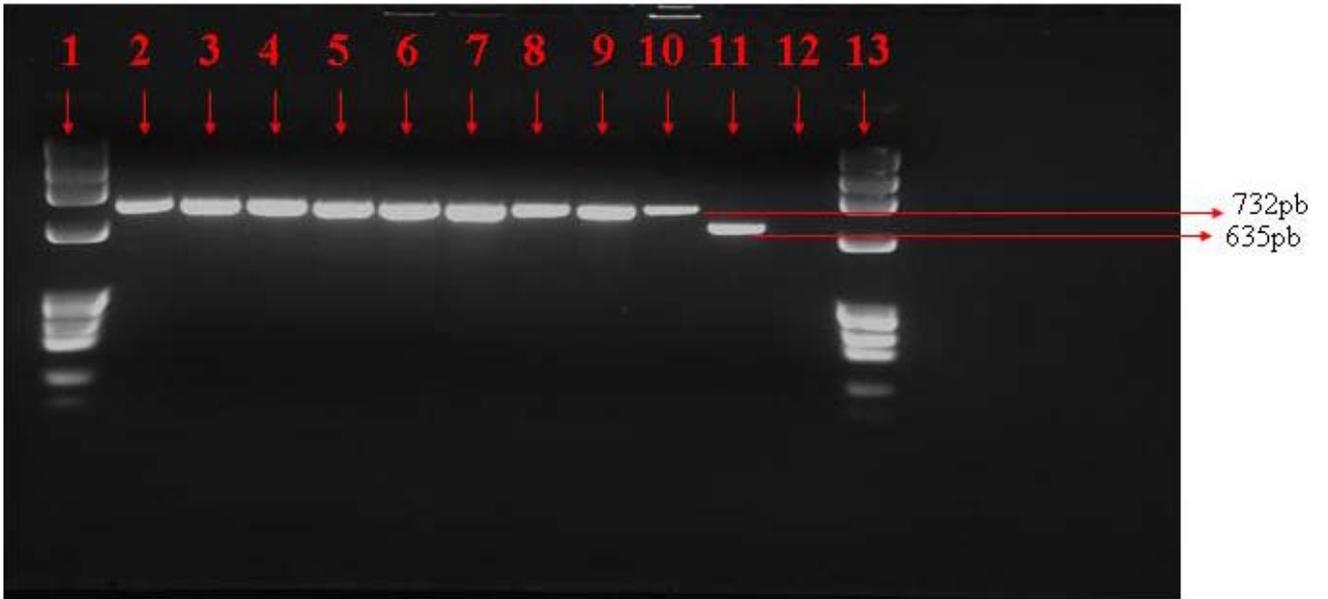


FIGURA 3. Carril 1 y 13, marcador de peso molecular ( $\phi$ X174), carriles 2-9 aislados clínicos de *Enterococo* resistentes a vancomicina (*vanA*), carril 10 control positivo de *vanA*, carril 11, control positivo de *vanB*, carril 12 control negativo de reactivos.

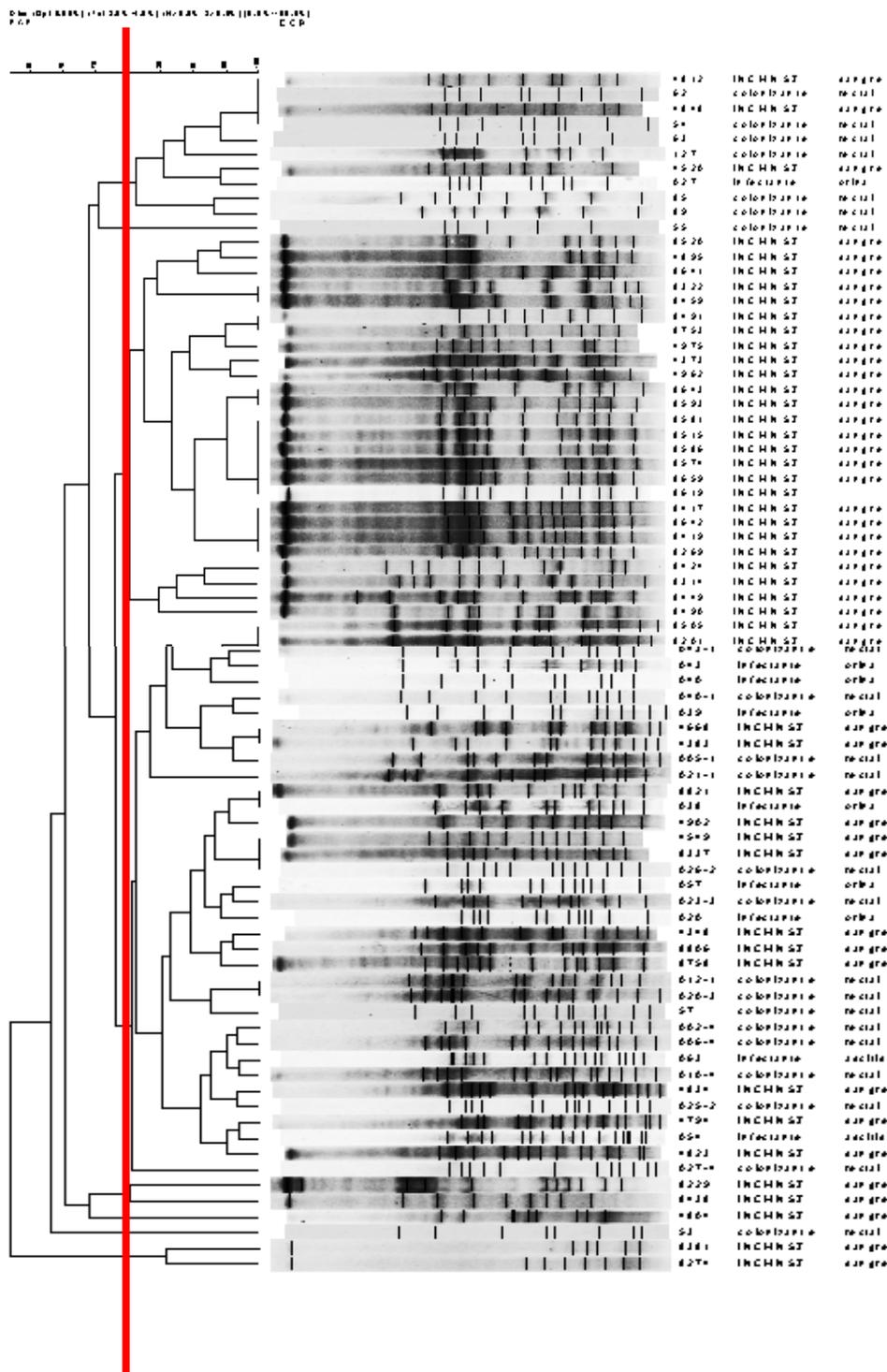


FIGURA 4. Electroforesis en gel por campos pulsados de 82 cepas de ERV. 50 aislados de *Enterococcus faecalis* del brote ocurrido en 2005, y 32 del estudio de cohorte cepas colonizantes e infectantes.

Dice (Opt:5.00%) (Tol:3.0%-4.0%) (H=0.0% S>=0.0%) [0.0%-100.0%]  
 ECP ECP

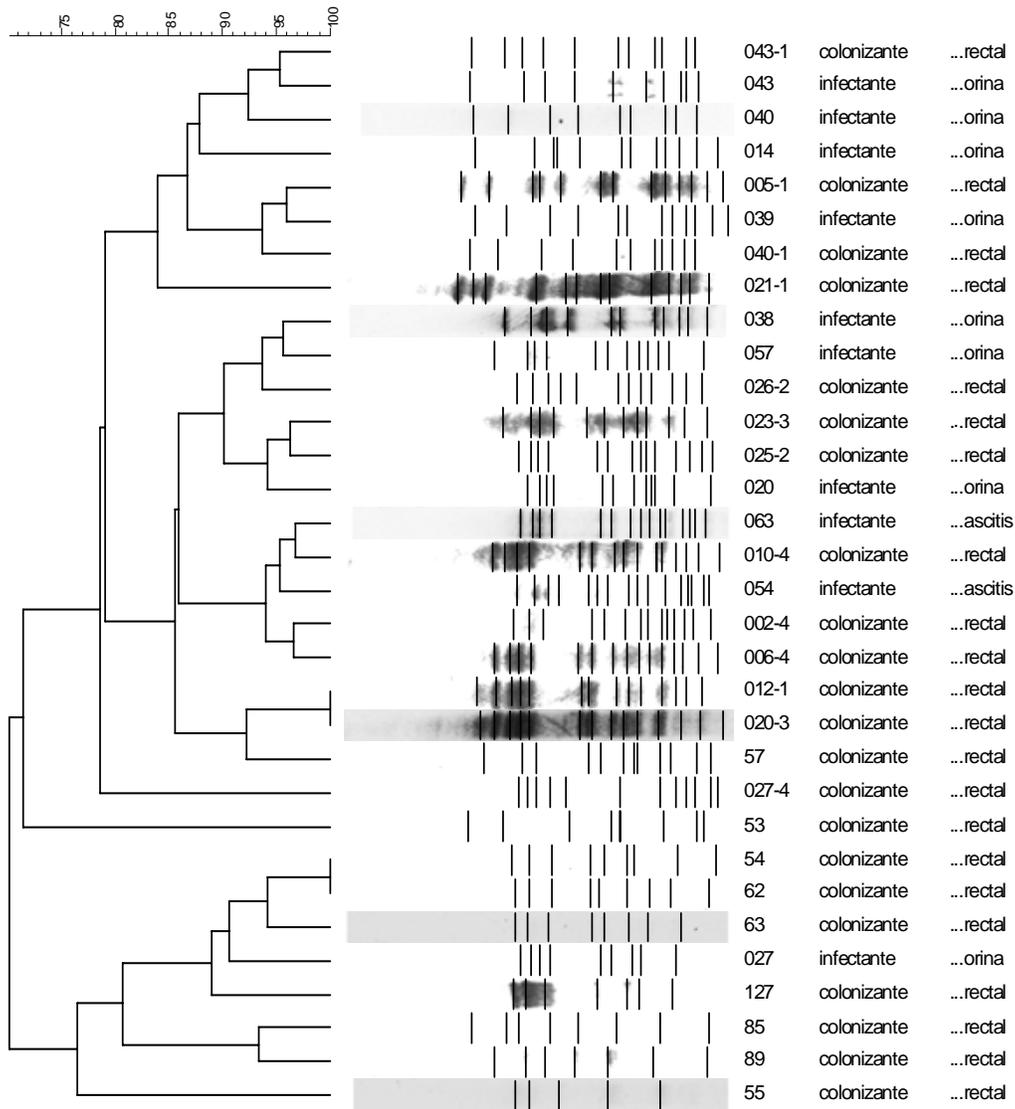


Figura 5. Electroforesis en gel por compos pulsados de 32 cepas de *Enterococcus faecalis* resistentes a vancomicina, colonizantes e infectantes del estudio de cohorte. Se observa una relación genómica mayor del 85% entre todas las cepas, lo que confirma la idea de diseminación clonal.

## APÉNDICES

### 1. Definiciones operacionales.

**Colonización por ERV.-** Desarrollo de colonias con halo negro (hidrólisis de bilis) en un medio de agar bilis esculina adicionado con vancomicina (8 µg/ml) de un cultivo de exudado rectal.

**Infeción por ERV.-** Aislamiento de *E. faecium* o *faecalis* resistente a vancomicina por el sistema Vitek 1®, de cualquier cultivo enviado al laboratorio de microbiología por el médico tratante del paciente y corroborado con el método de susceptibilidad por microdilución en placa.

**Edad.-** Edad cumplida de acuerdo a la fecha de nacimiento.

**SOFA.-** Puntaje más alto de la escala SOFA obtenido durante las primeras 24 hrs de estancia en la UTI.

**APACHE II.-** Puntaje más alto de la escala de APACHE II obtenido durante las primeras 24 hrs. de estancia en la UTI.

**Diagnóstico de ingreso.-** Diagnóstico nosológico principal establecido a la llegada a la UTI por los médicos tratantes y que motivó el ingreso a esa unidad.

**Neumonía nosocomial.-** Aquella que se presenta posterior a las 72 hrs. de la hospitalización.

**Neumonía adquirida en la comunidad.-** Aquella que se presentó desde el momento del ingreso al hospital o dentro de las primeras 72 hrs. de estancia, no relacionada a cuidados de la salud.

**Eventos neurológicos agudos.-** Crisis miástenica, evento vascular cerebral isquémico o hemorrágico, estatus epiléptico, edema cerebral, hemorragia intracraneal posquirúrgica o traumática, mielitis longitudinal.

**Eventos cardiovasculares agudos.-** Angina inestable, infarto agudo de miocardio, arritmias agudas, emergencia hipertensiva, edema agudo pulmonar.

**Eventos pulmonares agudos.-** Neumotórax, crisis asmática, tromboembolia pulmonar (TEP), insuficiencia respiratoria aguda.

**Sepsis abdominal comunitaria.-** Proceso infeccioso intraabdominal que se presentó previo al ingreso al hospital (apendicitis, colangitis, colecistitis aguda litiásica, diverticulitis, etc.).

**Sepsis abdominal nosocomial.-** Proceso infeccioso intraabdominal en un paciente con intervenciones quirúrgicas abdominales previas durante la misma hospitalización.

**Posquirúrgico de cirugía abdominal.-** Paciente transferido a la UTI inmediatamente después de una cirugía que involucrara tubo digestivo, vía biliar o páncreas.

**Posquirúrgico de otras cirugías.-** Paciente ingresado a la UTI inmediatamente después de una cirugía no abdominal (craneal, otorrinolaringológica, torácica, cardíaca, ortopedia).

**Comorbilidad.-** Enfermedad concomitante consignada en el expediente clínico y que estuviera relacionada de manera directa al diagnóstico de ingreso.

- Diabetes mellitus tipo 1, 2 y secundaria a uso de esteroides.
- Enfermedades reumatológicas: Lupus eritematoso generalizado (LEG), artritis reumatoide (AR), esclerodermia, polimiositis, artritis gotosa.
- Enfermedades cardiovasculares: Hipertensión arterial sistémica (HAS), valvulopatías cardíacas, arritmias crónicas, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca congestiva.
- Enfermedades pulmonares crónicas: Hipertensión arterial pulmonar (HAP), asma bronquial, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis crónica, enfisema pulmonar.
- Enfermedades neurológicas: Miastenia gravis, epilepsia, polineuropatía degenerativa axonal, secuelas de EVC, migraña.

- Enfermedades renales crónicas: Insuficiencia renal crónica, glomerulonefritis crónica.
- Enfermedades hematológicas no neoplásicas: Anemia aplásica, mielofibrosis, hemoglobinuria paroxística nocturna, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), asplenia.
- Neoplasias hematológicas: Leucemia aguda y crónica, linfoma de cualquier estirpe, mieloma múltiple.
- Neoplasias sólidas.
- Infección por VIH/SIDA.
- Cirrosis hepática e hipertensión portal hemorrágica.
- Transplante de órgano sólido o de médula ósea.

**2. Hoja de captura de datos.**

**COLONIZACIÓN GASTROINTESTINAL POR ERV EN EL INCMNSZ**

**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Nombre: \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Fecha de llenado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Fecha de Ing. UTI: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Fecha de Ing. Hosp.: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Diagnósticos de Ingreso:

Comorbilidades:

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

**FACTORES DE RIESGO:**

Catéter venoso central:	SI	NO	Periodo:	____/____/____	a	____/____/____
Línea Arterial:	SI	NO	Periodo:	____/____/____	a	____/____/____
Ventilación mecánica:	SI	NO	Periodo:	____/____/____	a	____/____/____
Sonda nasogástrica/nasoyeyunal:	SI	NO	Periodo:	____/____/____	a	____/____/____
Sonda Foley:	SI	NO	Periodo:	____/____/____	a	____/____/____
Alimentación enteral/NPT	SI	NO	Periodo:	____/____/____	a	____/____/____
Traslado	SI	NO				

**CULTIVOS DE COLONIZACIÓN:**

Fecha: ____/____/____	Resultado: _____

**CAMBIOS DE CAMA:**

_____	Fecha ingreso: ____/____/____/	Fecha egreso: ____/____/____
_____	Fecha ingreso: ____/____/____/	Fecha egreso: ____/____/____
_____	Fecha ingreso: ____/____/____/	Fecha egreso: ____/____/____
_____	Fecha ingreso: ____/____/____/	Fecha egreso: ____/____/____
_____	Fecha ingreso: ____/____/____/	Fecha egreso: ____/____/____



### SCORE DE GRAVEDAD

SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)

Ingreso  Colonización  Aislamiento clínico  Alta o desenlace

Variables/score	0	1	2	3	4
Respiratory (PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> , mmHg)	>400	≤400	≤300	≤200	≤100
Coagulation (PLT × 10 <sup>3</sup> /μL)	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Liver (bilirubin, mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2-5.9	6-11.9	>12
Cardiovascular (Hg/kg/min)	-	MAP < 70	Dop ≤ 5	Dop > 5 (Epi ≤ 0.1)	(Epi > 0.1)
CNS (GCS)	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal (creatinine, mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2-3.4	3.5-4.9	>5

MAP, mean arterial pressure; Dop, dopamine; Epi, epinephrine; CNS, central nervous system GCS, Glasgow Coma Scale; PLT, platelets.

APACHE II al ingreso a UTI

A – Physiology score (APS)

Parameter	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Rectal temperature (°C)	≥41	39–40.9		38.5–38.9	36–38.4	34–35.9	32–33.9	30–31.9	≤29.9
Mean arterial pressure (mmHg)	≥160	130–159	110–129		70–109		50–69		≤49
Heart rate/min	≥180	140–179	110–139		70–109		55–69	40–54	≤39
Ventilation rate/min*	≥50	35–49		25–34	12–24	10–11	6–9		≤5
Oxygenation (mmHg)									
FiO <sub>2</sub> ≥ 0.5 A-aDO <sub>2</sub>	≥500	350–499	200–349		<200				
FiO <sub>2</sub> < 0.5 PaO <sub>2</sub>					>70	61–70	–	55–60	<55
Arterial pH	≥7.7	7.6–7.69		7.5–7.59	7.33–7.49		7.25–7.32	7.15–7.24	<7.15
Serum sodium (mmol/L)	≥180	160–179	155–159	150–154	130–149		120–129	111–119	≤110
Serum potassium (mmol/L)	≥7	6–6.9		5.5–5.9	3.5–5.4	3–3.4	2.5–2.9		≤2.5
Serum creatinine (mg/dl)†	≥3.5	2–3.4	1.5–1.9		0.6–1.4		<0.6		
Haematocrit (%)	≥60		50–59.9	46–49.9	30–45.9		20–29.9		<20
White blood cells (/mm <sup>3</sup> )	≥40		20–39.9	15–19.9	3–14.9		1–2.9		<1
HCO <sub>3</sub> -venous (mmol/L)‡	≥52	41–51.9		32–40.9	22–31.9		18–21.9	15–17.9	<15
Glasgow Coma Scale	Score = 15 – actual Glasgow Coma Scale								
B – age points	C – Chronic Health points								

Age	Points	If the patient has a history of severe organ system insufficiency or is immuno-compromised assign points as follows	
≤44	0		
45–54	2	(a) Non-operative or emergency postoperative patients	5 points
55–64	3	(b) Elective postoperative patients	2 points
65–74	5		
≥75	6		

\* Non-ventilated or ventilated.

† Score points doubled for acute renal failure.

‡ Missing blood gas analysis.

### 3. Consentimiento informado.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

### **Título del protocolo:**

COLONIZACIÓN GASTROINTESTINAL E INFECCIÓN POR ENTEROCOCCUS RESISTENTE A VANCOMICINA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN LAS UNIDADES DE CUIDADOS CRÍTICOS EN EL I.N.C.M.N.S.Z.

**Investigador Principal: Dr. Alfredo Ponce de León Garduño**

**Nombre del paciente:**

### **DESCRIPCIÓN/OBJETIVO DEL ESTUDIO**

El *Enterococcus* es una bacteria que normalmente habita en el intestino de los humanos y que en condiciones de salud adecuadas no ocasiona enfermedades graves. En los últimos años, este germen ha incrementado su capacidad de resistencia a varios antibióticos, sobre todo en los pacientes que requieren permanecer hospitalizados por largos periodos de tiempo. A usted (o a su paciente) se le esta invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo determinar el número de pacientes que portan esta bacteria en el intestino, en las unidades de terapia intensiva del I.N.C.M.N.S.Z. Los pacientes con enfermedades como diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica, diversos tipos de cáncer, con trasplantes de órganos, cirugías intraabdominales y los que requieren atención en unidades de terapia intensiva, por la gravedad de sus condiciones, están predispuestos a adquirir el enterococo resistente dentro del medio hospitalario. A usted (o a su paciente) se le tomará una muestra de exudado rectal a su ingreso a la unidad de cuidados intensivos, después de 72 hrs y posteriormente una vez por semana, hasta su alta de la unidad. Estos resultados se reportarán tanto a su médico tratante como al comité de epidemiología del hospital. Además se obtendrán datos de su expediente, tales como su edad, enfermedades actuales, motivo de ingreso, cirugías realizadas durante su hospitalización y otros.

Este documento contiene información detallada sobre el estudio de investigación. Una vez que ha comprendido el estudio, se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, si es que usted desea participar. Se le entregará una copia firmada y fechada de esta forma.

### **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

Se le tomará una muestra de exudado rectal, que consiste en la introducción a través del ano de un pequeño hisopo de algodón para obtener una muestra de heces fecales, tanto al momento de su ingreso a la unidad de cuidados intensivos, como después de 72 hrs. de su estancia y posteriormente una vez por semana, hasta su egreso de dicha unidad. La duración del procedimiento es de aproximadamente un minuto y no tiene ningún riesgo mayor. También obtendremos información de su expediente como su edad, el tiempo de estancia hospitalaria, el motivo del ingreso, enfermedades subyacentes, uso previo de antibióticos y otros.

### **BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

El estudio nos permitirá conocer la proporción de pacientes que son portadores de enterococo resistente en las unidades de cuidados intensivos de nuestra Institución.

### **RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

Se puede presentar alguna pequeña irritación superficial en la zona del ano secundaria a la toma de la muestra en el caso de niños pequeños, por lo delgado de su piel, pero esto no tiene ninguna repercusión mayor.

### **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA**

La participación en este estudio es voluntaria y por tanto puede usted decidir participar o no en ésta investigación, sin estar sujeto a ninguna sanción y sin que se vea afectada la atención médica presente y futura en el instituto. Si decide participar también podrá cambiar de opinión en cualquier momento del estudio.

### **PAGO**

Usted no recibirá pago alguno por su participación en éste estudio.

### **COSTOS ADICIONALES**

No habrá costos adicionales para usted como resultado de su participación en este estudio. Ninguna de las pruebas de laboratorio tendrán algún costo para usted.

### **CONFIDENCIALIDAD**

La información obtenida en este estudio utilizada para la identificación de cada paciente será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

### **DERECHOS DE LOS PARTICIPANTES**

Si se tiene alguna duda relacionada a la investigación mientras ésta se realiza, podrá contactar a la Dra. Carolina Pérez Jiménez, teléfono 54870900, ext: 2172 ó 2177, para que sus inquietudes sean resueltas.

Usted tiene acceso al Comité de Investigación en Humanos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante del estudio a través de su presidente:

Presidente del Comité Institucional de Investigación Biomédica en Humanos:

Dr. Antonio Cabral Castañeda. Al teléfono: 55 73 12 00 ext.2605

### **CONSENTIMIENTO**

Yo, \_\_\_\_\_, he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. Entiendo que la información obtenida en el estudio puede ser publicada o difundida con fines científicos, sin embargo, también entiendo que mis datos personales no serán publicados y que serán mantenidos con estricta confidencialidad.

Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Firma del participante  
o representante legal

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

### **Esta parte debe ser completada por el Investigador (o representante):**

He explicado al sujeto nombrado anteriormente la naturaleza y los propósitos de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He preguntado si tiene alguna duda y he contestado a las preguntas en la medida de lo posible.

\_\_\_\_\_  
Firma del investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Centinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:686-707.
2. Moellering RC. *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. En: Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and practice of infectious diseases, fourth edition. Elsevier-Churchill-Livingstone, Philadelphia, Pennsylvania, 2004:2411-2421.
3. Boyce JM. Vancomycin-resistant enterococcus. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:367-384.
4. Sadera HS, Jonesb RN, Andrade-Baiocchia S, Biedenbac DJ. Four-year evaluation of frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from bloodstream infections in Latin American medical centers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;44:273-280.
5. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin resistant enterococci: Colonization, infection, detection and treatment. *Mayo Clin Proc* 2006;81:529-536.
6. Zarrilli R, Tripodi MF, Di Popolo A, et al. Molecular epidemiology of high-level aminoglycoside-resistant enterococci isolated from patients in a university hospital in southern Italy. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:827-835.
7. Low DE, Keller N, Barth A, et al. Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001;32:S133-S145.
8. Willems RJL, Bonten MJ. Glycopeptide-resistant enterococci: deciphering virulence, resistance and epidemicity. *Curr Opin Infect Dis* 2007;20:384-390.
9. Uttley, AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988.57-58.

10. Ryback MJ. Resistance to antimicrobial agents: and update. *Pharmacotherapy* 2004;24:203S-215S.
11. Wells C, Juni BA, Cameron SB, et al. Stool carriage, clinical isolation , and mortality during an outbreak of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized medical and/or surgical patients. *Clin Infect Dis* 1995;21:45-50.
12. Warren D, Kollef MH, Seiler SM, Fridkin SK, et al. The epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus* colonization in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:257-263.
13. McNeil S, Malani PN, Chenoweth CE, et al. Vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in liver transplant candidates and recipients: a prospective surveillance study. *Clin Infect Dis* 2006;42:195-203.
14. Armeanu E, Bonten M J. Control of vancomycin-resistant enterococci: One size fits all?. *Clin Infect Dis* 2005;41:210-216.
15. Puzniak LA, Mayfield J, Leet T, et al. Acquisition of vancomycin-resistant enterococci during scheduled antimicrobial rotation in an intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2001;33:151-157.
16. Bonten MJ, Slaughter S, Amberg A, et al. The role of “colonization pressure” in the spread of vancomycin-resistant enterococci. *Arch Intern Med* 1998;158:1127-1132.
17. Roghmann MC, McCarter RJ, Brewink J, et al. *Clostridium difficile* infection is a risk factor for bacteremia due to vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE) in VRE-colonized patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis* 1997;25:1056-1059.
18. Loeb M, Salama S, Armstrong-Evans M, Capretta G, et al. A case-control study to detect modifiable risk factors for colonization with vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20:760-763.

19. Trick WE, Paule SM, Cunningham S, et al. Detection of vancomycin-resistant enterococci before and after antimicrobial therapy: use of conventional culture and polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 2004;38:780-786.
20. Patel R, Allen SL, Manahan JM, Wright AJ, et al. Natural history of vancomycin-resistant enterococcal colonization in liver and kidney transplant recipients. *Liver Transpl* 2001;7:27-31.
21. Baden LR, Thiemke W, Skolnik A, et al. Prolonged colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in long-term care patients and the significance of “clearance”. *Clin Infect Dis* 2001;33:1654-1660.
22. Kew Lai K, Fontecchio S, Kelley AL, et al. The epidemiology of fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:762-765.
23. Calfee D, Giannetta ET, Durbin L, et al. Control of endemic vancomycin-resistant *Enterococcus* among inpatients at a university hospital. *Clin Infect Dis* 2003;37:326-332.
24. Yeh KM, Siu LK, Chang JCh, et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) carriage and infection in intensive care units. *Microb Drug Resist* 2004;10:177-183.
25. Kew Lai K, Fontecchio S, Kelley AL, et al. The changing epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:264-268.
26. Gordts B, Van Landuyt H, Ieven M, et al. Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:2842-2846.
27. Ostrowsky B, Trick WE, Sohn AH, Quirk SB, et al. Control of vancomycin-resistant *Enterococcus* in health care facilities in a region. *N Engl J Med* 2001;344:1427-1433.
28. Hendrix CW, Hammond JM, Swoboda SM, et al. Surveillance strategies and impact of vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in critically ill patients. *Ann Surg* 2001;233:259-265.

29. Sabria-Leal M, Pfaller MA, Morthland VH, et al. Molecular epidemiology of gastric colonization by *Enterococcus faecalis* in a surgical intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994;19:197-202.
30. Goetz A M, Rihs JD, Wagener MM, et al. Infection and colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in an acute care Veterans Affairs Medical Center: A 2-year survey. *Am J Infect Control* 1998;26:558-562.
31. Tacconelli E, Karchmer AW, Yokoe D, D'Agata E. Preventing the influx of vancomycin-resistant enterococci into health care institutions, by use of a simple validated prediction rule. *Clin Infect Dis* 2004;39:964-970.
32. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *Morb Mortal Wkly Rep* 1995;44(RR-12):1-13.
33. Perencevich EN, Fisman DN, Lipsitch M, et al. Projected benefits of active surveillance for vancomycin-resistant enterococci in intensive care units. *Clin Infect Dis* 2004;38:1108-1115.
34. D'Agata E, Horn MA, Webb GF. The impact of persistent gastrointestinal colonization on the transmission dynamics of vancomycin-resistant enterococci. *J Infect Dis* 2002;185:766-73.
35. Miranda G, Lee L, Kelly C, et al. Antimicrobial resistance from enterococci in a pediatric hospital. Plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin and streptomycin resistance. *Arch Med Res* 2001;32:159-163.
36. Calderón-Jaimes E, Arredondo-García JL, Aguilar-Ituarte F, et al. In Vitro antimicrobial susceptibility in clinical isolates of *Enterococcus* species. *Salud Publica Mex* 2003;45:96-101.
37. Cuellar-Rodríguez J, Galindo-Fraga A, Guevara V, Pérez-Jimenez C, Espinosa-Aguilar L, Rolón A, López-Jácome E, Bobadilla M, Ponce-de-León A, Sifuentes-Osornio J. Emergence

of Vancomycin Resistant Enterococci in Mexico City, Mexico. *Emerg Infect Dis* 2007;13:796-799.

38. Drews S J, Johnson G, Gharabaghi F, et al. A 24-hour screening protocol for identification of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 2006;44:1578-1580.

39. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33:24–27.

40. Miranda AG, Singh KV, Murray BE. DNA fingerprinting of *Enterococcus faecium* by pulse-field gel electrophoresis may be a useful epidemiologic tool. *J Clin Microbiol* 1991;29:2752–2757.

41. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-2239.

42. Dobbs TE, Patel M, Waites KB, et al. Nosocomial Spread of *Enterococcus faecium* resistant to vancomycin and linezolid in a tertiary care medical center. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3368-3370.

43. Auckland, C, Cooke LTF, Kaufmann ME, et al. Linezolid resistant *Enterococci*: report of the first isolates in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:743-746.

44. Bassetti, M, Farrell PA, Callan DA, et al. 2003. Emergence of linezolid-resistant *Enterococcus faecium* during treatment of enterococcal infections. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21:593-594.

45. Bonora MG, Ligozzi M, Luzzani A, et al. Emergence of linezolid resistance in *Enterococcus faecium* not dependent on linezolid treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25:197-198.

46. Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis* 2004; 39:219-226.
47. Patel R. Clinical impact of vancomycin-resistant *enterococci*. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:13-21.
48. Shadel BN, Puzniak LA, Gillespie KN, et al. Surveillance for Vancomycin-resistant *Enterococci*: type, rates, costs, and implications. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:264-268.
49. Stiefel U, Rao A, Pultz MJ, Jump RLP, et al. Suppression of gastric acid production by proton pump inhibitor treatment facilitates colonization of the large intestine by vancomycin-resistant *Enterococcus spp.* and *Klebsiella pneumoniae* in clindamycin-treated mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:3905-3907.
50. Sakka V, Tsiodras S, Galani L, et al. Risk-factors and predictors of mortality in patients colonized with vancomycin-resistant *Enterococci*. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 14-21.
51. Stiefel U, Pultz NJ, Helfand MS, Donskey CJ. Increased susceptibility to vancomycin-resistant *Enterococcus* intestinal colonization persists after completion of anti-anaerobic antibiotic treatment in mice. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:373-379.
52. Pérez-Jiménez C, Ponce-de-León A, Bobadilla-del-Valle M, Galindo-Fraga A, Sifuentes-Osornio J. Colonización Gastrointestinal e infección por *Enterococcus* resistente a vancomicina en las unidades de cuidados críticos en el Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán. Tesis de Posgrado de Infectología. Agosto del 2007. UNAM. México, D. F.
53. Jones RN, Ballow CH, Biedenbach DJ, et al. Antimicrobial activity of quinupristin-dalfopristin tested against over 28000 recent clinical isolates from 200 medical centers in the United States and Canada. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998: 31;437-451.

54. Luh K, Hsueh P, Teng L, et al. Quinupristin-dalfopristin resistance among Gram-positive bacteria in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:3374-3380.