

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR  
ZUBIRÁN

**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”**

T E S I S DE POSGRADO  
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE  
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA  
P R E S E N T A

**Dra. Carolina Pérez Jiménez**

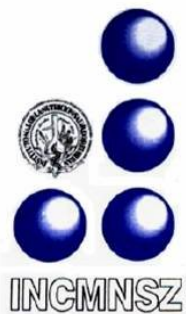
**TUTOR PRINCIPAL**

**Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño**

**ASESORES DE TESIS**

Dr. José Sifuentes Osornio  
Dra. J. Miriam Bobadilla del Valle  
Dr. Arturo Galindo Fraga

México, D.F., agosto de 2007.





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **DEDICATORIAS**

A Rodrigo, por su amor y apoyo incondicionales.

A mis padres, Antonio y Francisca, por todo el amor que me han dado y por los sacrificios que hicieron para que yo lograra mis sueños.

A mi Tía Ernestina, por su cariño y por estar a mi lado cuando lo he necesitado.

A mis hermanos, Antonio Carlos, Alejandro y Luis Fernando.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi tutor y a mis asesores de tesis, por la confianza y el apoyo que me brindaron y los conocimientos que me han transmitido.

A todo el personal del Laboratorio de Microbiología Clínica del INCMNSZ por el esfuerzo extra que hicieron y el tiempo que invirtieron en apoyarme. En especial a Melisa, Esau, Silvestre, Araceli, Lorena, Patricia y Alejandra.

A todos mis compañeros residentes de Infectología.

A Iván Romarico González y Christianne Bourlon.

*“Dondequiera que se ame el arte de la medicina, se ama también a la humanidad”*

Platón

# 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 Enterococo resistente a vancomicina.	
5. Mecanismos moleculares de resistencia a vancomicina en <i>Enterococcus</i> .	
6. Colonización fecal por Enterococo resistente a vancomicina.	
7. Enterococo resistente a vancomicina en México.	
8. Enterococo resistente a vancomicina en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”.	
<b>Justificación.....</b>	<b>14</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>15</b>
<b>Objetivos generales.....</b>	<b>15</b>
<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>Método.....</b>	<b>16</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.	

<b>Resultados.....</b>	<b>23</b>
1. Características demográficas y clínicas de los pacientes.	
2. Cultivos de colonización.	
3. Factores de riesgo durante la hospitalización.	
4. Identificación y pruebas de susceptibilidad de los aislados.	
5. Infecciones concomitantes durante la hospitalización.	
6. Infección por <i>Enterococcus</i> resistente a vancomicina.	
7. Desenlaces de los 64 pacientes del estudio.	
8. Epidemiología molecular.	
<b>Discusión.....</b>	<b>29</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>34</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>34</b>
<b>Tablas.....</b>	<b>35</b>
<b>Figuras.....</b>	<b>40</b>
<b>Apéndices.....</b>	<b>47</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>55</b>

## RESUMEN

**Título.-** 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 Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ).

**Introducción.-** Actualmente *Enterococcus* es un patógeno nosocomial emergente en todo el mundo. La resistencia a vancomicina, descrita inicialmente en 1986, se ha diseminado rápidamente. De acuerdo a 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. La prevalencia descrita en la literatura de colonización gastrointestinal por ERV es de menos del 1% al 20%. Nosotros describimos en un brote de infecciones por ERV en nuestro hospital en el 2005, en el cual se encontraron 27 casos, todos ellos con aislamiento de *E. faecium* resistente a vancomicina, con genotipo y fenotipo *vanaA*; mediante electroforesis en gel por campos pulsados, se encontró que todas las cepas pertenecían a una misma clona. Debido a que esto representa sólo una fracción del problema, consideramos necesario conocer la tasa de colonización por este germen en nuestra población.

**Objetivos.-** Determinar la prevalencia de colonización gastrointestinal por ERV en los pacientes que ingresen a las unidades de cuidados críticos del INCMNSZ; determinar la tasa de infección por ERV dentro del grupo de pacientes colonizados; describir la epidemiología molecular de las cepas de ERV que se encuentren como colonizantes y/o infectantes; describir los factores de riesgo específicos asociados a colonización gastrointestinal e infección por ERV; identificar formas de transmisión nosocomial de ERV en la población colonizada.

**Métodos.-** Se realizó un estudio de cohorte, prospectivo, de vigilancia activa mediante la toma de exudados rectales semanales a todos los pacientes que ingresaban a las UTI del INCMNSZ, durante el periodo del 22 de mayo al 12 de julio 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.-** Se incluyeron 64 pacientes. De éstos, 19 (29.6%) se encontraron colonizados por ERV, 10 (52.6%) lo estaban desde el primer cultivo, 3 (15.8%) en el segundo cultivo, 2 (10.6%) en el tercer cultivo y 4 (21%) en el cuarto cultivo. 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 ( $p = 0.002$ ). De los 19 pacientes colonizados, 7 (78%) presentaron infección por ERV, en el grupo no colonizado hubo 2 infecciones por ERV, la diferencia fue significativa ( $p = 0.002$ ). Todas las cepas colonizantes tuvieron fenotipo y genotipo *vanA*. Mediante el análisis genético por EGCP se encontró que todas las cepas colonizantes tenían entre sí 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 una relación clonal  $\geq 85\%$ .

**Conclusiones.-** La prevalencia de colonización por ERV es alta en nuestra población, comparada con lo descrito en la literatura. Ratificamos que los factores de riesgo en nuestra población para colonización e infección por ERV fueron semejantes a aquellos descritos en otros estudios. La colonización intestinal por ERV precede claramente a las infecciones. 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.



# 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”.

## 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 estreptomycinina 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 (*van R*, *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-hidroxí-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.**

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)

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 y prolongados cursos de antibióticos (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)

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 trasplantes 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) 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)

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

En nuestro país 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.

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

Nosotros realizamos el análisis de un brote de infecciones por ERV a partir de mayo de 2005, en nuestra Institución, el cual se publicó en el *Emerging Infectious Diseases* de mayo del presente año.(37) Se encontraron 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; sin embargo, de los 30 pacientes reportados, 40% (12) habían requerido en algún momento de hospitalización, ventilación mecánica, por lo que habían estado hospitalizados durante periodos variables en una de las unidades de cuidados críticos. La mediana de duración de la hospitalización previa al aislamiento fue de 21 días; 93.3% de los pacientes habían recibido antibióticos previo al

aislamiento de ERV. Durante la hospitalización, 23.3% de los pacientes fallecieron. De los 30 pacientes del estudio, a 27 se les aisló *E. faecium*, 26 de estos (96.3%) con genotipo y fenotipo *vanA*. La caracterización genética de las cepas de *E. faecium*, mediante el análisis de la electroforesis en gel por campos pulsados (ECP), reveló que aproximadamente el 70% presentaron un parentesco genético cercano a 80%.(Ver figura 2).(37)

Previamente se habían identificado de manera ocasional, en muestras clínicas, cepas de *E. gallinarum* con bajo nivel de resistencia a vancomicina, pero nunca *E. faecium* o *E. faecalis* resistente a vancomicina. El porcentaje de aislados clínicos de ERV entre mayo de 2004 y abril de 2005 fue de 0.27%, pero en el año siguiente, de mayo de 2005 a abril de 2006, este porcentaje fue de 6.23%, lo cual representa un incremento de 23 veces en la frecuencia de ERV. Además esto ha coincidido con un incremento en la incidencia de enterococo con alto nivel de resistencia a ampicilina y aminoglucósidos, por lo cual las opciones terapéuticas son muy reducidas. Por todo lo anterior, consideramos relevante la publicación de este análisis, pues se trató del primer reporte de infecciones por ERV con corroboración genética de la resistencia a vancomicina en México.

## **JUSTIFICACIÓN**

Recientemente, se ha incrementado la prevalencia del EVR en diferentes países en el mundo, lo que se ha asociado a tasas altas de morbilidad y mortalidad, sobre todo en pacientes inmunosuprimidos infectados por este microorganismo, esto ha elevado los costos en la atención hospitalaria debido al uso de antibióticos como linezolid y tigeciclina, al mayor tiempo de hospitalización que requieren estos pacientes y a las medidas de aislamiento de contacto que deben implantarse. Nosotros describimos el brote de infecciones por ERV en el 2005, por lo que, al ser esto sólo una fracción del problema, consideramos necesario determinar la prevalencia de colonización por ERV en los pacientes que ingresan a las UTI del INCMNSZ, así como conocer la proporción de pacientes colonizados que presentan infección. El conocimiento que se genere de este estudio, ayudará a definir e instituir las medidas de control para evitar la diseminación de EVR.

## **HIPÓTESIS**

1. La colonización gastrointestinal por ERV es  $\geq 20\%$  en los pacientes que ingresan a las unidades de cuidados críticos en el INCMNSZ.
2. La mayoría de los pacientes que presentan infección por ERV están previamente colonizados por este germen.

## **OBJETIVOS GENERALES**

1. Determinar la prevalencia de colonización gastrointestinal por ERV en los pacientes que se hospitalizan en las unidades de cuidados críticos en el INCMNSZ.
2. Determinar la tasa de infección por ERV dentro del grupo de pacientes previamente colonizados por este germen.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir la epidemiología molecular de las cepas de ERV que se encuentren como colonizantes y/o infectantes.
2. Describir los factores de riesgo específicos asociados a colonización gastrointestinal e infección por ERV.
3. Identificar formas de transmisión nosocomial de ERV en la población colonizada.

## **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 12 de julio 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 1 µL 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, estreptomina 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' GATTTTCGTTCCCTCGACC 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  $\mu\text{L}$  de buffer PIV (Tris-HCL 1M, NaCl 1M, pH= 7.6) y se resuspendió en 150  $\mu\text{l}$  del mismo buffer. Los tubos se incubaron a 50°C para equilibrar la temperatura, posteriormente se agregaron 150  $\mu\text{L}$  de agarosa de bajo punto de fusión al 1.6%, se tomaron 100  $\mu\text{L}$  para preparar los bloques en los moldes. Los bloques se dejaron solidificar y se colocaron en un tubo Eppendorff, se resuspendieron con 500  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{g}$  preparado al momento) y se incubaron a 50°C toda la noche. Se eliminó el buffer de lisis y se agregaron 500  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 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 e intervalo intercuartilar (IIQ), y las proporciones de las variables categóricas como porcentajes. Se calculó la prevalencia de colonización en esta población. Como prueba de hipótesis entre grupos, las variables continuas se sometieron a prueba t de Student o U de Mann-Whitney, y las categóricas a prueba de chi cuadrada o exacta de Fisher, según fueran adecuadas a su distribución. Se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes.

Durante el periodo de estudio invitamos a participar a 67 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión, 3 no aceptaron, por lo que incluimos 64 pacientes. De éstos, 19 (29.6%) se encontraron colonizados por ERV en algún momento de su estancia en las UTI y 45 (70.3%) nunca fueron colonizados durante su seguimiento. Las características clínicas y demográficas de esta población se describen en la tabla 2.

La mediana de edad fue de 52 años (17–84) en general; 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), la diferencia de edad entre estos dos grupos fue significativa, (chi cuadrada,  $p = 0.03$ ). (Ver tabla 2).

De los 64 pacientes estudiados, 31 (48.4%) fueron hombres y 33 (51.6%) mujeres. Del grupo colonizado por ERV, 13 pacientes fueron hombres (68.4%) y 6 fueron mujeres; mientras que en el grupo no colonizado, 18 pacientes (40%) fueron hombres y 27 fueron mujeres (60%), esta diferencia también fue estadísticamente significativa ( $p = 0.05$ ).

La mediana del tiempo de hospitalización previo al ingreso a la UTI en todo el grupo fue de 2 días (0–74), para el grupo colonizado fue de 13 días (1–74) y para el grupo no colonizado fue de 1 día (0–31). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0.0001$ ).

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, también fue de 7 (1–14), la diferencia entre ambos grupos no fue significativa.

La mediana de la escala de APACHE II al ingreso fue de 17 (2–35); para el grupo de pacientes colonizados fue de 19 (13–26) y para el grupo no colonizado fue de 14 (9–21), con una diferencia no significativa.

Los diagnósticos de ingreso más frecuentes entre los 64 pacientes fueron: neumonía nosocomial, 15 pacientes (23.4%); eventos neurológicos agudos, 8 pacientes (12.5%); sepsis abdominal nosocomial, 8 pacientes (12.5%); eventos cardiovasculares agudos, 5 pacientes (7.8%); eventos pulmonares agudos, 4 pacientes (6.3%); neumonía adquirida en la comunidad, 3 pacientes (4.7%); sepsis abdominal comunitaria, 4 pacientes (6.3%); posquirúrgicos de cirugía abdominal, 6 pacientes (9.4%); posquirúrgico de otras cirugías, 5 pacientes (7.8%) y otros diagnósticos, 6 pacientes (9.4%). Se encontró diferencia estadísticamente significativa sólo para el diagnóstico de ingreso por sepsis abdominal nosocomial, con 7 pacientes (36.8%) en el grupo colonizado y un paciente (2.2%) en el grupo no colonizado, ( $p = 0.002$ ). (Ver figura 3).

Todos los pacientes, excepto uno, tenían alguna enfermedad concomitante, 43 pacientes tenían 2 ó más. Las comorbilidades más frecuentes fueron: diabetes mellitus, 16 casos (25%); enfermedades reumatológicas, 9 casos (14.1%); enfermedades cardiovasculares, 26 casos (40.6%); enfermedades neurológicas, 8 casos (12.5%); enfermedades hematológicas no neoplásicas, 5 casos (7.8%); neoplasias hematológicas, 4 casos (6.3%); neoplasias de órgano sólido, 8 casos (12.5%); trasplante de órgano sólido, 1 caso (1.6%); cirrosis hepática, 3 casos (4.7%); SIDA, 5 casos (7.8%); insuficiencia renal crónica, 2 casos (3.1%). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el grupo colonizado y el no colonizado, en relación a las comorbilidades.

## **2. Cultivos de colonización.**

De los 19 pacientes colonizados, 10 (52.6%) lo estaban desde el primer cultivo, 3 (15.8%) en el segundo cultivo, 2 (10.6%) en el tercer cultivo y 4 (21%) en el cuarto cultivo (Ver Tabla 4).

La mediana de tiempo del ingreso al estudio hasta el primer cultivo positivo fue de 4.6 días, con un rango de 0 a 15 días.



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

El uso de nutrición parenteral previo fue mayor en los pacientes del grupo colonizado, 8 pacientes (42.1%), que en el grupo no colonizado, 4 pacientes (4%), ( $p = 0.004$ , OR = 7.4, IC 95% 1.8 – 29.4). (Ver tabla 3).

#### ***Uso de antibióticos.***

El uso previo de antimicrobianos tales como clindamicina y fluconazol, se asoció con una mayor probabilidad de colonización.

Siete pacientes del grupo colonizado utilizaron clindamicina (36.8%) vs. 4 pacientes del grupo no colonizado (9.1%);  $p = 0.013$ , razón de momios de 5.8, IC 95% 1.4–23.3.

Ocho pacientes del grupo colonizado (42.1%) utilizaron fluconazol, vs. 7 del grupo no colonizado (16.3%);  $p = 0.05$ , razón de momios de 3.7 (IC 95% 1.1–12.6).

Se observó una tendencia a un uso más frecuente de meropenem o imipenem/cilastatina, en el grupo colonizado, 14 pacientes (73.7%) vs. 21 pacientes (46.7%) del grupo no colonizado, aunque esta diferencia no fue significativa;  $p = 0.06$ , razón de momios de 3.2 (IC 95% 1–10.3).

También hubo una tendencia al uso más frecuente de ceftazidima en el grupo colonizado, 13 pacientes (68.4%), vs. 19 pacientes (42.2%), aunque sin significancia estadística ( $p = 0.09$ ).

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

Los pacientes colonizados fueron sometidos a cirugía de cualquier tipo, con mayor frecuencia que los no colonizados, 14 pacientes (73.7%), vs. 20 pacientes (44.4%),  $p = 0.05$  y una razón de momios de 3.5 (IC 95% 1–11.3).

Además, analizando sólo los que fueron sometidos a una cirugía abdominal, también se encontró diferencia significativa, (colonizados, 10 pacientes, 52.6% vs. no colonizados 9 pacientes, 20%;  $p = 0.01$ , razón de momios de 4.4 (IC 95% 1.4–14.2).

#### ***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 primero y segundo pisos tuvieron mayor riesgo para colonización por ERV, 14 pacientes (73.7%) vs. 15 pacientes (33.3%),  $p = 0.005$ , razón de momios de 5.6 (IC 95% 1.7–18.5).

Ninguno de los 11 pacientes (24.4%) hospitalizados en tercero y cuarto pisos previo a su ingreso a la unidad de terapia intensiva desarrolló colonización por ERV durante el seguimiento ( $p = 0.02$ ).

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

Los 19 aislados de ERV en cultivos de exudado rectal se identificaron como *E. faecium* por el sistema automatizado Vitek 2®.

La corroboración de susceptibilidad mediante microdilución en placa mostró lo siguiente: Todas las cepas, excepto una fueron resistentes a ampicilina, ciprofloxacina y levofloxacina. Otra cepa diferente fue susceptible a gentamicina de alta concentración, pero resistente a todos los demás antibióticos. Todas las cepas fueron resistentes a vancomicina y teicoplanina. Sólo una cepa fue resistente a quinupristina/dalfopristina; todas las cepas fueron sensibles a linezolid.

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

El aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en orina fue mayor en el grupo colonizado (3 casos, 15.8%) que en el grupo no colonizado (0 casos),  $p = 0.02$ ; así mismo, también se encontró de manera más frecuente este germen en expectoración y aspirado endotraqueal en el grupo colonizado (8 casos, 42.1%), que en el grupo no colonizado (6 casos, 13.3%),  $p = 0.01$ . Ver tabla 5.

Otro hallazgo significativo fue el aislamiento de *Escherichia coli* en muestras intraabdominales más frecuentemente en el grupo colonizado (4 casos, 21.1%) que en el grupo no colonizado (0 casos),  $p = 0.006$ .

También se encontró de manera más frecuente *Candida* spp en orina en el grupo colonizado (11 casos, 57.9%), que en el grupo no colonizado (12 casos, 26.7%),  $p = 0.02$ .

Encontramos un mayor número de aislamientos de *Staphylococcus aureus* en sangre en los pacientes colonizados (3 casos, 15.8%) que en los no colonizados (1 caso, 2.2%), aunque esto no tuvo significancia estadística ( $p = 0.07$ ).

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

## **6. Infección por Enterococcus resistente a vancomicina.**

De los 19 pacientes colonizados, 7 presentaron también infección por *Enterococcus* resistente a vancomicina, 5 en orina (26.3%) y 2 en muestras intraabdominales (10.5%), un total de 36.8% de la población colonizada. Entre el grupo no colonizado también se identificaron 2 infecciones por este germen (4.4% de 45 pacientes), con diferencia estadísticamente significativa

( $p = 0.002$ ), razón de momios de 12.5, IC 95% 2.3-68.4). Es decir, de los 9 pacientes que presentaron infección por ERV, 7 (78%) estaban previamente colonizados por este germen.

### **7. Desenlaces de los 64 pacientes del estudio.**

En el grupo colonizado 4 pacientes (21.1%) fueron egresados por mejoría, 10 (52.6%) fallecieron y 5 (26.3%) continuaban hospitalizados al momento de este análisis. En el grupo no colonizado, 23 pacientes egresaron por mejoría (52.3%), 15 fallecieron (34.1%) y 6 continuaban hospitalizados (13.6%). La diferencia entre ambos grupos, respecto a estos tres desenlaces no alcanzó significancia estadística ( $p = 0.07$ ).

### **8. Epidemiología molecular.**

A todos los aislados de ERV de las muestras de exudado rectal se les realizó determinación de genes de resistencia *vanA* y *vanB*. Todos presentaron el genotipo *vanA*. (Ver figuras 4 y 5).

Se realizó electroforesis en gel por campos pulsados a 13 de las 19 cepas de ERV. Se encontró que todas tenían entre sí > 85% de similitud, por lo que se consideraron como parte de una misma clona.(Ver figura 6).

Además, estas 13 cepas se compararon con las cepas del brote de infecciones por ERV, ocurrido en nuestra institución en el 2006 y se encontró que también existía una similitud genética >85% entre las 27 cepas del brote y las 13 cepas de nuestro estudio.(Ver figura 7).

## DISCUSIÓN

La prevalencia de la colonización fecal por ERV varía entre menos del 1% hasta el 20% en la literatura mundial. 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, 50.6% 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 unidades de terapia intensiva de nuestra Institución, sino que es relativamente más 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. 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. Esto coincide con los factores de riesgo encontrados en el análisis del brote de infecciones por ERV en nuestra institución, 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 primeros 15 días de su estancia, es decir, la colonización por ERV, cuando ocurre en la UTI, es temprana.

Entre las características demográficas y clínicas de los 64 pacientes que participaron, destacó que la población colonizada tenía una menor edad al grupo no colonizado; la mayoría de los colonizados eran de género masculino y habían tenido una estancia promedio en el hospital de 13 días, en comparación con los no colonizados, que tuvieron una estancia previa de 1 día. El diagnóstico de ingreso que se relacionó con colonización por ERV fue el de sepsis abdominal adquirida en el hospital. Se ha descrito previamente en la literatura que los pacientes con hospitalizaciones prolongadas y con múltiples cirugías abdominales se encuentran en mayor riesgo para colonizarse por ERV, sin embargo

no se ha descrito que la colonización tenga relación con el género masculino ni con la edad. Esto pudiera deberse a que en nuestra institución se refieren múltiples casos de pacientes con patología quirúrgica y, por lo general menores de 50 años, por lo que probablemente nuestros resultados tengan un sesgo de selección en estos rubros.

En cuanto a los factores de riesgo durante la hospitalización, los que se vieron relacionados a colonización por ERV fueron: el uso de nutrición parenteral, el uso previo de ceftazidima, meropenem, clindamicina y fluconazol, la cirugía previa de cualquier tipo, pero sobre todo, la cirugía abdominal. Esto también se encuentra descrito en la literatura, ya que los pacientes con cirugías abdominales 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; de la misma manera, pareciera ser que los procedimientos invasivos múltiples ponen en riesgo de exposición al ERV.(1,3) El uso previo de antibióticos como las cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y clindamicina, también son un factor de riesgo conocido para colonización por ERV.(1,5) En nuestro estudio llama la atención la colonización por ERV en pacientes con uso previo de clindamicina y carbapenémicos, situación que se ha descrito como factores predisponentes para colonización por gérmenes gramnegativos no fermentadores, no para ERV.

Es interesante el que el uso de vancomicina fue mayor en el grupo colonizado, en comparación con el grupo no colonizado, aunque no fue estadísticamente significativo, es posible que esta diferencia no haya sido estadísticamente probable por el pequeño tamaño de la muestra; y refleja claramente el uso extensivo de vancomicina para el manejo de pacientes en quienes se sospecha infección por estafilococo resistente a meticilina de manera inicial o bien, dirigida.

En el caso del fluconazol, en particular, no se ha descrito 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 estar asociado entre sí.

La estancia previa en primer o segundo pisos fue un factor de riesgo para la adquisición del ERV, no así la estancia previa en tercero o cuarto pisos, lo cual representó incluso un factor protector. 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. En tercero y cuarto pisos, cada paciente se encuentra en una habitación aislada y por tanto, la exposición a otros pacientes colonizados es más difícil.

Se estudiaron también los aislados clínicos más frecuentes de todos los pacientes del estudio y los que se encontraron relacionados a la colonización por ERV fueron: *P. aeruginosa* en orina y expectoración; *E. coli* en muestras intraabdominales y *Candida* spp en orina. 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 92% 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* en muestras intraabdominales puede deberse a que más de 50% de los pacientes colonizados por ERV requirieron de por lo menos una intervención quirúrgica abdominal y que casi 40% de ellos presentaron sepsis abdominal. El aislamiento de *S. aureus* en los pacientes del grupo colonizado fue mayor a los del grupo no colonizado, pero esto no fue estadísticamente significativo, aunque podría explicar el uso más frecuente de vancomicina en los pacientes colonizados.

En cuanto a la infección por ERV, esta fue más frecuente en el grupo colonizado, comparada con el grupo no colonizado, 78% de los pacientes con infección por ERV estaban previamente colonizados. Es probable que esto se deba a que estos dos pacientes, infectados pero no colonizados, hayan tenido una colonización breve que no se identificó debido a los intervalos semanales de las muestras que realizamos o a que se encontraran colonizados de otros sitios previos a la colonización intestinal o incluso a alguna falla del método de cultivo. Aún así, la hipótesis de que la mayoría de los pacientes que se infectan con ERV están previamente colonizados por este germen se corroboró.

No hubo diferencias significativas entre los dos grupos, respecto a los tres desenlaces considerados: alta por mejoría, defunción u hospitalización. Sobre este punto se han realizado múltiples estudios en la literatura mundial.(3) Aún es controversial si los pacientes infectados y/o colonizados con ERV tienen mayor mortalidad que los infectados por enterococo sensible a vancomicina. Algunos reportes en particular han demostrado que aunque la morbilidad es mayor en los colonizados por ERV, la mortalidad no se modifica al compararlos con pacientes infectados por enterococo sensible.(11) Esto puede deberse a que la presencia de enterococo, independientemente de su susceptibilidad antimicrobiana, puede ser considerado un evento terminal, es decir, la gravedad de los pacientes es tal, que la mortalidad no se ve influenciada de manera directa por el germen sino por sus comorbilidades. Además la falta de acceso a los antibióticos necesarios para tratar las infecciones por ERV, como linezolid, tigeciclina y quinupristina/dalfopristina, influye de manera negativa en el pronóstico de estos pacientes.

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.(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. La prevalencia de la colonización intestinal por este ERV es muy elevada en nuestra población en comparación con los reportes descritos en la literatura.
2. Ratificamos que los factores de riesgo en nuestra población para colonización e infección por ERV fueron semejantes a aquellos descritos en otros estudios.
3. La colonización intestinal por ERV precede claramente a las infecciones.
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.

**TABLA 1. Características de los diversos fenotipos de *Enterococcus* resistentes a glicopéptidos. Modificado de *Clin Microbiol Rev* 2000;13(4):686-707.**

Características	Fenotipos de resistencia en <i>Enterococcus</i>				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE/G
<b>Vancomicina</b> CMI (µg/ml)	64 - >1000	4 - 1,024	2 - 32	128	16
<b>Teicoplanina</b> CMI (µg/ml)	16 - 512	≤ 0.5	≤ 0.5	4	0.5
<b>Especies más frecuentes</b>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. caseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>
<b>Genotipo</b>	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE/G
<b>Determinante genético</b>	Adquirido	Adquirido	Intrínseco	Adquirido	Adquirido
<b>Transferible</b>	Sí	Sí	No	No	No

**TABLA 2. Características demográficas y clínicas de los 64 pacientes incluidos en el estudio: individuos colonizados por enterococo resistente a vancomicina e individuos no colonizados.**

<b>Característica</b>	<b>TOTAL (n = 64)</b>	<b>ERV positivo (n = 19)</b>	<b>ERV negativo (n = 45)</b>	<b>p</b>
Edad (años)	52 (17 - 84)	48 (17 - 84)	61 (27 - 77)	0.034
<b>Género</b>				
Masculino	31 (48.4%)	13 (68.4%)	18 (40%)	0.055
Femenino	33 (51.6%)	6 (31.6%)	27 (60%)	
Tiempo de estancia previa a UTI (días)	2 (0 - 74)	13 (1 - 74)	1 (0 - 31)	< 0.0001
SOFA al ingreso	7 (1 - 16)	8 (2 - 16)	7 (1 - 14)	0.689
APACHE II al ingreso	17 (2 - 35)	19 (13 - 26)	14 (9 - 21)	0.122
<b>Diagnóstico de ingreso</b>				
Neumonía nosocomial	15 (23.4%)	7 (36.8%)	8 (17.8%)	0.119
Eventos neurológicos agudos	8 (12.5%)	1 (5.3%)	7 (15.6%)	0.418
Eventos cardiovasculares agudos	5 (7.8%)	0 (0%)	5 (11.1%)	0.094
Eventos pulmonares agudos	4 (6.3%)	1 (5.3%)	3 (6.7%)	0.223
Neumonía adquirida en la comunidad	3 (4.7%)	1 (5.3%)	2 (4.4%)	0.660
Sepsis abdominal comunitaria	4 (6.3%)	0 (0%)	4 (8.9%)	0.310
Sepsis abdominal nosocomial	8 (12.5%)	7 (36.8%)	1 (2.2%)	0.002
Posquirúrgico de cirugía abdominal	6 (9.4%)	0 (0%)	6 (13.3%)	0.16
Posquirúrgico de otras cirugías	5 (7.8%)	1 (5.3%)	4 (8.9%)	1.0
Otros	6 (9.4%)	1 (5.3%)	5 (11.1%)	0.66
<b>Comorbilidades</b>				
Diabetes mellitus tipo 1 y 2	16 (25%)	2 (10.5%)	14 (31.1%)	0.117
Enfermedades reumatológicas	9 (14.1%)	1 (5.3%)	8 (17.8%)	0.260
Enfermedades cardiovasculares	26 (40.6%)	7 (36.8%)	19 (42.2%)	0.784
Enfermedades neurológicas	8 (12.5%)	2 (10.5%)	6 (13.3%)	1.0
Insuficiencia renal crónica	2 (3.1%)	0 (0%)	2 (4.4%)	1.0
Condiciones hematológicas no neoplásicas	5 (7.8%)	2 (10.5%)	3 (6.7%)	0.629
Neoplasias hematológicas	4 (6.3%)	2 (10.5%)	2 (4.4%)	0.576
Neoplasias de órgano sólido	8 (12.5%)	4 (21.1%)	4 (8.9%)	0.223
Trasplante de órgano sólido	1 (1.6%)	0 (0%)	1 (2.2%)	1.0
Cirrosis hepática	3 (4.7%)	2 (10.5%)	1 (2.2%)	0.208
VIH/SIDA	5 (7.8%)	2 (10.5%)	3 (6.7%)	0.629

**TABLA 3. Factores de riesgo durante la hospitalización de los 64 pacientes incluidos en el estudio: individuos colonizados por enterococo resistente a vancomicina e individuos no colonizados.**

<b>Factor de riesgo</b>	<b>TOTAL N= 64</b>	<b>ERV positivo N=19</b>	<b>ERV negativo N=45</b>	<b>p</b>	<b>OR (IC 95%)</b>
<b><i>Procedimientos invasivos</i></b>					
Catéter venoso central	60 (93.8%)	19 (100%)	41 (91.1%)	0.309	1.4 (1.2 – 1.7)
Línea arterial	16 (25%)	5 (26.3%)	11 (24.4%)	1.0	1.1 (0.3 – 3.7)
Ventilación mecánica	56 (87.5%)	19 (100%)	37 (82.2%)	0.093	1.5 (1.2 – 1.8)
Sonda de Foley	59 (92.2%)	19 (100%)	40 (88.9%)	0.310	1.4 (1.2 – 1.7)
Sonda nasogástrica o nasoyeyunal	49 (76.6%)	16 (84.2%)	33 (73.3%)	0.521	1.9 (0.4 – 7.8)
Nutrición enteral	39 (60.9%)	12 (63.2%)	27 (60%)	1.0	1.1 (0.3 – 3.4)
Nutrición parenteral	12 (18.8%)	8 (42.1%)	4 (8.9%)	0.004	7.4 (1.8 – 29.4)
<b><i>Uso previo de antibióticos</i></b>					
Ampicilina / amoxicilina-clavulanato / dicloxacilina	23 (35.9%)	7 (36.8%)	16 (35.6%)	1.0	1 (0.3 – 3.2)
Tetraciclinas	3 (4.7%)	0 (0%)	3 (6.7%)	0.549	0.6 (0.5 – 0.8)
Fluoroquinolonas	16 (25%)	6 (31.6%)	10 (22.2%)	0.530	1.6 (0.4 – 5.3)
Cefalosporinas tercera generación	46 (71.9%)	15 (78.9%)	31 (68.9%)	0.548	1.7 (0.4 – 6)
Ceftriaxona	28 (44.4%)	8 (42.1%)	20 (45.5%)	1	0.8 (0.3 – 2.5)
Ceftazidima	32 (50%)	13 (68.4%)	19 (42.2%)	0.099	2.9 (0.9 – 9.2)
Macrólidos	15 (23.8%)	7 (36.8%)	8 (18.2%)	0.196	2.6 (0.8 – 8.7)
Clindamicina	11 (17.5%)	7 (36.8%)	4 (9.1%)	0.013	5.8 (1.4 – 23.3)
Metronidazol	29 (45.3%)	10 (52.6%)	19 (42.2%)	0.584	1.5 (0.5 – 4.4)
Meropenem/Imipenem	35 (54.7%)	14 (73.7%)	21 (46.7%)	0.058	3.2 (0.98–10.3)
Amikacina/Gentamicina	49 (76.6%)	17 (89.5%)	32 (71.1%)	0.195	3.4 (0.7 – 17.1)
Vancomicina	40 (62.5%)	14 (73.7%)	26 (57.8%)	0.270	2 (0.6 – 6.6)
Piperacilina/Tazobactam	17 (26.6%)	7 (36.8%)	10 (22.2%)	0.236	2 (0.6 – 6.5)
Fluconazol	15 (24.2%)	8 (42.1%)	7 (16.3%)	0.051	3.7 (1.1 – 12.6)
Anfotericina	13 (20.6%)	5 (26.3%)	8 (18.2%)	0.508	1.6 (0.4 – 5.7)
<b><i>Cirugías</i></b>					
Cirugía de cualquier tipo	34 (53.1%)	14 (73.7%)	20 (44.4%)	0.054	3.5 (1 – 11.3)
Cirugía abdominal	19 (29.7%)	10 (52.6%)	9 (20%)	0.016	4.4 (1.4 – 14.2)
<b><i>Traslado de otro hospital</i></b>	7 (10.9%)	2 (28.6%)	5 (71.4%)	1.000	0.9 (0.2 – 5.3)
<b><i>Estancia previa en el hospital</i></b>					
Urgencias	46 (71.9%)	13 (68.4%)	33 (73.3%)	0.764	0.79 (0.2-2.5)
Hospitalización de urgencias	43 (67.2%)	15 (78.9%)	28 (62.2%)	0.251	2.3 (0.6-8)
UTI	37 (57.8%)	11 (57.9%)	26 (57.8%)	1.0	1 (0.3-2.9)
Primer y segundo pisos	29 (45.3%)	14 (73.7%)	15 (33.3%)	0.005	5.6 (1.7-18.5)
Tercer y cuarto pisos	11 (17.2%)	0 (0%)	11 (24.4%)	0.025	0.642 (0.5- 0.7)

**TABLA 4. Tiempo al que presentaron desarrollo de ERV en cultivo de exudado rectal los 19 pacientes colonizados.**

<i>Número de cultivo</i>	<i>Número de pacientes (n = 19)</i>	<i>Porcentaje</i>
Cultivo 1 (24 hrs.)	10	52.6%
Cultivo 2 (72 hrs.)	3	15.8%
Cultivo 3 (7 días)	2	10.5%
Cultivo 4 (14 días)	4	21.05%

**TABLA 5. Aislados clínicos más frecuentes durante la hospitalización de los 64 pacientes incluidos en el estudio.**

<b>Organismo/Sitio de aislamiento</b>	<b>ERV positivo N=19 (%)</b>	<b>ERV negativo N=45 (%)</b>	<b>p</b>
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>			
Sangre	0 (0%)	1 (2.2%)	1.0
Orina	3 (15.8%)	0 (0%)	0.023
Intraabdominal	1 (5.3%)	0 (0%)	0.297
Herida quirúrgica	2 (10.5%)	0 (0%)	0.085
Expectoración	8 (42.1%)	6 (13.3%)	0.019
<b><i>Escherichia coli</i></b>			
Sangre	2 (10.5%)	1 (2.2%)	0.208
Orina	3 (15.8%)	4 (8.9%)	0.415
Intraabdominal	4 (21.1%)	0 (0%)	0.006
<b><i>Klebsiella spp.</i></b>			
Sangre	1 (5.3%)	0 (0%)	0.297
Expectoración	3 (15.8%)	2 (4.4%)	0.150
<b><i>Candida spp.</i></b>			
Sangre	2 (10.5%)	2 (4.4%)	0.576
Orina	11 (57.9%)	12 (26.7%)	0.024
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>			
Sangre	3 (15.8%)	1 (2.2%)	0.075
Expectoración	3 (15.8%)	3 (6.7%)	0.351
<b><i>Enterococcus sensible a vancomicina</i></b>			
Sangre	1 (5.3%)	0 (0%)	0.297
Orina	0 (0%)	5 (11.1%)	0.310
Intraabdominal	2 (10.5%)	1 (2.2%)	0.208
<b><i>Enterococcus resistente a vancomicina</i></b>			
Sangre	0 (0%)	0 (0%)	
Orina	5 (26.3%)	2 (4.4%)	0.021
Intraabdominal	2 (10.5%)	0 (0%)	0.085

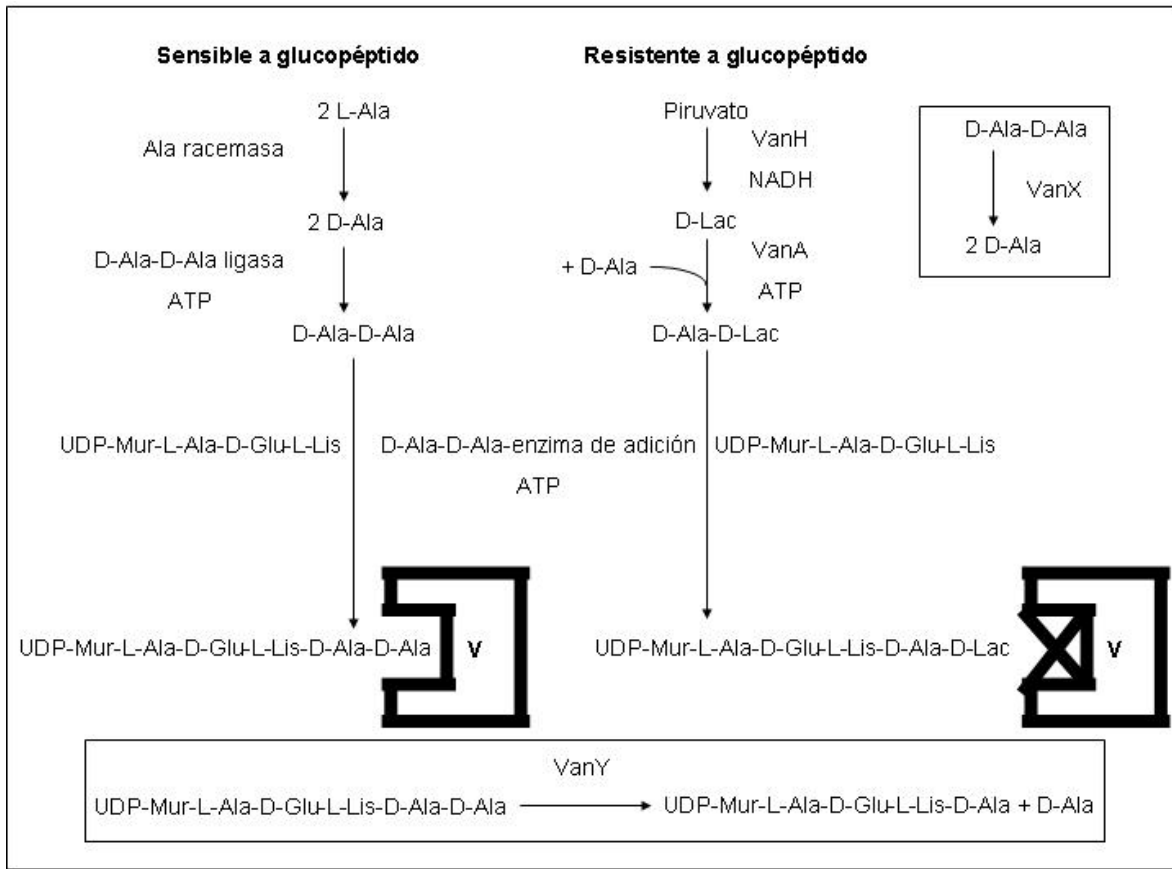


FIGURA 1. Mecanismo de acción de la vancomicina y mecanismos de resistencia a glicopéptidos en Enterococos con resistencia a la vancomicina asociada al gen *vanA*. V = vancomicina. Adaptado de Patel R. Vancomycin-resistant enterococci in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 1999;4:271-280.



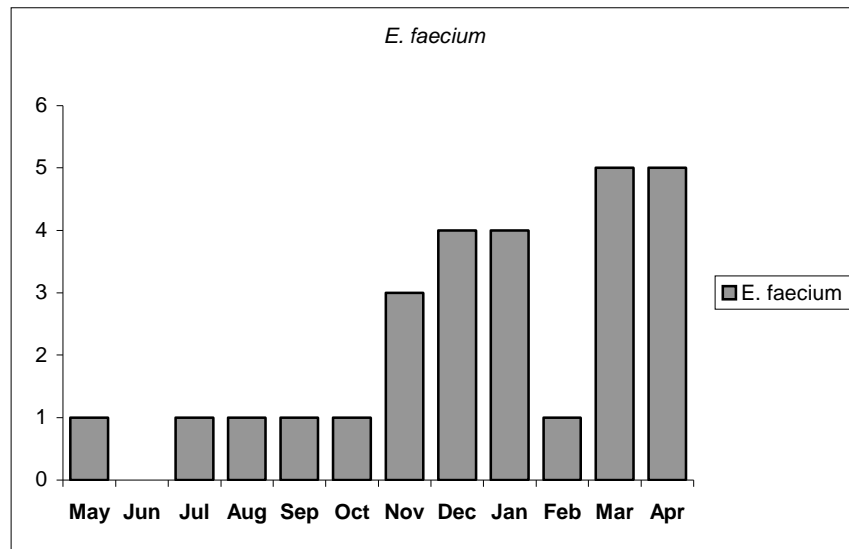


FIGURA 2. Casos de infecciones por ERV en el INCMNSZ de mayo del 2006 a abril del 2007.

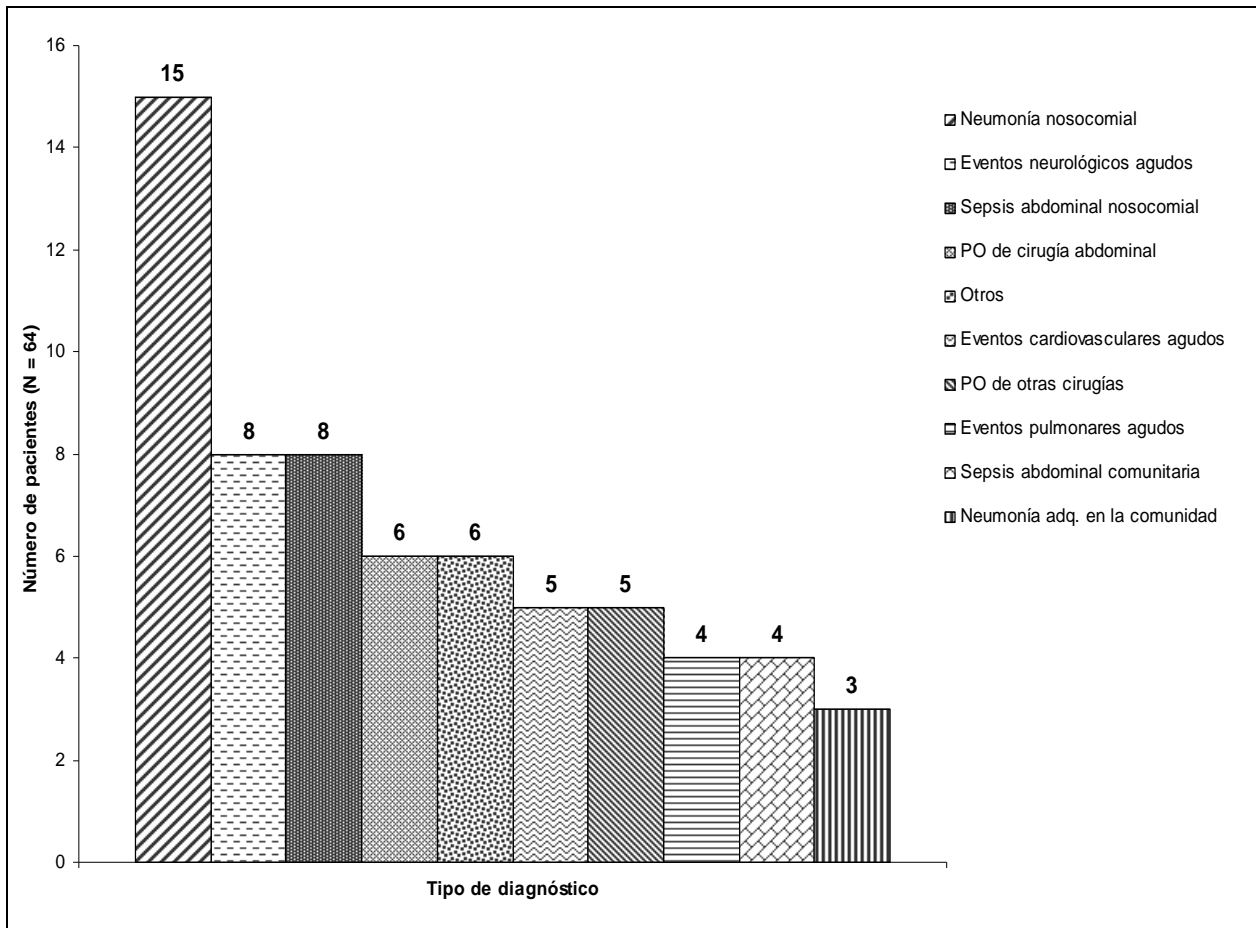


FIGURA 3. Diagnósticos de ingreso de los 64 pacientes del estudio.

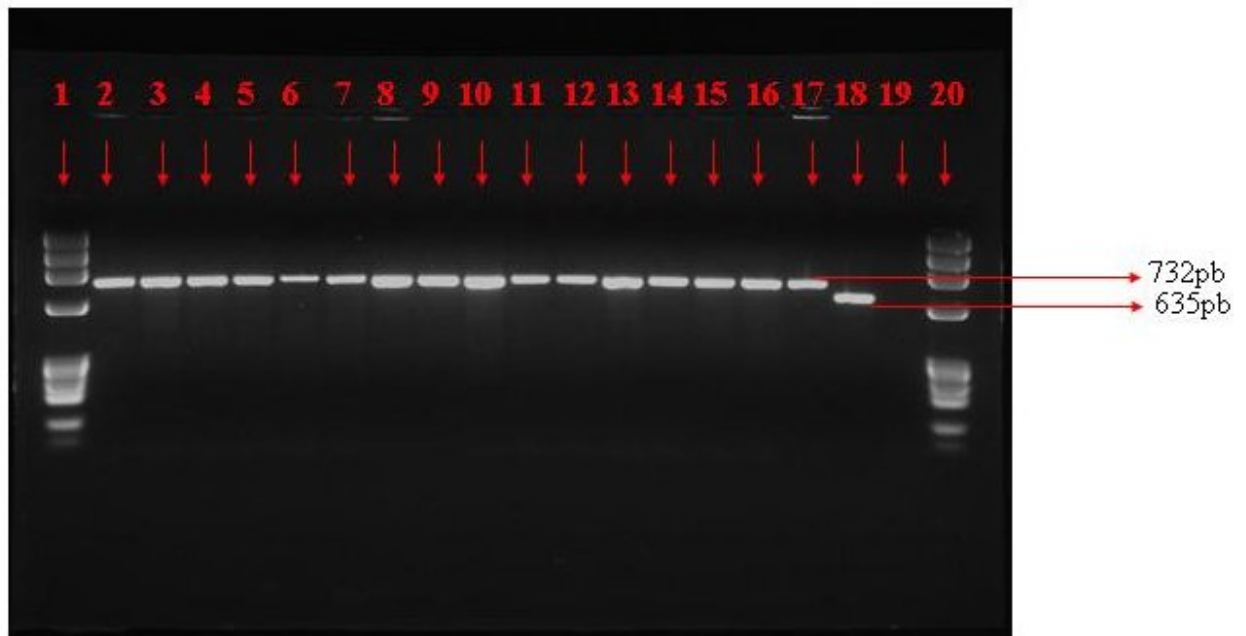


FIGURA 4. Amplificación de genes *vanA* (732pb) y *VanB* (635pb) mediante PCR múltiple. Carril 1 y 20, marcador de peso molecular ( $\phi$ X174), carriles 2-16 aislados clínicos de *Enterococo* resistentes a vancomicina (*vanA*), carril 17 control positivo de *vanA*, carril 18, control positivo de *vanB*, carril 19 control negativo de reactivos.

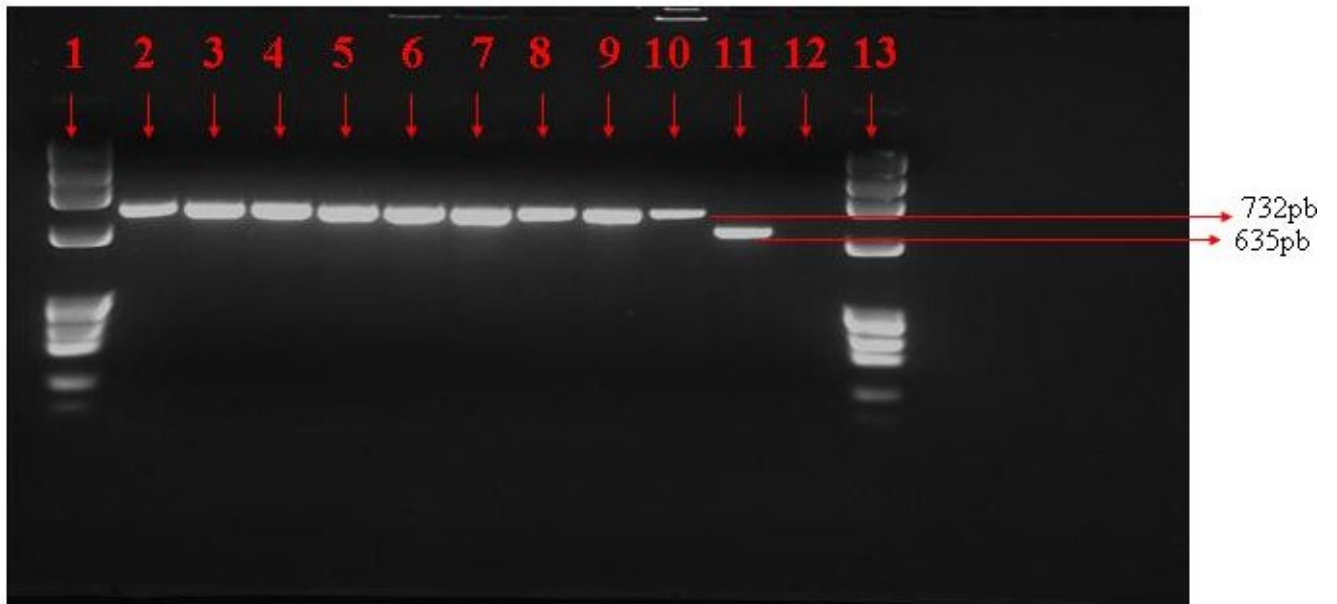


FIGURA 5. Carril 1 y 13, marcador de peso molecular ( $\phi$ X174), carriles 2-9 aislados clínicos de *Enterococo* resistentes a vancomicina (*vanA*), carril 10 control positivo de *vanA*, carril 11, control positivo de *vanB*, carril 12 control negativo de reactivos.



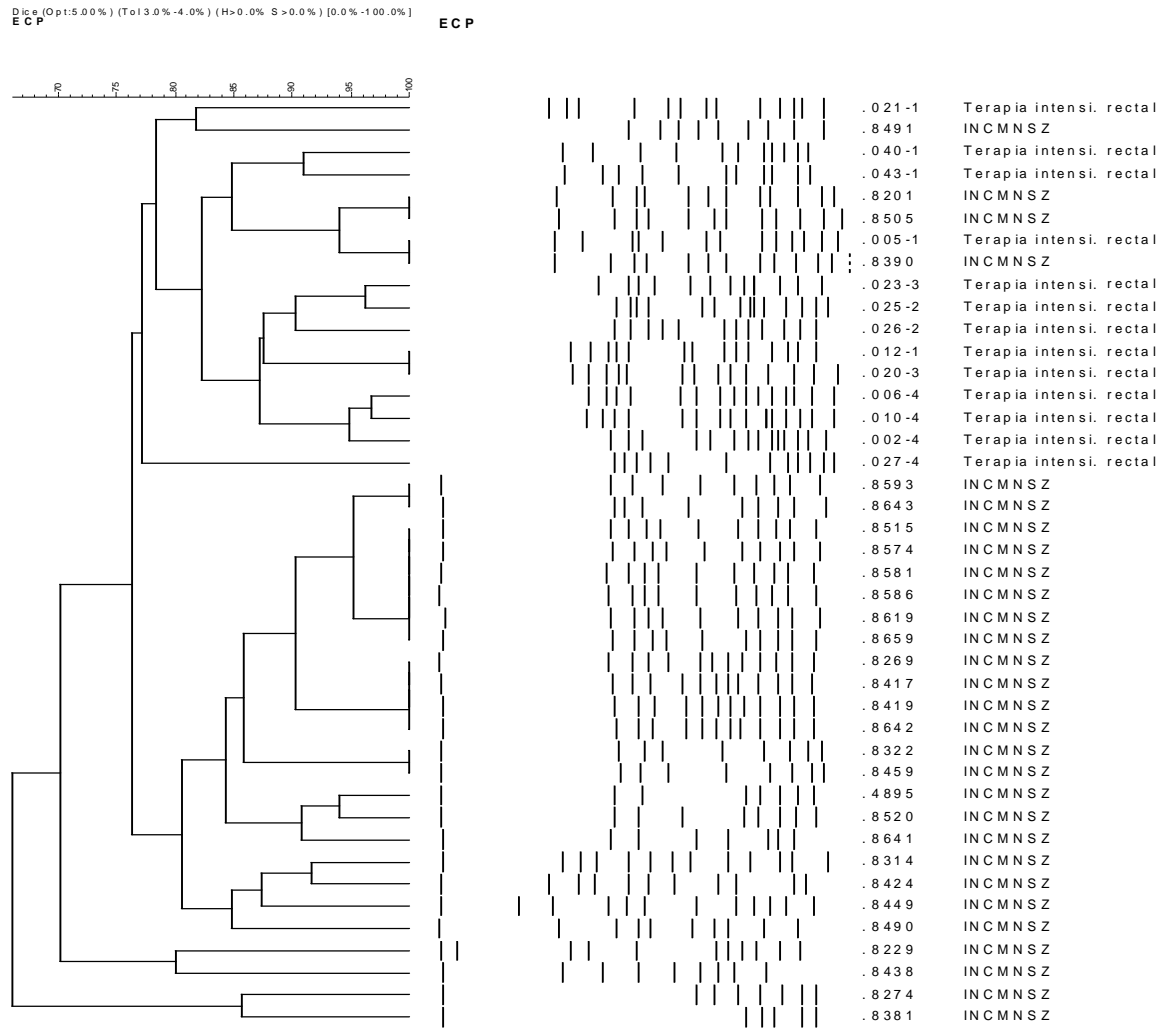


FIGURA 7. Electroforesis en gel por campos pulsados de las 13 cepas de ERV de este estudio, comparadas con las 27 cepas del brote ocurrido en el INCMNSZ en el 2006. *INCMNSZ* (cepa del brote de infecciones por ERV); *Terapia intens. rectal* (cepa colonizante).

## 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.

**Infección 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.
- Trasplante 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: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
Fecha: ____/____/____	Resultado: _____
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
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
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
Serum sodium (mmol/L)	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149			120-129	111-119
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 (t/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
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 CRITICOS 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, Ambergen 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, Brewrink 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* 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.