

Evaluación de la susceptibilidad a glicopéptidos en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina

Evaluation of Susceptibility to Glycopeptides in Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus Strains

Castellano González, Maribel^{1*};
Perozo Mena Armindo² y González, Ana Isabel³

¹Cátedra de Bacteriología General, Escuela de Bioanálisis.

²Cátedra de Práctica Profesional de Bacteriología,
Escuela de Bioanálisis y Centro de Referencia Bacteriológica SAHUM.

³Maestría en Diagnóstico Bacteriológico,
División de Estudios para Graduados.
Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela

* maribeljo@cantv.net

Resumen

La disminución de la susceptibilidad a los glicopéptidos por parte de *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (SAOR) se ha convertido en una problemática actual. **Objetivo:** Evaluar la susceptibilidad a los glicopéptidos en cepas SAOR aisladas en el Hospital Universitario de Maracaibo, durante el primer trimestre del 2010. **Métodos:** a las cepas SAOR se les verificó la resistencia a oxacilina por difusión en agar (oxacilina 1 µg y cefoxitina 30 µg, OXOID®), prueba de descarte en agar Müeller Hinton con 6 µg/mL de oxacilina (Sigma®), concentración inhibitoria mínima (CIM) a oxacilina mediante E-test®, detección de PBP2a (látex, OXOID®) y del gen *mecA* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se determinó, además, la susceptibilidad a glicopéptidos por difusión del disco (teicoplanina 30 µg, OXOID®), CIM por E-test®, prueba de descarte en agar Müeller-Hinton con teicoplanina (5 µg/mL, Sigma®) o infusión cerebro corazón con vancomicina (6 µg/mL, Sigma®), detección de hetero-resistencia (GDR E-test®) y la detección del gen *vanA* mediante PCR. **Resultados:** no se aisló ninguna cepa SAOR con resistencia intermedia (VISA o hVISA), ni tampoco, con resistencia de alto nivel a glicopéptidos (SAVR). **Conclusiones:** En la localidad, no existe incidencia de cepas SAOR resistentes a los glicopéptidos, por lo que estos antibióticos continúan siendo de utilidad en la terapéutica de las infecciones producidas por este importante patógeno.

Palabras clave: SAOR, glicopéptidos, resistencia.

Recibido: 30-11-11 / Aceptado: 28-06-12

Abstract

The decrease in susceptibility to glycopeptides by oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* (ORSA) has become a current problem. **Objective:** To evaluate susceptibility to glycopeptides in ORSA strains isolated in the University Hospital, Maracaibo, during the first quarter of 2010. **Methods:** Oxacillin resistance of the ORSA strains was verified by diffusion on agar (oxacillin 1 µg and cefoxitin 30 µg, OXOID®), a screening test in Müeller Hinton agar with 6 µg/mL of vancomycin (Sigma®), and E-test® for minimum inhibitory concentration (MIC) for oxacillin, detection of PBP2a (Latex, OXOID®) and the *mecA* gene by polymerase chain reaction (PCR). In addition, susceptibility to glycopeptides was determined by disk diffusion (teicoplanin, 30 µg OXOID®), MIC by E-test®, screening test in Müeller-Hinton agar with teicoplanin (5 µg/ml) or in brain heart infusion agar with vancomycin (6 µg/mL), glycopeptide hetero-resistance detection by GDR E-test® and detection of the *vanA* gene using PCR. **Results:** No ORSA strain was isolated with intermediate resistance (VISA or hVISA), nor with high-level resistance to glycopeptides. **Conclusions:** Locally, there is no incidence of ORSA strains resistant to glycopeptides; therefore, these antibiotics continue to be useful for treating infections produced by this important pathogen.

Key words: ORSA, glycopeptides, resistance.

Introducción

Por más de un siglo, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ha sido reconocido como un patógeno virulento con efectos clínicos devastadores. La alteración de una proteína de unión a penicilina (PBP2a), mediada por el gen *mecA*, es responsable de la resistencia a oxacilina en ciertas cepas denominadas *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina (SAOR); las cuales son altamente prevalentes en las instituciones hospitalarias y con una frecuencia creciente en la comunidad. Esta modificación en las PBPs ocasionó la resistencia a las penicilinas resistentes a penicilinas desde su aplicación clínica en 1961 y confiere resistencia a todos los antibióticos betalactámicos (1).

La vancomicina se ha usado en las cepas de *S. aureus* productoras de β-lactamasa; pero debido a su mayor eficacia y menor toxicidad, las penicilinas resistentes a penicilinas, reemplazaron a esta droga en el tratamiento. Sin embargo, desde 1977, con terror, se anunció el surgimiento de resistencia a la

vancomicina (2); particularmente en las cepas SAOR (3).

Hasta la fecha, se han descrito dos mecanismos de resistencia a vancomicina en *S. aureus*. Una de bajo nivel, presente en las cepas VISA y h-VISA y; otro de alto nivel, presente en las cepas resistentes (SARV) (1, 3).

La resistencia heterogénea a vancomicina (h-VISA) se refiere a aislamientos con una concentración inhibitoria mínima (CIM) por debajo de los puntos de corte establecidos; pero que posee subpoblaciones (10^{-6}) capaces de crecer en presencia de 4 µg/mL del antibiótico. Se cree que estas cepas son más frecuentes que las cepas con resistencia intermedia a vancomicina (VISA) (1, 2). El mecanismo responsable de esta resistencia no está bien esclarecido aún; pero se ha establecido que estas cepas poseen un engrosamiento anormal de la pared celular bacteriana (3).

Por su parte, la resistencia de alto nivel, ocurre cuando *S. aureus* adquiere el gen *vanA* a partir de un *Enterococcus* resistente a vancomicina (EVR); siendo descrito este mecanismo por primera vez, en el año 2002 (4).

El incremento en la frecuencia de infecciones severas por SAOR y la aparición de resistencia a glicopéptidos en estas cepas se ha constituido en un problema de significancia global, debido a la limitación de las opciones terapéuticas que conlleva. Además, la detección de la resistencia a los glicopéptidos, particularmente, la de bajo nivel, representa un reto para los microbiólogos en el laboratorio; ya que el método de difusión del disco, utilizado rutinariamente en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana falla en su detección, siendo capaz de identificar solamente, las cepas francamente resistentes (1, 3).

No obstante, las cepas VISA pueden ser realmente detectadas por métodos específicos de descarte y confirmadas mediante métodos de CIM (1). En cuanto a la detección y confirmación de h-VISA se han desarrollado varios métodos: tamizaje en placas de agar conteniendo 4 µg/mL de vancomicina; estudios poblacionales (PS, en inglés); perfiles de análisis de población modificados y el área bajo la curva (PAP-AUC) y el macro-método de E-test (1, 5).

Para la detección de las cepas SAVR, además del método del disco, pueden utilizarse otros métodos fenotípicos, tales como: CIM, tamizaje en placas de agar conteniendo 6 µg/mL de vancomicina y, la detección de los genes *vanA* mediante métodos moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estos últimos, sin embargo, no están disponibles en los laboratorios microbiológicos de rutina (6).

En nuestra localidad, los sistemas de vigilancia de resistencia bacteriana no han detectado; hasta la fecha, cepas de *S. aureus* con resistencia a glicopéptidos; por lo que el objetivo de esta investigación fue: evaluar la susceptibilidad a glicopéptidos en las cepas SAOR aisladas en un centro de salud, a fin de establecer si existen cepas VISA o h-VISA cir-

culando en el hospital y descartar la presencia de cepas SAVR.

Materiales y métodos

Cepas bacterianas

Se analizaron todas las cepas de *S. aureus* aisladas de muestras clínicas de pacientes provenientes de los diferentes servicios del Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia (Venezuela) durante el primer trimestre del año 2010. El cultivo, aislamiento e identificación bacteriana se efectuó de acuerdo a la metodología convencional.

Determinación de la resistencia a oxacilina

Se utilizó la metodología descrita por el Instituto para la Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI, de acuerdo a sus siglas en inglés) (7) mediante los métodos de: difusión en agar, empleando discos de oxacilina 1 µg/mL y de cefoxitin 30 µg/mL; screening de resistencia a oxacilina en placas de agar Müeller-Hinton (MH) conteniendo 6 µg/mL de oxacilina. Se determinó la CIM a oxacilina mediante el método de gradiente de antibióticos, E-test® (AB Biodisk, Solna, Suecia) siguiendo las instrucciones del fabricante y a través de la determinación de la PBP2a, mediante la prueba de aglutinación de látex OXOID® Ltd., Basingstoke, Hampshire, Inglaterra).

Detección del gen *mecA*

Para la verificación de la resistencia a oxacilina, se amplificó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) el gen *mecA*, utilizando los primers 5'-AAC AGG TGA ATT ATT AGC ACT TGT AAG-3' y *mecA* 5'-ATT GCT GTT AAT ATT TTT TGA GTT GAA-3, descritos por Martineau (8) en una

mezcla de reacción con 3 μ L de ADN muestra; 50mM KCl; 10mM Tris-HCl (pH 9,0); 0,1% Tritón X-100; 2,5 mM MgCl₂; 0,4 μ M de cada uno de los primers, 200 μ M de cada uno de los cuatro desoxinucleótidos trifosfatos y 0,5 U de ADN polimerasa *Taq* (Promega). Se utilizó un termociclador PTC-200 (MJ Research, Inc., Watertown, Mass), y el siguiente ciclo térmico: 5 minutos a 96°C; 35 ciclos de: 20 segundos a 95°C; 30 segundos a 55°C y 30 segundos a 72°C. Luego, 5 minutos a 72°C y conservados indefinidamente a 4°C. Los productos de la amplificación (5 μ L) fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5% conteniendo 0,5 μ g de bromuro de etidio por mL en buffer tris-borato-EDTA (89 mM Tris, 89 mM ácido bórico, 2 mM EDTA) a 80 V/cm por 90 minutos. Los geles se visualizaron bajo luz UV (254 nm) y se fotografiaron con una cámara digital. El tamaño de los productos de amplificación del PCR se estimó por comparación con un marcador de peso molecular de 100 bp.

Evaluación de la susceptibilidad a glicopéptidos

Determinación de la susceptibilidad a glicopéptidos mediante el método de difusión en agar: a partir de un cultivo puro en agar sangre de 24 horas, se preparó una suspensión de colonias en caldo soya tripticasa con turbidez similar al estándar 0,5 de McFarland, la cual contiene aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Con esta suspensión, se inoculó la superficie de una placa de agar MHy se aplicaron los discos de teicoplanina (30 μ g). Las placas se incubaron a 35°C por 18-24 horas y se midieron los halos de inhibición alrededor de los mismos, interpretándose como: sensibles, si el halo era ≥ 14 mm; intermedio, de 11 a 13 mm y, resis-

tente, si el halo era \leq a 10 mm; de acuerdo a lo establecido por el CLSI (7).

Determinación de la CIM a glicopéptidos: se efectuó la determinación de la CIM a vancomicina y teicoplanina mediante el método estándar de E-test[®].siguiendo los lineamientos del CLSI (7), utilizando en este caso agar MH sin la adición de NaCl, según lo descrito por Yusof y cols. (9). A partir de un cultivo puro en agar sangre de 24 horas, se preparó una suspensión de colonias en caldo MH con turbidez similar al estándar 0,5 de McFarland, la cual contiene aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Con esta suspensión, se inoculó la superficie de una placa de agar MHy se aplicaron las tiras de vancomicina (0,016-256 μ g/mL) y teicoplanina (0,016-256 μ g/mL). Las placas se incubaron a 35°C por 24 horas y se leyó el valor de la CIM en el punto de intersección de la elipse de inhibición con la tira. Se reportó sensible a vancomicina cuando la CIM fue ≤ 2 μ g/mL y a teicoplanina, ≤ 8 μ g/mL y como, resistente a vancomicina, cuando la CIM fue ≥ 16 μ g/mL y a teicoplanina, ≥ 32 μ g/mL.

Detección de hetero-resistencia a vancomicina en cepas SAOR mediante el método de GRD E-test[®]: siguiendo los lineamientos del CLSI (8), de acuerdo a los cuales, el método del disco no es confiable para la determinación de la susceptibilidad a vancomicina en *S. aureus*, debido a que falla en detectar cepas con hetero-resistencia a glicopéptidos (cepas VISA o GISA), se procedió a determinar la CIM a vancomicina y teicoplanina mediante el método de GRD E-test[®], a todas las cepas SAOR, utilizando en este caso agar MH enriquecido con 5% de sangre. Para esto se preparó, a partir de un cultivo puro en agar sangre de 24 horas, una suspensión de colonias en caldo infusión cerebro co-

razón (BHI) con turbidez similar al estándar 0,5 de McFarland. Con esta suspensión se procedió a repetir la determinación de la CIM como se explicó anteriormente. Las placas se incubaron a 35°C por 18-24 horas (primera lectura) hasta 48 horas (segunda lectura). Los criterios de interpretación utilizados fueron los establecidos por el fabricante:

GRD+ (GISA ó hGISA): Vancomicina o Teicoplanina ≥ 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$

- **GISA:** GRD+ CIM estándar a Vancomicina ≥ 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- **hGISA:** GRD+ CIM estándar a Vancomicina < 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10)

Se utilizó como control negativo, la cepa de *S. aureus* ATCC® 29213 con valores de CIM a vancomicina (24/48 horas) de 0,50 a 2,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y de teicoplanina de 0,50 a 4 $\mu\text{g}/\text{m}$.

Agar screening a vancomicina: se realizó inoculando la cepa SAOR de prueba en agar-infusión de cerebro y corazón (BHI) suplementado con 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de vancomicina (Sigma®). Se utilizó un inóculo preparado por resuspensión directa de colonias, equivalente al patrón 0,5 de McFarland y se utilizó una micro-pipeta para depositar 10 μL en la superficie del agar. Se incubó la placa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aerobiosis durante 24 horas y se examinó detenidamente para detectar la presencia de colonias pequeñas (>1 colonia) o una película de crecimiento, que indicaba una sensibilidad disminuida a la vancomicina.

Agar screening a teicoplanina: esta prueba se realizó siguiendo las recomendaciones del comité de antibiogramas de la sociedad francesa de microbiología (CA-SFM) (11), para lo cual se tomó la cepa SAOR de prueba y se inoculó un medio MH con 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de teicoplanina (Sigma); procediendo de igual forma que para la vancomicina, ya descrita previamente.

Detección del gen *vanA* por PCR:

la investigación del gen *vanA* determinante de la resistencia a vancomicina, se realizó en 100 μL de mezcla de reacción conteniendo buffer de PCR 1X (10mM Tris-HCl (pH 9,0); 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl_2 ; 0,1% Tritón X-100; 0,2 mg de albúmina bovina sérica por mililitro), 50 μM de cada desoxinucleótido-trifosfato, 40 pmol de los primers para la detección del gen *vanA* 5'-GGG AAA ACG ACA ATT GC y GTA CAA TGC CGG CCG TTA-3' y 2 U de Taq polimerasa (Promega®) (10). La amplificación se realizó con el siguiente perfil de ciclos térmicos: 3 minutos a 94°C y 30 ciclos de amplificación consistentes de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 54°C y 1 minuto a 72°C, con 7 minutos a 72°C para la extensión final. Los fragmentos de ADN se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y buffer Tris-Borato-EDTA 0,5X, el gel se coloreó con bromuro de etidio (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (11).

Resultados

Se obtuvo un total de 269 cultivos positivos para *S. aureus*, 105 (39,03%) resultaron sensibles a oxacilina (SAOS) y 164 (60,97%), resistentes (SAOR), de los cuales, se tomaron al azar 80 cepas, que representan el 48,78% de las cepas obtenidas.

Todas las cepas probadas (n=80) fueron resistentes a oxacilina por difusión del disco, también lo fueron al agar screening test, la producción de PPB2a y el gen *mecA*. De igual manera, todas resultaron sensibles a teicoplanina en el antibiograma, con zonas de inhibición entre 15-24 mm.

La distribución de las cepas en relación a la CIM estándar para vancomicina se muestra en el Gráfico 1; con un rango entre 0,38 y 1,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$; una CIM₅₀ y CIM₉₀ de 1,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Tabla 1).

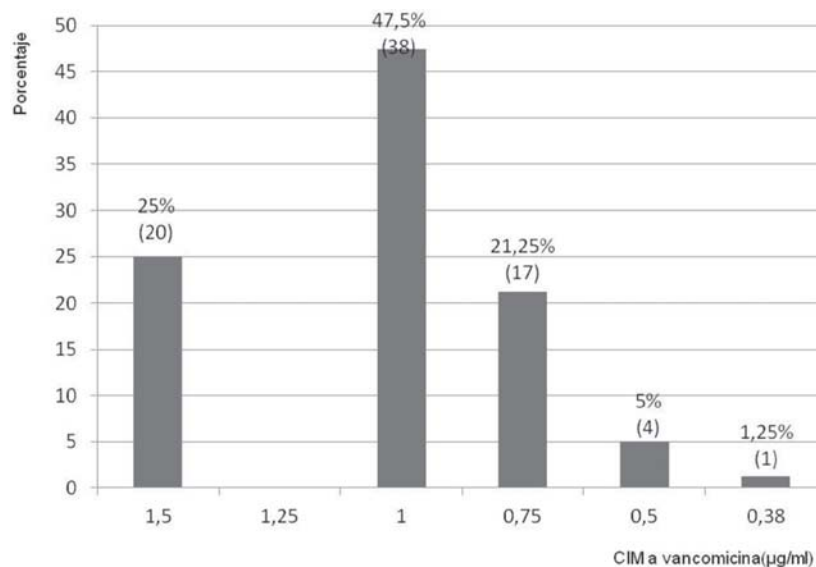


Gráfico 1. SAOR: Distribución de la CIM a Vancomicina mediante E-test®. Maracaibo; Enero-Marzo 2010 (n=80).

Tabla 1. SAOR: CIM a glicopéptidos mediante E-test®. Maracaibo; Enero-Marzo 2010 (n=80).

Antibiótico	Rango (µg/mL)	CIM ₅₀ (µg/mL)	CIM ₉₀ (µg/mL)
Vancomicina	0,38-1,50	1,00	1,00
Teicoplanina	0,38-2,00	1,00	1,00

Por su parte, para teicoplanina, el rango de CIM observado fue de 0,38 a 2,00 µg/mL, con una CIM₅₀ y CIM₉₀ de 1,00 µg/mL (Tabla 1). La distribución de las cepas en base a la CIM a teicoplanina se muestra en el Gráfico 2.

Ninguna de las cepas SAOR probadas resultó positiva en el método de screening de resistencia a vancomicina y teicoplanina (Figuras 1 y 2).

De igual manera, ninguna cepa cumplió con los criterios de positividad para cepas hVISA establecidos por el método de GRD-E-test® (Figura 3). Los valores de CIM a vancomicina/CIM a teicoplanina expresados en µg/mL aparecen discriminados en el Gráfico 3.

La investigación genotípica de la resistencia a vancomicina y/o teicoplanina, por el

método de PCR, también resultó negativa; ninguna cepa resultó portadora del gen *vanA*.

Discusión

La vancomicina todavía se utiliza ampliamente para el tratamiento de bacteriemia, así como otras infecciones menos graves por SAOR; a pesar que el fracaso del tratamiento con este antibiótico no es infrecuente, incluso cuando las cepas aparecen totalmente susceptibles según los criterios del CLSI (7). Se ha informado una reducción en la eficacia de la vancomicina contra cepas SAOR con CIMs a vancomicina elevadas (de 1 a 2 µg/mL), lo que sugiere que modestas elevaciones en las CIMs pueden explicar algunos resultados clínicos sub-óptimos (13-15).

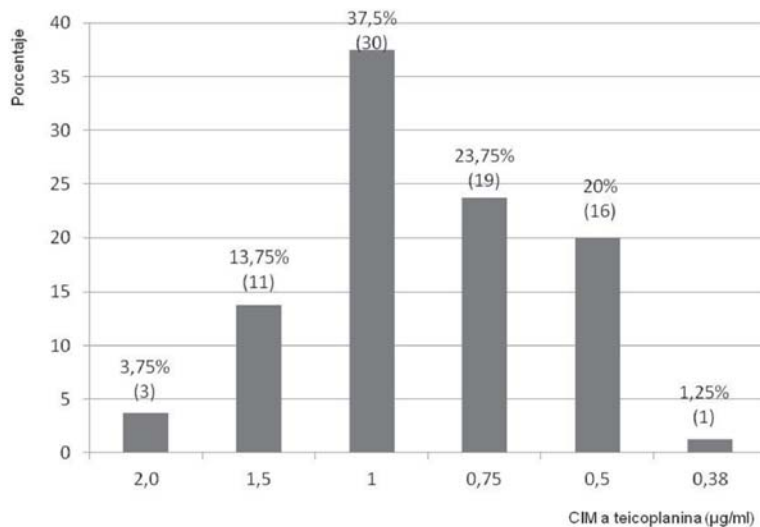


Gráfico 2. SAOR: Distribución de la CIM a Teicoplanina mediante E-test®. Maracaibo; Enero-Marzo 2010 (n=80).



Figura 1. SAOR: Screening de resistencia a Vancomicina. Prueba Negativa.

La gran mayoría de los laboratorios clínicos utiliza el método de difusión del disco en agar y, una clara minoría, utiliza sistemas automatizados para la determinación rutinaria de la susceptibilidad antimicrobiana. Sin embargo, estos métodos fallan en la detección precoz de cepas VISA o h-VISA (13, 16). Además, ha habido un creciente número de informes que muestran discrepancias entre los resultados de las pruebas de susceptibili-



Figura 2. SAOR: Screening de resistencia a Teicoplanina. Prueba Negativa.

dad a vancomicina *in vitro* y los resultados clínicos de las infecciones por SAOR tratadas con este antibiótico (13, 17, 18). En consecuencia, muchos laboratorios solicitan la determinación de CIMs exactas mediante métodos de referencia o métodos alternativos, como el E-test® (Biodisk AB, Solna, Suecia) (13).

Desde su aparición, la prevalencia de hVISA se ha comunicado en todo el mundo,

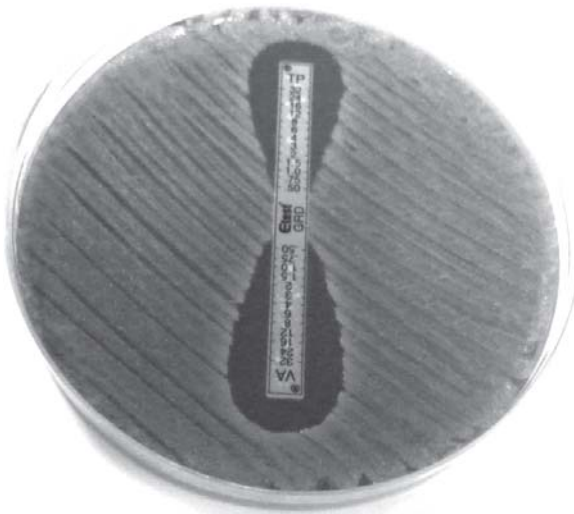


Figura 3. SAOR: Determinación de la Susceptibilidad a Glicopéptidos mediante GDR-E-test®. Maracaibo; Enero-Marzo 2010 (n=80). Prueba Negativa

por ejemplo, en Francia (0,70%); Australia (9,40%); Estados Unidos de América (0,30 a 2,30%); y varios países asiáticos, incluyendo Japón (1,30% a 20%), India (6,33%), Corea del Sur (6,10%), Singapur (2,30%) y China (13,50%) (21-25).

El hallazgo de cepas VISA tiene importantes implicaciones clínicas para la terapéutica de las infecciones producidas por este microorganismo. Se ha descrito que los β -lactámicos (imipenem), pueden incrementar la prevalencia de cepas SAOR homo-resistentes e inducir, la aparición de h-VISA (19). Sin embargo; este fenómeno, parece no influir en los resultados aquí presentados; ya que no se detectó resistencia heterogénea a vancomicina; a pesar de ser un antibiótico de uso común en la institución. A diferencia de los reportes de Oozthiuzen y cols. (1) quienes refieren 67,90% de cepas h-VISA en un hospital de Sudáfrica.

A pesar que existe una preocupación creciente en relación a la disminución de la actividad de la vancomicina frente a cepas SAOR, hay datos clínicos limitados, por no decir, inexistentes, para apoyar esta afirmación; particularmente, en Latino América, y en especial, en Venezuela. Desde el punto de vista epidemiológico, existen factores importantes a tener en cuenta en relación a las cepas VISA o h-VISA; por un lado, el uso indiscriminado de los glicopéptidos y por otro

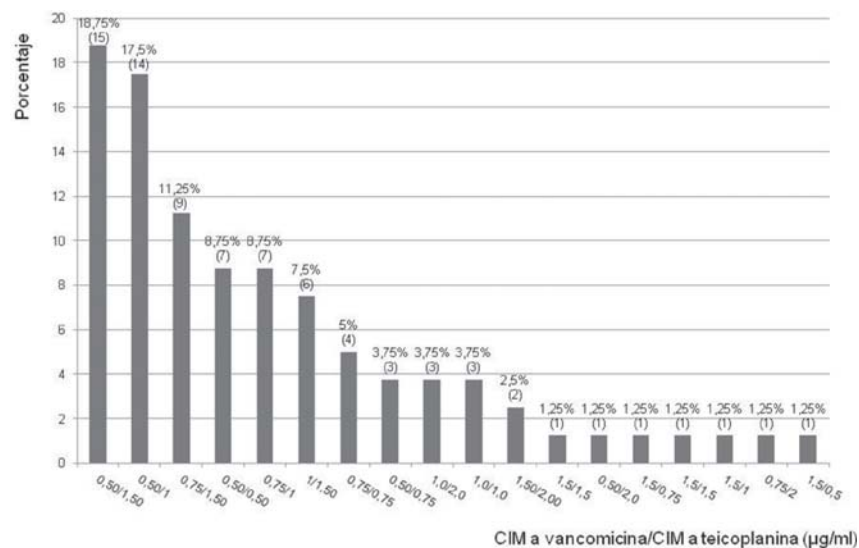


Gráfico 3. SAOR: Distribución de los Resultados del GRD-E-test® (CIM Va/CIM TEC). Maracaibo; Enero-Marzo 2010 (n=80).

lado, la falta de métodos estandarizados para su detección eficaz (26).

Las cepas h-VISA son consideradas como precursoras de las VISA, lo cual ha sido comprobado gracias a las fallas terapéuticas asociadas con estas dos entidades (1). Actualmente, el método *gold standard* para su confirmación es el PAP-AUC, el cual resulta laborioso y no puede ser ejecutado de forma rutinaria en Suramérica, razón por la cual, el GRD E-test[®], se muestra como una alternativa fácil de realizar, sencilla y, de acuerdo a los estudios comparativos realizados, razonablemente sensible (1, 5).

En esta investigación, no se obtuvo ninguna cepa con resistencia intermedia a glicopéptidos, lo cual trae discrepancia al comparar estos resultados con otros estudios realizados fuera del país, donde si han obtenido este tipo de resistencia en cepas SAOR, esto provoca una serie de interrogantes: ¿las metodologías utilizadas son las adecuadas?, ¿el personal está capacitado para la identificación de este tipo de microorganismos?, ¿las cepas de la localidad aún no han experimentado cambios en su estructura que las haga resistentes a estos antibióticos?, ¿las diferentes condiciones socioeconómicas o ambientales entre las poblaciones del mundo hacen que los resultados sean discrepantes? Los profesionales de la salud son los encargados de responder todas estas preguntas a través de estudios como éste.

El método de difusión en agar ha probado ser insensible en la detección de las cepas VISA y h-VISA, por lo que sus resultados no son confiables (1), razón por la cual en el antibiograma se probó únicamente teicoplanina y no, vancomicina.

El método de screening es simple de realizar e interpretar (1, 2) correlacionándose bien con los resultados obtenidos con los otros métodos probados.

Los valores de CIM estándar a vancomicina encontrados en las cepas SAOR estudiadas difieren de los informados por Lodise y cols. (26) en Estados Unidos de América, quienes refieren un predominio de cepas con CIM de 1,5 µg/ mL (71,74%; 66/92); mientras que en la presente investigación, la CIM más frecuentemente reportada fue ligeramente inferior (1,00 µgmL) en 47,50% de las cepas (38). Una posible explicación a la menor CIM detectada puede referirse a la sustitución de la vancomicina como tratamiento alternativo en las infecciones por SAOR, por otros agentes anti-SAMR, tales como: linezolid, daptomicina, tigeciclina e incluso, rifampicina (1, 19).

La CIM₅₀ y CIM₉₀ encontrada para vancomicina fue de 1,00 µgm/mL, valores similares a los reportados por Steinkarus y cols. (27); quienes informan iguales valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ para este antibiótico en cepas SAOR aisladas en Estados Unidos de América entre los años 2000 y 2005.

Para teicoplanina, los valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ encontrados (1,00 µg/mL para cada uno) son ligeramente menores a los manifestados por Pasticci y cols. (28) en Italia; debido posiblemente, a que este antibiótico no se utiliza en la localidad, tan ampliamente como la vancomicina.

Confirmando los reportes de Fitzgibbon y cols. (29) no se detectó ningún aislado SAOR intermedio a la vancomicina (GISA); sin embargo, estos autores refieren que 5,8% de los pacientes (172 de 2.990) expresó el fenotipo hGISA; aunque tal vez, esta diferencia se deba a una mayor sensibilidad del método utilizado para su detección.

Debido a la incapacidad de los métodos de ensayo de susceptibilidad antimicrobiana rutinaria para detectar cepas hVISA y VISA, existe la falsa percepción de que la incidencia de estas cepas es rara (30). Walshy cols. (5)

han recomendado el método de E-test® estándar para detectar las VISA y el macro-método de E-test® con un inóculo estandarizado con el tubo 2,0 de McFarland y 48 h de incubación en agar BHI para detectar las cepas hVISA.

La resistencia de alto nivel a vancomicina, mediada por el operón *vanA* es característica de los enterococos; sin embargo, a nivel mundial, se han reportado pocos casos de infecciones por estas cepas (31), razón por la cual, su potencial aparición es de gran preocupación para los clínicos; ya que los estafilococos coagulasa positiva y negativa, así como los enterococos, comparten naturalmente, nichos ecológicos en el intestino humano, motivo por lo cual es lógico pensar que pudiesen actuar como reservorio y, esta resistencia se transfiera en forma horizontal y se disemine ampliamente, representando un verdadero reto terapéutico. Afortunadamente, con los resultados aquí obtenidos se demuestra que las cepas SAOR estudiadas no han desarrollado resistencia hacia los glicopéptidos; los cuales son considerados el tratamiento de elección para las infecciones producidas por este tipo de microorganismos.

Conclusiones

En la localidad, no existe incidencia de cepas SAOR resistentes a los glicopéptidos, por lo que estos antibióticos continúan siendo de utilidad en la terapéutica de las infecciones producidas por este importante patógeno.

Recomendaciones

Es de suma importancia no descuidar la vigilancia epidemiológica, ya que en otros países ya se ha observado resistencia hacia

los glicopéptidos, lo cual se convertiría en un problema de salud pública.

Se deben implementar estrategias rigurosas de monitorización para detectar y tratar rápidamente nuevos aislamientos, aplicar medidas adecuadas de barrera para evitar la diseminación, e insistir incansablemente en el uso prudente de los antimicrobianos.

Referencias bibliográficas

- (1) Oosthuizen D; Walsh T; Weldhagen G. Detection of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in a south African teaching hospital. *South Afr J Epidemiol Infect* 2005; 20(4):127-129.
- (2) Hiramatsu K; Hanaki K; Ino T; Yabuta K; Oguri T; Tenover F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40:135-136.
- (3) Castellano M; Perozo A. Mecanismos de resistencia a glicopéptidos en *Staphylococcus aureus*. *Kasmera* 2010; 38(1):36-44.
- (4) Sievert D; Rudrik J; Patel J; McDonald L; Wilkins M; Hageman J. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002-2006. *Clin Infect Dis* 2008; 46(5):668-674.
- (5) Walsh T; Bolmström A; Qwörnström A; Ho P; Wootton M; Howe R. *et al.* Evaluation of current methods for detection of Staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(7): 2439-2444.
- (6) García S; Acevedo C; Bennani A. Técnicas para la detección de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en el laboratorio de microbiología clínica. Murcia, España. *Asociación Española de Farmacéuticos Analistas* 2005; 3:74-77.
- (7) CLSI (Clinical Laboratory Standardization Institute). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twentieth Informational Supplement M100-S20. CLSI, editor. 19th[29], 1-156. 2010. USA.
- (8) Martineau F, Picard F, Lansac N, Menard C, Roy P, Ouellette M, *et al.* Correlation be-

- tween the Resistance Genotype Determined by Multiplex PCR Assays and the Antibiotic Susceptibility Patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(2): 231-238.
- (9) Yusof, A; Engelhardt, A; Karlsson, A; Bylund, L; Vidh, P; Mills, K; Wooton, M; Walsh, T. 2008. Evaluation of a new E-test Vancomycin-teicoplanin strip for detection of glycopeptides-intermediate *Staphylococcus aureus* (GISA), in particular, heterogeneous GISA. United Kingdom. *J Clin Microbiol*. 46: 3042-3047.
- (10) Maor, Y; Rahav, G; Belausov, N, Ben-David, D; Smollan, G; Keller, N. Prevalence and characteristics of heteroresistant Vancomycin- Intermediate *Staphylococcus aureus* Bacteremia in a tertiary care center. Tel Hashomer, Israel. *J Clin Microbiol*; 2007;45:1511-1514.
- (11) Soussy, CJ; Carret, G; Cavallo JD Comité de antibiogramas de la Sociedad Francesa de Microbiología (CA-SFM). Francia. *Path Biol*. 2001; 48: 832-871.
- (12) Depardieu, F; Perichon, B; Courvalin, P. Detection of the van alphabet and identification of Enterococci and Staphylococci at the species level by multiplex PCR. Paris, Francia. *J Clin Microbiol* 2004; 42:5857-5860.
- (13) Sader H; Rhomberg P; Jones R. Nine-Hospital study comparing broth microdilution and E-test method results for vancomycin and daptomycin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents and Chemother* 2009; 53(7): 3162-3165.
- (14) Neoh H; Hori S; Komatsu M; Oguri T; Takeuchi F; Cui L. *et al.* and K. Hiramatsu. Impact of reduced vancomycin susceptibility on the therapeutic outcome of MRSA bloodstream infections. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2007; 6:13.
- (15) Soriano A; Marco F; Martinez J; Pisos M; Almela V; Dimova P. *et al.* Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46:193-200.
- (16) Jones R. Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42(Suppl. 1):S13-S24.
- (17) Hsu D; Hidayat k; Quist R; Hindler H; Karlsson A; Yusof A. *et al.* Comparison of method-specific vancomycin minimum inhibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2008; 32:378-385.
- (18) Sakoulas G; Moise-Broder P; Schentag J; Forrest A; Moellering R; Eliopoulos G. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42:2398-2402.
- (19) Hiramatsu K. Vancomycin resistance in Staphylococci. *Drug Resist Updates* 1998; 1:135-150.
- (20) Charles P; Ward P; Johnson P; Howden B; Grayson M.. Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2004; 38:448-451.
- (21) Chi C; Lauderdale T; Wang S; Wu J; Yang G; Liu C. Health care-associated endocarditis caused by *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *J. Clin. Microbiol* 2008; 46:810-813.
- (22) Howden B; Johnson P; Ward P; Stinear T; Davies J.. Isolates with low-level vancomycin resistance associated with persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50:3039-3047.
- (23) Rybak M; Leonard S; Rossi K; Cheung C; Sader H; Jones R. Characterization of vancomycin-hetero resistant *Staphylococcus aureus* from the metropolitan area of Detroit, Michigan, over a 22-year period (1986 to 2007). *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46:2950-2954.
- (24) Song J; Hiramatsu K; Suh J; Ko J; Ito T; Kapi M. *et al.* Emergence in Asian countries

- of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob. Agents Chemother* 2004; 48:4926-4928.
- (25) Wenjia S; Hongbin Ch; Yudong L; Chunjiang Z; Wright N; Minjun Ch. *et al.* Prevalence and Characterization of Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* Isolates from 14 Cities in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(9):3642-3649.
- (26) Lodise T; Graves; Evans A; Graffunder E; Helmecke M; Lomaestro B. *et al.* Relationship between Vancomycin MIC and failure among patients with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. *Antimicrob Agents and Chemother* 2008; 52(9):3315-3320.
- (27) Steinkraus G; White R; Friedrich L. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) blood isolates from 2001-05. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:788-794.
- (28) Pasticci M; Moretti A; Stagni G; Ravasio V; Soavi L; Raglio A. *et al.* Bactericidal activity of oxacillin and glycopeptides against *Staphylococcus aureus* in patients with endocarditis: Looking for a relationship between tolerance and outcome. *Ann Clin Microb Antimicrob* 2011; 10:26.
- (29) Fitzgibbon M; Rossney A; O'Connell B. Investigation of Reduced Susceptibility to Glycopeptides among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Patients in Ireland and Evaluation of Agar Screening Methods for Detection of Heterogeneously Glycopeptide-Intermediate *S. aureus*. *J Clin Microbiol* 2007; 45(10): 3263-3269.
- (30) Kosowska-Shick K; Ednie L; McGhee P; Smith K; Todd C; Wehler A. *et al.* Incidence and Characteristics of Vancomycin Non susceptible Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at Hershey Medical Center. *Antimicrobial Agents Chemother* 2008; 52(12):4510-4513.
- (31) Infectious Diseases Society of America. 11th VRSA case Identified in US, CDC Urges Awareness. *IDSA News* May 2010. Fecha de acceso: 05-01-2011. Disponible en: news.idsociety.org/idsa/issues/201-05-01/1.html.