

# Enterococos resistentes a vancomicina: prevalencia y factores asociados a la colonización intestinal en pacientes oncológicos del Hospital de Niños de Córdoba

A. L. REALE<sup>1\*</sup>, M. L. DEPETRI<sup>3</sup>, C. CULASSO<sup>1</sup>, M. PAVIOLO<sup>3</sup>, M. L. CHEGUIRIÁN<sup>1</sup>,  
M. C. ENRICO<sup>1</sup>, E. M. LEDESMA<sup>1</sup>, C. VIDAL<sup>1</sup>, E. GLATSTEIN<sup>2</sup>; L. BERTONI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bacteriología; <sup>2</sup>Servicio de Infectología y <sup>3</sup>Residencia de Clínica Pediátrica;  
Hospital de Niños de la Santísima Trinidad, Córdoba. Bajada Pucará 450 (5000) Córdoba, Argentina.

\*Correspondencia. E-mail: liareale3@hotmail.com

## RESUMEN

Los enterococos resistentes a vancomicina (EVR) tienen un importante impacto sobre la población pediátrica oncológica. Los objetivos del presente estudio fueron conocer la prevalencia de colonización intestinal por EVR en pacientes oncológicos, identificar los factores de riesgo que predisponen a la colonización durante la hospitalización y determinar el perfil de resistencia de los EVR a diferentes agentes antimicrobianos. Se estudiaron todos los niños de entre un mes y 16 años de edad con enfermedad oncológica que ingresaron en el protocolo, de los internados desde octubre de 2006 hasta abril de 2007 en la Unidad de Oncohematología del Hospital de Niños la Santísima Trinidad de Córdoba (Argentina). Se investigó la colonización intestinal con EVR al ingreso, a las 72 h y semanalmente durante la internación. Se obtuvieron 333 muestras de 67 pacientes y se aislaron EVR de 12 pacientes, lo que arroja una prevalencia de 17,9%. De los 28 aislamientos estudiados (uno por paciente), 10 fueron *Enterococcus faecium* y 2 *Enterococcus faecalis*, ambos con fenotipo de resistencia VanA (CIM<sub>90</sub> 512 µg/ml a vancomicina y CIM<sub>90</sub> 256 µg/ml a teicoplanina). El uso de vancomicina ( $p=0,02$ ), la duración de la neutropenia mayor de 7 días ( $p=0,03$ ) y la internación prolongada (media 42,8 días) ( $p=0,0001$ ) fueron factores de riesgo asociados significativamente a la colonización con EVR. En función de estos resultados consideramos necesaria la vigilancia epidemiológica y la implementación de medidas de prevención y control.

**Palabras clave:** enterococo resistente a vancomicina, colonización, pacientes oncológicos

## ABSTRACT

**Vancomycin-resistant enterococci: prevalence and factors associated with intestinal colonization in oncology patients from Hospital de Niños de Córdoba.** Vancomycin-resistant enterococci (VRE) have an important impact on pediatric oncology population. The objectives of this study were: to know the prevalence of VRE intestinal colonization in oncology patients, to identify the risk factors that predispose hospitalized patients to VRE intestinal colonization, and to determine the VRE resistance profile to different antimicrobial agents. We studied all children with oncological disease aged 1 month to 16 years that had joined the protocol and had been hospitalized from October 2006 to April 2007. VRE intestinal colonization was analyzed when the patient was admitted to hospital, 72 hours later, and weekly during hospitalization. A total of 333 samples were taken from 67 patients. From these, VRE were isolated in 12 patients, with a prevalence of 17.9%. Of the 28 isolates studied, taking one per patient, 10 were *Enterococcus faecium* and 2 *Enterococcus faecalis*, both with resistance phenotype VanA (CIM<sub>90</sub> 512 µg/ml to vancomycin and CIM<sub>90</sub> 256 µg/ml to teicoplanin). The use of vancomycin ( $p=0.02$ ), duration of neutropenia greater than 7 days ( $p=0.03$ ) and prolonged hospitalization (42.8 days on average) ( $p=0.0001$ ) were risk factors significantly related to VRE colonization. We considered it necessary to carry out an epidemiological surveillance and to implement prevention and control measures.

**Key words:** vancomycin-resistant enterococci, colonization, oncology patients

La emergencia de los enterococos resistentes a la vancomicina genera un desafío clínico-terapéutico tanto en los Estados Unidos y en Europa como en nuestros hospitales. Los factores que han contribuido a dicho fenómeno están vinculados a algunas características propias de este microorganismo, como su capacidad de sobrevivir en condiciones adversas en el medio ambiente y de transmitirse a través del personal de salud, así como

a su resistencia intrínseca a variados antibióticos, y también a cambios en las prácticas asistenciales, como la utilización indiscriminada de antibióticos y la concentración en los hospitales de pacientes cada vez más graves y con compromiso inmunológico (14).

Los factores que se asocian con mayor riesgo de colonización con enterococos resistentes a vancomicina (EVR) son la exposición al ambiente hospitalario, la per-

manencia en unidades de cuidados intensivos, la presencia de patología oncohematológica y quirúrgica, la condición de receptor de trasplante, la insuficiencia renal en diálisis, las internaciones prolongadas, la inmunosupresión y el uso de catéteres endovenosos (3).

El creciente problema de la resistencia a los antibióticos en estos microorganismos tiene un importante impacto sobre la población pediátrica oncológica, ya que limita las opciones terapéuticas. Esto puede empeorar el pronóstico del paciente y producir un significativo aumento en el costo de los tratamientos. La mayoría de los pacientes colonizados son asintomáticos con riesgo de infectarse en el período de neutropenia y representan el principal reservorio de estos microorganismos (6, 8).

Los objetivos del presente estudio fueron: a) conocer la prevalencia de la colonización intestinal por EVR en pacientes oncológicos pediátricos internados, b) identificar los factores de riesgo que predisponen a la colonización durante la hospitalización y c) determinar el perfil de resistencia de los EVR aislados a diferentes agentes antimicrobianos.

Se estudiaron 67 niños con enfermedad oncológica de entre 1 mes y 16 años de edad; admitidos en la Unidad de Oncohematología del Hospital de Niños de la Santísima Trinidad (Córdoba, Argentina) desde el 1° de octubre de 2006 hasta el 1° de abril de 2007. Los pacientes fueron incluidos en el protocolo de estudio al momento del ingreso al hospital bajo el consentimiento informado de un familiar y se les realizó el seguimiento hasta el alta.

El diseño del estudio fue observacional, descriptivo, prospectivo y analítico.

Se completaron las fichas de cada paciente con los siguientes datos: edad, sexo, patología de base (tumores sólidos o leucemias), neutropenia grave ( $< 500$  neutrófilos/mm<sup>3</sup>), tiempo de internación (7 a 14 días, 15 a 30 días, más de 30 días), hospitalizaciones previas, tratamientos antibióticos recibidos antes de la internación y durante esta (vancomicina, ceftacídima, ciprofloxacina, metronidazol y meropenem), tratamientos inmunosupresores, tratamientos con corticoides y uso de catéteres endovenosos (implantables, semiimplantables). Los datos de neutropenia grave y tiempo de internación se evaluaron sólo en los pacientes que no estaban colonizados al ingreso al hospital.

Se tomaron muestras de hisopado anal o coprocultivo (en caso de pacientes neutropénicos) dentro de las 24 horas del ingreso, a las 72 horas y una vez por semana durante la internación, independientemente del resultado del cultivo.

Las muestras se suspendieron en 1 ml de solución fisiológica y se agitaron con vórtex durante 1 minuto. Alícuotas de 50  $\mu$ l se sembraron en media placa de agar bilis esculina/azida (Britania, Argentina) con el agregado de 6  $\mu$ g/ml de vancomicina. Las placas fueron incubadas a 37 °C en atmósfera normal durante 72 horas. Como control positivo se usó *Enterococcus faecalis* ATCC 51299

y como control negativo *E. faecalis* ATCC 29212. Las colonias sospechosas (negras) con morfología de cocos gram-positivos en cadenas se identificaron a través del siguiente esquema: catalasa, pirrolidoniil-aridamidasasa (PYR), bilis-esculina, desarrollo en caldo con 6,5% NaCl. La identificación de los aislamientos compatibles con enterococos a nivel de especie se realizó mediante métodos convencionales (7).

Las pruebas de sensibilidad se realizaron por el método de difusión con discos según las recomendaciones del CLSI (4). Los antibióticos ensayados fueron: vancomicina (30  $\mu$ g) (Britania), teicoplanina (30  $\mu$ g) (Britania), gentamicina (120  $\mu$ g) (Britania), estreptomina (300  $\mu$ g) (Britania), ampicilina (10  $\mu$ g) (Britania), rifampicina (5  $\mu$ g) (Britania), cloranfenicol (30  $\mu$ g) (Britania), tetraciclina (30  $\mu$ g) (Britania), linezolid (30  $\mu$ g) (Rosco), minociclina (30  $\mu$ g) (Britania) y tigeciclina (15  $\mu$ g) (Oxoid). Se determinó la concentración inhibitoria mínima a vancomicina y a teicoplanina por el método de dilución en agar según las recomendaciones del CLSI (4). Se incluyeron las cepas de referencia *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* ATCC 51299 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Para comparar los grupos de pacientes colonizados y no colonizados, se analizaron las variables cualitativas con la prueba de Chi cuadrado o el test de Fisher, según correspondiera, y las cuantitativas mediante el test *t* de Student. La significación estadística se evaluó para un  $p < 0,05$ .

Durante el período de estudio se obtuvieron 333 muestras de 67 pacientes y se aislaron EVR de 12 pacientes, lo que implica una prevalencia de 17,9%. El análisis se realizó considerando el primer aislamiento de cada paciente debido a que en ningún caso hubo variación en el antibiograma. De estos aislamientos, 10 (83,3%) fueron *Enterococcus faecium* y 2 (16,7%) *E. faecalis*. En 15 pacientes se aisló *Enterococcus gallinarum*; estos no fueron considerados portadores de EVR en nuestro análisis por presentar bajo nivel de resistencia a vancomicina, compatible con el fenotipo VanC.

De los 12 pacientes colonizados, 6 presentaron el primer cultivo positivo después de las 72 horas de internación, lo que confirma la adquisición intrahospitalaria. Los 6 pacientes restantes tuvieron cultivos positivos al ingreso, todos ellos habían tenido internaciones previas.

Al relacionar las variables analizadas con la colonización por EVR, se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 1. Se advierte que la edad de los pacientes varió entre 1 y 16 años, con una media de 8,58 años para los colonizados y de 8,24 para los no colonizados. Con respecto al sexo, no hubo diferencia significativa entre ambos grupos.

En relación con la duración de la neutropenia, cuando esta fue mayor de una semana resultó ser un factor de riesgo para la colonización ( $p=0,03$ ); no así cuando su duración fue de 3 días ( $p=0,17$ ).

Con respecto a los antibióticos utilizados, se observó que sólo el uso de vancomicina fue estadísticamente sig-

nificativo al comparar los dos grupos de pacientes ( $p=0,02$ ).

Considerando el tiempo de internación (7 a 14 días; 15 a 30 días y mayor de 30 días), no se observó diferencia estadísticamente significativa. Al incluir en el análisis los días de internaciones previas que afrontaron los pacientes más el tiempo de la internación actual (tiempo total de internación dentro del periodo de estudio), sí se obtuvo una diferencia significativa: los pacientes colonizados estuvieron internados de 6 a 71 días (media 42,8) y los no colonizados de 1 a 100 días (media 19,6) ( $p=0,0001$ ; RR=10,1-36,3; IC= 0,0001).

Como muestra la Tabla 1, no hubo diferencias con respecto a las patologías presentes (tumor sólido y leucemia), al uso de catéter endovenoso (implantable o semiimplantable) ni al uso de corticoides o inmunosupresores.

Se analizaron los aislamientos de 12 pacientes para los estudios fenotípicos, 10 de *E. faecium* y 2 de *E. faecalis*. Todos fueron resistentes a la vancomicina (CIM<sub>90</sub> 512 µg/ml) y a la teicoplanina (CIM<sub>90</sub> 256 µg/ml) y presentaron el fenotipo VanA. Con respecto a los demás antibióticos, los aislamientos de *E. faecium* resistentes a vancomicina presentaron el siguiente perfil de resistencia: ampicilina (100%), gentamicina de alta carga (60%), estreptomina de alta carga (80%), rifampicina (30%), cloranfenicol (10%), tetraciclina (10%), y ninguno fue resistente a linezolid, minociclina y tigeciclina. Las 2 cepas de *E. faecalis* resistentes a vancomicina mostraron resistencia a tetraciclina y a rifampicina, mientras que fueron sensibles a los demás antibióticos ensayados.

Todas las cepas de *E. gallinarum* presentaron bajo nivel de resistencia a vancomicina (CIM<sub>90</sub> 4 µg/ml) y sen-

**Tabla 1.** Análisis de los posibles factores de riesgo asociados a la colonización intestinal por enterococos resistentes a la vancomicina en pacientes oncológicos pediátricos.

Variable	Colonizados N=12 (18%)	No colonizados N= 55 (82%)	Valor <i>p</i>	IC	RR
Edad (años)					
Promedio	8,58	8,24	0,80	(-2,4 -3,13)	
Sexo					
Femenino	3	22	0,26	0,53-5,98	1,79
Masculino	9	33			
Neutropenia					
A las 72 horas	1	9	0,17		
A los 7 días	2	9	0,034		
Patología					
Tumor Sólido	3	30	0,12	0,10-1,16	0,34
Leucemia	9	25	0,12	0,86-9,82	2,91
Internación previa	9	47	0,3	0,19-1,83	0,59
Antibióticos					
Vancomicina	10	23	0,02	1,22-21,76	5,15
Ceftacidima	10	47	0,07	0,22 -3,42	0,88
Ciprofloxacina	5	11	0,11	0,84-6,19	2,28
Metronidazol	4	8	0,13	0,82-6,39	2,29
Meropenem	4	9	0,17	0,74-5,85	2,08
Catéter					
Implantable	7	21	0,31	0,44-7,92	1,88
Semiimplantable	2	13	0,31	0,13-2,25	0,53
Uso inmunosupresores	12	49	0,58		
Uso corticoides	11	49	0,79	0,19-8,51	1,28
Tiempo internación					
7-14 días	2	17	0,12	0,22-5,52	1,11
15-30 días	2	9	0,22	0,47-10,89	2,27
> 30 días	2	6	0,82	0,72-15,24	3,31
Tiempo total de internación <sup>(1) (2)</sup>	6	32	0,001	1,01-36,3	

IC: intervalo de confianza, RR: riesgo relativo.

<sup>(1)</sup> Se incluyen todas las internaciones del paciente dentro del periodo de estudio

<sup>(2)</sup> Los pacientes colonizados estuvieron internados de 6 a 71 días (media 42,8) y los no colonizados de 1 a 100 días (media 19,6).

sibilidad a teicoplanina (CIM<sub>90</sub> 0,25 µg/ml), característica compatible con el fenotipo VanC.

Ninguno de los 12 pacientes ingresados en el estudio desarrolló enfermedad sistémica por EVR durante el período analizado.

En un estudio de colonización intestinal con bacterias resistentes realizado en el Hospital de Niños de Córdoba entre 1996 y 1999, se encontró una prevalencia de EVR de 14,4% en pacientes hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intermedios (UCI) y la Unidad de Terapia Intensiva (UTI) (1). En el año 2002 se aisló por primera vez en la institución una cepa de *E. faecium* VanA de un hemocultivo de un paciente pediátrico oncológico, quien además de su inmunosupresión tenía como factores de riesgo el tratamiento con múltiples antibióticos y una internación prolongada. Hasta la actualidad son 7 los aislamientos de *E. faecium* resistentes a la vancomicina del mismo fenotipo identificados en pacientes infectados. En el presente estudio evaluamos la colonización intestinal en pacientes oncológicos pediátricos y hallamos una prevalencia del 17,9%.

Los pacientes colonizados por *E. gallinarum* (22,4%; 15/67) no se incluyeron por presentar resistencia natural a bajos niveles de vancomicina y sensibilidad a teicoplanina por la presencia del gen *vanC1*, el cual no es transferible. Si bien esta especie es de aislamiento clínico poco frecuente, hay algunos estudios de portación de EVR que detectaron altas tasas de colonización por *E. gallinarum*, lo que confirma su transmisión clonal en servicios cerrados (12). Se publicaron varios trabajos donde se informan infecciones/colonizaciones por este microorganismo con resistencia adquirida (genotipo *vanA*), debido a que éstos tienen la capacidad de transferir por conjugación el material genético (5). Sin embargo, en nuestro estudio no aislamos ningún *E. gallinarum* con alto nivel de resistencia a glicopéptidos.

De los factores de riesgo analizados, sólo el uso de vancomicina y la duración de la neutropenia mayor de 7 días se asociaron con la colonización por EVR en forma estadísticamente significativa. Estos hallazgos son coincidentes con los resultados de Husni *et al.*, quienes publicaron en el año 2002 un estudio de casos y controles realizado en los Estados Unidos en donde sólo fueron significativos el uso de vancomicina oral y la neutropenia (<500/mm<sup>3</sup>) con duración mayor de una semana (9). Nourse *et al.* encontraron como factores de riesgo significativos en pacientes oncológicos pediátricos el tiempo de uso de antibióticos, el número de antibióticos utilizados y la duración de la neutropenia (11).

En nuestro estudio, al analizar el tiempo total de internación, los pacientes del grupo colonizados tuvieron internación más prolongada que los no colonizados, lo cual constituyó un factor de riesgo altamente significativo. Esto coincide en parte con lo descrito en otros estudios. Así por ejemplo, Furtado *et al.* determinaron que el tiempo de internación en UTI fue la única variable significativa

en un hospital de San Pablo (Brasil) en el período 2000-2001 (2); mientras que Suntharam *et al.* identificaron como factores de riesgo la estadía prolongada, la hospitalización previa en UTI y el uso de amicacina (13)

Por el contrario, en un estudio multicéntrico realizado entre 1995 y 1998 en los Países Bajos y que involucró 1112 pacientes de unidades de UCI, oncohematología y hemodiálisis, Van den Braak *et al.* encontraron baja prevalencia de colonización por EVR (1,4%) y no hallaron factores de riesgo asociados significativamente con la transmisión intrahospitalaria (15).

En 2006 Matar *et al.* notificaron que la infección por EVR en pacientes con cáncer ocurría en los períodos de neutropenia en aquellos que estaban colonizados con dicho microorganismo (10). Durante el período de vigilancia de nuestro estudio se aisló *E. faecium* del hemocultivo de un niño internado en la unidad de Oncohematología, que no ingresó en el protocolo por negarse a hacerlo; esta cepa presentó un antibiograma semejante a los EVR recuperados de la portación intestinal de los pacientes colonizados.

Si bien el número de pacientes estudiados fue bajo, los resultados expuestos muestran que la prevalencia de colonización intestinal por EVR en los pacientes oncológicos admitidos en la Unidad de Oncohematología del Hospital de Niños de Córdoba es alta. Los factores de riesgo asociados a la colonización durante la hospitalización fueron el uso de vancomicina, la duración de la neutropenia mayor de 7 días y la internación prolongada. De acuerdo con los hallazgos de nuestro estudio, consideramos necesaria la vigilancia epidemiológica y la implementación de medidas de prevención y control de la colonización intestinal de EVR en esta población de alto riesgo, así como el uso racional de vancomicina en todos los pacientes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Avaro A, Egea M, Sola C, Muñoz V, Barbon S, Bocco JL, *et al.* Colonización intestinal con *Enterococcus faecium* vancomicina resistentes (EfmVR). XVII Congreso Latinoamericano de Microbiología. X Congreso Argentino de Microbiología, 2004, Resumen A64, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
2. Campos Furtado GH, Martins ST, Machado AM, Wey SB, Medeiros EA. Prevalence and factors associated with rectal vancomycin-resistant enterococci colonization in two intensive care units in Sao Paulo, Brazil. *Braz J Infect Dis* 2005; 9: 1.
3. Cetinkaya Y., Falk P., Mayhall C. Vancomycin resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 686-707.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility testing; 16<sup>th</sup> informational supplement, 2006; M100-S18. Wayne, Pa, USA.
5. Corso A, Faccone D, Gagetti P, Togneri A, Lopardo H, Melano R, *et al.* First report of VanA *Enterococcus gallinarum* dissemination within an intensive care unit in Argentina. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 51-6.
6. Elting LS, Rubenstein EB, Rolston KVI, Bodey GP. Outcome

- of bacteremia in patients with cancer and neutropenia: observations from two decades of epidemiological and clinical trials. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 247-59.
7. Facklam RR, Sahm DF, Teixeira LM, *Enterococcus*. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D. C., ASM Press, 1999, p. 297-305.
  8. Henning KJ, De Lencastre H, Eagan J, Boone N, Brown A, Chung M, *et al*. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on a pediatric oncology ward: duration of stool shedding and incidence of clinical infection. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 848-54.
  9. Husni R, Hachem R, Hanna H, Raad I. Risk factors for vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) infection in colonized patients with cancer. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23: 102-3.
  10. Matar MJ, Tarrand J, Raad I, Rolston KV. Colonization and infection with vancomycin-resistant *Enterococcus* among patients with cancer. *Am J Infect Control* 2006; 34: 534-6.
  11. Nourse C, Murphy H, Byrne C, O'Meara A, Breatnach F, Kaufmann M, *et al*. Control of a nosocomial outbreak of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* in a pediatric oncology unit: risk factors for colonization. *Eur J Pediatric* 1998; 157: 20-7.
  12. Reid KC, Cockerill IF, Patel R. Clinical and Epidemiological features of *Enterococcus casseliflavus/flavescens* and *Enterococcus gallinarum* bacteremia: a report of 20 cases. *Clin Infect. Dis* 2001; 32: 1540-6.
  13. Suntharam N, Lankford MG, Trick WE, Peterson LR, Noskin GA. Risk factors for acquisition of vancomycin-resistant enterococci among hematology-oncology patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43: 183-8.
  14. Togneri AM, Corso A, González J, Lopardo H, Podestá LB, Gagetti P *et al*. Análisis clínico-epidemiológico de la portación intestinal de enterococos resistentes a vancomicina en una unidad de terapia intensiva. *Rev Argent Microbiol* 2005; 37: 26-33.
  15. Van den Braak N, Van Belkun A, Van Keuleum M, Vliegendorst J. Prevalence and determinants of fecal colonization with vancomycin resistant *Enterococcus* in hospitalized patients in The Netherlands. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 520-4.