



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA
CURSO DE ESPECIALIDAD EN INFECTOLOGÍA**

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DESENLACE DE
PACIENTES CON BACTEREMIA POR
ENTEROCOCCO FAECIUM VANCOMICINA
SENSIBLE VS VANCOMICINA RESISTENTE EN
PACIENTES HEMATO-ONCOLÓGICOS.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
SUBESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA**

PRESENTA:

DRA. CYNTHIA PAMELA ALATORRE FERNANDEZ

**DRA. PATRICIA VOLKOW FERNÁNDEZ
DIRECTOR DE TESIS**



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

“Características clínicas y desenlace de pacientes con bacteremia por *Enterococco faecium* Vancomicina sensible vs Vancomicina resistente en pacientes hemato-oncológicos”

COLABORADORES:

Investigador responsable: **Dra. Patricia Volkow Fernández.**

Investigador Principal: **Dra. Cynthia Pamela Alatorre Fernández.**

Investigador asociado: **Dra. Yolanda López Vidal.**

Investigador asociado: **Dra. Claudia Mayoral Terán**

INDICE

Glosario	4
Relación de tablas, gráficas y figuras	5
Resumen.....	6
Abstract	7
1. Introducción	8
2. Antecedentes	8
2.1. Microbiología del enterococco	8
2.2. Epidemiología del <i>Enterococco faecium</i> Resistente a Vancomicina	10
2.3. Primer caso de bacteremia por <i>Enterococco faecium</i> en el INCa.....	12
2.4. Epidemiología molecular del <i>Enterococco faecium</i> resistente a Vancomicina y mecanismos de virulencia	13
2.5. Mecanismos de resistencia de <i>Enterococco faecium</i>	15
2.6. Infección por enterococos en pacientes con cáncer	16
2.7. Bacteriemia por <i>Enterococco faecium</i>	16
2.8. Colonización del tracto gastrointestinal	17
2.9. Alteración de la microbiota.....	18
2.10. Daño a mucosa gastrointestinal.....	18
2.11. Translocación bacteriana	19
2.12. Bacteremia asociada a daño en la barrera mucosa	20
2.13. Tratamiento antibiótico para bacteremia por <i>EFmVR</i>	21
3. Justificación	22
4. Pregunta de Investigación	22
5. Objetivos	22
5.1. Objetivo General.....	22
5.2. Objetivos Secundarios	23
6. Material y Métodos.....	23
6.1. Tipo de estudio	23
6.2. Ubicación temporal y espacial	23
6.3. Criterios de selección.....	23
6.4. Universo de estudio	24
6.5. Métodos de laboratorio.....	24
6.6. Análisis estadístico.....	24
6.7. Descripción operativa del estudio	24
7. Resultados	26
8. Discusión	34
9. Conclusiones.....	40
10. Bibliografía	41

GLOSARIO

BLEE	Betalactamasa de espectro extendido
BCLADBM	Bacteremia confirmada por laboratorio asociada a daño de barrera mucosa
BSI	Blood Stream Infection
CC17	Complejo clonal 17
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CRISPR	Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas en intervalos regulares
EFm	<i>Enterococco faecium</i>
EFmVR	<i>Enterococco faecium</i> Vancomicina resistente
EFmVS	<i>Enterococco faecium</i> Vancomicina sensible
EICH	Enfermedad injerto contra huésped
FISH	Hibridación in situ por fluorescencia
HM	Hematologic malignancy
ICU	Intensive Care Unit
IN	Infección nosocomial
INCan	Instituto Nacional de Cancerología
LA	Leucemia Aguda
LLC	Leucemia Linfocítica Crónica
MALDI-TOF	Matrix assisted laser, desorption/ionization mass spectrometry - Time of flight
MDR	Multi drogo resistente
MIC	Concentración inhibitoria mínima
MLST	Mecanismo de secuenciación multilocus
MSCRAMMs	Componentes de la superficie bacteriana que reconocen las moléculas de adhesión de la matriz extracelular
NH	Neoplasia hematológica
NPT	Nutrición parenteral total
PBP	Proteína de unión a Penicilina
SAMR	<i>Staphylococco aureus</i> metilicina resistente
ST	Tipos de secuencias
TGI	Tracto gastrointestinal
TMO	Trasplante de médula ósea
Tx	Tratamiento
UCI	Unidad de cuidados intensivos
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
VR	Vancomicina resistente
VREFm	Vancomycin resistant <i>Enterococco faecium</i>
VS	Vancomicina sensible
VSEFm	Vancomycin susceptible <i>Enterococco faecium</i>

RELACIÓN DE TABLAS, GRÁFICAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes bacteremia.....	27
Tabla 2. Características clínicas y de laboratorio de la estancia hospitalaria.....	30
Tabla 3. Tratamiento previo y actual.....	31
Tabla 4. Mortalidad general y atribuible a bacteremia por <i>Enterococco faecium</i>	32

GRÁFICAS

Gráfica 1: Bacteremia por <i>E. faecium</i> de acuerdo al tipo de neoplasia.....	26
Gráfica 2. Casos de bacteremia por año de cultivo.....	28
Gráfica 3. Distribución de los aislamientos de acuerdo al tipo de Quimioterapia recibida.....	29

FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de aislamientos de <i>Enterococco faecium</i> Vancomicina Resistentes en diferentes países.....	11
Figura 2. Evolución epidemiológica del <i>Enterococco faecium</i>	12
Figura 3. Patrón electroforético para la identificación molecular de <i>Enterococcus faecium</i> mediante PCR en gel de agarosa al 1.5% con 100 V.....	32
Figura 4: Presencia del gen de resistencia vanA R amplificado por PCR.....	33

RESUMEN

Introducción: *Enterococcus faecium* (*EFm*) ha emergido como un agente patógeno en pacientes con neoplasias hematológicas (NH), principalmente como causante de bacteremia nosocomial. El primer aislamiento de *EFm* Vancomicina Resistente (*EFmVR*) en el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) fue en el 2008. Se trató de un caso de bacteremia por *EFmVR* en una paciente con Leucemia Linfoblástica Aguda proveniente de EUA, hospitalizada en el área de Hemato-oncología. En 2009 aumentan los casos de *EFm* en esta área y a partir del 2010 inició un brote por *EFmVR* alcanzando un pico en 2011. En abril del 2012 se establecieron medidas preventivas con lo cual disminuyeron los casos.

Objetivo: Describir las características clínicas, factores de riesgo y desenlace de pacientes hemato-oncológicos con bacteremia por *EFm* Vancomicina Sensible (*EFmVS*) y *EFmVR* del INCan. Determinar el fenotipo de resistencia de las cepas de *EFmVR* aisladas de sangre de pacientes con NH.

Material y métodos: Se identificaron todos los aislamientos en sangre de *EFm* en pacientes con NH de enero del 2008 a diciembre del 2012. Se analizaron retrospectivamente las características clínicas y desenlace de los pacientes incluidos. Se consideró caso a pacientes con bacteremia por *EFmVR* y controles aquellos con bacteremia por *EFmVS*. Se realizó electroforesis por campos pulsados para determinar la presencia de genes de resistencia en las cepas de *EFmVR*.

Resultados: En el periodo de estudio se identificaron 58 bacteremias por *EFm* en pacientes con NH, la mitad fueron mujeres. La edad media fue de 36.9 años (15-78). 37 fueron *EFmVS* y 21 *EFmVR*. 21 pacientes tuvieron cultivos subsecuentes positivos de los cuales 2 tenían *EFmVS* al inicio y *EFVR* en el segundo cultivo. 12 pacientes habían recibido antibiótico profiláctico asociado a quimioterapia principalmente con IDA FLAG. El factor asociado a bacteremia por *EFmVS* fue estado temprano de la enfermedad de base al ingreso ($p=0.044$). Factores asociados a bacteremia por *EFmVR* fueron: haber tenido un evento de bacteremia 3 meses antes del evento actual ($p=0.039$), tratamiento antibiótico profiláctico ($p=0.013$) y tratamiento con Vancomicina en los últimos 3 meses ($p=0.001$). Los pacientes del grupo de *EFmVR* tuvieron significativamente más cultivos subsecuentes positivos ($p=0.01$) y más tratamiento incorrecto o inoportuno ($p<0.001$). La mortalidad atribuible a bacteremia por *EFm* fue de 25% (15/58) en general, 6 con *EFmVS* (17.14%) y 9 (39.13%) con *EFmVR* ($p=0.061$). El análisis molecular identificó que las cepas resistentes correspondían a *Enterococcus faecium vanA*.

Conclusiones: Bacteremia por *EFmVR* se ha asociado al uso de antibióticos profilácticos, neutropenia profunda, tratamiento previo con Vancomicina, estados más avanzados de la NH y persistencia de cultivos positivos. El control de antibióticos y las medidas de prevención hospitalarias son fundamentales para disminuir la incidencia. El tratamiento correcto y oportuno pueden mejorar el pronóstico.

ABSTRACT

Introduction: *Enterococcus faecium* (EFm) has emerged as an important pathogen in patients with hematologic malignancies (HM), as a cause of nosocomial blood stream infection (BSI). The first BSI due to Vancomycin resistant EF (*VREFm*) at the Instituto Nacional de Cancerología (INCan) occurred in 2008 in a patient with Acute Lymphoblastic Leukemia repatriated from USA. An outbreak of *VREFm* BSI started in 2010 that peaked in 2011 and decreased after preventive strategies were applied.

Objective: To assess the clinical features and outcome of patients with vancomycin susceptible EF (*VSEFm*) and *VREFm* BSI, and to identify resistance patterns in *VREFm* strains isolated from blood culture in patients with HM.

Methods: We performed a retrospective case control study of patients with HM and positive blood culture for *EFm* taken from January 2008 to December 2012. Cases were considered patients with *VREFm* isolated from blood cultures and controls were patients with isolation of *VSEFm*. We collected data on the clinical characteristics and outcome of the patients included. Pulsed-field gel electrophoresis was used to identify resistance genes in strains of *VREFm*.

Results: Fifty-eight 58 episodes of *EFm* BSI occurred; 37 *VSEFm* and 21 *VREFm*. Half were women, the average age 36.9 years (15-78). Four patients had 2 events of BSI, 2 of them initially *VSEFm* and later *VREFm*. 21 patients had positive sequential cultures two of which had *VSEFm* in the first culture and *VREFm* in the second. 12 patients received prophylactic antibiotic associated mainly to IDA-FLAG chemotherapy. Factors related with *VSEFm* BSI were early stage of the underlying disease on admission ($p = 0.044$). Factors associated with *VREFm* BSI were previous episode of BSI three months before the actual event ($p = 0.039$), prophylactic antibiotic treatment ($p = 0.013$) and vancomycin therapy in the previous 3 months ($p = 0.001$). Patients with *VREFm* had more subsequent positive blood cultures ($p=0.01$) and more frequent delayed or incorrect treatment ($p<0.001$). There was no relationship between the grade and length of neutropenia, admission to ICU and outcome at 30 days and one year. Attributable mortality due to *EFm* BSI was 25% (15/58) overall, 39% in the case group and 17.% in the control group ($p=0.061$). Molecular analysis identified that all resistant strains were *vanA Enterococcus faecium*.

Conclusions: *VREFm* BSI is associated with prophylactic antibiotics and profound neutropenia, previous treatment with vancomycin, advanced disease and positive subsequent cultures. Antibiotic stewardship and preventive measures are needed to reduce incidence. Correct, early treatment might improve outcome.

1. INTRODUCCIÓN

A medida que ha mejorado el tratamiento de los pacientes con cáncer, éstos viven más, pero la inmunosupresión por la enfermedad de base o su tratamiento aumenta el número de pacientes susceptibles a infección. Los agentes etiológicos en pacientes con cáncer son los mismos que en otros grupos pero hay más cepas multi droga resistentes (MDR) y hongos.¹

Hay pocas publicaciones sobre la incidencia de infecciones nosocomiales en pacientes con cáncer, la cual se estima entre 4.2 a 5.4 infecciones por 1000 días paciente en general y aumenta en pacientes con neutropenia a 12.9 a 46.3 infecciones por 1000 días neutropenia. En el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) la incidencia de infecciones nosocomiales es de 18 infecciones por 1000 días paciente en general con 22.7 infecciones por 1000 días paciente en Hematología y 9.8 infecciones por 1000 días paciente en Oncología Médica.

Los pacientes con neoplasias hematológicas (NH) están en mayor riesgo de infección por múltiples factores como neutropenia inducida por quimioterapia, afectación de médula ósea, hipogammaglobulinemia, disfunción de Linfocitos T y tratamiento inmunosupresor en trasplante de médula ósea (TMO). Los nuevos tratamientos para NH han mejorado las tasas de curación pero también han cambiado la epidemiología de las infecciones debido uso de antibióticos profilácticos, historia de uso de antibióticos de amplio espectro y daño a mucosas, principalmente gastrointestinal, lo cual aumenta el riesgo y empeora el pronóstico.²

Las infecciones se presentan en 60-80% de los pacientes en quimioterapia de inducción por Leucemia Aguda (LA) y en 50% de los pacientes con Leucemia Linfocítica Crónica (LLC). Las infecciones afectan la calidad de vida, retrasan la quimioterapia, aumentan los costos de atención y son una de las principales causas de mortalidad en pacientes con NH. La mortalidad atribuible en pacientes con NH con bacteremia es de 10-20%.³

2. ANTECEDENTES

2.1 Microbiología del Enterococco

Los enterococcos son cocos gram-positivos entéricos, anaerobios facultativos, que se agrupan en parejas o en cadenas con crecimiento óptimo a 35°C (10 - 46°C). Son capaces de crecer en medios con altas concentraciones de sal al 6.5% en un caldo con pH ajustado a 9.6 y además

sobreviven a 60°C por 30 minutos. Estos microorganismos son capaces de hidrolizar la esculina en presencia de 40% de bilis, no producen esporas y producen leucina, amino peptidasa y pirrolidonil-arilamidasa.

Los enterococos se localizan en una gran variedad de ambientes debido a la capacidad de crecer y sobrevivir en condiciones adversas. Adicionalmente, pueden sobrevivir en desinfectantes químicos como cloro, glutaraldehído y alcohol, lo cual podría contribuir a su sobrevivencia y dispersión en ambientes hospitalarios.

El enterococco se encuentra en la materia fecal de la mayoría de los individuos en una proporción baja (10^4 - 10^6 gr/heces). Se ha determinado que estos microorganismos se localizan esencialmente en el intestino delgado, principalmente yeyuno e íleon.

Estudios en cerdos, han probado que la administración de *E. faecium* permite disminuir la cantidad de *Escherichia coli* recuperada de las heces de los animales y permite disminuir la tasa de infección por *Chlamydia* en el intestino o en la vagina. Pero no se ha determinado si la colonización por enterococos en individuos sanos contribuye a la protección del tracto gastrointestinal (TGI) de las infecciones por microorganismos patógenos.⁴

Enterococco faecalis (EFc) y *Enterococco faecium* (EFm) destacan a nivel hospitalario como agentes causales de infecciones. Sin embargo, existen otras especies capaces de causar infección como: *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus* y *E. muntzii* entre otros. A la fecha el género *Enterococcus* está formado por 40 especies.⁵

Tradicionalmente los enterococos son causantes de infecciones de vías urinarias, infecciones pélvicas, infecciones neonatales y endocarditis. Anteriormente considerados como microorganismos de baja virulencia y poca significancia clínica. Sin embargo, en las últimas 2 décadas los enterococos han emergido en el ámbito mundial como importantes patógenos nosocomiales. En los años noventa el 80 al 90 % de los aislamientos recuperados eran *E. faecalis* y tan solo 5 al 10 % eran *E. faecium*. Sin embargo, en los últimos años el 40 % de las infecciones nosocomiales en Estados Unidos y Europa son causadas por *E. faecium*.

2.2 Epidemiología del *Enterococcus faecium* Resistente a Vancomicina

EFmVR fue inicialmente descrito en 1986 en Francia e Inglaterra. Posteriormente, en 1987 se reportó el primer *EFmVR* en Estados Unidos de América (EUA). A partir de entonces ha aumentado el número de casos en todo el mundo. En Europa, durante los 90's se detectó la presencia de un importante reservorio de estos microorganismos en individuos sanos de la comunidad y en animales, hecho que se asoció al uso de promotores de crecimiento análogos de glicopéptidos, como el Avoparcin, en animales destinados para consumo humano, los cuales estaban colonizados por *EFmVR* de tipo *van A* y transmitieron dicha resistencia a los consumidores.

En la mayoría de países europeos la resistencia a Vancomicina en los hospitales no se ha extendido de la misma forma que en EUA. El sistema de vigilancia europeo de resistencia antimicrobiana (EARSS, 2008) reportó tres países que presentaron resistencia a Vancomicina en *E. faecium* mayor al 25 %; estos países correspondieron al Inglaterra (28 %, n=88), Irlanda (35 %, n= 390) y Grecia (28 %, n= 368); por el contrario en países como Bulgaria, Dinamarca, Malta y Holanda, entre otros, no se detectó la presencia de *EFmVR*. Estos últimos desarrollan un estricto control en el uso de antibióticos y medidas de control de infecciones cuando se detecta un paciente colonizado o infectado con *EFmVR*.

En EUA está prohibido el uso de glicopéptidos como promotor de crecimiento, por lo que no se ha aislado en heces de la comunidad. Sin embargo, la prevalencia de colonización e infección permanecen por *EFmVR* permanecen altas asociados a mayor uso de Cefalosporinas de tercera generación pero sobretudo a un aumento de mas de 100% en el uso de Vancomicina para tratar *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (SAMR) emergente a nivel clínico.

Es así como un informe reciente de la red nacional de hospitales de Estados Unidos (The National Health Care Safety Network, NHSN) reportó una prevalencia de infecciones asociadas a hospitales de 5.6% y 3.5% para *E. faecalis* y *E. faecium*, respectivamente. Adicionalmente, el mismo informe indicó que más del 80% de *E. faecium* aislados de los hospitales eran resistentes a Vancomicina y más del 90% eran resistentes a Ampicilina.⁶

En Suramérica, el primer reporte de *EFmVR* se documentó en 1996 en Argentina, luego en Brasil y posteriormente en un hospital en Colombia. Así mismo, los resultados de la red SENTRY obtenidos de un programa de vigilancia epidemiológica indicaron, que la tasa de resistencia a Vancomicina en aislamientos provenientes de bacteriemias por enterococcos en Latinoamérica se incrementó de 0 % a 5 % de 1997 a 2002, y progresivamente hasta la fecha.⁷ En un análisis internacional se reportó que el país con mayor porcentaje de *EFmVR* es EUA. (Figura 1)

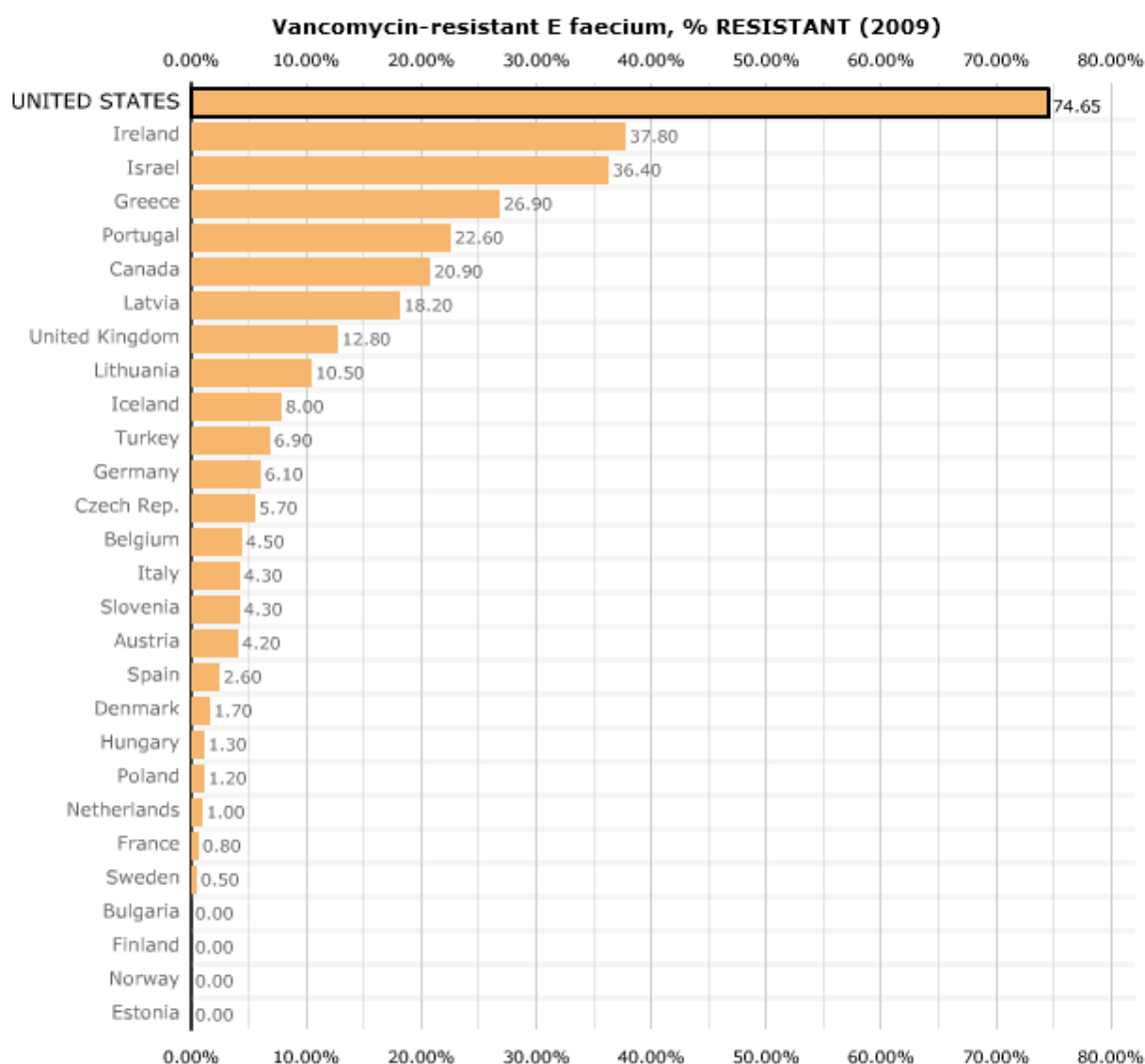


Figura 1: Porcentaje de aislamientos de *Enterococcus faecium* Vancomicina Resistente en diferentes países. Fuente: The Center for Disease Dynamics, Economics and Policy. versión online consultada el 24/06/13. <http://www.cddep.org/ResistanceMap/bug-drug/EFa-VC#.UcjZlImI7IV> Información obtenida de The Surveillance Network, U.S.A Annual reports and database (2008, 2009), European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), CANWARD 2009 study, Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA).

En México, los enterococos surgieron como patógenos relevantes en bacteremias en 1984. Y a partir de esa fecha se observó un aumento en el número de casos de 0.8% de los casos a principios de los 80's a 4.3% a principios de los 90's.⁸

En un estudio sobre los aislamientos en hemocultivos en el INCan de 1998 a 2003 se observó una incidencia de bacteremias por *E faecium* de 1-2% constante a través de los años estudiados, con 16% de las cepas susceptibles a Ampicilina y el 100% a Vancomicina.⁹ El primer brote de infección nosocomial por *EFmVR* en México reportado en la literatura fue en 2005 en el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán de cepas de diversas muestras clínicas en pacientes con diferentes enfermedades. 96.3% de ellas identificadas con genotipo *VanA*.¹⁰

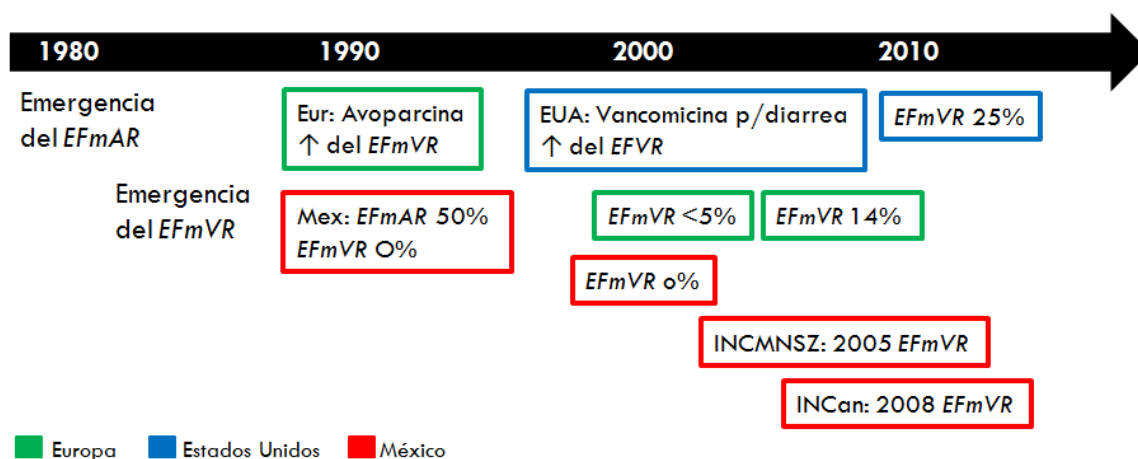


Figura 2. Evolución epidemiológica del *Enterococcus faecium*. *EFmAR*: *Enterococcus faecium* ampicilina resistente, *EFmVR*: *Enterococcus faecium* vancomicina resistente. INCMNSZ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, INCan: Instituto Nacional de Cancerología.

2.3 Primer caso de bacteremia por *Enterococcus faecium* en el INCan

El primer caso de bacteremia por *EFmVR* en el INCan se documentó en 2008. El caso índice correspondió a una femenina de 27 años originaria de EUA con diagnóstico de Leucemia Linfofítica Aguda en 2007, quien recibió HiperCVAD en Atlanta y llegó al INCan con recaída de la enfermedad. Se le inició tratamiento con Metotrexate a dosis altas y durante su evolución desarrolló neutropenia grave y fiebre y se identificó cuadro de celulitis de miembro pélvico derecho por lo que recibió tratamiento con Vancomicina y bacteremia por *E. coli* BLEE por lo que recibió tratamiento con Meropenem. Después de 13 días de neutropenia profunda presentó bacteremia

por *EFmVR* que fue tratada con Linezolid con resolución de la fiebre. Egresó un mes después del evento por máximo beneficio y se perdió en el seguimiento.

2.4 Epidemiología molecular del *Enterococco faecium* resistente a Vancomicina y mecanismos de virulencia.

La caracterización molecular de *E. faecium* se realiza con la identificación de alelos de secuencias de genes del metabolismo bacteriano (housekeeping genes), mediante el mecanismo de secuenciación multilocus (Multilocus Sequence Typing: MLST) propuesto por Homan y colaboradores que permite comparar fácilmente aislamientos locales con cepas contenidas en una base de datos al analizar tipos de secuencias (ST) que no se superponen o complejos clonales, y así, se puede predecir el progenitor y la relación entre los aislamientos (linaje genético) de *E. faecium* de diferentes regiones.¹¹

Estudios de secuenciación genética ha permitido distinguir entre los microorganismos asociados a hospitales y los aislamientos en humanos y animales de la comunidad con lo cual se ha dividido en dos grupos ancestrales: el asociado al hospital y el asociado a la comunidad.¹² Se estima que estos grupos se diferenciaron hace 300,000 años.

Hay que recordar que los enterococos tienen una enorme plasticidad genómica y que los elementos adquiridos representan el 25% de su genoma y que puede haber apareamiento bacteriano entre enterococos que produzca genomas híbridos. La transferencia de genoma depende de la presencia de plásmidos sensibles a feromonas que se pueden insertar en el cromosoma por recombinación de secuencias en el plásmido y el cromosoma. Otro elemento que permite la evolución de cepas MDR de enterococco asociadas al hospital es la carencia de CRISPR (Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas en Intervalos Regulares) que normalmente protegen a las bacterias contra ADN entrante. La presencia de resistencia antibiótica es inversamente proporcional a la presencia de CRISPR.¹³

Con la técnica MLST se ha agrupado los aislamientos provenientes de los hospitales en un linaje denominado complejo clonal 17 (CC17) que abarca una subpoblación policlonal que incluye ST17, ST18, ST 78 y ST 192. El CC17 está ampliamente diseminado en hospitales y posee la capacidad de adaptarse a ambientes nosocomiales por adquisición secuencial de mecanismos que le proveen

una ventaja selectiva para colonizar el TGI de humanos y producir infección. Los aislamientos de *E. faecium* pertenecientes a este complejo se caracterizan por la resistencia a Ampicilina, altos niveles de resistencia a quinolonas y frecuente resistencia a Vancomicina.¹⁴

Contrario a staphylococcus y streptococcus, los enterococcus no producen toxinas pro inflamatorias potentes pero están equipados con proteínas que promueven la adherencia a tejidos del huésped. Dentro de los factores de virulencia de *E. faecium* se han descrito los MSCRAMMs (componentes de la superficie bacteriana que reconocen las moléculas de adhesión de la matriz extracelular) específicamente la adhesina *Acm* que está anclada en la pared que contiene un motivo similar a LPXTG con pliegues similares a inmunoglobulinas (similares a la adhesina *Cna* de *S. aureus*). La proteína *Acm* se une a colágeno y su ausencia atenúa las infecciones por *E. faecium*. Las cepas asociadas a la comunidad, tienen un pseudogen *Acm* y rara vez expresan *Acm* contrario a las cepas hospitalarias.¹⁵

No se conocen todos los factores de virulencia, pero se sabe que los plásmidos transmisibles no respondedores a feromonas, de 150-250 kb, son comunes en los aislamientos clínicos y que al ser transferidos a una cepa comensal aumentan su virulencia y su capacidad de colonizar el TGI.¹⁶ Los genes de virulencia se encuentran con diferente frecuencia entre diferentes poblaciones. Las cepas del CC17 se caracterizan por la presencia del gen *hylEfm*, de los genes *fms* (*E. faecium* surface proteins) y generalmente presentan una isla de patogenicidad la cual posee el gen *espEfm*. En un estudio realizado en Australia en pacientes hematológicos, se encontró una alta prevalencia del gen *esp* y baja del gen *hyl*.¹⁷

Se ha descrito asociación entre aislamientos de *Efm* pertenecientes al CC17 y el gen *espEfm*, sin embargo, a diferencia del gen *hylEfm* que se encuentra localizado en plásmidos, el gen *esp* se encuentra en una isla de patogenicidad en el cromosoma de *E. faecium*. Oancea y colaboradores demostraron la transferencia del gen *espEfm* desde el cromosoma de una cepa de *E. faecium* donadora a una cepa de *E. faecium* receptora, por la integración de este gen en un plásmido conjugativo.¹⁸

2.5 Mecanismos de resistencia de *Enterococcus faecium*

Los enterococos tienen resistencia natural a Cefalosporinas, Oxacilina, Clindamicina, Lincomicina, Cotrimoxazol y Aminoglucósidos (Resistencia de bajo nivel) ; y resistencia adquirida a Ampicilina, Cloranfenicol, Macrólidos, Tetraciclinas, Quinolonas, Glicopéptidos, Estreptograminas, Aminoglucósidos (Resistencia de alto nivel) y Linezolid.

Los fenotipos de resistencia mas importantes de *EFmVR* son:

Fenotipo Van A: Confiere alta resistencia a Vancomicina (MIC >256mg/L) y Resistencia cruzada a Teicoplanina (MIC >128mg/L) o Bajos niveles de resistencia a Teicoplanina (MIC 8-32 mg/L).

Fenotipo Van B: Se asocia a bajos niveles de resistencia a Vancomicina (MIC 16-64 mg/L) pero sensibles a Teicoplanina (MIC <4 mg/L). Este fenotipo se encuentra predominantemente en *E. faecalis* y *E. faecium*. Se ha descrito también en reportes en *E. casseliflavus*. Ahora se han descrito resistencias variables a Vancomicina en *Van B* (MIC 8-1024mg/L). Es transferible y se ha confirmado en aislamientos de *Streptococcus bovis*.

Fenotipo Van D: Se caracteriza por resistencia moderada a Vancomicina (MIC 128 mg/L) y baja a la Teicoplanina (MIC >4 mg/L). Se localiza en el cromosoma y no es transferible. Se ha encontrado en pocas cepas.

Las variantes *VanA* y *VanB* requieren glicopéptidos para crecer. En estos casos la ligasa D-ala-D-ala es defectuosa y ante presencia de glicopéptidos se induce la vía alterna D-ala-D-lac permitiendo la síntesis de peptidoglucanos y de la pared celular. Esto no se puede detectar por técnicas de cultivo standard.¹⁹

Los mecanismos de resistencia a otros antibióticos son:

Resistencia a ampicilina de alto nivel: conferida por la producción de PBP5, las cuales poseen una baja afinidad a betalactámicos. (CIM >32µg/ml).

Resistencia a aminoglucósidos de alto nivel: mediante enzimas codificadas por plásmidos transmisibles que modifican el antibiótico transformándolo en elementos inactivos. Estas incluyen: Enzima bifuncional, 3" fosfotransferasa, 6"adeniltransferasa.

Resistencia a Cloramfenicol: mediada por la enzima Cloramfenicol Acetil Transferasa(CAT) la cual causa resistencia por la acetilación de un grupo hidroxilo en la molécula de Cloramfenicol

impidiendo la unión al ribosoma bacteriano. Los genes de CAT están ubicados en plásmidos y en cromosomas. Presente en 50% de los enterococos.

Resistencia a quinolonas: por mutaciones a nivel de los genes *gyrA* y *parC* los cuales codifican la subunidad A de la DNA girasa y Topoisomerasa IV respectivamente. La mayoría casos la resistencia es producto de mutaciones en ambos genes.

Resistencia a Oxazolidinonas: la resistencia a Linezolid se debe a una mutación puntual a nivel del RNA 23S (G2576T).

Resistencia a Quinupristina-Dalfopristina (Streptograminas A y B): mediada por los genes *Vgb* y *Vat* transmitidos a través de plásmidos. El gen *Vgb* codifica una hidrolasa que inactiva a streptogramina B y el gen *Vat* codifica una acetiltransferasa que inactiva a streptogramina A. *E. faecalis* son intrínsecamente resistentes a Quinupristin/Dalfopristin.

Resistencia a Daptomicina: se puede desarrollar transtratamiento. Es secundaria a la mutación de la genes que codifican la cardioplipina sintetasa y la enzima de síntesis de fosfolípidos.²⁰

2.6 Infección por enterococos en pacientes con cáncer.

Los enterococos causan un mayor número de infecciones en pacientes con cáncer que en la población general. La mayoría de estas infecciones son originadas en el hospital. Los pacientes con cáncer tienen mayor riesgo de infección por *EFmVR* por el uso previo de Vancomicina o antibióticos contra anaerobios en esta población

El espectro de infecciones causadas por enterococos es amplio: infecciones de vías urinarias, bacteremia (relacionada a catéter o originada en TGI), infecciones intrabdominales, infección de heridas, meningitis en pacientes con sistemas de derivación, etc.

Los enterococos son considerados microorganismos de baja virulencia por lo que no siempre se asocian a respuesta inflamatoria o fiebre y en caso de sospecha se deben abordar mediante cultivo de líquidos estériles. Los cultivos de orina, drenajes y heridas pueden corresponder a colonización.

2.7 Bacteriemia por *Enterococco faecium*

Los enterococos son catalogados como los terceros agentes causantes de bacteriemias nosocomiales en Estados Unidos (después de *Staphylococco coagulasa* negativo y *Staphylococco*

aureus). Mas del 80% de los pacientes con bacteremia por *E. faecium* tienen cáncer. La prevalencia de *E. faecium* ha aumentado a partir de los 90's de 12.9% a 36.3%, asociado a un alarmante aumento en la resistencia antibiótica.²¹

Estas bacteriemias provienen principalmente de infecciones del tracto urinario y del TGI, pero también se han reportado provenientes de la vía biliar, de catéteres intravenosos o urinarios infectados, heridas o de infecciones de tejidos blandos. La complicación más importante es el desarrollo de endocarditis, la cual afecta con mayor frecuencia corazón izquierdo, específicamente la válvula mitral.

En muchos casos de bacteremia por *E. faecium* no se encuentra un origen de la infección por lo que se sugiere que para que se desarrolle una bacteremia primaria primero debe haber una colonización del tracto gastrointestinal, posteriormente un desequilibrio en la microbiota intestinal por quimioterapia, antibióticos o factores del huésped y finalmente una alteración de la barrera mucosa que permita traslocación gastrointestinal.

2.8 Colonización del tracto gastrointestinal

Los enterococos son parte de la flora normal del tracto gastrointestinal aunque constituyen una pequeña proporción de ésta. El primer paso para la infección es el aumento en la densidad de colonización de TGI. Esto se ve favorecido por el uso de antibióticos principalmente con actividad contra gram negativos y gram positivos diferentes a *E faecium*, lo cual altera la microbiota facilitando la proliferación de *EFmVR*. Los factores de riesgo para colonización por *EFmVR* incluyen inmunosupresión, neutropenia, insuficiencia renal, tratamiento con glicopéptidos, cefalosporinas de tercera generación o metronidazol, así como factores hospitalarios como estancia en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) o en servicio de oncología, proximidad con un paciente colonizado por *EFmVR* y estancia hospitalaria prolongada.²²

Una vez colonizado el paciente con *EFmVR*, puede permanecer con el microorganismo por largos períodos de tiempo creando un reservorio de estas bacterias e incrementando la probabilidad de transmisión nosocomial y posterior infección en pacientes susceptibles. Las recomendaciones para prevenir la transmisión cruzada por *EFmVR* incluyen el aislamiento de personas con colonización actual o previa por *EFmVR*, medidas de aislamiento por contacto (guantes y bata), aseo de manos,

no compartir equipo hospitalario entre pacientes (baumanómetro, termómetro, estetoscopio, etc), aseo ambiental intensivo, personal de enfermería exclusivo de pacientes colonizados.²³

2.9 Alteración de la microbiota

Estudios en animales han demostrado que los lipopolisacáridos y la flagelina presentes en las bacterias gram negativas estimulan, por medio de interacción con receptores tipo Toll, la producción de *REGIIIγ* por las células de Paneth. *REGIIIγ* es una lectina tipo C con actividad antimicrobiana contra bacterias gram positivas incluyendo *EFmVR* en el TGI.²⁴ Por este mecanismo la microbiota modula la colonización por microorganismos MDR. El uso de antibióticos como Metronidazol, Neomicina, y Vancomicina permite al *EFmVR* volverse una especie predominante en el intestino aún después de 2 meses de suspendido el tratamiento.^{25, 26}

En un estudio sobre el efecto de la quimioterapia sobre la microbiota intestinal, se encontró que posterior a la quimioterapia todos los pacientes tenían una reducción de bacterias en heces la cual se recuperaba en pocos días incluso a cifras más elevadas que la basal, como un efecto rebote. Algunos pacientes tuvieron aumento de *Clostridium difficile* asociado a disminución de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Clostridium grupo IV*. Se observó un aumento de *E. faecium* postquimioterapia llenando el nicho ecológico dejado por lactobacilos y bifidobacterias.²⁷

Otro estudio realizado en población pediátrica con NH también encontró disminución en la carga bacteriana postquimioterapia representado por una disminución de 10,000 veces el número de bacterias anaerobias compensado por un aumento de 100 veces en enterococos potencialmente patógenos. En un estudio sobre colonización por enterococco en pacientes hematológicos se encontró sobrecrecimiento de *E faecium* en 55% de las heces colonizadas por enterococos.²⁸

2.10 Daño a mucosa gastrointestinal

Una vez establecida la colonización del TGI el siguiente paso es la entrada del *EFmVR* al torrente sanguíneo. Esto ocurre principalmente asociado a daño a la barrera mucosa lo cual es mas frecuente en pacientes con cáncer. Los diferentes esquemas de quimioterapia se asocian con grados variables de daño a mucosa gastrointestinal. El daño a mucosa se divide en mucositis oral y daño intestinal. La mucositis oral afecta 60-100% de los receptores de trasplante de médula ósea cuando se usa mieloablación previa, otros tratamientos asociados son antimetabolitos, agentes

alquilantes, Etopósido y Metotrexate. Los pacientes con mucositis cursan con disfagia, edema, eritema, úlceras y formación de pseudomembranas en cavidad oral además de disminución en la producción de saliva. En grados avanzados se requiere nutrición parenteral.

El daño a mucosa intestinal puede causar síntomas como náusea, vómito, diarrea y dolor abdominal. Aproximadamente 40% de los pacientes que reciben dosis estándar y hasta 100% de pacientes que reciben dosis altas de quimioterapia pueden cursar con estos síntomas por lo que la incidencia de daño a mucosa intestinal no está bien establecida. La diarrea en pacientes oncológicos puede deberse a fármacos como 5 Fluoracilo, Docetaxel, Arabinósido e Irinotecan o asociarse a enfermedad injerto contra huésped (EICH) en pacientes con TMO. La náusea y vómito son efectos adversos frecuentes de la quimioterapia. La enterocolitis neutropénica es la manifestación mas extrema de daño a mucosa intestinal. El daño a mucosa gastrointestinal causa alteraciones en la permeabilidad y daño del epitelio. Histológicamente se observa aumento en la apoptosis de las criptas que precede la atrofia vellosa hipoplásica y pérdida de la altura de los enterocitos. Estudios con azúcares como lactulosa, xilosa o manitol han demostrado que la permeabilidad intestinal se altera 2 días después de la quimioterapia y progresa durante los siguientes 10 días hasta que alcanza una meseta que persiste por 1-3 semanas.²⁹

Por otro lado, se ha visto que el tratamiento antibiótico aumenta la toxicidad de la quimioterapia. En un estudio experimental se observó que el uso de Ciprofloxacina suprime el citocromo p450 a nivel transcripcional disminuyendo el aclaramiento de Ciclofosfamida y por lo tanto aumenta el daño de la barrera mucosa.³⁰

2.11 Translocación bacteriana

Existe traslocación bacteriana por diferentes vías cuando la barrera mucosa se interrumpe. La extensión y severidad del daño a mucosas se correlaciona con los días de fiebre, uso de analgésicos parenterales, uso de NPT, tratamiento antibiótico, días de estancia hospitalaria, pero sobretodo, aumenta el riesgo de infección bacteriana y de mortalidad. Las infecciones en estos pacientes se originan en la flora gastrointestinal y dependen de los patógenos colonizantes.

Existen 3 mecanismos de defensa para prevenir la invasión bacteriana a partir del tracto gastrointestinal: la inmunidad innata, la barrera mecánica formada por mucosa intestinal y la resistencia a la colonización.

La resistencia a la colonización es el efecto benéfico del predominio de microorganismos anaerobios en la microbiota del tracto gastrointestinal el cual por su abundancia proporciona resistencia a la invasión de bacterias patógenas del medio ambiente o del propio intestino del paciente.³¹

2.12 Bacteremia asociada a daño en la barrera mucosa

El daño a mucosa intestinal ha cobrado tal importancia que la CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ha propuesto un nuevo tipo de bacteremia en pacientes con cáncer. Esta se denomina Bacteremia Confirmada por Laboratorio Asociada a Daño de Barrera Mucosa (BCLADBM). Hay 2 tipos:

BCLADBM tipo 1:

Paciente de cualquier edad con bacteremia confirmada por laboratorio por al menos un hemocultivo positivo, no relacionada a infección en otro sitio con desarrollo de cualquiera de los siguientes microorganismos intestinales sin aislamiento de otro microorganismo: *Bacteroides* spp., *Candida* spp., *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Veillonella* spp., or Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*)

Y el paciente cumple al menos uno de los siguientes:

1. Es receptor de un trasplante de células madre hematopoyéticas alogénico en el año anterior con uno de los siguientes factores documentados durante la misma hospitalización del hemocultivo positivo
 - a. Enfermedad injerto contra huésped gastrointestinal Grado III o IV
 - b. Diarrea \geq a 1 litro en un periodo de 24 hrs (o \geq 20 mL/kg en 24 hrs para pacientes menores de 18 años) iniciada en los 7 días previos a la fecha del hemocultivo positivo.
2. Tiene neutropenia definida como al menos 2 días separados con cuenta absoluta de neutrófilos o leucocitos totales menor a 500 células/mm³ el día del hemocultivo positivo o en los 3 días previos al hemocultivo positivo.

BCLADBM tipo 2: BCLADBM con aislamiento de *Streptococcus viridans* sin aislamiento de otro microorganismo.³²

2.13. Tratamiento antibiótico para bacteremia por *EFmVR*.

Los dos antibióticos autorizados para el tratamiento de infecciones por *E faecium* son Linezolid y Quinupristina/dalfopristina. Otros agentes con actividad contra EVR, aunque no aprobados para esta indicación son Daptomicina y Tigeciclina. Alternativas menos eficientes son Cloramfenicol. Doxiciclina, altas dosis de Ampicilina solo o combinado con Sulbactam. No se han establecido combinaciones de antibióticos efectivas.³³

Linezolid es una oxazolidinona sintética con actividad bacteriostática que inhibe la síntesis de proteínas a nivel pretranscripcional. Se puede administrar por vía oral (VO) o intravenosa (IV) a una dosis de 600mg cada 12 hrs. El efecto adverso mas importante es trombocitopenia que es mayor en tratamientos prolongados (14-21días). Quinupristina / dalfopristina es una estreptogramina, que actúa alterando la síntesis de proteínas bacterianas durante el alargamiento de la cadena de péptidos y el ensamblaje de cadena finales. Tiene actividad bacteriostática contra *EFmVR* pero no contra *E faecalis*. Se administra IV con una dosis de 7.5 mg /kg cada 8 horas. El efecto adverso mas importante son mialgias y artralgias. Estudios in vitro de tratamiento combinado con Ampicilina o Doxicilina han demostrado efecto sinérgico.³⁴

Existen pocos estudios del tratamiento de bacteremia por *EFmVR* y ninguno específicamente en población con cáncer. Estudios retrospectivos comparando del tratamiento con Linezolid vs Quinupristina / dalfopristina han encontrado que el tratamiento con este último se asociaba mas a bacteremia persistente, desarrollo de resistencia transtratamiento y suspensión del tratamiento por efectos adversos que Linezolid. Sin embargo, la respuesta microbiológica y mortalidad es igual con ambos tratamientos aunque mas temprana con el uso de Quinupristina/dalfopristina.³⁵ Otros estudios si han encontrado significativamente mayor mortalidad al comparar tratamiento con Quinupristina/dalfopristina o Daptomicina contra Linezolid.³⁶

Es necesario el desarrollo y aprobación de nuevas moléculas ya que las aceptadas solo tienen actividad bacteriostática y de las que estan en fase de aprobación como Daptomicina y Tigeciclina, solo Daptmocina es bactericida. Se investigan también estrategias para suprimir o erradicar *EFmVR* del TGI, en situaciones críticas como neutropenia post quimioterapia o post trasplante,

para ello se ha utilizado la combinación de Doxiciclina oral con Bacitracina y Ramoplanina oral (glicopéptido) con resultados subóptimos.³⁷

3. JUSTIFICACIÓN.

E. faecium ha cobrado importancia como agente causal de infecciones nosocomiales desde hace 2 décadas, principalmente en pacientes con cáncer. Con el tiempo ha aumentado su incidencia y la frecuencia de cepas resistentes a Vancomicina teniendo pocas alternativas terapéuticas, mayor morbilidad y mortalidad y mayor costo de la atención del paciente.

En el INCan, se presentó el primer caso de bacteremia por *Enterococco faecium* Vancomicina Resistente en 2008, en una paciente proveniente de Estados Unidos y desde entonces se ha observado un aumento importante en los casos de este tipo de infección especialmente en pacientes hemato-oncológicos. En hospitales similares en otros países han identificado factores de riesgo y han hecho intervenciones específicas que han resultado en disminución de la incidencia de la infección.

Conocer los factores de riesgo para desarrollar bacteremia por *Enterococco faecium* Vancomicina Resistente en el INCAN nos permitirá identificar que elementos se pueden modificar para prevenir el desarrollo de infección y en aquellos pacientes con factores de riesgo no modificables aplicar estrategias de detección temprana para el control de la infección y prevención de brotes. No hay estudios que comparen los factores de riesgo y el desenlace de bacteremia por *E. faecium* sensible vs resistente en pacientes con neoplasias hematológicas específicamente, por lo que el presente estudio brindará información al respecto.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Tienen los pacientes con bacteremia por *Enterococco faecium* Vancomicina Resistente diferencias en las características clínicas y desenlace respecto a los pacientes con bacteremia por *Enterococco faecium* Vancomicina Sensible?

5. OBJETIVO.

5.1 Objetivo principal

Describir las características clínicas y desenlace de pacientes oncológicos con bacteremia por *Enterococcus faecium* Vancomicina Sensible y Vancomicina Resistente del Instituto Nacional de Cancerología.

5.2 Objetivos secundarios

1. Identificar los factores de riesgo para bacteremia por *Enterococcus faecium* Vancomicina Resistente
2. Determinar la clonalidad y los mecanismos de resistencia transmitidos por plásmidos de las cepas de *Enterococcus faecium* Vancomicina Resistente

6. MATERIAL Y MÉTODO.

6.1. Tipo de estudio

Estudio de casos y controles.

6.2. Ubicación Temporal y Espacial

Este estudio se realizó en el Instituto Nacional de Cancerología que una institución dedicada al diagnóstico y tratamiento de padecimientos oncológicos así como formación de médicos subespecialistas en diferentes ramas de la Oncología. Cuenta con 150 camas censables, 7,500 egresos al año, 3,450 cirugías y 30,000 infusiones de Quimioterapias Intravenosas por año. El primer piso del hospital corresponde al área de Hemato-Oncología donde hay 34 camas, 21 de ellas en cuartos compartidos y 13 en cuarto aislado además de la unidad de TMO que cuenta con 5 camas. El estudio se abarca los casos de bacteremia por *Enterococcus faecium* desde el 1° de enero de 2008 a 31 de diciembre de 2012.

6.3. Criterios de selección.

○ Inclusión:

Expediente de pacientes mayores de 16 años de cualquier género atendidos en el Servicio de Hematología Oncológica con diagnóstico de bacteremia por *Enterococcus faecium* durante el periodo del 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012.

El diagnóstico de bacteremia se basó en al menos un resultado de hemocultivo positivo con aislamiento de *Enterococcus faecium*.

- Eliminación: Expediente con datos de interés para el estudio incompletos.

6.4. Universo de estudio

Población: Expediente de pacientes con diagnóstico de bacteremia por *Enterococcus faecium* durante el periodo del 1 de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012.

- Tamaño de la muestra: 58 casos de bacteremia por *Enterococcus faecium*

6.5. Métodos de Laboratorio

Los hemocultivos se inocularon en medio enriquecido Bactec Plus aerobic F (Becton-Dickinson, Sparks, MD, Estados Unidos de América [EUA]), y se procesaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La identificación y sensibilidad antimicrobiana se realizó a través del Sistema Automatizado Phoenix (Becton, Dickinson and Company Diagnostic Systems). Los antibióticos evaluados fueron Ampicilina, Daptomicina, Linezolid, Penicilina G, Quinupristina, Rifampicina, Vancomicina.

El análisis molecular se llevó a cabo en la Universidad Nacional Autónoma de México, en el Departamento de Inmunología Molecular Microbiana. Se analizaron únicamente las cepas de *EFmVR*. Se realizó PCR en gel de agarosa para la identificación molecular de *E. faecium* así como PCR para la identificación de genes de resistencia de tipo *Van*.

6.6. Análisis Estadístico

Se efectuó un análisis descriptivo bivariado de la información. Se comparó a los pacientes con cepas resistentes vs los pacientes con cepas sensibles. Para variables cualitativas se utilizó χ^2 o prueba exacta de Fisher según fuera el caso. Para variables cuantitativas se utilizó T de student para variables con distribución normal y Mann Whitney para variables de distribución anormal determinada mediante la prueba de Shapiro Wilk. Se tomó como valor estadísticamente significativo $p=0.05$. Para el análisis se utilizó el paquete Stata 12.0.

6.7. Descripción Operativa del Estudio

En el presente estudio se analizaron 58 casos de bacteremia por *E. faecium* en pacientes hematológicos. Se revisaron retrospectivamente los expedientes de los pacientes identificados en el laboratorio de microbiología con hemocultivo positivo para el microorganismo de estudio. Se

registraron las siguientes variables: edad, sexo, diagnóstico oncológico, comorbilidades, ingreso hospitalario en los 90 días previos, aislamientos microbiológicos en los 90 días previos, tratamiento antibiótico en los 90 días previos, motivo de internamiento actual, estatus de la enfermedad al momento del ingreso, tratamiento con quimioterapia, tiempo de estancia precultivo y post cultivo, uso de antibióticos profilácticos y terapéuticos precultivo, presencia de catéter venoso central previo al cultivo y los días de estancia del mismo.

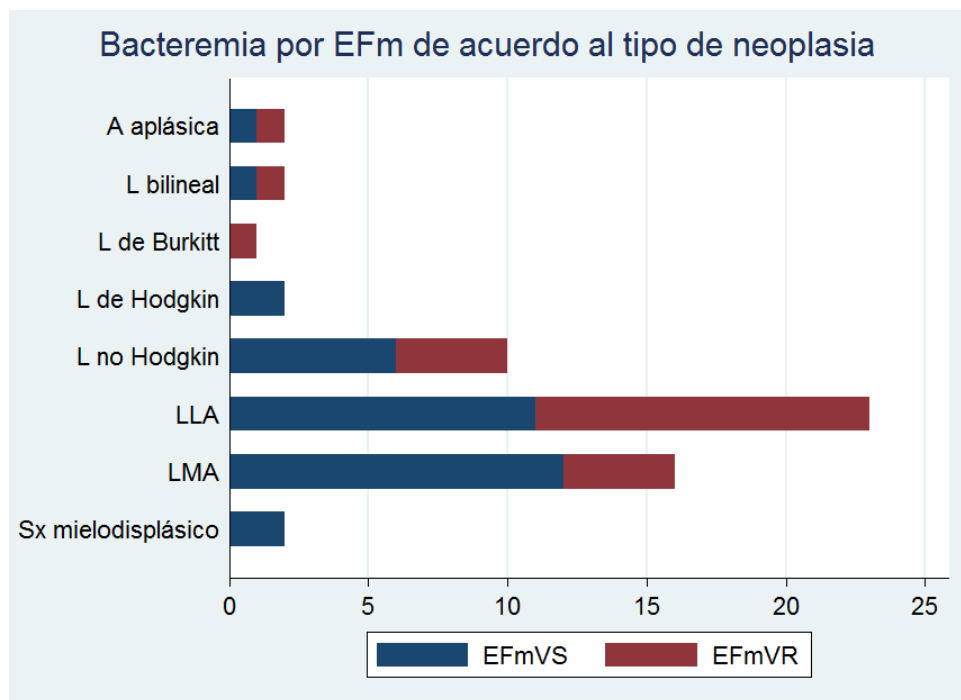
Las características clínicas analizadas fueron presencia de fiebre y choque séptico 48 hrs antes del evento. Mucositis, diarrea, colitis neutropénica y otros síntomas gastrointestinales la semana previo al evento. Se registraron los siguientes resultados del laboratorio del día de la bacteremia: Leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, hemoglobina, hematocrito, plaquetas, nitrógeno uréico, creatinina y albúmina. Se clasificó la neutropenia en leve (1000-1500 cel/mm³), moderada (500-1000 cel/mm³), severa (100-500 cel /mm³) y profunda (<100 cel /mm³). Se cuantificaron los días de neutropenia totales y previo a la bacteremia. Se registró el ingreso a UCI, procedimientos quirúrgicos, apoyo nutricio y procedimientos invasivos.

Se clasificaron los casos de acuerdo al tipo de bacteremia en primaria, secundaria o relacionada a catéter de acuerdo a las definiciones de la CDC. Bacteremia primaria: paciente con hemocultivo positivo, datos de sepsis sin sitio de infección aparente. Bacteremia secundaria: Paciente con hemocultivo positivo, datos de sepsis, con un sitio de infección del cual se aísla el mismo microorganismo por cultivo. Bacteremia relacionada a catéter: Paciente con catéter de larga estancia con fiebre o escalofrío posterior al uso del catéter y hemocultivo positivo del catéter 2 hrs antes que hemocultivo periférico tomado simultáneamente.³⁸ Además se aplicó la nueva definición de bacteremia asociada a daño de la barrera mucosa.³²

Se registró el tiempo posterior al cultivo en el que se inició el antibiótico así como el tipo de antibiótico recibido. Se clasificó el tratamiento como correcto en caso de que el Enterococco fuera susceptible y el antibiótico se iniciara a menos de 48 hrs del cultivo, incorrecto en caso de que el Enterococco fuera resistente al antibiótico iniciado independientemente del tiempo de inicio del antibiótico e inoportuno en caso de que el Enterococco fuera sensible al antibiótico iniciado pero la administración inició 48 hrs después del hemocultivo positivo. Se analizó la mortalidad general a 30 días y a un año y además se determinó la mortalidad atribuible a bacteremia por *E. faecium*.

7. RESULTADOS

Entre el año 2008 y 2012 se tomaron 15,095 hemocultivos con un aumento de 37% del número de hemocultivos en 2012 respecto a 2008. De estos 2,568 fueron positivos para cocos gram positivos de los cuales 77 correspondieron a bacteremia por *E. faecium*, 58 de ellas en pacientes hemato-oncológicos (76.6%), las cuales fueron analizadas en el estudio. 29 eran mujeres (50%), con edad media de 36.9 años (15-78). 35 fueron sensibles a Vancomicina (60.3%) y 23 resistentes (39.6%). El diagnóstico oncológico más frecuente en los casos de *EFmVS* fue Leucemia Mieloide Aguda (34.29%) y en los de *EFmVR* fue Leucemia Linfoblástica Aguda (52.17%) sin diferencia significativa de los diagnósticos entre grupos ($p=0.401$) (Gráfica1). Como tipo de neoplasia predominó la Leucemia en los casos estudiados (41%). 13 pacientes (22.4) tenían comorbilidades dentro de las que se incluían Hipertensión Arterial, Diabetes Mellitus y VIH sin diferencias entre ambos grupos ($p=0.0.920$).



Gráfica 1. Bacteremia por *E. faecium* de acuerdo al tipo de neoplasia

36 pacientes tuvieron bacteremia en el periodo de 90 días previo al ingreso, con mayor proporción de pacientes con *EFmVR* afectados (78.2% vs 51.4%) con una diferencia significativa ($p=0.039$), respecto al tipo de microorganismo en la bacteremia previa predominaron bacilos gram negativos (73.8%), sin embargo, los aislamientos de cocos gram positivos fueron mas frecuentes en los pacientes que posteriormente desarrollaron bacteremia por *EFmVR* (27.3% vs 15%) $p= 0.072$.

45 pacientes (77.6) tuvieron hospitalización en los 90 días previo al ingreso actual, sin diferencias entre grupos. El motivo de internamiento actual mas frecuente en general fue neutropenia grave y fiebre. Hubo con mas frecuencia ingresos para estadificación de la enfermedad en el grupo de *EFmVS* lo cual nos habla de pacientes en etapas mas tempranas de la evolución de la neoplasia lo cual se confirmó al clasificar el estado de la enfermedad al ingreso que fue con mas frecuencia reciente diagnóstico en el grupo de *EFmVS* (p=0.027).

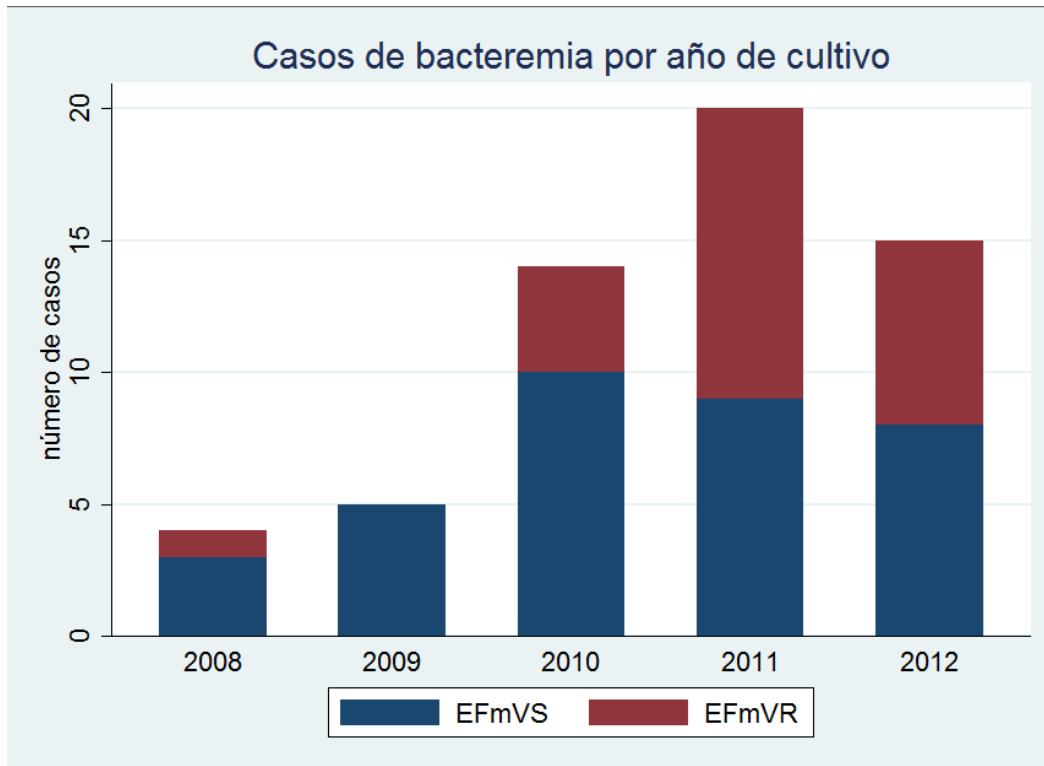
Tabla 1. Características demográficas de los pacientes bacteremia

N (%) o mediana (RIQ)	Todos	EFmVS	EFmVR	valor <i>P</i>
	n= 58	n=35	n= 23	
Sexo masculino	29 (50)	18 (51.43)	11 (47.8)	0.788
Edad	37(19-52)	37 (19-53)	28 (18-50)	0.466
Diagnóstico Oncológico				0.91
Leucemia	41 (70.6)	24 (68.5)	17 (73.9)	
Linfoma	13 (22.4)	8 (22.8)	5 (21.7)	
Otros *	4 (6.9)	3 (8.5)	1 (4.3)	
Comorbilidades \bar{T}	13 (22.4)	8 (22.2)	5 (21.7)	0.92
Bacteremia 3 meses antes	36 (62)	18 (51.4)	18 (78.2)	0.039
Germen en bacteremia previa				
Cocos gram positivos	9 (21.4)	3 (15)	6 (27.3)	0.072
Bacilos gram negativos	31 (73.8)	16 (80)	15 (68.2)	0.145
Hongos	2 (4.8)	1 (5)	1 (4.5)	0.761
Infección previa por <i>E faecium</i>	6 (10.3)	4 (11.4)	2 (8.6)	0.667
<i>EFm Vancomicina Sensible</i>	5 (83.3)	3 (75)	2 (100)	
<i>EFm Vancomicina Resistente</i>	1 (16.7)	1 (25)	0	
Hospitalización 3 meses previos	45 (77.6)	26 (74.3)	19 (82.6)	0.457
Motivo de internamiento actual				0.781
Quimioterapia	14(24.1)	8 (22.8)	6 (26.0)	
Neutropenia febril	17 (29.3)	9 (25.7)	8 (34.7)	
Fiebre sin neutropenia	6 (10.3)	3 (8.5)	3 (13.0)	
Estadificación	12 (20.6)	9 (25.7)	4 (13.0)	
Otros	8 (13.7)	5 (14.2)	5 (13.0)	
Estado de la enfermedad al ingreso				0.044
Reciente diagnóstico	17 (29.3)	14 (40.0)	3 (13.4)	0.027
Progresión/recaída	38 (65.5)	18 (51.4)	20 (86.9)	0.005
Remisión	3 (5.1)	3 (8.5)	0	0.149
QT durante la hospitalización	43 (74.3)	23 (65.7)	20 (86.9)	0.071
QT mas profilaxis antibiótica	10 (17.2)	2 (5.71)	8 (34.7)	0.015

*Síndrome mielodisplásico, anemia aplásica \bar{T} 4 DM, 2 HTAS, 2 DM e HTAS 2 VIH, 3 otras
 QT: Quimioterapia

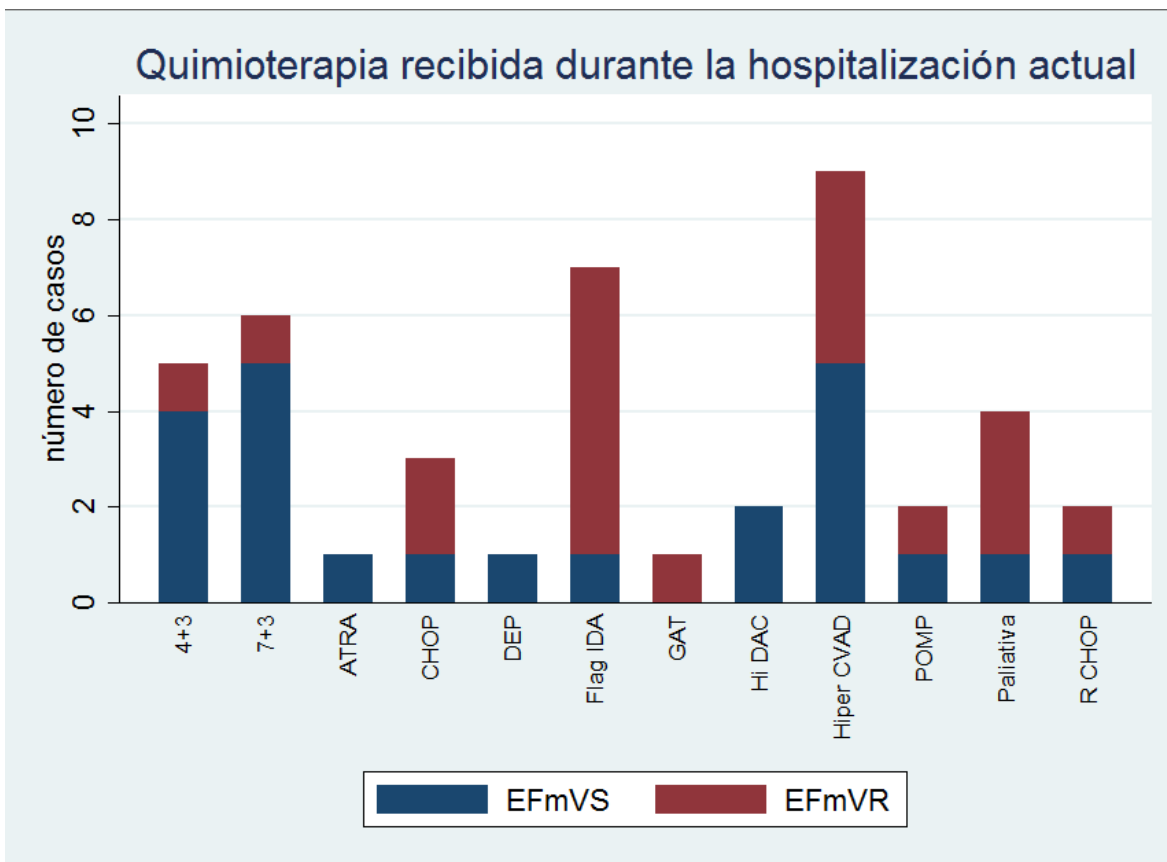
Respecto al año de aislamiento el primer caso de *EFmVR* fue en 2008 pero no hubo casos reportados en 2009 en este grupo de pacientes. En 2010 hubo casi tres veces mas aislamientos de

E faecium que el año previo, con predominio de *EFmVS*, sin embargo, el año con mayor número de casos en general y de *EFmVR* en particular fue 2011 (20 y 11 respectivamente). (Gráfica 2)



Gráfica 2. Casos de bacteremia por año de cultivo

45 de los pacientes (77.6%) tuvieron bacteremia primaria. 7 pacientes (12%) tuvieron bacteremia polimicrobiana sin diferencias entre grupos. 21 (36.2%) pacientes tuvieron cultivos subsecuentes positivos con 50% mas frecuencia en el grupo de *EFmVR* ($p=0.02$). 55 (94.8%) pacientes tenían catéter venoso central. La media de días de estancia del catéter previo a la bacteremia fue de 51.76 (± 49.94), con un mínimo de 2 y máximo de 100, sin diferencias entre grupos($p=0.818$) . La mediana de estancia hospitalaria precultivo fue de 17.5 (9-30) en general, con una tendencia a mayor estancia precultivo en el grupo de *EFmVR* ($p=0.07$) y postcultivo fue de 13 (6-24) sin diferencias entre grupos ($p=0.923$). 43 pacientes (74.3%) recibieron quimioterapia durante la hospitalización. El esquema mas frecuente en general fue HiperCVAD en 9 pacientes (20.9%). En el grupo de *EFmVR* la quimioterapia mas frecuente fue Flag IDA (30%) seguida de *HiperCVAD* (20%). La distribución de las bacteremias de acuerdo al tipo de quimioterapia se muestra en la Gráfica 3.



Gráfica 3. Distribución de los aislamientos de acuerdo al tipo de Quimioterapia recibida.

Al agrupar a los pacientes con quimioterapia que además recibieron tratamiento antibiótico profiláctico se encontró esta característica con mayor frecuencia en pacientes con *EFmVR* con una diferencia significativa ($p=0.015$). El esquema profiláctico más utilizado fue con Trimetoprim/Sulfametoxazol seguido de Amoxicilina con Acido clavulánico sin diferencias significativas para un antibiótico específico en algún grupo. No hubo diferencias respecto al cuadro clínico en ambos grupos. 51 pacientes tuvieron neutropenia, 46 (79.3%) profunda, 3 severa (5.2%), 1 moderada (1.72%), 1 leve (1.72%) con una tendencia a la diferencia entre grupos en los casos con neutropenia profunda (*EFmVS* 25 (71.4%) vs *EFmVR* 21 (91.3%) ($p=0.068$). Los pacientes con bacteremia por *EFmVR* tuvieron con mayor frecuencia una cuenta de linfocitos <200 con una diferencia significativa ($p=0.035$). La mediana de días de neutropenia previo al evento fue de 10 (4-15), de días de estancia del CVC previo al evento fue de 29 (14-85) sin diferencias entre los grupos. La mediana de días de estancia preevento fue de 17.5 (9-30) en general con una tendencia a una mayor estancia en el grupo de *EFmVR* ($p=0.07$). La mediana de días de estancia postevento fue de 13 (6-24) sin diferencias entre los grupos.

Tabla 2. Características clínicas y de laboratorio de la estancia hospitalaria				
N (%) o mediana (RIQ)	Todos	EFmVS	EFmVR	valor P
	n= 58	n=35	n= 23	
Cuadro clínico				
Fiebre	55 (94.8)	33 (94.2)	22 (95.6)	0.818
Diarrea	27 (46.5)	16 (45.7)	11 (47.8)	0.875
Colitis neutropénica	20 (34.4)	12 (34.2)	8 (34.7)	0.969
Choque séptico	9 (15.5)	5 (14.2)	4 (17.3)	0.749
Tipo de bacteremia				0.453
Primaria	45 (77.6)	27 (77.1)	18 (78.3)	
Secundaria	5 (8.6)	2 (5.7)	3 (13)	
Relacionada a catéter	8 (13.8)	6 (17.1)	2 (8.7)	
Bacteremia con daño a barrera mucosa				
Bacteremia polimicrobiana	42 (72.41)	25 (71.43)	17 (73.91)	0.836
Cultivos subsecuentes positivos	7 (12)	4 (11.4)	3 (13)	0.853
Linfopenia <200 cel/mm ³	21 (36.2)	7 (20)	14 (60.8)	0.02
Neutropenia profunda	48 (82.76)	26 (74.29)	22 (96.65)	0.035
Días de Neutropenia preevento	46 (79.31)	25 (71.4)	21 (91.3)	0.068
Días de CVC preevento	10 (4-15)	7 (3-14)	13 (6-32)	0.068
Catéter venoso central(CVC)	55 (94.8)	33 (94.2)	22 (95.6)	0.818
Días de CVC preevento	29 (14-85)	25.5 (15-72)	32 (13-110.5)	0.378
Apoyo nutricio (si/no)	17 (29.2)	10 (28.5)	7 (30.4)	0.879
Días de NPT/Nutrición enteral	11 (4-17)	10 (4-17)	16 (4-22)	0.464
Ingreso a Terapia Intensiva	9 (15.5)	4 (11.4)	5 (21.7)	0.289
Cirugías	4 (6.9%)	3 (8.57%)	1 (4.35%)	0.535
Días de estancia preevento	17.5 (9-30)	15 (7-25)	21 (14-33)	0.07
Días de estancia postevento	13 (6-24)	13 (4-24)	13 (7-28)	0.923
Días de estancia totales	33.5 (20-50)	33 (27-55)	34(16-45)	0.454

4 pacientes tuvieron 2 eventos de bacteremia por *E faecium* en diferentes hospitalizaciones todos inicialmente sensibles a Vancomicina y en 2 de estos casos el segundo evento fue por EFmVR. 21 pacientes (36.2%) tuvieron cultivos subsecuentes positivos en el mismo internamiento de los cuales 2 tuvieron el primer cultivo positivo a EFmVS y el segundo EFmVR. 7 pacientes (12%) tuvieron bacteremia polimicrobiana 2 por *Escherichia coli* BLEE y 2 por *Staphylococcus*, 2 por *Cándida* y uno por *Corynebacterium*. 6 pacientes (10.3%) tuvieron aislamiento de *Enterococco faecium* en otro sitio durante el evento de bacteremia (3 en urocultivo, 1 en cultivo de líquido pleural, 1 en cultivo de herida quirúrgica y 1 en cultivo de secreción bronquial) sin diferencias entre grupos.

13 pacientes (22.4%) tuvieron tratamiento antibiótico profiláctico, 10 de ellos asociado al protocolo de quimioterapia recibida (Ida FLAG e Hiper CVAD mantenimiento) con una diferencia significativa en general ($p=0.013$) y en los pacientes con quimioterapia ($p=0.015$). 55 pacientes (94.8%) tuvieron tratamiento terapéutico previo al cultivo, 91.4% en el grupo de *EFmVS* vs 100% en el grupo de *EFmVR* ($p=0.149$). Siendo el antibiótico más usado Aminoglucósidos, seguido por Carbapenémico y Ceftazidima. Hubo una diferencia significativa respecto al uso previo de Vancomicina entre los grupos 65.2% en *EFmVR* vs 25% en *EFmVS* ($p=0.001$). Al comparar los días de antibiótico previo no hubo diferencias entre grupos para ninguno de los antibióticos analizados. 50 pacientes recibieron tratamiento antibiótico dirigido contra bacteremia por *Enterococcus faecium* de los cuales 38 (65.5%) recibieron Vancomicina la cual fue inadecuada para tratar 6 de los casos por tratarse de microorganismos resistentes. 10 pacientes (17.2%) recibieron Linezolid y 2 Teicoplanina (3.4%). El tratamiento fue correcto en 27 (54%) de los pacientes, sin embargo, fue inoportuno en 17 (34%) e incorrecto en 6 (12%) lo cual fue significativamente diferente entre grupos. (Tabla 3)

Tabla 3. Tratamiento previo y actual.				
N (%) o mediana (RIQ)	Todos	EFmVS	EFmVR	valor P
	n= 58	n=35	n= 23	
Tx AB profiláctico previo	13 (22.41)	4 (11.43)	9 (36.13)	0.013
Neutropenia profunda + Tx profiláctico	11 (18.9)	3 (8.5)	8 (34.7)	0.018
Tx AB terapéutico previo si/no	55 (94.8)	32 (91.4)	23 (100)	0.149
Cefalosporinas 3a generación	43 (74.1)	25 (71.4)	18 (78.2)	0.561
Carbapenémico	49 (89)	31 (96.8)	18 (78.2)	0.289
Aminoglucósido	50 (90.9)	28 (87.5)	22 (95.6)	0.091
Metronidazol	29 (52.7)	17 (53.1)	12 (52.1)	0.788
Vancomicina	23 (41.8)	8 (25)	15 (65.2)	0.001
Neutropenia profunda + Tx terapéutico	46 (79.31)	25 (71.43)	21 (91.3)	0.068
Tx bacteremia por <i>Enterococcus faecium</i>				<0.001
Ninguno	8 (13.7)	4 (11.4)	4 (17.3)	
Vancomicina	38 (65.5)	31 (88.5)	7 (30.4)	
Linezolid	10 (17.2)	0	10 (43.4)	
Teicoplanina	2 (3.4)	0	2 (8.7)	
Duración del tratamiento	10 (5-14)	10 (7-14)	9 (5-14)	0.872
Tx correcto o no				<0.001
Correcto	27 (54)	24 (77.4)	3 (15.7)	
Inoportuno	17 (34)	6 (19.3)	11 (57.8)	
Incorrecto	6 (12)	1 (3.23)	5 (26.3)	

Tx: Tratamiento. Tx correcto: microorganismo susceptible e inicio del antibiótico en <48 hrs del cultivo. Tx incorrecto: microorganismo resistente al antibiótico usado, Tx inoportuno: iniciado > 48 hrs después del cultivo

Los pacientes ambos grupos tuvieron alta mortalidad, la cual fue de 46 (79.3%) de los casos a 1 año, con una mortalidad atribuible a bacteremia por *E. faecium* de 15 casos (25.8%) con una tendencia mayor en los casos por *EFmVR* (39.1% vs 17.1%) ($p=0.061$). (Tabla 4)

Tabla 4. Mortalidad general y atribuible a bacteremia por <i>Enterococcus faecium</i>				
N (%)	Todos	EFmVS	EFmVR	valor P
	n= 58	n=35	n= 23	
Desenlace a 30 días general				0.421
Vivo	29 (50)	19 (54.2)	10 (43.4)	
Muerto	29 (50)	16 (45.7)	13 (56.5)	
Desenlace a 1 año general				0.615
Vivo	12 (20.6)	8 (22.8)	4 (17.3)	
Muerto	46 (79.3)	27 (77.1)	19 (82.6)	
Mortalidad atribuible	15 (25.8)	6 (17.1)	9 (39.1)	0.061
Tx: Tratamiento				

Se realizaron estudios moleculares en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) para analizar todas las cepas de *EFmVR*, con los cuales mediante Perfil Electroforético de campos pulsados se confirmó la identificación de *EFmVR* en todas las muestras y el patrón de resistencia identificado fue el gen *VanA* en 100% de las muestras.

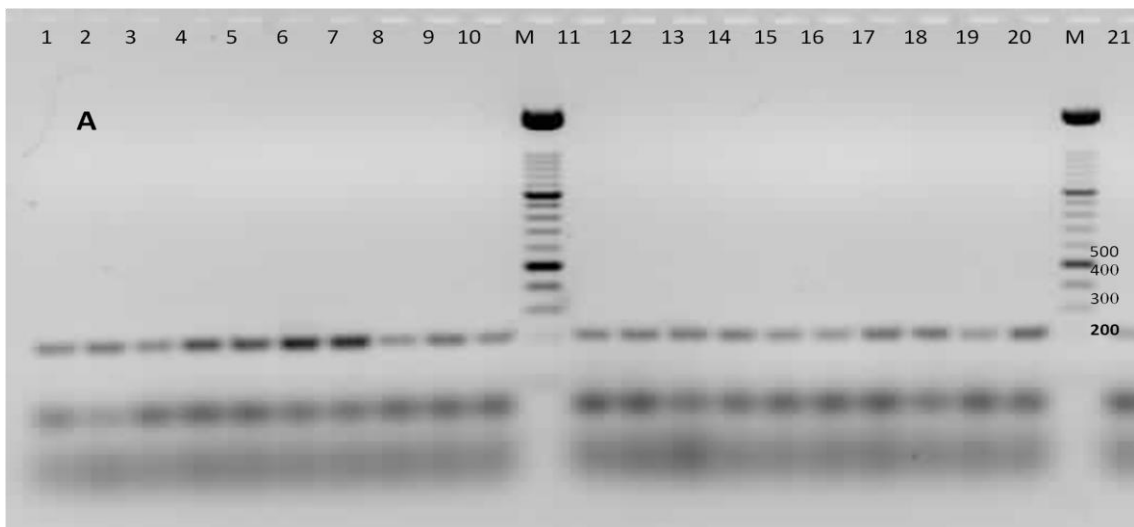


Figura 3: Patrón electroforético para la identificación molecular de *Enterococcus faecium* mediante PCR en gel de agarosa al 1.5% con 100 V. Se identifica por un fragmento aproximado a 214 pb

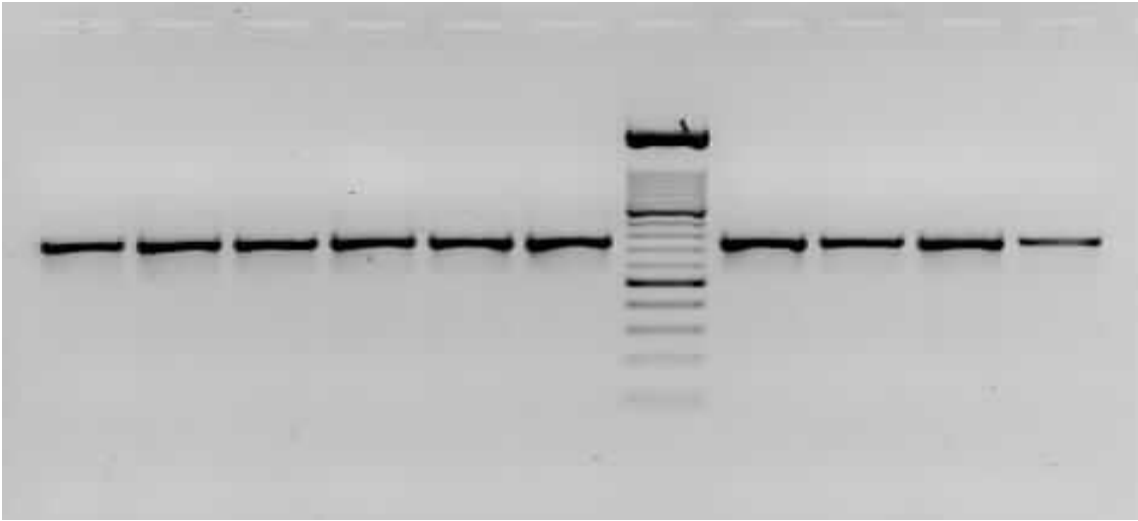


Figura 4: Presencia del gen de resistencia *vanA R* amplificado por PCR con un peso molecular de 700 pb, por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% con 100 V, teñido con Bromuro de etidio al 0.05%.

8. DISCUSIÓN

El *EFmVR* se detectó por primera vez en el INCa en 2008. Este fue identificado en una paciente previamente tratada en EUA donde el microorganismo tiene alta resistencia. Previo a esto en el Instituto hubo dos sucesos importantes: la aparición y desarrollo de un brote de *SARM* con lo cual aumentó el consumo de Vancomicina en los pacientes;³⁹ y el inicio del Programa de Seguro Popular que es un sistema mediante el cual los pacientes tienen acceso sin costo a tratamiento oncológico, lo que ha aumentado el número de pacientes con segundas y terceras líneas de quimioterapia. Estos dos antecedentes permitieron que el *EFmVR* encontrara un ambiente propicio para establecerse como patógeno nosocomial.

En nuestro estudio se encontró que los pacientes con bacteremia por *EFmVS* tuvieron con mayor frecuencia etapas tempranas de la enfermedad hematológica al momento de ingreso lo cual correlaciona con que han estado expuestos menos al ambiente hospitalario, a uso de quimioterapia y de antibióticos de amplio espectro en repetidas ocasiones y a microorganismos multidrogosresistentes hospitalarios, por lo tanto, su microbiota intestinal aun no tiene *EFmVR* o éste no está en cantidades importantes para traslocar y ser causal de bacteremia.

Respecto a los resultados de laboratorio estos tuvieron diferencias en la cuenta de leucocitos. Los pacientes con bacteremia por *EFmVR* tuvieron una tendencia a tener mas casos de neutropenia profunda con una duración de la misma previo al evento mas prolongada. Así mismo tuvieron significativamente mas casos de linfopenia profunda al momento de la bacteremia lo cual se ha descrito como un factor asociado a bacteremia secundario a sepsis con secuestro linfocitario en los sitios de infección.⁴⁰

Los pacientes con *EFmVR* tuvieron con mayor frecuencia cultivos subsecuentes positivos, esto puede deberse a mayor virulencia de esta microorganismo pero también al hecho de que con mayor frecuencia este grupo tuvo un tratamiento incorrecto para la resistencia y recibió el tratamiento adecuado tardíamente hasta que se supo que se trataba de un *EFmVR*. Además los medicamentos actuales son bacteriostáticos no bactericidas por lo que el aclaramiento puede tardar mas.

Se ha demostrado mediante estudios epidemiológicos que la transmisión de *EFmVR* ocurre principalmente en hospitales. ⁴¹57 (98.2%) de los episodios de bacteremia estudiados correspondían a infección nosocomial y uno de ellos fue una infección asociada a cuidados de la salud. Se ha probado que la aplicación de estrategias de prevención es útil para reducir y eliminar la transmisión en el ambiente hospitalario.⁴² Estas estrategias incluyen: búsqueda de pacientes colonizados por *EFmVR* mediante hisopado perianal, principalmente dirigido a personas que han estado hospitalizados más de 72 hrs, con enfermedad de base considerable como pacientes con hemodiálisis, cáncer, receptor de trasplante, en terapia intensiva, con tratamiento antibiótico prolongado o con medios invasivos.⁴³

Al aplicar la nueva definición de bacteremia asociada a daño a barrera mucosa emitida en Abril 2013 por la CDC,³² se encontró que esta tenía una frecuencia similar en casos de *EFmVS* y *EFmVR*. Por lo tanto, se infiere que el tener bacteremia por una cepa resistente o sensible depende de cual de éstas este colonizando el tracto digestivo.

Conocer la colonización por *E faecium* nos permite otorgar un tratamiento empírico dirigido en caso de bacteremia por cocos gram positivos. Un estudio en busca de colonización por hisopado rectal realizados durante un brote de *E. faecium* nosocomial demostró que los cultivos identificaron *E faecium* solo en 1.8% de las muestras (34/1863) lo cual es una estrategia que no es costo efectiva.⁴⁴ Se estima que 2% de los pacientes colonizados desarrollan bacteremia pero esto dependerá de factores asociados como neutropenia y mucositis. Bossaer y colaboradores estudiaron a 53 pacientes neutropénicos colonizados por *EFmVR* y encontraron que 38% desarrollaron una infección por *EFmVR*, 26% de estas correspondieron a bacteremia.⁴⁵

En el INCan no se realiza rutinariamente hisopado rectal para determinar colonización, sin embargo, actualmente se lleva a cabo un protocolo de colonización al ingreso al hospital y posterior quimioterapia y se hará correlación con los episodios de bacteremia que presenten los pacientes colonizados para así definir adecuadamente la utilidad de esta estrategia en nuestra población con NH.

El uso previo de antibióticos es un factor de riesgo para infección por *EFmVR*. Esto se debe a dos mecanismos, primero, aumento de la susceptibilidad a adquirir *EFmVR* al suprimir la flora normal y así brindar ventaja selectiva para la supervivencia de *EFmVR* adquirido por transmisión cruzada.

Segundo, mayor probabilidad de transmisión a otros pacientes por aumento en la concentración de *EFmVR* en heces y, por lo tanto, en el ambiente lo cual aumenta el riesgo de transmisión cruzada.⁴⁶

Los antibióticos que se han relacionado con *EFmVR* son Cefalosporinas de tercera generación, antibióticos con actividad antianaerobia y glicopéptidos.^{47,48} De la misma manera, otros estudios han demostrado que la reducción en el uso de estos antibióticos reduce la prevalencia de *EFmVR*. En nuestra población de estudio el diagnóstico de ingreso mas frecuente es neutropenia febril en población inmunocomprometida por lo que el uso de antibióticos de amplio espectro es necesario, sin embargo, se debe hacer un abordaje completo de forma temprana para identificación oportuna del microorganismo causal y ajuste del tratamiento antibiótico a uno de menor espectro dirigido contra el aislamiento final. El uso de Vancomicina en estos pacientes se considera en situaciones específicas como bacteremia relacionada a catéter, infección de piel y tejidos blandos, neumonía, e inestabilidad hemodinámica. En caso de que después de 48 hrs de iniciada la Vancomicina no se haya confirmado infección por gram positivos susceptibles, esta debe suspenderse.⁴⁹

Un elemento que se encontró en nuestro estudio es que los pacientes con bacteremia por *EFmVR* tienen con mayor frecuencia un tratamiento incorrecto o inoportuno ya que el tratamiento empírico de bacteremia por cocos gram positivos es con Vancomicina que no actúa contra este microorganismo. El tratamiento incorrecto se ha encontrado como un factor de riesgo independiente para mortalidad, que aumenta proporcionalmente con los días de retraso.^{50,51}

Al igual que en otras infecciones, el tratamiento oportuno y correcto es un factor pronóstico importante. Por ello se han desarrollado métodos proteómicos de identificación bacteriana como el MALDI-TOF (Matrix assisted laser, desorption/ionization mass spectrometry - Time of flight) este método permite la identificación bacteriana basada en el perfil de proteínas obtenido mediante espectrometría de masas con eficacia en bacterias gram positivas, gram negativas, anaerobios, micobacterias y hongos a partir de los medios de cultivo habituales. La ventaja de este método es obtienes resultados confiables en menos de un minuto por muestra. La desventaja principal es que por el momento no brinda información sobre sensibilidad antibiótica aunque existe la posibilidad de que se adapte el sistema para que en un futuro identifique los genes de resistencia. En un

estudio sobre el uso del MALDI-TOF para la identificación de *E faecium*, éste tuvo una sensibilidad del 92.4% y una especificidad del 85.2%.⁵² Por otro lado, la técnica de hibridación in situ por fluorescencia (FISH) permite la detección de secuencias de ADN específicas mediante la hibridación de sondas marcadas con un fluorocromo, permitiendo su detección y visualización posterior con un microscopio de fluorescencia. Esta técnica se puede aplicar en distintos tipos de muestra. Los resultados se obtienen en 2.5 hrs con una fluorescencia roja siendo sugestiva de *E. faecium*. Se han hecho estudios demostrando que aplicar la prueba FISH en hemocultivos positivos para cocos gram positivos en cadenas o pares ha permitido la identificación temprana de *E faecium* lo cual se asoció con una reducción significativa del tiempo de identificación del microorganismo, del tiempo de inicio de tratamiento efectivo y mortalidad a 30 días.⁵³

En nuestro medio proponemos que el inicio de Linezolid se considere en pacientes que han recibido esquemas de antibiótico previo con Cefalosporinas de tercera generación, Metronizadol y/o Vancomicina, con neutropenia prolongada, linfopenia menor de 200 cel/mm³ y con mucositis quienes tengan un hemocultivo positivo para un coco gram positivo en pares o cadenas sugestivo de enterococco. En caso de infección previa o colonización conocida por EFmVR considerar inicio temprano de Linezolid en vez de Vancomicina dentro del protocolo de neutropenia febril. Además se está valorando la incorporación de los métodos de identificación bacteriana temprana como el MALDI-TOF.

En muchos centros se ha promovido el control de antibióticos para infecciones por microorganismos MDR. La Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA) propuso crear un comité de vigilancia antibiótica para el control de los mismos y así disminuir la cantidad de microorganismos MDR incluidos en el acrónimo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Enterobacter sp*).⁵⁴

En nuestro estudio se encontró relación con el uso previo de Vancomicina y la bacteremia por EFmVR. No hay estudios prospectivos sobre impacto del control de antibióticos, en específico de Vancomicina sobre la incidencia de EFmVR. En un metanálisis sobre ésta intervención se encontraron resultados contradictorios en diferentes estudios, dificultad para determinar si la

reducción de incidencia es por la restricción de Vancomicina o por otras medidas que se aplican en conjunto por lo que se concluye que no se puede demostrar beneficio.⁵⁵

Los pacientes con bacteremia por *EFmVR* tuvieron con mayor frecuencia uso de quimioterapias de segunda línea como IDA Flag e HiperCVAD en los que se recomienda el uso de profilaxis antimicrobiana como parte del esquema de quimioterapia, por lo tanto, estos pacientes también tuvieron significativamente mayor uso de profilaxis antibiótica que se ha encontrado como un factor que altera la microbiota intestinal favoreciendo el aumento de *entoerococcus* potencialmente patógenos.⁵⁶

En un estudio sobre el impacto de la profilaxis antibiótica y el tratamiento de la neutropenia febril en pacientes hematológicos se encontro que con el uso de profilaxis con Levofloxacino disminuyo la tasa de bacteremias por gram negativos de 4.7 a 1.8 episodios/1000 días paciente ($P < 0.05$), la tasa de bacteremia por gram positivos no cambio pero hubo mas aislamientos de *EFmVR* después de la intervención.⁵⁷ Por otro lado se han hecho estudios que describen el impacto de no usar profilaxis en pacientes con NH y neutropenia encontrando que esta medida no se asoció con mayor mortalidad al compararse con otros centros pero si con permanencia de microorganismos sensibles en los pacientes con bacteremia y una proporción estable de bacteremias por gram positivos.⁵⁸

A partir de 2011 se ha vigilado mas estrechamente el uso de Vancomicina en nuestro hospital, así como los tratamientos antibióticos profilácticos en pacientes neutropénicos sin fiebre como intervención para reducir el *EFmVR*. Además se han hecho varias campañas de lavado e higiene de manos, se estableció el aislamiento de los pacientes con *EFmVR* colonizados o infectados, se realizaron cultivos ambientales encontrando *EFmVR* en las mesas de pacientes y en los barandales por lo que reforzaron las técnicas de limpieza adecuadas.

Algunos estudios sugieren que las infecciones producidas por *E. faecium* tienen mal pronóstico comparadas con las ocasionadas con *E. faecalis*, principalmente en pacientes con cáncer, debido a que *E. faecium* presenta un grado de resistencia a los antibióticos mayor.⁵⁹

En un metanálisis sobre la mortalidad entre bacteremia por EVR Enterococcus Vancomicina resistentes vs Enterococcus Vancomicina sensibles que incluyó en total 1,614 bacteremias por enterococco en pacientes con diferentes enfermedades de base encontró un OR de 2.52 (1.9-3.4) de mortalidad en pacientes con resistencia a Vancomicina. Este resultado es similar a lo encontrado en un estudio prospectivo sobre bacteremia por enterococco en una población heterogénea en donde se encontró un OR de 2.1 con IC 1.14-3.88). Sin embargo, esto puede no ser representativo de nuestra población inmunosuprimida con bacteremia principalmente de tipo primario.^{60,61} En general se considera que 18 a 42% de los pacientes mueren. En nuestro estudio hubo una mortalidad de 50% a 30 días y 79% a un año con una mayor proporción en pacientes con EFmVR pero sin diferencia significativa. Esto puede deberse a que los pacientes con cepas resistentes tuvieron con mayor frecuencia tuvieron un tratamiento inoportuno o inadecuado de acuerdo al patrón de resistencia.

Estudios previos en población general han una mortalidad atribuible a bacteremia por EFmVR del 76%.⁶² Que es mayor que lo encontrado en pacientes post TMO con una mortalidad atribuible de 9%.⁶³ En nuestro estudio la mortalidad atribuible fue de 25% (15/58) en general, 6 con EFmVS (17.14%) y 9 (39.13%) con EFmVR ($p=0.061$).

9. CONCLUSIONES

No hay estudios previos iguales al nuestro realizados específicamente en pacientes hematológicos comparando bacteremia por *E faecium* sensible vs resistente a Vancomicina. Al igual que en otras poblaciones en aislamientos de diversos sitios se encontró relación con el uso previo de Vancomicina como factor de riesgo, pero en nuestro estudio se analizó además el uso de antibiótico profiláctico el cual se encontró significativamente relacionado con el desarrollo de bacteremia por EFmVR sobretodo en pacientes con neutropenia profunda y con quimioterapia. Además de que aplicamos la reciente definición de bacteremia asociada a daño a barrera mucosa que es mas frecuente en este tipo de pacientes encontrándose en 72% de los pacientes estudiados.

Limitantes:

Las limitantes son que no se conoce el estado de colonizado o no colonizado de los pacientes. No se tuvieron las cepas de EFmVS para análisis molecular, la muestra es pequeña y el análisis fue retrospectivo.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Kamboj M, Sepkowitz KA. Nosocomial infections in patients with cancer. *Lancet Oncol*. 2009 Jun;10(6):589-97
2. Huoi C, Vanhems P, Nicolle M-C, et al. Incidence of Hospital-Acquired Pneumonia, Bacteraemia and Urinary Tract Infections in Patients with Haematological Malignancies, 2004–2010: A Surveillance-Based Study. *PLoS ONE* 8(3): e58121.
3. Kuderer NM, Dale DC, Crawford J. et al. Mortality, morbidity, and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer*. 2006 May 15;106(10):2258-66.
4. Scharek L, Guth J, Reiter K, et al. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. *Vet Immunol Immunopathol*. 2005 May 1;105(1-2):151-61
5. Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, et al. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol*. 1990 Mar;28(3):435-7.
6. Deshpande LM, Fritsche TR, Moet GJ. et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007 Jun;58(2):163-70.
7. Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004 Sep;50(1):59-69.
8. Sifuentes-Osornio J, Guerrero-Almeida MC, Ponce de León-Garduño LA, et al. Trends for bacteremia and risk factors for death in a tertiary hospital in Mexico City. 1981-1992. *Gac Med Mex*. 2001 May-Jun;137(3):191-202
9. Cornejo-Juárez P, Velásquez-Acosta C, Díaz-González A, et al. Trend of antimicrobial drug-susceptibility of blood isolates at an oncological center (1998-2003). *Salud Publica Mex*. 2005 Jul-Aug;47(4):288-93.
10. Cuellar-Rodríguez J, Galindo-Fraga A, Guevara V, et al. Vancomycin-resistant enterococci, Mexico City. *Emerg Infect Dis*. 2007 May;13(5):798-9.
11. Homan WL, Tribe D, Poznanski S et al. Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1963–1971.
12. Willems RJ, Top J, van Santen M, et al. Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. *Emerg Infect Dis*. 2005 Jun;11(6):821-8.
13. Palmer KL, Gilmore MS. Multidrug-resistant enterococci lack CRISPR-cas. *MBio*. 2010 Oct 12;1(4). pii: e00227-10.
14. Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, Hanage WP, Spratt BG. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J Bacteriol* 2004; 186: 1518–1530.
15. Nallapareddy, S. R., Singh, K. V., Okhuysen, P. C. & Nallapareddy SR, Singh KV, Okhuysen PC, et al. A functional collagen adhesin gene, *acm*, in clinical isolates of *Enterococcus faecium* correlates with the recent success of this emerging nosocomial pathogen. *Infect Immun*. 2008 Sep;76(9):4110-9.
16. Rice LB, Lakticová V, Carias LL, et al. Transferable capacity for gastrointestinal colonization in *Enterococcus faecium* in a mouse model. *J Infect Dis*. 2009 Feb 1;199(3):342-9.
17. Worth L.J. Slavin M.A, Vankerckhoven, et al. Virulence determinants in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* vanB: clonal distribution, prevalence and significance of *esp* and *hyl* in Australian patients with haematological disorders. *Journal of Hospital Infection* (2008) 68, 137e144.

18. Oancea C, Klare I, Witte W, Werner G. Conjugative transfer of the virulence gene, *esp*, among isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. J Antimicrob Chemother. 2004 Jul;54(1):232-5.
19. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 1993 Aug;37(8):1563-71.
20. Palmer KL, Daniel A, Hardy C, et al. Genetic basis for daptomycin resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Jul;55(7):3345-56.
21. Iwen PC, Kelly DM, Linder J, et al. Change in prevalence and antibiotic resistance of Enterococcus species isolated from blood cultures over an 8-year period. Antimicrob Agents Chemother. 1997; 41(2): 494-495.
22. Zaas AK, Song X, Tucker P, et al. Risk Factors for Development of Vancomycin- Resistant Enterococcal Bloodstream Infection in Patients with Cancer Who Are Colonized with Vancomycin-Resistant Enterococci. Clin Infect Dis. 2002 Nov 15;35(10):1139-46.
23. Murray BE. Vancomycin resistant enterococcal infections, NEJM 2000. N Engl J Med. 2000 Mar 9;342(10):710-21.
24. Brandl K, Plitas G, Mihic CN, et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. Nature. 2008 Oct 9;455(7214):804-7.
25. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. N Engl J Med. 2000 Dec 28;343(26):1925-32.
26. Bhalla A, Pultz NJ, Ray AJ, et al. Antianaerobic antibiotic therapy promotes overgrowth of antibiotic-resistant, gram-negative bacilli and vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. Infect Control Hosp Epidemiol. 2003 Sep;24(9):644-9.
27. Zwieler J, Lassl C, Hippe B. Changes in human fecal microbiota due to chemotherapy analyzed by TaqMan-PCR, 454 sequencing and PCR-DGGE fingerprinting. PLoS One. 2011;6(12):e28654.
28. Suppola JP, Volin L, Valtonen VV, Vaara M. Overgrowth of Enterococcus faecium in the feces of patients with hematologic malignancies Clin Infect Dis. 1996 Oct;23(4):694-7.
29. Blijlevens N.M.A., Donnelly JP, De Pauw BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. Bone Marrow Transplant. 2000;25:1269-1278.
30. Xie H-J, Griskevicius L, Broberg U, et al. Alteration of pharmacokinetics of cyclophosphamide and suppression of the cytochrome P450 genes by ciprofloxacin. Bone Marrow Transplant. 2003;31:197-203
31. O'Brien SN, Blijlevens NM, Mahfouz TH, et al. Infections in patients with hematological cancer: recent developments. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2003:438-72.
32. April 2013 CDC/NHSN Protocol Corrections, Clarification, and Additions. página web consultada en <http://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/9pscscscurrent.pdf>. el 11/07/13 a las 13 hrs.
33. Linden PK. Optimizing therapy for vancomycin-resistant enterococci (VRE). Semin Respir Crit Care Med. 2007 Dec;28(6):632-45.
34. Linden PK. Treatment options for vancomycin-resistant enterococcal infections. Drugs. 2002;62(3):425-41.
35. Chong YP, Lee SO, Song EH, Lee EJ, et al. Quinupristin-dalfopristin versus linezolid for the treatment of vancomycin-resistant Enterococcus faecium bacteraemia: efficacy and development of resistance. Scand J Infect Dis. 2010 Jul;42(6-7):491-9.
36. Erlandson KM, Sun J, Iwen PC, Rupp ME, et al. Impact of the more-potent antibiotics quinupristin-dalfopristin and linezolid on outcome measure of patients with vancomycin-resistant Enterococcus bacteremia. Clin Infect Dis. 2008 Jan 1;46(1):30-6.

37. McKinnell JA, Patel M, Shirley RM, et al. Observational study of the epidemiology and outcomes of vancomycin-resistant *Enterococcus* bacteraemia treated with newer antimicrobial agents. *Epidemiol Infect.* 2011 Sep;139(9):1342-50.
38. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG. et al. CDC definitions for nosocomial infections. *Am J Infect Control.* 1989 Feb;17(1):42-3.
39. Cornejo-Juárez P, Volkow-Fernández P, Sifuentes-Osornio J, et al. Tracing the source of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary-care oncology hospital by epidemiology and molecular methods. *Microb Drug Resist.* 2010 Sep;16(3):203-8.
40. Hawkins CA, Collignon P, Adams DN, et al. Profound lymphopenia and bacteraemia. *Intern Med J.* 2006 Jun;36(6):385-8.
41. Clark NC, Cooksey RC, Hill BC, Swenson JM, Tenover FC. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:2311-2317.
42. Ostrowsky BE, Trick WE, Sohn AH, et al. Control of vancomycin-resistant enterococcus in health care facilities in a region. *N Engl J Med* 2001;344:1427-1433.
43. Timmers GJ, van der Zwet W, Simoons-Smit IM, et al. Outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a haematology unit: risk factor assessment and successful control of the epidemic. *British Journal of Haematology*, 2002, 116, 826–833.
44. Drews SJ, Johnson G, Gharabaghi F, et al. A 24-Hour Screening Protocol for Identification of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol.* 2006 Apr;44(4):1578-80.
45. Bossaer JB, Hall PD, Garrett-Mayer E. Incidence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) infection in high-risk febrile neutropenic patients colonized with VRE. *Support Care Cancer.* 2010 Feb;19(2):231-7.
46. Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, et al. Epidemiology of colonization of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1996;348:1615-1619.
47. Weinstein JW, Roe M, Towns M, et al. Resistant enterococci: a prospective study of prevalence, incidence, and factors associated with colonization in a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17:36-41.
48. Carmeli Y, Eliopoulos GM, Samore MH. Antecedent treatment with different antibiotics as a risk for vancomycin resistant enterococcus. *Emerg Infect Dis* 2002;8:802-807.
49. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis.* 2011 Feb 15;52(4):e56-93.
50. Suppli M, Aabenhus R, Harboe ZB. et al. Mortality in enterococcal bloodstream infections increases with inappropriate antimicrobial therapy. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Jul;17(7):1078-83.
51. Garbutt J, Ventrappagada M, Littenberg B. Association between Resistance to Vancomycin and Death in Cases of *Enterococcus faecium* Bacteremia. *Clinical Infectious Diseases* 2000;30:466–72.
52. Griffin PM, Price GR, Schooneveldt JM, et al. The use of MALDI-TOF MS to identify Vancomycin Resistant Enterococci and investigate the epidemiology of an outbreak. *J Clin Microbiol.* 2012 Sep;50(9):2918-31 .
53. Forrest GN, Roghmann MC, Toombs LS, et al. Peptide Nucleic Acid Fluorescent In Situ Hybridization for Hospital-Acquired Enterococcal Bacteremia: Delivering Earlier Effective Antimicrobial Therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Oct;52(10):3558-63.
54. Helen W. Boucher, George H. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 2009; 48:1–12.
55. De Bruin M, Riley L. Does vancomycin prescribing intervention affect vancomycin-resistant enterococcus infection and colonization in hospitals? A systematic review. *BMC Infectious Diseases* 2007, 7:24.

56. van Vliet MJ, Tissing WJ, Dun CA, et al. Chemotherapy treatment in pediatric patients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut. *Clin Infect Dis*. 2009 Jul 15;49(2):262-70.
57. Craig M, Cumpston AD, Hobbs GR, et al. The clinical impact of antibacterial prophylaxis and cycling antibiotics for febrile neutropenia in a hematological malignancy and transplantation unit. *Bone Marrow Transplant*. 2007 Apr;39(8):477-82.
58. Kjellander C, Björkholm M, Cherif H, et al. Hematological: Low all-cause mortality and low occurrence of antimicrobial resistance in hematological patients with bacteremia receiving no antibacterial prophylaxis: a single-center study. *Eur J Haematol*. 2012 May;88(5):422-30.
59. Noskin GA, Peterson LR, Warren JR. *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* bacteremia: acquisition and outcome. *Clin Infect Dis*. 1995;20:296-301.
60. DiazGranados CA, Zimmer SM, Klein M, et al. Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2005 Aug 1;41(3):327-33.
61. Vergis EN, Hayden MK, Chow JW, et al. Determinants of vancomycin resistance and mortality rates in enterococcal bacteremia. a prospective multicenter study. *Ann Intern Med*. 2001 Oct 2;135(7):484-92.
62. *Enterococcus faecium* Bacteremia. Does Vancomycin resistance make a difference? *Arch Intern Med*. 1998; 158:522-527.
63. Kamboj M, Chung D, Seo SK, et al. The changing epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) bacteremia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010 Nov;16(11):1576-81.