

Trabajo completo

Investigación de *Staphylococcus aureus* con sensibilidad intermedia y hetero-intermedia a vancomicina: metodología fácil y accesible para los laboratorios de microbiología clínica

RECIBIDO: 24/07/2012

ACEPTADO: 30/08/2012

Allignani, LC.² • Mollerach, A.^{1,2} • Nagel, A.^{1,2} • Bodrone, R.² • Ramirez, R.² • Mendosa, MA.¹ • Méndez, E. de los A.^{1,2}

¹Hospital Dr. José María Cullen. Av. Freyre 2150. Santa Fe.

²Carrera de Especialización en Bacteriología Clínica. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. UNL. Paraje el Pozo. Santa Fe.
Luciana Allignani: 4 de enero 2586 int. 5, CP (3000) Santa Fe,
Teléfono: 0342-4520357. E-mail: lucianaallignani@hotmail.com

RESUMEN: Desde 2008, CLSI no recomienda disco de vancomicina (VAN) para detectar sensibilidad de *Staphylococcus aureus*.

Sugiere métodos de dilución o E-test para estudiar sensibilidad intermedia (VISA), pero no heteroresistentes (h-VISA). El método de predifusión con tabletas Neo-Sensitabs de ROSCO detecta ambos.

El objetivo fue investigar VISA por dilución en agar, VISA y h-VISA por predifusión y aplicar este método con discos de papel.

Se estudiaron 80 *S. aureus* meticilino resistentes. Se realizó dilución en agar (CLSI) para VAN y predifusión para VAN y teicoplanina (TEI) con tabletas y discos. La CIM de VAN fue $\leq 2 \mu\text{g/mL}$. Por el método de predifusión los halos fueron ≥ 22 , ≥ 21 , ≥ 30 y ≥ 29 mm para VAN y TEI con tabletas y discos respectivamente.

No se encontraron VISA ni h-VISA. La técnica de predifusión con discos, sería recomendable, pero se necesitan mayor número de VISA para establecer puntos de corte.

PALABRAS CLAVE: *S. aureus*, sensibilidad a vancomicina, sensibilidad heterogenia a vancomicina, método de predifusión.

SUMMARY: *Vancomycin susceptibility and heterogeneous vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus: a simple and accessible method for clinical microbiology laboratories.*

Since 2008, the CLSI has not been recommending the use of the vancomycin (VAN) disk to detect *Staphylococcus aureus* susceptibility. Instead, it recommends dilution or E-test methods to investigate vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA); however, they do not detect heterogeneous vancomycin-intermediate ones (h-VISA). The ROSCO tablets prediffusion method is able to detect both types of resistance. The aim of this work was to investigate VISA by the agar dilution method and VISA and h-VISA by the prediffusion technique, applying this method with paper disks. Eighty methicillin-resistant *S. aureus* were

studied. VAN susceptibility was detected by the agar dilution method. The prediffusion technique for VAN and teicoplanine (TEI) was applied using tablets and paper disks. The VAN MIC was $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$. When the prediffusion method was performed, it showed inhibition zones $\geq 22 \text{ mm}$, $\geq 21 \text{ mm}$, $\geq 30 \text{ mm}$, 29 mm for VAN and TEI, with tablets and disk, respectively. VISA or h-VISA

strains were not found by any of the methods studied. The prediffusion technique, using paper disks, would be recommended but it is necessary to study a greater number of VISA strains to set breakpoints. **KEYWORDS:** *S. aureus*, vancomycin intermediate susceptibility, heterogeneous vancomycin-intermediate susceptibility, prediffusion method.

Introducción

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es uno de los agentes patógenos más importantes de nuestros tiempos. Puede producir infecciones localizadas e invasivas pudiendo ser tanto ambulatorias como asociadas a cuidados de la salud.

A principios de la década de los '40, todos los aislamientos eran sensibles a la penicilina; en 1948 aparecen los primeros *S. aureus* productores de betalactamasa por lo que fue necesario sintetizar penicilinas resistentes a esta enzima para su tratamiento. Surgen así antimicrobianos (AM) tales como meticilina, oxacilina y sus derivados.

A comienzos de 1960, al poco tiempo de la incorporación de estos últimos, emergieron en Inglaterra los primeros *S. aureus* resistentes a meticilina (SAMR) y desde entonces se diseminaron por todo el mundo. Este microorganismo se dividió en dos grandes grupos: *S. aureus* meticilino sensible y SAMR, lo que resulta y continúa siendo de gran impacto clínico, ya que SAMR no se podría tratar con betalactámicos y se tendría que recurrir al uso de glucopéptidos, siendo vancomicina (VAN), el antibiótico de elección (1).

Según el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), organismo estadounidense que establece los puntos de corte de los diversos AM frente a los distintos microorganismos, *S. aureus* debe considerarse

sensible a VAN cuando la concentración inhibitoria mínima (CIM) sea $\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ y resistente cuando la CIM de VAN resulte $\geq 16 \mu\text{g}/\text{mL}$. *S. aureus* con CIM de VAN de 4 a $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ se denominan *S. aureus* con sensibilidad intermedia (VISA) (2).

La mayoría de los aislamientos SAMR son inhibidos por concentraciones de VAN menores o iguales a $2 \mu\text{g}/\text{mL}$. Sin embargo, debido al aumento de dichas infecciones y por el incremento del uso de este AM, emergieron SAMR con sensibilidad disminuida a este antibiótico (VISA). El primer VISA se aisló en Japón, con verdadera sensibilidad homogénea a VAN siendo la CIM igual a $8 \mu\text{g}/\text{mL}$, y se detectó por el método de microdilución en caldo. Dicha cepa se denominó Mu50 (3). Luego se reportaron mayor número de aislamientos en Japón y en otras partes del mundo (4,5).

Posteriormente surgió una segunda cepa Mu3 con resistencia heterogénea a VAN denominada hetero-VISA (h-VISA). Cuando este aislamiento crecía en un medio libre de AM, expresaba subpoblaciones con distintos grados de resistencia a VAN; pero, en presencia de concentraciones de VAN $\geq 8 \mu\text{g}/\text{mL}$, la cepa Mu3 producía subclones con CIM de VAN igual a $8 \mu\text{g}/\text{mL}$, en una frecuencia mayor o igual a $1.10^6 \text{ UFC}/\text{mL}$ (6,7).