

REVISIÓN DE REVISTAS

***Staphylococcus aureus* RESISTANT TO VANCOMYCIN - UNITED STATES, 2002**

***Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina - Estados Unidos, 2002**

CDC. *MMWR* 2002; 51(26): 565-7.

El reporte describe el primer aislamiento clínico y el primer caso documentado de *Staphylococcus aureus* totalmente resistente a vancomicina (VRSA). Hasta junio de 2002 se habían confirmado casos de *Staphylococcus aureus* intermedios a vancomicina (VISA) en 8 pacientes.

El VRSA se aisló de un hisopado obtenido del lugar de salida del catéter de un hombre de 40 años con enfermedad vascular periférica y daño renal crónico, y que recibió tratamiento antimicrobiano (incluyendo vancomicina) por presentar ulceraciones crónicas en el pie. Después de la amputación del pie se presentó una bacteriemia causada por *S. aureus* meticilino resistente (MRSA), la cual fue tratada con rifampicina y vancomicina. Unos meses después, el paciente fue sometido a diálisis y desarrolló una infección en el lugar de salida del catéter. Del hisopado de la muestra se aisló *S. aureus* resistente a oxacilina (MIC > 16 mg/mL) y vancomicina (> 128 mg/mL). Una semana después presentó una infección de una úlcera crónica del pie, aislándose *Klebsiella oxytoca* y *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina (VRE). Hasta el momento del reporte el paciente se encontraba clínicamente estable y recibía tratamiento con trimetoprim/sulfametoxazol.

La cepa de VRSA fue confirmada por el CDC y Michigan Department of Community Health. El CDC confirmó el aislamiento por pruebas bioquímicas convencionales, análisis de secuencia de ADN del gen *gyrA* y el gen que codifica el RNA ribosomal 16S. Los resultados de MIC fueron los siguientes: vancomicina (> 128 mg/mL), teicoplanina (32 mg/mL) y oxacilina (>16 mg/mL). La cepa portaba el gen *vanA* de resistencia a vancomicina en enterococo el cual es consistente con los perfiles encontrados de resistencia a los glicopéptidos. Así también, la cepa portaba el gen *mecA* de resistencia a oxacilina, pero fue sensible (*in vitro*) a varios antimicrobianos incluyendo los nuevos recientemente aprobados por la FDA (como linezolid y quinupristin/dalfopristin) con actividad contra microorganismos gram positivos resistentes a glicopéptidos. La presencia del gen *vanA* en este VRSA sugiere que la resistencia podría haber sido adquirida por intercambio de material genético de la cepa de EVR aislada del paciente.

Este reporte debe considerarse como una llamada de atención en la correcta determinación de la sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, principalmente a vancomicina, debiéndose realizar con MIC la confirmación de los aislamientos con resistencia a vancomicina determinados con el método de disco difusión.

Revisado por Blga. Rosa E. Sacsquispe C.
División de Bacteriología
Centro Nacional de Salud Pública
Instituto Nacional de Salud

REINFECCIÓN EXÓGENA COMO CAUSA DE TUBERCULOSIS RECURRENTE

Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment

Van Rie A, Warren R, Richardson M, Victor TC, Gie RP, Enarson DA, et al.
N Engl J Med 1999; 341(16): 1174-9.

Una de las características más importantes de *M. tuberculosis*, el agente causante de la tuberculosis (TB), es su increíble capacidad para permanecer silente dentro de su hospedero por un largo periodo. Los pacientes con TB transmiten la enfermedad

a individuos sanos a través de microscópicas partículas expectoradas que contienen bacilos viables. Dichos individuos expuestos desarrollan una infección primaria y, en algunos casos, la aparición de enfermedad tuberculosa activa es casi inmediata. Sin embargo, en la gran mayoría de los casos, los individuos tendrán la capacidad de contener la infección debido a un sistema inmunitario efectivo, y desarrollarán una tuberculosis latente asintomática durante un periodo extremadamente variable, pudiendo presentarse la enfermedad activa luego de algunas semanas hasta luego de varias décadas. A consecuencia de ello, un paciente que ha tenido infección primaria y desarrolla enfermedad tuberculosa podría ser producto de la "reactivación" del bacilo latente de la infección pasada (reactivación endógena) o una nueva infección a partir de un bacilo diferente al de la infección primaria (reinfección exógena).

Durante mucho tiempo se ha pensado que los eventos de TB provienen casi totalmente de reactivación de infecciones pasadas, y se ha considerado a la reinfección exógena como algo muy poco frecuente, principalmente porque se carecía de evidencia experimental de su ocurrencia. La mayoría de reportes de eventos de reinfección exógena provienen de pacientes inmunocomprometidos, los cuales son incapaces de montar una respuesta inmunitaria efectiva, y así, pueden "aceptar" una nueva infección a pesar de ya haber sido "protegidos" por una infección pasada.

Sin embargo, van Rie y col reporta en esta publicación una de las evidencias más importantes en relación a la ocurrencia de reinfección exógena como causa de TB recurrente en pacientes que tuvieron al menos dos eventos de TB postprimario. Ellos emplearon un método de caracterización genética para distinguir entre el aislamiento del primer episodio de TB y los subsiguientes y analizaron un total de 689 pacientes durante un periodo de 6 años en un área de Sudáfrica altamente incidente para TB (1000 casos por 100 000 hab). Ellos encontraron que 16 pacientes presentaron TB recurrente luego de haber sido curados mediante terapia antituberculosa, 15 de los cuales fueron seronegativos para VIH. Después de comparar los patrones genéticos del primer episodio de TB y los subsiguientes, los autores hallaron que 12 de 16 (75%, IC95%: 50-94%) pacientes habían experimentado reinfección exógena con una cepa diferente a la del primer evento de TB.

Estos resultados son extremadamente valiosos desde el punto de vista de reevaluar la vieja controversia entre la relativa contribución de la "reactivación endógena" y la "reinfección exógena". Estos hallazgos apoyan el punto de vista que la "reinfección exógena" podría ser más frecuente de lo que se pensaba y podría jugar un rol importante en los casos de TB recurrente, y en el primer episodio de TB postprimario, especialmente en áreas con alta prevalencia donde las posibilidades de exposición son muy altas. La presencia de "reinfección exógena" y su frecuencia relativa traen como consecuencia importantes implicancias para el manejo y control de la enfermedad.

Revisado por Blgo. Christian Baldeviano V.
División de Biología Molecular
Centro Nacional de Salud Pública
Instituto Nacional de Salud

IDENTIFICACIÓN DE CEPAS ATENUADAS DE *Yersinia pseudotuberculosis* Y CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO DE INFECCIÓN OROGÁSTRICA EN RATONES BALB/C EN 5 DÍAS POST-INFECCIÓN POR MUTAGÉNESIS DE MARCAJE

Identification of attenuated *Yersinia pseudotuberculosis* strains and characterization of an orogastric infection in BALB/c mice on day 5 postinfection by signature-tagged mutagenesis
Mecsas J, Bilis I, Falkow S.
Infect Immun 2001; 67(5): 2779-87.

El estudio de la patogénesis de las enfermedades infecciosas ha sido facilitado por el establecimiento de modelos animales y por la posibilidad de generar poblaciones de mutantes mediante mutagénesis de marcaje (signature-tagged mutagénesis). El género *Yersinia* incluye 3 especies: *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis*, estas son patogénicas para el ser humano. Después de una infección oral, *Y. pseudotuberculosis* se localiza en el íleon, el ciego y el colon proximal del tracto gastrointestinal, ocasionando en el hombre gastroenteritis y linfadenitis mesentérica.

Usando un modelo en ratones y mutagénesis con marcaje de *Y. pseudotuberculosis* se aislaron 13 mutantes que fallan en sobrevivir en el ciego de ratones durante infección orogástrica, 12 de esos mutantes presentaron replicación atenuada en el bazo después de una inoculación intraperitoneal. Varios mutantes presentaron mutaciones en operones que codifican componentes del sistema de secreción de proteínas tipo III, incluyendo componentes involucrados en la translocación de proteínas Yop (proteínas externas de *Yersinia*) dentro de las células hospederas. Esto indica que uno o más Yops son necesarias para la supervivencia de *Y. pseudotuberculosis* en el tracto gastrointestinal. Tres mutantes fueron defectuosos en la biosíntesis del antígeno O, estos mutantes fueron incapaces de invadir células epiteliales a diferencia de *Y. pseudotuberculosis* silvestre. Otras mutantes presentaron mutaciones en genes anteriormente no asociados con la replicación de *Y. pseudotuberculosis* dentro del hospedero como *cls*, *ksgA*, y *sufI*. Además, se han identificado el número de clones bacterianos que invaden el ciego, los nódulos linfáticos mesentéricos y el bazo después de 5 días post-infección.

Debido a que estos genes mutados son esenciales para la invasión de *Yersinia*, probablemente las proteínas que codifican sean buenas candidatas como blancos para el diseño de nuevas drogas y vacunas contra este patógeno.

Revisado por Blgo. Carlos Padilla R.
División de Biología Molecular
Centro Nacional de Salud Pública
Instituto Nacional de Salud

EFFECTOS DEL CLIMA GLOBAL EN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS: EL MODELO DEL CÓLERA

Effects of global climate on infectious disease: the Cholera model

Lipp EK, Huq A, Colwell RR.
Clin Microbiol Rev 2002; 15: 757-70.

En la presente revisión se discute el rol que ejerce el clima y el medio ambiente en la dinámica de las enfermedades, relación que ha captado el interés de los científicos. Mucho de este interés ha sido estimulado por el aumento de la resistencia a los antibióticos entre los patógenos, emergencia y reemergencia de las enfermedades infecciosas a nivel mundial y el debate concerniente al cambio climático, como el efecto invernadero y el fenómeno El Niño. El cólera, causado por el *Vibrio cholerae*, autóctono de ambientes acuáticos, en este caso sirve de modelo para analizar el rol que cumple el clima en las enfermedades infecciosas y conocer la dinámica de poblaciones de algunos microorganismos patógenos.

El cólera ha mostrado en un contexto histórico una relación con estaciones del año específicas y en determinadas zonas geográficas. Es conocido también que la dinámica de poblaciones de *Vibrio cholerae* está controlado por factores ambientales, como temperatura, salinidad, concentración de nutrientes en el agua y la presencia de copépodos que son controlados a su vez por el clima a gran escala. Se presenta la asociación del plancton y *Vibrio cholerae* desde que se ha demostrado que se encuentra concentrado en el exoesqueleto en donde pueden transportar altas dosis de *Vibrio cholerae*, esta

relación ha sido documentada por más de 20 años y se discute el apoyo a la hipótesis que el cólera comparte propiedades de una enfermedad transmitida por un vector, en este caso los copépodos.

Además, se muestra un modelo de la transmisión del cólera en el contexto de la variabilidad climática tomando como ejemplo el fenómeno de El Niño. El modelo del cólera proporciona un patrón para investigaciones futuras en enfermedades influenciadas por el clima, permitiendo definir los parámetros críticos y ofreciendo un medio para el desarrollo de métodos más sofisticados para la predicción de epidemias.

Revisado por Bach. Ronnie Gavilán Ch.
Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica

COMPARACIÓN DE LA PURIFICACIÓN DE MUESTRAS DE PLASMA POR EXTRACCIÓN MANUAL LÍQUIDO - LÍQUIDO, EXTRACCIÓN AUTOMATIZADA LÍQUIDO - LÍQUIDO Y EXTRACCIÓN AUTOMATIZADA DE FASE SÓLIDA, ANALIZADO POR HPLC ACOPLADO A UN ESPECTRO DE MASAS

Comparison of plasma sample purification by manual liquid - liquid extraction, automated 96 - well solid - phase extraction for analysis by high - performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

Jemal M, Teitz D, Ouyang Z, Khan S.
J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1999; 732(2): 501-8.

Redescriben tres procedimientos de extracción desarrollados para la determinación cuantitativa del ácido carboxílico contenido en plasma humano, usando el método de HPLC con electro spray negativo acoplado a un espectro de masas (MS-MS). El primer procedimiento estuvo basado en la extracción manual líquido - líquido con metil terbutileter de la muestra acidificada; el segundo procedimiento estuvo basado en la automatización del procedimiento de extracción líquido - líquido usando un automuestreador de 96 viales; y el tercer procedimiento se basó en una extracción de fase sólida automatizada, con un automuestreador también de 96 viales.

El límite más bajo de cuantificación que se logró extraer fue 50 pg/mL. El tiempo total requerido para preparar la curva de calibración de los estándares, alícuotar los estándares y las muestras de plasma y procesar un total de 96 estándares y muestras, utilizando el primer procedimiento fue de tres veces mayor que el tiempo requerido con la extracción automatizada líquido - líquido y que la extracción automatizada de fase sólida (4 horas 50 minutos vs. 1 hora 43 minutos). Y más importante aún, el tiempo empleado por el analista para los procedimientos automatizados líquido - líquido y de fase sólida fue sólo una pequeña fracción del tiempo empleado en la extracción manual líquido - líquido (< 10 minutos vs. 4 horas 10 minutos). Cabe recalcar que la extracción automatizada de fase sólida usa los pasos de evaporación a sequedad de los eluidos y luego la reconstitución del extracto seco.

El tiempo total requerido para la extracción automatizada de fase sólida podría ser reducido a un 50%, si los eluidos fuesen inyectados directamente, eliminando así los pasos de secado y de reconstitución.

Por lo tanto, es importante la automatización de los instrumentos para el análisis de muestras biológicas por el ahorro del tiempo de análisis, poder procesar mayor número de muestras y evitar un resultado erróneo por la demora en el análisis debido a la poca estabilidad de las muestras y las pequeñas cantidades con las que se trabaja.

Revisado por Q.F. Ofelia del Rosario Villalva R.
Analista de la División de Biodisponibilidad y Bioequivalencia
Centro Nacional de Control de Calidad
Instituto Nacional de Salud