

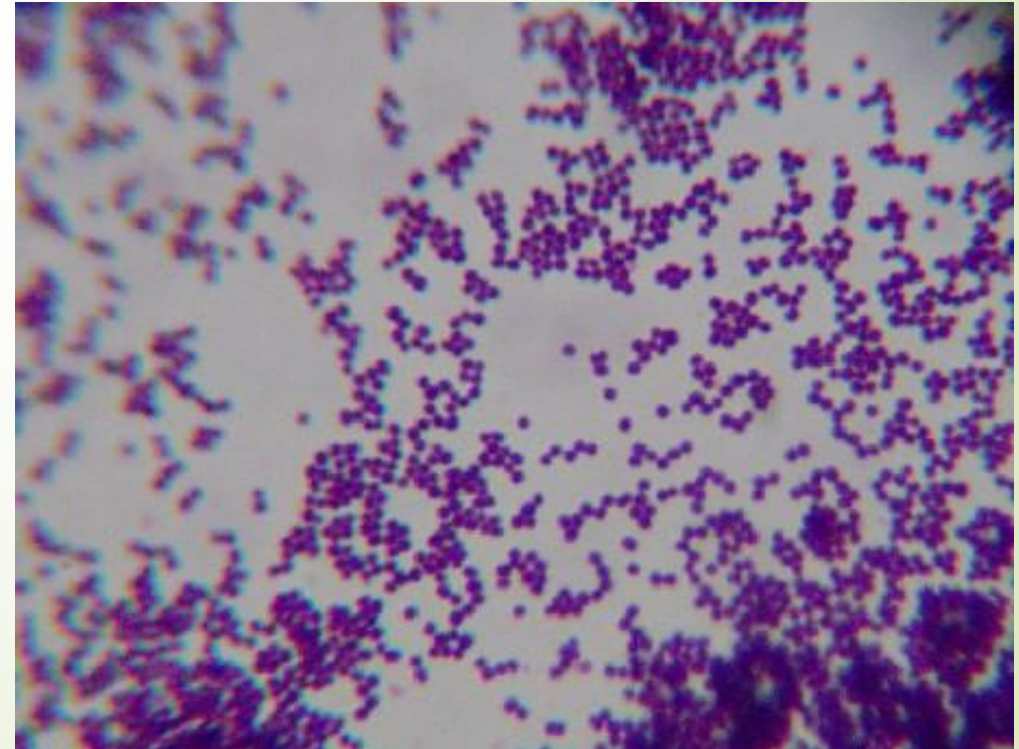
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Laboratorio de Microbiología

Staphylococcus epidermidis

- Alumno: Kevin Uriel Cardona Salazar
 - Maestras:
 - ❖ Juana Tovar Oviedo
 - ❖ Gloria Alejandra Martínez Tovar
 - Grupo: 10:00-11:00



Staphylococcus epidermidis resistente a linezolid en paciente con prótesis articular

Carta al Director

M^a José Zamora-López
Patricia Álvarez-García
Jesús Martínez-López
M^a Angeles Pallarés-González
Marta García-Campello

Staphylococcus epidermidis resistente a linezolid en paciente con prótesis articular

Servicio de Microbiología. Hospital de Pontevedra.

Sr. Editor: el aumento progresivo en los últimos años de los *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN), y especialmente de *Staphylococcus epidermidis* en infecciones de origen nosocomial, asociado a diferentes grados de inmunosupresión o a la presencia de dispositivos intravasculares y materiales protésicos¹, es objeto de especial preocupación.

El tratamiento de estas infecciones es complicado debido a la pérdida de sensibilidad de los patógenos habituales a β-lactámicos, macrólidos, aminoglucósidos, glucopéptidos y quinolonas. Linezolid supone una alternativa terapéutica en las infecciones de prótesis articulares (IPAs) producidas por *S. epidermidis* resistentes a metilina (SERM)² y por su buena biodisponibilidad oral, una ventaja en el tratamiento secuencial ambulatorio requerido en el manejo de este tipo de pacientes³.

En el presente manuscrito, se describe un caso clínico donde se aísla un SERM resistente a linezolid en un paciente portador de prótesis de cadera, y se realiza una revisión de la literatura científica.

Mujer de 80 años de edad, portadora de una prótesis de cadera izquierda desde el año 2002, y que nueve años más tarde, presenta coxalgia derecha y es diagnosticada clínica y radiológicamente de coxartrosis, la cual no mejora con tratamiento conservador. Es intervenida de nuevo quirúrgicamente y se implanta una prótesis total de cadera. La evolución clínica, analítica y radiológica es satisfactoria siendo dada de alta con tratamiento rehabilitador. Seis meses más tarde, la paciente presenta IPA y/o aflojamiento aséptico y se programa una nueva intervención para recambio de prótesis. Se recogieron muestras intraoperatorias de fémur y acetábulo que se enviaron al Departamento de Microbiología, donde fueron procesadas de acuerdo con los procedimientos estándar. Tras

la toma de muestras, se inició tratamiento antibiótico con daptomicina (CMI <0,5 mg/L) hasta negativización de los cultivos. Los controles clínicos, bioquímicos y radiológicos fueron satisfactorios, por lo que el paciente fue dado de alta e inició tratamiento rehabilitador. Tras 6 meses de evolución, no se mostraron signos de infección.

El microorganismo se aisló en dos de las tres muestras intraoperatorias enviadas y reveló por los criterios de Atkins, una probable infección por *S. epidermidis*. El aislado fue resistente a oxacilina (CMI >2 mg/L) y presentó una CMI a vancomicina, teicoplanina y linezolid de 2, 3 y >32 mg/L, respectivamente. El aislado clínico fue remitido al Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III, Madrid) donde se confirmó la presencia de la mutación G2576T en el gen 23S ARNr (*rrn*) del dominio V como mecanismo responsable de la resistencia a LZD, fuertemente asociada al consumo de LZD⁴. El análisis descartó la presencia del gen *cfr*.

S. epidermidis forma parte de la microbiota normal de la piel humana y membranas mucosas superficiales⁵. Sin embargo, también se ha convertido en el patógeno más importante en las infecciones relacionadas con materiales de cuerpos extraños, como en prótesis articulares y válvulas cardíacas^{1,2}. Junto a otros SCN es responsable del 47% de IPAs y causa demostrada de infección postoperatoria temprana¹.

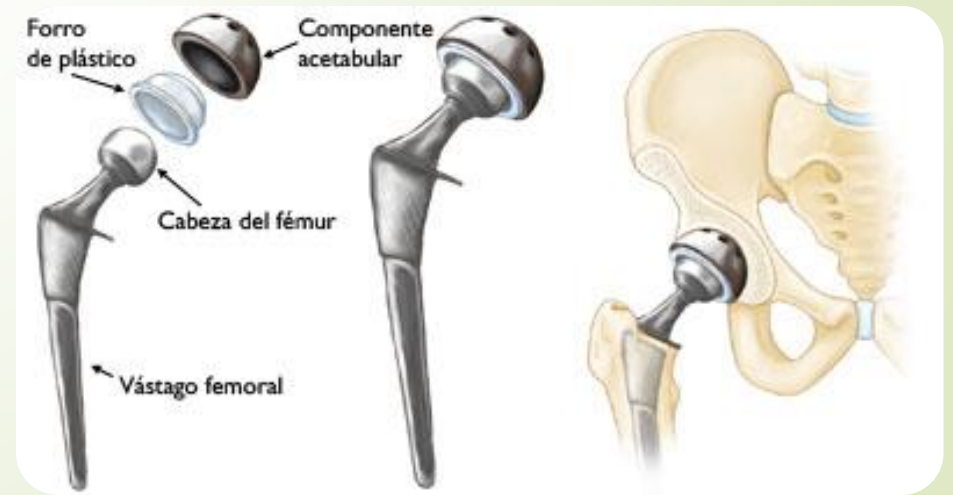
El aislamiento de SERM en nuestro entorno se muestra invariable con respecto a años anteriores, un 84% en el año 2013, y sin cambios significativos en la resistencia a diferentes antimicrobianos de acuerdo a los criterios de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) o EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

- SCN (*Staphylococcus coagulasa* negativo)
- SERM (*Staphylococcus epidermidis* resistente a metilina)
- IPA's (Infecciones de prótesis articulares)
- Acetábulo: Cavidad del hueso coxal en la que se articula la cabeza del fémur.
- Coxartrosis: artrosis (destrucción de cartílagos) de la articulación de la cadera.

Introducción

- ▶ El tratamiento IPA's es complicado debido a la pérdida de sensibilidad de los patógenos habituales a β -lactámicos, macrólidos, aminoglucósidos, glucopéptidos y quinolonas. Linezolid supone una alternativa terapéutica en las infecciones de prótesis articulares (IPAs) producidas por *S. epidermidis* resistentes a meticilina
- ▶ Mujer de 80 años de edad, portadora de una prótesis de cadera izquierda desde el año 2002
- ▶ Nueve años más tarde, presenta coxalgia derecha y es diagnosticada clínica y radiológicamente de coxartrosis. No existe mejora
- ▶ Es intervenida de nuevo quirúrgicamente y se implanta una prótesis total de cadera, siendo dada de alta con tratamiento rehabilitador
- ▶ Seis meses más tarde, la paciente presenta IPA y/o aflojamiento aséptico y se programa una nueva intervención para recambio de prótesis

Se recogieron muestras intraoperatorias de fémur y acetábulo que se enviaron al Departamento de Microbiología del Hospital de Pontevedra, donde fueron procesadas de acuerdo con los procedimientos estándar

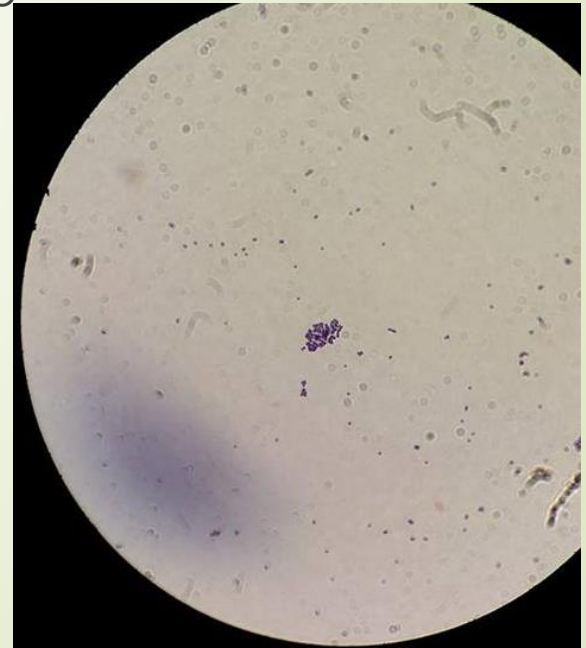


Metodología

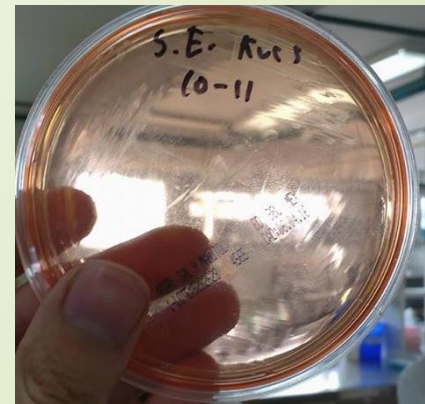
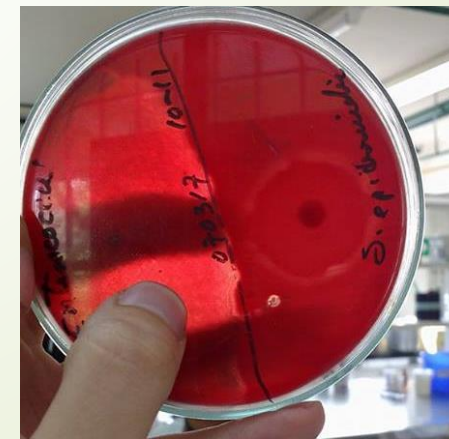
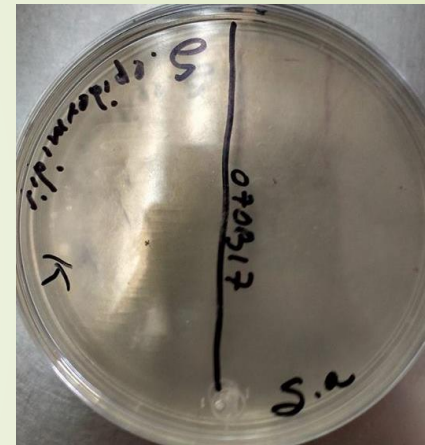
- ▶ Se inició tratamiento antibiótico con daptomicina (CMI <0.5 mg/L) hasta negativización de los cultivos.
- ▶ Los controles clínicos, bioquímicos y radiológicos fueron satisfactorios, por lo que el paciente fue dado de alta e inició tratamiento rehabilitador.
- ▶ Tras 6 meses de evolución, no se mostraron signos de infección.
- ▶ El microorganismo se aisló en dos de las tres muestras intraoperatorias enviadas y reveló por los criterios de Atkins, una probable infección por *S. epidermidis*.
- ▶ El aislado fue resistente a oxacilina (CMI >2 mg/L) y presentó una CMI a vancomicina, teicoplanina y linezolid de 2, 3 y >32 mg/L, respectivamente.

Pruebas bioquímicas

- ▶ Primero se realizó tinción de Gram, y se observó al microscopio para poder determinar el tipo de bacteria, dando como resultado Cocos Gram (+)
- ▶ Posteriormente, se procedió a realizar las pruebas bioquímicas necesarias para su identificación, comenzando con la prueba de catalasa, siendo positiva, indicando la presencia de Staphylococcus y la prueba de coagulasa, siendo negativa, rechazando al Staphylococcus Aerus.
- ▶ Se realizó siembra en Cromo Agar y en Agar comercial Manitol sal. Se realizó la prueba de resistencia a novobiocina en Agar Sangre

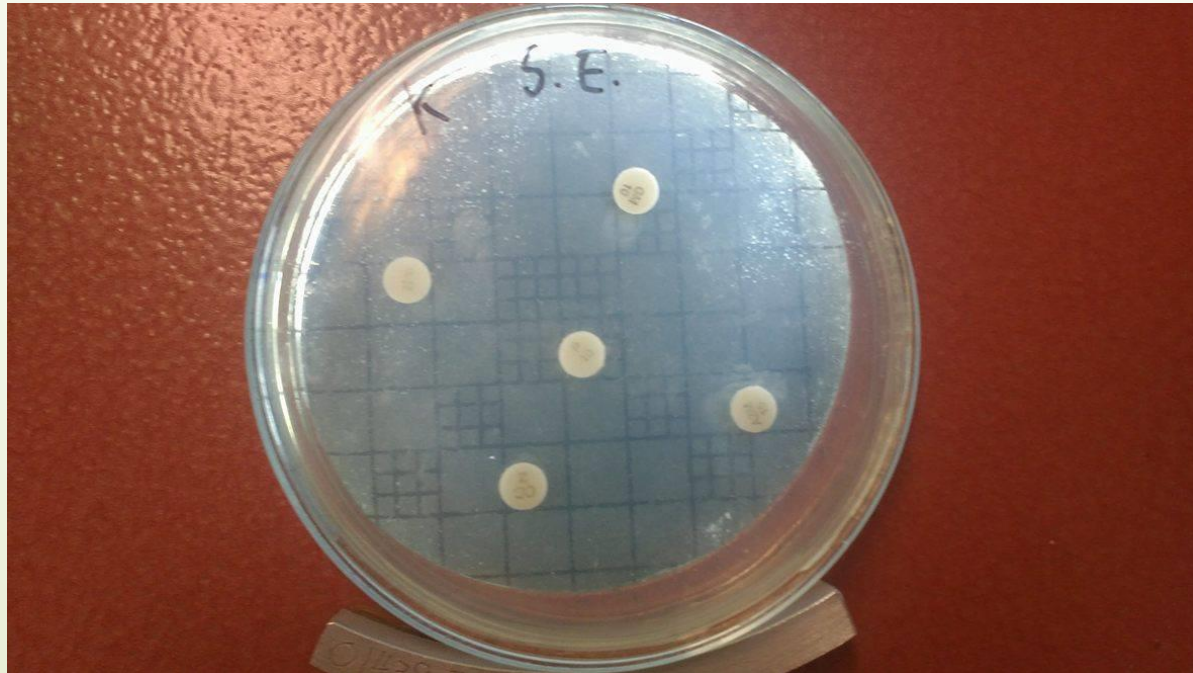


- ▶ Al comprobar los crecimientos en los agrares, no se encontró desarrollo en en cromo Agar, solo una paqueña línea de colo rosa en el sembrado de staphylococcus Aerus. Mientras que el Agar Sal Manitol se encontraba caducado, por lo que no hubo crecimiento.
- ▶ Para la prueba en Agar sangre, se formo un halo de inhibición alrededor del sensidisco de novobiocina, siendo este susceptible, dejando a la bacteria como un SCN.



Pruebas de susceptibilidad

- Se realizó la técnica de Kirby – Bauer, para ello se sembró en Agar Mueller – Hinton con presencia de 4 distintos antibióticos
- Se encontró resistencia a penicilina y susceptibilidad a azitromicina, gentamicina y clindamicina con halos de inhibición mayores a 30 mm

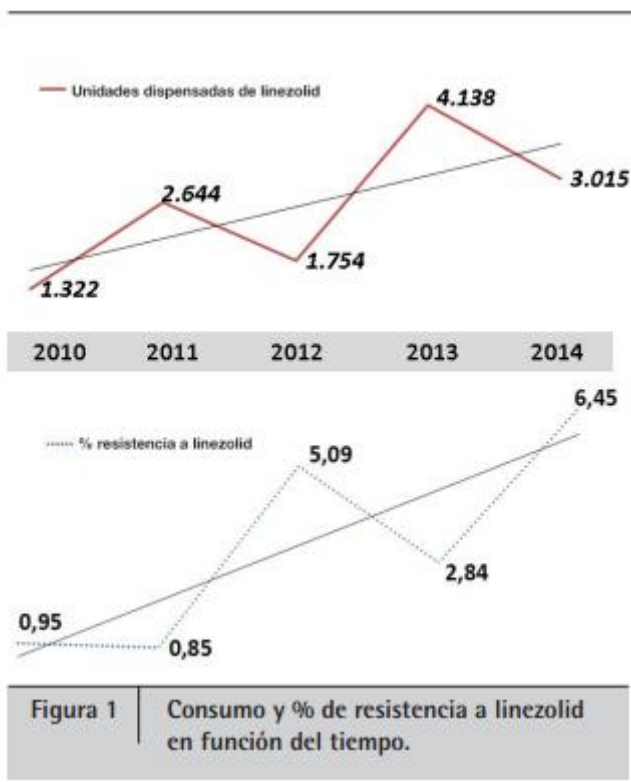




Resultados

- ▶ **El aislado clínico fue remitido al Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III, Madrid) donde se confirmó la presencia de la mutación G2576T en el gen 23S ARNr (rrn) del dominio V como mecanismo responsable de la resistencia a LZD, fuertemente asociada al consumo de LZD**
- ▶ S. epidermidis forma parte de la microbiota normal de la piel humana y membranas mucosas superficiales
- ▶ Sin embargo, también se ha convertido en el patógeno más importante en las infecciones relacionadas con materiales de cuerpos extraños, como en prótesis articulares y válvulas cardíacas

Discusión



- La resistencia de *S. epidermidis* a linezolid en el centro de estudio del caso clínico ha experimentado un progresivo aumento durante los últimos años
- El aislamiento de cepas de SERM resistentes a linezolid ocurrió en pacientes hospitalizados de larga estancia con múltiples complicaciones médicas y/o quirúrgicas.
- El tratamiento prolongado de los pacientes con linezolid favorece la aparición de mutaciones en la subunidad 23S ribosomal de diferentes especies de estafilococos
- Linezolid en monoterapia o en combinación con otros antibióticos como rifampicina es una alternativa de segunda línea en el tratamiento de IPAs, especialmente en pacientes crónicos con SERM, pero en muchos casos, se requiere tratamiento ambulatorio, que puede ampliarse hasta 6 meses,



Conclusión

- ▶ La vigilancia y conocimiento de la prevalencia de *Staphylococcus* spp resistentes a linezolid es esencial para un tratamiento empírico y específico.
- ▶ El uso indiscriminado de linezolid podría llevar a una situación similar de resistencia a meticilina por *Staphylococcus aureus*.
- ▶ En el caso descrito, la aparición de resistencia a linezolid se produce en un paciente sin tratamiento previo con este antibiótico, siendo la explicación probable una transmisión horizontal de microorganismos resistentes o de mecanismos de resistencia.



Bibliografía

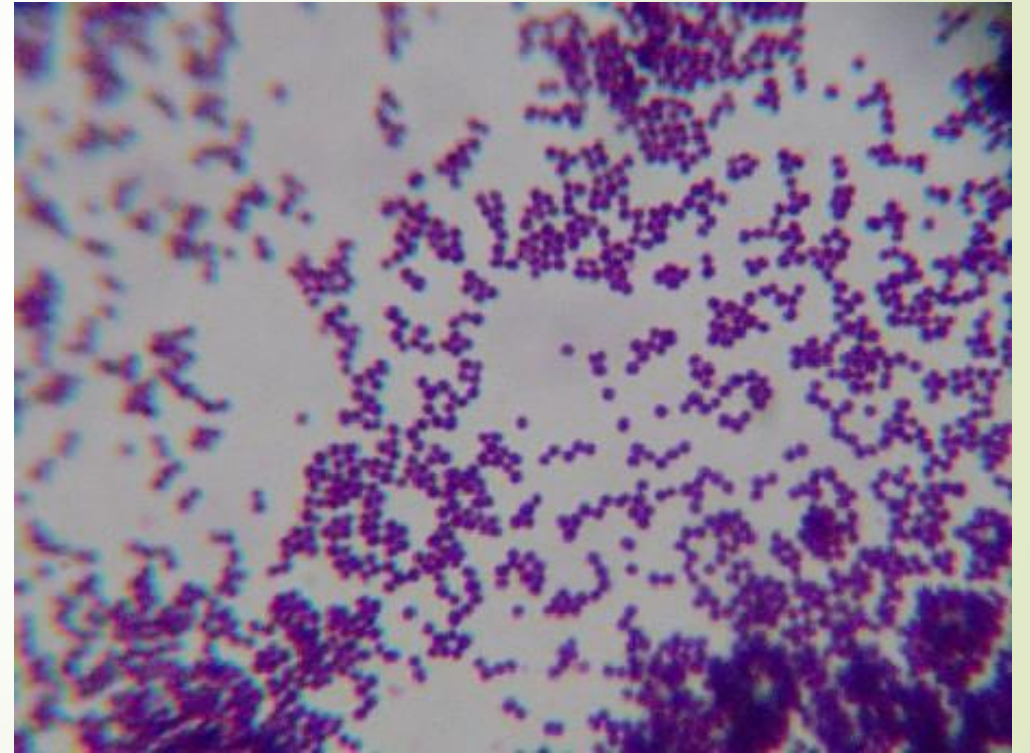
- ▶ Zamora, J. L., Staphylococcus epidermidis resistente a linezolid en paciente con prótesis articular. Revista Esp Quimioter 2016;29(3): 159-160

Recuperado de:

<http://www.seq.es/seq/0214-3429/29/3/zamora26mar2016.pdf>

Staphylococcus Epidermidis

- Kevin Uriel Cardona Salazar
- General Microbiology Laboratory
- Teachers:
 - ❖ Juana Tovar Oviedo
 - ❖ Gloria Alejandra Martínez Tovar



Staphylococcus epidermidis resistant to linezolid in patient with joint prosthesis

- SCN (Staphylococcus coagulase negative)
- SERM (methicillin resistant Staphylococcus epidermidis)
- IPA's (Joint prosthesis infections)
- Acetabulum: Cavity of the coxal bone in which articulates the head of the femur.
- Coxarthrosis: osteoarthritis (destruction of cartilage) of the hip joint

Carta al Director

M^a José Zamora-López
Patricia Álvarez-García
Jesús Martínez-López
M^a Angeles Pallarés-González
Marta García-Campello

Staphylococcus epidermidis resistente a linezolid en paciente con prótesis articular

Servicio de Microbiología. Hospital de Pontevedra.

Sr. Editor: el aumento progresivo en los últimos años de los *Staphylococcus coagulase* negativos (SCN), y especialmente de *Staphylococcus epidermidis* en infecciones de origen nosocomial, asociado a diferentes grados de inmunosupresión o a la presencia de dispositivos intravasculares y materiales protésicos¹, es objeto de especial preocupación.

El tratamiento de estas infecciones es complicado debido a la pérdida de sensibilidad de los patógenos habituales a β -lactámicos, macrólidos, aminoglucósidos, glicopéptidos y quinolonas. Linezolid supone una alternativa terapéutica en las infecciones de prótesis articulares (IPAs) producidas por *S. epidermidis* resistentes a meticilina (SERM)² y por su buena biodisponibilidad oral, una ventaja en el tratamiento secuencial ambulatorio requerido en el manejo de este tipo de pacientes³.

En el presente manuscrito, se describe un caso clínico donde se aísla un SERM resistente a linezolid en un paciente portador de prótesis de cadera, y se realiza una revisión de la literatura científica.

Mujer de 80 años de edad, portadora de una prótesis de cadera izquierda desde el año 2002, y que nueve años más tarde, presenta coxalgia derecha y es diagnosticada clínica y radiológicamente de coxarthrosis, la cual no mejora con tratamiento conservador. Es intervenida de nuevo quirúrgicamente y se implanta una prótesis total de cadera. La evolución clínica, analítica y radiológica es satisfactoria siendo dada de alta con tratamiento rehabilitador. Seis meses más tarde, la paciente presenta IPA y/o aflojamiento aséptico y se programa una nueva intervención para recambio de prótesis. Se recogieron muestras intraoperatorias de fémur y acetábulo que se enviaron al Departamento de Microbiología, donde fueron procesadas de acuerdo con los procedimientos estándar. Tras

la toma de muestras, se inició tratamiento antibiótico con daptomicina (CMI <0,5 mg/L) hasta negativización de los cultivos. Los controles clínicos, bioquímicos y radiológicos fueron satisfactorios, por lo que el paciente fue dado de alta e inició tratamiento rehabilitador. Tras 6 meses de evolución, no se mostraron signos de infección.

El microorganismo se aisló en dos de las tres muestras intraoperatorias enviadas y reveló por los criterios de Atkins, una probable infección por *S. epidermidis*. El aislado fue resistente a oxacilina (CMI >2 mg/L) y presentó una CMI a vancomicina, teicoplanina y linezolid de 2, 3 y >32 mg/L, respectivamente. El aislado clínico fue remitido al Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III, Madrid) donde se confirmó la presencia de la mutación G2576T en el gen 23S ARNr (*rrn*) del dominio V como mecanismo responsable de la resistencia a LZD, fuertemente asociada al consumo de LZD⁴. El análisis descartó la presencia del gen *cfr*.

S. epidermidis forma parte de la microbiota normal de la piel humana y membranas mucosas superficiales⁵. Sin embargo, también se ha convertido en el patógeno más importante en las infecciones relacionadas con materiales de cuerpos extraños, como en prótesis articulares y válvulas cardíacas^{1,2}. Junto a otros SCN es responsable del 47% de IPAs y causa demostrada de infección postoperatoria temprana¹.

El aislamiento de SERM en nuestro entorno se muestra invariable con respecto a años anteriores, un 84% en el año 2013, y sin cambios significativos en la resistencia a diferentes antimicrobianos de acuerdo a los criterios de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) o EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

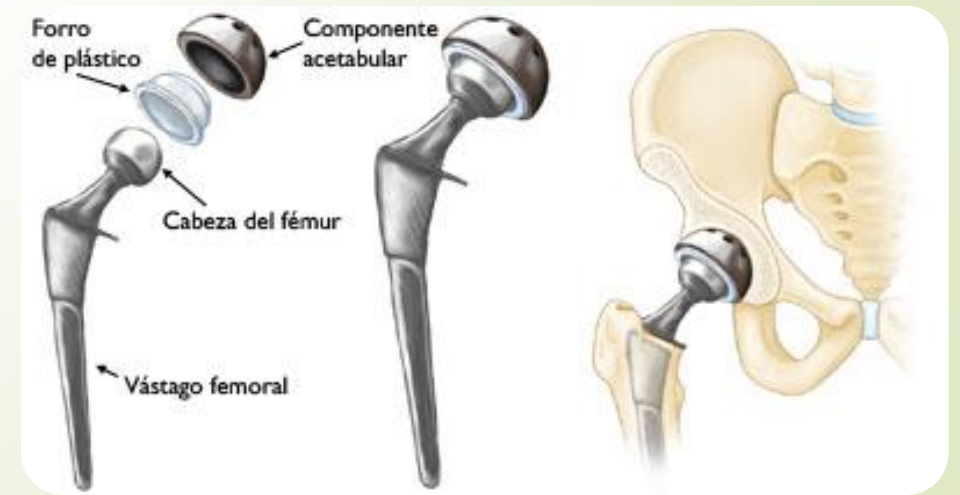
De estos los autores agradecemos a la Infectious Diseases

Introduction

IPA's treatment is complicated because of the loss of sensitivity of the usual pathogens to β -lactams, macrolides, aminoglycosides, glycopeptides and quinolones.

- ▶ Linezolid is a therapeutic alternative in joint prosthesis infections (IPAs) produced by methicillin resistant *S. epidermidis*
- ▶ An 80-year-old female patient with a left hip prosthesis since 2002
- ▶ Nine years later, she presents right coxalgia and is diagnosed clinically and radiologically of coxarthrosis. No improvement
- ▶ It is resected surgically and a total hip prosthesis is implanted, being discharged with rehabilitation treatment
- ▶ Six months later, the patient presented IPA and / or aseptic loosening and a new intervention is scheduled for replacement of prostheses

Intraoperative samples of femur and acetabulum were collected and sent to the Department of Microbiology of the Hospital of Pontevedra, where they were processed according to standard procedures



Methodology

Antibiotic treatment with daptomycin (MIC <0.5 mg / L) was started until cultures were negativized.

The clinical, biochemical and radiological controls were satisfactory, so that the patient was discharged and initiated rehabilitation treatment. After 6 months of evolution, no signs of infection were shown.

The microorganism was isolated in two of the three intraoperative samples sent and revealed by the criteria of Atkins, a probable infection by *S. epidermidis*.

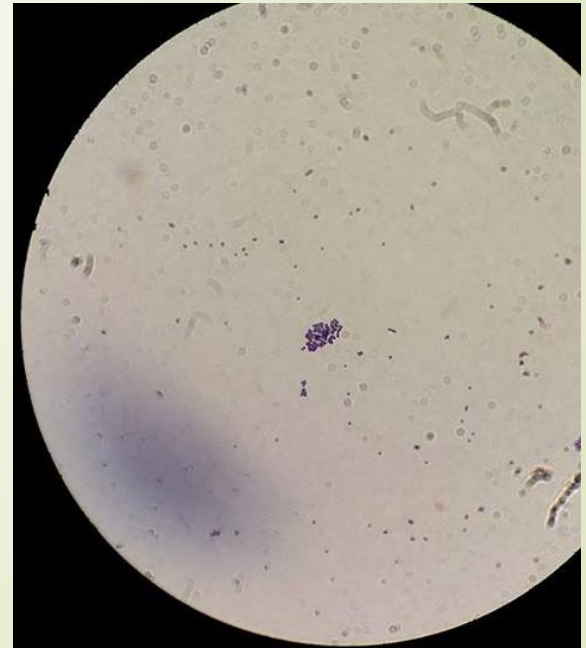
The isolate was resistant to oxacillin (MIC > 2 mg / L) and presented an MIC with vancomycin, teicoplanin and linezolid of 2, 3 and > 32 mg / L, respectively.

Biochemical tests

Gram staining was first performed and observed under a microscope to determine the type of bacteria, resulting in Gram (+) Cocos

Subsequently, the biochemical tests necessary for its identification were made, starting with the catalase test, being positive, indicating the presence of Staphylococcus and the test of cuagulase, being negative, rejecting Staphylococcus Aerus.

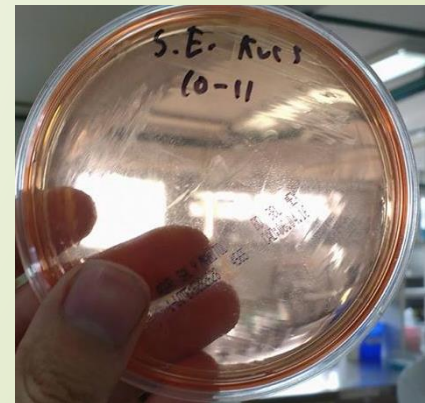
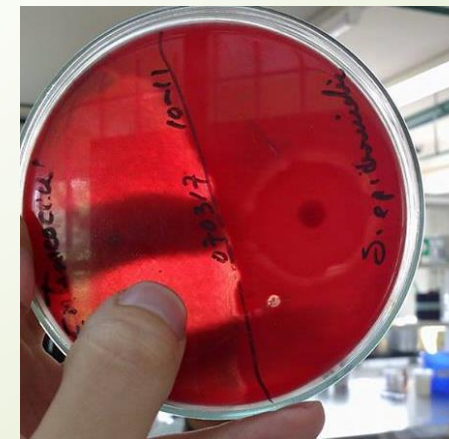
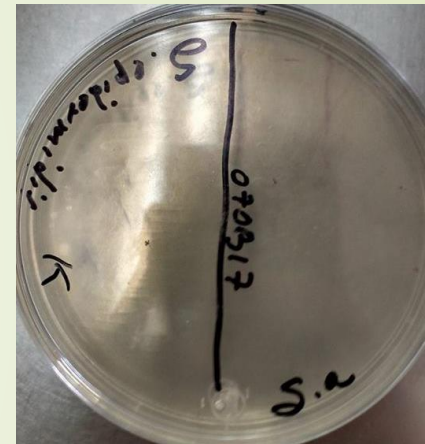
Seeding was carried out in Chromium Agar and commercial Agar Manitol salt. The novobiocin resistance test was performed on Blood Agar



When checking the growths in the agrares, no development was found in chromium agar, only a small pink colo line in the staphylococcus Aerus. While the Agar Salt Manitol was expired, so there was no growth. For the test in blood agar, a halo of inhibition was formed around the sensidisco of novobiocina, being this susceptible, leaving to the bacterium like an SCN.

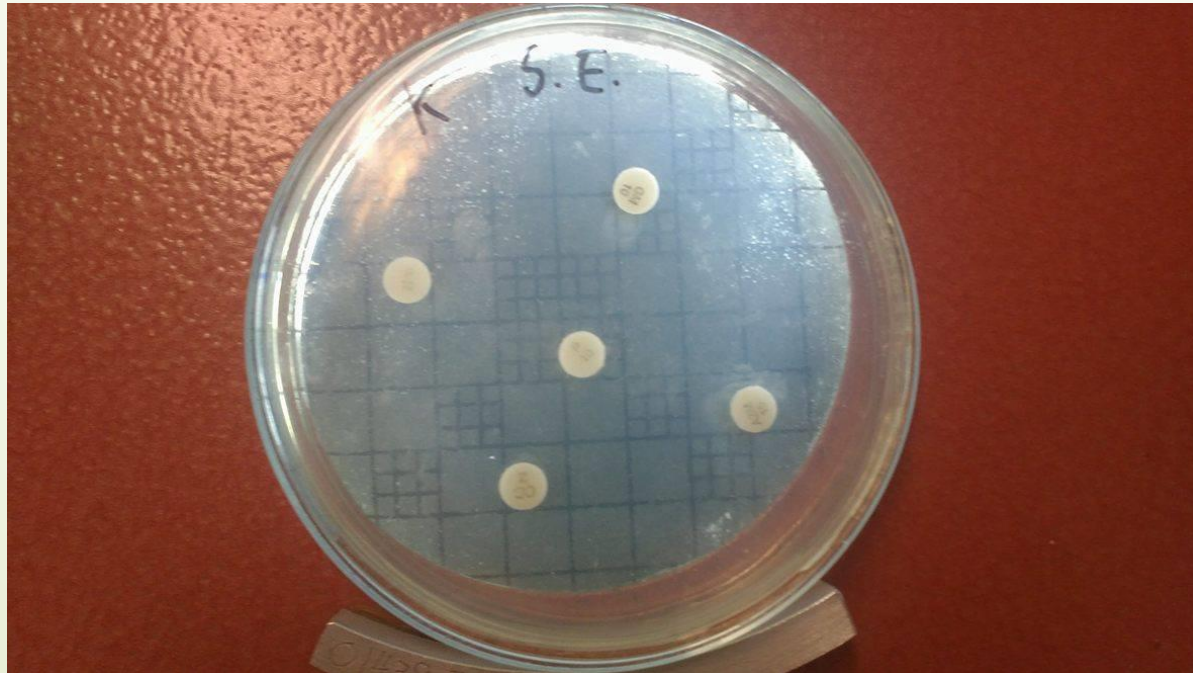
When checking the growths in the agrares, no development was found in chromium agar, only a small pink colo line in the staphylococcus Aerus. While the Agar Salt Manitol was expired, so there was no growth.


For the test in blood agar, a halo of inhibition was formed around the sensidisco of novobiocina, being this susceptible, leaving to the bacterium like an SCN.



Susceptibility testing

The Kirby - Bauer technique was used for this purpose and was inoculated with Mueller - Hinton agar with 4 different antibiotics
Resistance to penicillin and susceptibility to azithromycin, gentamicin and clindamycin were found with inhibition halos greater than 30 mm





Results

- ▶ **The clinical isolate was sent to the National Center for Microbiology (Instituto de Salud Carlos III, Madrid) where the presence of the G2576T mutation in the 23S rRNA gene (rrn) of the V domain was confirmed as a mechanism responsible for resistance to LZD, strongly associated To the consumption of LZD**
- ▶ S. epidermidis forms part of the normal microbiota of human skin and superficial mucous membranes
- ▶ However, it has also become the most important pathogen in infections related to foreign body materials, such as joint prostheses and heart valves

Discussion

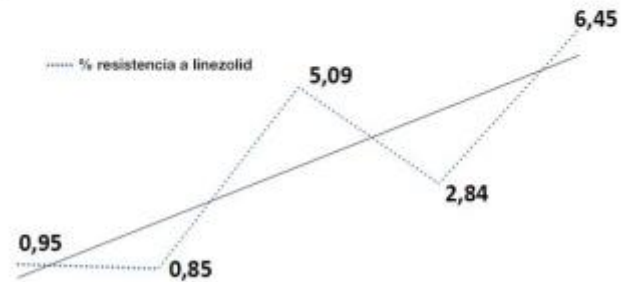
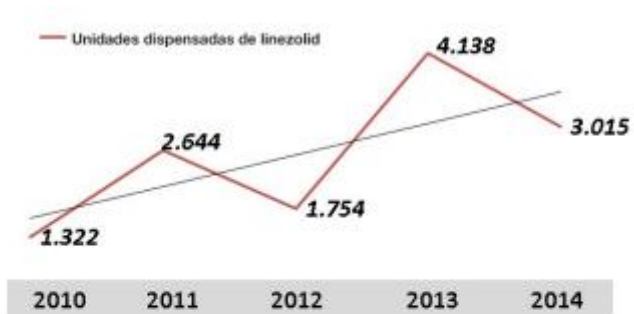


Figura 1 Consumo y % de resistencia a linezolid en función del tiempo.

- The resistance of *S. epidermidis* to linezolid in the clinical case study center has experienced a progressive increase during the last years
- Isolation of SERM strains resistant to linezolid occurred in long-stay hospitalized patients with multiple medical and / or surgical complications.
- Prolonged treatment of linezolid patients favors the appearance of mutations in the 23S ribosomal subunit of different staphylococcus species
- Linezolid monotherapy or in combination with other antibiotics such as rifampicin is a second-line alternative in the treatment of IPAs, especially in chronic patients with SERM, but in many cases, outpatient treatment is required, which can be extended up to 6 months



Conclusion



- ▶ Surveillance and knowledge of the prevalence of linezolid-resistant *Staphylococcus* spp is essential for empirical and specific treatment.
- ▶ The indiscriminate use of linezolid could lead to a similar situation of methicillin resistance by *Staphylococcus aureus*.
- ▶ In the case described, the appearance of resistance to linezolid occurs in a patient without previous treatment with this antibiotic, the probable explanation being a horizontal transmission of resistant microorganisms or mechanisms of resistance.



Bibliography

- ▶ Zamora, J.L., Linezolid-resistant Staphylococcus epidermidis in a patient with joint prosthesis. Revista Esp Quimioter 2016; 29 (3): 159-160 Recovered from:
- ▶ <http://www.seq.es/seq/0214-3429/29/3/zamora26mar2016.pdf>