

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE RESISTENCIA DE**  
*Enterococcus* spp. EN EL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS Y  
**HOSPITAL ROOSEVELT**

**JESSICA ILEANA ALDANA CASTRO**

**QUÍMICA BIÓLOGA**

Guatemala, Julio 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**DETERMINACIÓN DE LOS PERFILES DE RESISTENCIA DE  
*Enterococcus* spp. EN EL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS Y  
HOSPITAL ROOSEVELT**

Informe de tesis

Presentado por

**JESSICA ILEANA ALDANA CASTRO**

Para optar al título de

**QUÍMICA BIOLÓGA**

Guatemala, Julio 2007

## INDICE

	Pág.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Género <i>Enterococcus</i> spp.	8
B. <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Enterococcus faecium</i>	13
C. Resistencia antimicrobiana de <i>Enterococcus</i> spp.	15
D. Determinación de la susceptibilidad	17
E. Mecanismos de resistencia de <i>Enterococcus</i> spp.	20
F. Epidemiología y control de los enterococos vancomicina resistentes (ERV)	20
G. Sistema de vigilancia en Guatemala	27
IV. JUSTIFICACIÓN	29
V. OBJETIVOS	30
VI. HIPÓTESIS	31
VII. MATERIAL Y MÉTODOS	
A. Universo	32
B. Muestra	32
C. Recursos Materiales	32
D. Procedimiento	33
E. Diseño de la investigación	33
VIII. RESULTADOS	34
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	36
X. CONCLUSIONES	45
XI. RECOMENDACIONES	52
XII. REFERENCIAS	53
	54

## **JUNTA DIRECTIVA**

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Ángel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

## Agradecimientos

**A:**

Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser mi casa de estudios durante estos años.

Los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt, por ser la fuente de información y muestreo para el presente estudio.

Laboratorio Nacional de Salud, del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, por su colaboración en la parte experimental de este estudio.

Lic. Jorge Raúl Matheu, Licda. Tamara Velásquez, Licda. Kenia Caballeros, Licda. Karla Lange y Licda. Alba Marina Valdés; por su ayuda, colaboración y aporte en este estudio.

**Acto que dedico a:**

- Dios:** Quien es la luz y el fundamento de mi vida
- Mis padres:** Gracias por su amor y esfuerzo, este triunfo es para uds.
- Mis Abuelitos:** Gracias por todo y por dejarme amarlos.
- Mis Hermanos:** Mícutea por siempre y para siempre.
- Mi sobrino:** Nos llenaste de amor y felicidad, sea Diosito tu luz y fuerza.
- Mis amigos:** A todos y cada uno por ser parte importante en mi vida

## I. RESUMEN

En los últimos años se ha adquirido cada vez más conciencia de la enorme repercusión de *Enterococcus* spp. como patógeno y de las devastadoras consecuencias que podrían derivarse de un ritmo de aparición de cepas multirresistentes, que mengue la disponibilidad de tratamientos antibióticos accesibles y eficaces. Por este motivo se decidió investigar el perfil de resistencia antimicrobiano de *Enterococcus*.

Se aislaron e identificaron bacterias del género *Enterococcus* spp. a partir de muestras analizadas en el área de microbiología del laboratorio clínico en los hospitales General San Juan de Dios (HGSJD) y Roosevelt (HR), durante los períodos de enero a diciembre del año 2005 y de enero a marzo del año 2006, con el propósito de determinar el perfil de resistencia que presenta el género *Enterococcus* spp. Se recolectaron datos de este microorganismo del equipo automatizado MicroScan<sup>®</sup> (HGSJD) y VITEK<sup>®</sup>(HR) durante cada período, con 741 aislamientos en total, de los cuales 646 aislamientos fueron en el 2005 y en el 2006 fueron un total de 95.

Con esto se realizó una base de datos que se analizó con el programa Whonet. Por otro lado en el año 2006 se realizó muestreo de los aislamientos de las diferentes especies de *Enterococcus* sp., a los cuales se les practicó pruebas de susceptibilidad a diversos antibióticos utilizando el método de difusión en placa para tener un parámetro de calidad de los datos analizados. Del total de los aislamientos, se encontró un predominio de *E. faecalis* y *E. faecium* (479 y 123, respectivamente). El tipo de análisis utilizado en esta investigación fue descriptivo. Todas las bacterias identificadas mostraron una resistencia importante a los antibióticos probados. En los años 2005 y 2006, se encontró, un porcentaje de resistencia hacia la tetraciclina en promedio de 66 a 69%, a excepción del 2006 en el hospital General San Juan de Dios el cual aumento en un 96.2%.

Se obtuvieron aislamientos de enterococos vancomicina resistente, para el período del año 2005, en el HR (4.8%) y para el HGSJD (5.1%) y para el período del año 2006, este porcentaje aumento en el HGSJD a 9.4% y para el HR disminuyó a 1.6%.

La resistencia antimicrobiana presentada por la especie de *Enterococcus faecalis* para el 2005 fue de 73% para tetraciclina, 33.1% para estreptomicina de alta carga, 18.8% para ciprofloxacina y 3.4% para vancomicina. Presentando esta última en el año 2006, un aumento a 3.7%, siendo esto significativo debido a que este antimicrobiano es la última terapia de elección en el tratamiento de las infecciones por *Enterococcus*.

Durante el período evaluado en el año 2005 *Enterococcus faecium* presentó una resistencia a la vancomicina del 20.8% y en el 2006 esta disminuyó a 5.3%, también en ambos períodos presentó resistencia elevada hacia la penicilina G (62.4%,68.4%), ampicilina (44.6%,68.4%), ciprofloxacina (56%,52.6%) y tetraciclina (64.4%, 57.9%); mostrando estos valores una multiresistencia antibiótica presentada por esta especie.

Referente al tipo de muestra más frecuente fueron las secreciones seguido de heridas quirúrgicas y aspirados, mientras que en el 2006 además de estos tipos de muestras, también se aislaron *Enterococcus* en muestras de orina. El servicio donde se encontraron más aislamientos fue en la emergencia de adultos en ambos hospitales, permitiendo resaltar que en esta área los pacientes están más susceptibles a infecciones nosocomiales, por ello la importancia de implementar protocolos de vigilancia epidemiológica.



## II. INTRODUCCIÓN

Los enterococos forman parte de la microbiota gastrointestinal humana, se han aislado en más del 90% de los individuos sanos. A pesar de su escasa virulencia, son uno de los principales agentes de infección nosocomial, la especie de *Enterococcus faecalis* se ha encontrado en un 80% de los casos. Entre las infecciones enterococcicas más comunes se pueden mencionar bacteremia, infecciones intrabdominales, endocarditis e infecciones urinarias.

El género Enterococo ocupaba el cuarto lugar como agente etiológico en las infecciones nosocomiales, pero a través de los años ha ido escalando hasta ocupar el segundo lugar en este tipo de infecciones. La importancia de este género radica en su alta resistencia natural a múltiples antimicrobianos y a su capacidad de adquirir resistencia a otros.

La presencia en la circulación sanguínea de *Enterococcus* vancomicina resistente, aumenta dos veces más el riesgo de mortalidad del paciente. Debido a que la vancomicina representa con frecuencia el último tratamiento disponible para los enterococos multirresistentes y el aumento rápido en la resistencia a la vancomicina indica que la infección enterococcica planteará un desafío terapéutico para este siglo.

La determinación de los perfiles de resistencia de *Enterococcus spp.* es muy importante para prevenir y controlar este aumento al cual no se le ha dado la importancia que merece hasta el día de hoy.

Este estudio pretende determinar perfiles de resistencia de *Enterococcus spp.* aislados en los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt, durante los períodos comprendidos de enero a diciembre del año 2005 y de enero a marzo del 2006, para lo cual se procederá a tomar la información de los aislamientos en el área de microbiología de los

laboratorios clínicos de ambos hospitales identificados con la presencia de *Enterococcus* spp. y su respectiva susceptibilidad de los equipo automatizados MicroScan<sup>®</sup> y VITEK<sup>®</sup>. Con los resultados obtenidos se realizará una base de datos identificando el perfil de resistencia comúnmente aislado y los servicios hospitalarios donde se realizaron los aislamientos.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Género *Enterococcus* spp.

##### 1. Clasificación de los *Enterococcus* spp.

Rebeca Lancefield en 1933 al serotipificar los enterococos los ubicó dentro del grupo de *Streptococcus* del grupo D de Lancefield. Hasta hace poco este grupo se dividía en dos: las especies de enterococos (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*) y estreptococos del grupo D no enterocócico (*Streptococcus equinus* y *Streptococcus bovis*). La diferenciación anterior se basaba en la capacidad de los enterococos de hidrolizar la esculina en presencia de bilis, crecer en cloruro de sodio (NaCl) al 6.5% a 10°C y 45°C (1-7).

En el decenio de 1980, el género *Streptococcus* se volvió a clasificar el cuál se basó en estudios de hibridación de ADN/ADN y ADN/ARNr, y se dividió el género de *Streptococcus* en tres géneros, se incluyeron a los enterococos dentro del grupo de *Enterococcus*. Aunque en la actualidad hay dieciséis especies de *Enterococcus* que se detallan a continuación en la tabla 1 (1-7).

**Tabla 1. Especies del género *Enterococcus*, N=16 (1,2)**

<i>E. avium</i>	<i>E. gallinarum</i>
<i>E. calcorum</i>	<i>E. hirae</i>
<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. malodoratus</i>
<i>E. columbae</i>	<i>E. mundtii</i>
<i>E. dispar</i>	<i>E. pseudoavium</i>
<i>E. durans</i>	<i>E. raffinosus</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>E. saccharolyticus</i>
<i>E. faecium</i>	<i>E. sulfureus</i>

Entre todas las especies de *Enterococcus* que existen, dos son los causantes de la mayoría de las infecciones en el ser humano: *E. faecalis* y *E. faecium*. El primero es el más aislado, aproximadamente entre el 80 a 90% de las muestras clínicas, mientras que el segundo es el responsable del 5 al 15% de las infecciones (1-5, 7-9).

Las otras especies de *Enterococcus* como *gallinarum*, *casseliflavus*, *durans*, *avium*, *raffinosis* son aislados en menor proporción, apenas llegan a un 5%, sin embargo su identificación exacta es importante pues los *E. casseliflavus-flavescens*, *gallinarum*, presentan resistencia intrínseca a vancomicina por la presencia de genes específicos (10).

### a. Morfología y fisiología

Por lo general los enterococos proliferan como diplococos o en cadenas cortas. A veces se encuentran cepas raras móviles. Los microorganismos del grupo se diferencian de casi todos los otros estreptococos por su capacidad de proliferar a 45 °C y de soportar temperaturas superiores a los 60°C. Además proliferan en presencia de bilis al 40% e hidrolizan la esculina. Todos dan la reacción alfa o gamma en agar sangre, con la excepción de un subgrupo de *E. faecalis* conocido antiguamente como la subespecie var. *zymogenes*, que es beta hemolítica. Las especies con el antígeno D pueden ser separadas en base a sus reacciones bioquímicas como se muestra en la tabla 2 (1,5-10).

**Tabla 2. Características bioquímicas y de proliferación de los estreptococos del grupo D (1,2)**

	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>S. bovis</i>	<i>S. equinus</i>
<b>Bilis esculina</b>	+	+	+	+	+
<b>NaCl 6.5%</b>	+	+	+	-	-
<b>Sorbitol</b>	+	-	-	±	-
<b>Manitol</b>	+	+	-	±	-
<b>Lactosa</b>	+	+	+	+	-
<b>Almidón</b>	-	-	-	+	+

±, variable dentro de las especies *S. faecalis* var. *zymogenes* es beta hemolítico y *S. faecalis* var. *liquefaciens* licua la gelatina.

### b. Estructura Antigénica

A diferencia de casi todos los otros grupos de estreptococos, el antígeno del grupo D no es un carbohidrato de la pared celular sino un ácido lipoteicoico asociado con la membrana citoplasmática. Se trata de un poliglicerol fosfato en el cual parte del glicerol está sustituido por D-Alanina y glucosa (1-2).

Los polisacáridos de la pared celular en la especie sirven como tipo de antígenos específicos. Son ácido-lábiles y no contienen ramnosa (1-2).

Existen variaciones en la estructura del peptidoglucano entre las especies del grupo D, en especial como agregados a la porción peptídica: el *E. faecalis* contiene solo ácido glutámico, lisina y alanina, mientras que el *E. faecium* y el *E. durans* también contienen ácido aspártico y el *S. bovis* y el *S. equinus* contienen treonina (1-2).

Este grupo de microorganismos presenta un problema taxonómico común a los grupos C y G y a los estreptococos viridans (es decir, heterogeneidad bioquímica y antigénica dentro del serogrupo de Lancefield) (1-2).

### **c. Infección clínica**

Los microorganismos del grupo D, más a menudo el *E. faecalis*, suelen asociarse con infecciones del tracto biliar y urinario, con septicemia, endocarditis, con infección de heridas y abscesos intrabdominales que complican la diverticulitis, apendicitis y otras enfermedades que alteran la integridad del tracto gastrointestinal. Estas bacterias constituyen una causa frecuente de endocarditis bacteriana, en especial en los ancianos o en pacientes con valvulopatía subyacente que son sometidos a manipulaciones de los tractos gastrointestinal o genitourinario. Hace poco se ha postulado una asociación entre las endocarditis o las bacteriemias debidas a *S. bovis* y tumores gastrointestinales subyacentes. Se ha sugerido que el aislamiento de este microorganismo de la sangre debería alertar al clínico respecto a una posible enfermedad (1, 2, 6,10).

En Chile, durante 1999, *Enterococcus* fue responsable de 2.8% del total de las infecciones intrabdominales humanas (IIH) notificadas con agente etiológico aislado; 2.7% de las infecciones del tracto urinario (ITU), 3.8% de las bacteriemias en general, 5.3% de las bacteriemias asociadas a catéter vascular y menos del 1% de las infecciones de herida operatoria (11).

### **B. *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium***

Aunque tanto *E. faecalis* como *E. faecium* causan enfermedades en los seres humanos, a continuación se enfoca en el primero de ellos porque es el patógeno

enterocócico más importante. *E. faecalis* se porta en el conducto digestivo, la cavidad bucal, la vesícula biliar, la uretra y la vagina. Se disemina a los nuevos huéspedes por medio de las manos y persiste durante cierto tiempo en los fómites. Por este motivo *E. faecalis* es una causa importante de enfermedades nosocómicas. Mientras que *E. faecalis* era el cuarto patógeno nosocómico más prevalente, en menos de un decenio pasó a ser el segundo; *Escherichia coli* ocupa el primer lugar de la lista. Los Enterococos patógenos oportunistas que a menudo colonizan a los pacientes con catéteres fijos y producen enfermedad sobre todo en sujetos debilitados e inmunocomprometidos. Otros factores de riesgo son intervención quirúrgica mayor, heridas, cistoscopia y uso de drogas por vía intravenosa. Las infecciones Enterocócicas producen endocarditis, bacteriemia, abscesos intrabdominales, infecciones de tejidos blandos y sepsis neonatal (8-10).

## **1. Características de *E. faecalis* y *E. faecium***

### **a. Mecanismos de patogenicidad**

Algunos enterococos parecen ser resistentes a todos los antibióticos que se conocen, mientras que según informes otros son resistentes a todos los antibióticos con excepción de los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) o al imipenem. *E. faecium* suele ser más resistente a los antibióticos que *E. faecalis* (1,3-5,10).

Tanto *E. faecalis* como *E. faecium* albergan plásmidos que codifican la resistencia a gran diversidad de antibióticos, incluso tetraciclinas, penicilinas, cefalosporinas, macrólidos, cloranfenicol y aminoglucósidos. Los enterococos son naturalmente tolerantes a las beta-lactamasas al parecer porque sus proteínas de enlace con la penicilina tienen afinidades hasta cierto punto bajas hacia la mayor parte de ellas. Además, algunos enterococos muestran respuesta curiosa a las beta-lactamasas que se llama efecto águila. Los enterococos positivos para el efecto águila presentan mayor respuesta bactericida a las penicilinas a una concentración justo por encima de la concentración mínima inhibitoria (CIM) del antibiótico; conforme la concentración de penicilina sobrepasa este valor, el

efecto bactericida contra los enterococos disminuye. La base molecular del efecto águila se desconoce (1,3-5,10).

En tanto que algunos enterococos son susceptibles a la gentamicina, otros presentan resistencia de alto nivel ( $\text{CIM} \geq 2000 \mu\text{g/mL}$ ) o de bajo nivel ( $\text{CIM} < 2000 \mu\text{g/mL}$ ) a este fármaco. Los aminoglucósidos funcionan de manera sinergista con las penicilinas o la vancomicina cuando la resistencia a la gentamicina es baja, pero no cuando es elevada (1,3-5,10).

### **b. Enfermedades producidas por *E. faecalis* y *E. faecium***

Las cinco enfermedades más importantes producidas por enterococos son endocarditis, bacteriemia primaria, infecciones de vías urinarias, infecciones abdominales y meningitis neonatal (1,3-5,10).

#### **i. Endocarditis**

La endocarditis infecciosa es causada por gran diversidad de microorganismos, incluso estreptococos, que producen cerca de 70% de los casos (1, 3,10-12).

Los estreptococos del grupo viridans que son comensales orales suelen ser la causa más prevalente de endocarditis infecciosa; los estafilococos son los segundos más prevalentes; se informa que *E. faecalis* ocasiona 5 a 20% de los casos y *Streptococcus bovis*, un estreptococo del grupo D no enterocócico, también produce endocarditis infecciosa (1, 3,10-12).

La endocarditis enterocócica suele ser subaguda, más que aguda, y ocurre con mayor frecuencia en hombres de edad avanzada, mujeres jóvenes y entre personas que utilizan drogas por vía intravenosa. Los hombres de edad avanzada corren riesgo porque a menudo se someten a procedimientos de vías urinarias, como cistoscopia e introducción de

sondas. Dos terceras partes de los pacientes con endocarditis enterocócica tienen alteraciones valvulares preexistentes (1, 3,10-12).

Los sujetos con endocarditis presentan signos de infección sistémica generalizada, como fiebre, debilidad, anorexia, mialgia, artralgia, pérdida de peso y leucocitosis (1, 3,10-12).

La combinación de fiebre y soplo cardiaco sugiere endocarditis infecciosa. Estas personas suelen presentar manifestaciones cuyo origen son embolias precipitadas por vegetaciones cardiacas; algunas de ellas son esplenomegalia con dolor en el cuadrante abdominal izquierdo superior, embolias y encefalopatía tóxica, petequias, hemorragias en esquirla bajo las uñas y en las conjuntivas, nódulos de Osler (nódulos protuberantes de color azul rojizo, por lo general, en las yemas de los dedos), manchas de Jane-way (máculas rojas y aplanadas sobre las extremidades) y nefritis embólica focal. Los dedos en forma de palillo de tambor se relacionan con endocarditis crónica (1, 3,10-12).

La clave para el diagnóstico de la endocarditis infecciosa es un cultivo de sangre. Se toman muestras de sangre venosa a intervalos de 6 a 8 horas durante tres a cinco días antes de iniciar la antibiótico terapia. Una vez que se aíslan, los enterococos deben diferenciarse de los estreptococos viridans y del *S. bovis*. Cuando el microorganismo se identifica como *S. bovis* se examina con mayor amplitud al paciente para detectar la presencia de algún tumor gastrointestinal. En casos de endocarditis por *E. faecalis* la tasa de mortalidad es cercana a 70% para sujetos con válvulas naturales, pero sólo de 10 a 15% para quienes poseen válvulas prostéticas (1, 3,10-12).

## **ii. Bacteriemia**

La bacteriemia enterocócica primaria ocurre con mayor frecuencia en hombres de más de 50 años con una afección médica preexistente, como una intervención quirúrgica mayor reciente, quemaduras graves traumatismos múltiples. En alrededor de 80% de los



casos la infección es nosocómica. Otros factores de riesgo importantes son la introducción de sondas a la vejiga y el uso de cefalosporinas (1, 3,10-12).

Los sujetos con bacteriemia presentan signos de enfermedad sistémica generalizada y también pueden sufrir endocarditis. El diagnóstico se confirma mediante un cultivo de sangre (1, 3,10-12).

### **iii. Infecciones de vías urinarias**

*E. faecalis* ocasiona cerca de 10% de las infecciones de vías urinarias entre la población general y es la segunda causa más prevalente de estas infecciones en pacientes hospitalizados. Los factores de riesgo incluyen disminución de las defensas en el huésped e introducción de sonda urinaria. Los enterococos ocasionan pielonefritis o cistitis. Estas infecciones se caracterizan por poliuria y disuria; la pielonefritis también se vincula con fiebre, escalofrío y dolor en el costado y en ocasiones se acompaña de náusea y diarrea. La cistitis se relaciona con incomodidad suprapúbica y no se acompaña de fiebre. En ambos casos se aíslan bacterias del chorro medio de la orina, aunque los recuentos bacterianos absolutos son considerablemente más altos en personas con pielonefritis. A diferencia de los pacientes con cistitis, los que padecen pielonefritis presentan leucocitosis con desplazamiento hacia la izquierda, así como bacterias urinarias recubiertas con anticuerpos (1, 3,10-12).

### **iv. Infecciones abdominales**

*E. faecalis* puede producir infecciones intrabdominales casi siempre como parte de una infección mixta por *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. La tasa de mortalidad es elevada cuando la infección contiene tanto enterococos como *E. coli* (1, 3,10-12).

## **v. Meningitis neonatal**

*E. faecium* ha ocasionado epidemias esporádicas de meningitis neonatal enterocócica. Los lactantes afectados tuvieron peso bajo al nacer, eran prematuros (edad gestacional media de 29 semanas), tenían menos de 16 días de edad, habían recibido penicilina G o ampicilina con anterioridad y usaban catéter intravenoso o sonda nasogástrica. Se consideró que la infección se había transmitido a los lactantes a través de las manos de las enfermeras a su cuidado (1, 3,10-12).

## **c. Tratamiento**

Como los enterococos con gran frecuencia muestran resistencia a los antibióticos, la elección del fármaco es difícil de efectuar (1, 3,10-12).

La recomendación general para el tratamiento de las infecciones enterocócicas fuera de la vejiga es una combinación de penicilina o un glucopéptido (vancomicina o teicoplanina) más un aminoglucósido. Se recomienda utilizar penicilina, ampicilina o un glucopéptido para tratar la cistitis. Las cefalosporinas no están indicadas porque predisponen a los pacientes a las superinfecciones enterocócicas (1, 3,10-12).

Antes de iniciar el tratamiento debe comprobarse que los enterococos son susceptibles a la penicilina y la gentamicina. La infección se trata con penicilina o con una combinación de ampicilina más penicilina si el enterococo es susceptible a ella; de lo contrario se emplea vancomicina más un aminoglucósido. Si el enterococo muestra resistencia de alto nivel a la gentamicina, se prueba su resistencia a la estreptomina. Mientras que las bacterias sensibles a la estreptomina deben tratarse con estreptomina más una penicilina, las resistentes a la estreptomina se tratan con un curso prolongado de penicilina o un glucopéptido. Si el paciente sufre de endocarditis, se emplea un tratamiento combinado por vía intravenosa (1, 3,10-12).

### C. Resistencia antimicrobiana de *Enterococcus spp.*

La importancia de este género radica en su alta resistencia natural a múltiples antimicrobianos y a su capacidad de adquirir resistencia a otros (tabla 3), incluida vancomicina, en ocasiones única alternativa de tratamiento en infecciones severas por *Enterococcus* resistentes a ampicilina, y ampliamente utilizada en las últimas dos décadas en la terapia de infecciones por *S. aureus* resistentes a cloxacilina (6,12-13).

**Tabla 3. Tipos de resistencia en *Enterococcus spp* (2-5)**

<b>Natural a</b>	<b>Adquirida a</b>
Cefalosporinas	Ampicilina-penicilina
Oxacilinas	Cloranfenicol
Clindamicina	Eritromicina
Lincomicina	Tetraciclinas
Cotrimoxazol	Quinolonas
Aminoglucósidos (bajo nivel)	Vancomicina-teicoplanina
	Nitrofurantoína
	Aminoglucósidos (alto nivel)

El antimicrobiano de elección en las infecciones por *Enterococcus* es ampicilina, la que tiene un efecto inhibitor y no lítico. Para lograr un efecto bactericida en infecciones graves como endocarditis, bacteriemias o meningitis, se recomienda asociar un aminoglucósido, siempre que la resistencia a este último sea de bajo nivel: < 500 µg/mL para gentamicina y < 2.000 µg/mL para estreptomina (6,12-13).

La susceptibilidad natural de *E. faecalis* a ampicilina es mayor (CIM entre 0.5 y 4 µg/mL) que *E. faecium* (4 a 8 µg/mL). Ambas especies pueden adquirir resistencia de dos tipos a este antibacteriano:

*Bajo nivel:* CIM de 8 a 32 µg/mL, determinada por una mayor producción de proteínas ligadoras a la penicilina 5 (PBP del inglés Protein Binding Penicilin) (PBP 5) con menor afinidad a ampicilina.

*Alto nivel:* CIM > 64 µg/mL, que se debe a la producción de beta-lactamasas, lo cual es inhabitual y se ha descrito sólo en *E. faecalis*. La producción de PBP 5, mecanismo más frecuente de resistencia, presente en *E. faecium*, se asocia en esta especie a resistencia a vancomicina tipo Van B, transferible (trasposon 5382, muy expandido en Estados Unidos de América) (6,12-13).

Los *Enterococcus spp.* son particularmente especiales pues presentan resistencia intrínseca a beta-lactámicos, incluyendo cefalosporinas y penicilinas resistentes a la penicilinasas, a bajas concentraciones de aminoglucósidos, a clindamicina, (excepción algunos *E. faecium* y *E. durans*), fluroquinolonas (excepción de las vías urinarias donde sí tienen actividad) y a trimetoprim-sulfametoxazol por incorporación de ácido fólico exógenos *in vivo* (14).

El uso de antibióticos de amplio espectro, cefalosporinas en particular, la mayor utilización de cateterización urinaria, dispositivos intravasculares y la prolongación de la estancia hospitalaria han generado una mayor incidencia de infecciones hospitalarias por esta etiología (10-14).

También hay resistencia intrínseca a las estreptograminas como quinuprostindalfopristin para *E. faecalis*, el mecanismo es desconocido. Lo que indica que estos antibióticos no deben ser estudiados ni portados en los antibiogramas de rutina (10-15).

#### **D. Determinación de la susceptibilidad antibiótica**

En la determinación de la susceptibilidad microbiana mediante la técnica de difusión en agar se utilizan discos de ampicilina (10µg), gentamicina (120µg), estreptomycin (300µg), kanamicina (120µg), vancomicina (30µg), teicoplanina (30µg), imipenem (10µg) y nitrofurantoína (300µg) según normas del Comité Nacional para

estándares de laboratorio Clínico (por sus siglas en inglés NCCLS); también recomienda que se puede utilizar *S. aureus* ATCC 25923 como control de calidad de los antimicrobianos (14,16-17).

### 1. Recomendaciones para estudio de susceptibilidad *in vitro* de *Enterococcus*

Dado que 95% de los Enterococos vancomicina resistentes (ERV) corresponden a *E. faecium*, es fundamental identificar la especie de *Enterococcus*, para lo cual se sugiere utilizar las pruebas fisiológicas indicadas en la tabla 4 (14,16-17).

**Tabla 4. Identificación de *Enterococcus* (2-10)**

Gram	diplococos y cadenas gram positivo
Catalasa	negativa
PYR	positiva
Bilis esculina	desarrollo de colonias negras
Na Cl 6,5%	crecimiento
Telurito	+ <i>E. faecalis</i> (crecimiento de colonias negras) - <i>E. faecium</i> (no se observa crecimiento)
Otras pruebas alternativas	movilidad, pigmento, arabinosa, sorbitol.

Las recomendaciones del NCCLS en el año 2001 indican la realización del antibiograma en difusión deben cumplir con las siguientes especificaciones:

**Medio:** agar Müeller-Hinton

**Inóculo:** suspensión directa de colonias o caldo con crecimiento ajustado a 0.5 Mac Farland.

**Incubación:** 35°C durante 16 a 18 hrs excepto para vancomicina que requiere de 24 hrs.

**Control de calidad:** con cepa de *S. aureus* ATCC 25923.

**Antimicrobianos a utilizar:** se detallan según la muestra clínica en la figura 1 y la presencia de resistencia a vancomicina (Tabla 5). Las categorías de susceptibilidad se presentan en la tabla 6 (14,16-17).

**Figura 1. Antimicrobianos a utilizar de rutina en antibiograma de *Enterococcus* (14)**

**GRUPO A: Prueba – Informe**

**Penicilina o ampicilina**

Urocultivos

Hemocultivos

- Nitrofurantoína
- Norfloxacina
- Tetraciclina



- Gentamicina (120 µg)
- Estreptomicina (300 µg)
- Beta-lactamasa(nitrocefina)



**GRUPO B: Prueba – Informe selectivamente**

**Vancomicina - teicoplanina**

**Tabla 5. Antibiograma en difusión. Antimicrobianos suplementarios para *Enterococcus* resistentes a vancomicina (14)**

---

Cloranfenicol
Eritromicina
Tetraciclina
Ciprofloxacina
Quinupristina-dalfopristina
Linezolid
Rifampicina

---



---

**Tabla 6. *Enterococcus spp* Categorías de susceptibilidad NCCLS-2001(14,16-17)**

Antimicrobiano	Disco ( $\mu\text{g}$ )	Diámetro (mm)			CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )	
		R	I	S	R	S
Penicilina	10 UI	$\leq 14$	-	$\geq 15$	$\geq 16$	$\leq 8$
Ampicilina	10	$\leq 16$	-	$\geq 17$	$\geq 16$	$\leq 8$
Ciprofloxacina	5	$\leq 15$	16 - 20	$\geq 21$	$\geq 4$	$\leq 1$
Nitrofurantoina	300	$\leq 14$	15 - 16	$\geq 17$	$\geq 128$	$\leq 32$
Tetraciclina	30	$\leq 14$	15 - 18	$\geq 19$	$\geq 16$	$\leq 4$
Vancomicina	30	$\leq 14$	15 - 16	$\geq 17$	$\geq 32$	$\leq 4$
Teicoplanina	30	$\leq 10$	11 - 13	$\geq 14$	$\geq 32$	$\leq 8$
Gentamicina	120	6	7 - 9	$\geq 10$	$\geq 500$	$\leq 500$
Estreptomicina	300	6	7 - 9	$\geq 10$	-	-

### E. Mecanismos de resistencia de *Enterococcus spp*.

La resistencia de las bacterias puede ser de dos tipos intrínseca y adquirida. En el caso primero es una resistencia natural que limita la elección de los antibióticos y obliga a una terapia combinada para infecciones severas (15).

La resistencia adquirida a estreptomicina de alto nivel se reportó en 1970, nueve años después aparecían las cepas resistentes a vancomicina. Actualmente los enterococos han adquirido resistencia a prácticamente todos los antimicrobianos disponibles (15).

#### 1. Resistencia a los beta-lactámicos

La resistencia intrínseca es debida a una baja afinidad por proteínas ligadoras a la penicilina, principalmente a la PBP5. La resistencia a la penicilina es directamente proporcional a la cantidad de PBP5 producida. Los *Enterococcus* incapaces de producir estas PBP5 son altamente sensibles a penicilina, caso contrario, los que tienen la capacidad de producir estas PBP5 son resistentes, por lo tanto este grupo de bacterias son intrínsecamente resistentes a penicilinas semi-sintéticas como oxacilina, a todas las cefalosporinas de primera generación como cefalotina a las de segunda generación como cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona y a las de cuarta generación como cefepime. Por lo tanto NO INFORMAR estos antibióticos en los antibiogramas.

También los *Enterococcus* pueden ser tolerantes a todos los beta-lactámicos por lo que en infecciones severas requieren terapia combinada para lograr acción bactericida. La mayoría de *E. faecium* y *E. raffinoss* son resistentes a penicilina, ampicilina e imipenem. En el caso de *E. faecium* no informar imipenem.

Con relación a la resistencia adquirida, ésta puede deberse a la producción de beta-lactamasa, que juegan un papel poco importante en la resistencia, esta enzima es idéntica a la producida por el *Staphylococcus*, es constitutiva, de bajo nivel y dependientes del inóculo. Esta resistencia adquirida la podemos observar para penicilina, ampicilina y ureidopenicilinas (9-15).

La producción de beta-lactamasa no puede ser detectada por los métodos de rutina como difusión o CIM, se debe utilizar la prueba de nitrocefin frente a un aislado de sitio estéril (9-15).

En el caso que no produzcan beta-lactamasa, la resistencia adquirida puede deberse a una hiperproducción de PBP5, la cual podrá dar CIMs de 32 a 128 µg/mL (alta resistencia). En el caso de aislar una cepa de *Enterococcus* de hemocultivos o líquido cefalorraquídeo, resistente por el método de difusión a ampicilina o penicilina y sensibles a los aminoglucósidos de alta carga, se debe realizar CIM para ampicilina o penicilina. Si la CIM para ampicilina es <32 µg/mL y para penicilina es <64 µg/mL consideramos como potencialmente sensible para sinergia (10-15).

La resistencia a la vancomicina producida por el género de *Enterococcus* spp., al igual que para los otros antimicrobianos, puede ser intrínseca y adquirida. En el primer caso es por tolerancia y se presenta en los *Enterococcus* “móviles” como son el *E. casseliflavus-flavescens*, y *gallinarum*. Por lo tanto es importante incorporar en las pruebas de identificación un tubo para motilidad (MOT). Los otros *Enterococcus* incluidos *faecalis* y *faecium* son inmóviles. La resistencia adquirida es debida a la presencia de genes específicos *Van*. Se han reconocido 4 fenotipos de resistencia la vancomicina, VanA, VanB, VanC y VanD (9-15).

En el laboratorio se puede establecer el fenotipo, mediante los métodos de difusión, dilución, E-test<sup>®</sup>, Screening en agar y métodos automatizados con las CIMs para



vancomicina y teicoplanina. Se pueden utilizar también pruebas moleculares como PCR y/o hibridización (9-17).

Actualmente los enterococos resistentes a vancomicina (ERV) constituyen un verdadero desafío terapéutico en varias regiones del mundo, con una morbi-mortalidad alarmante, debido a que este antimicrobiano es la última opción en tratamiento para los pacientes con endocarditis (9).

## **2. Resistencia a los aminoglucósidos**

Los *Enterococcus* son resistentes intrínsecamente a los aminoglucósidos de bajo nivel por ingreso deficiente del antimicrobiano hacia el interior de la bacteria. Por lo tanto no se deben probar discos de baja carga (Ej.: estreptomina de 10 µg o gentamicina de 10 µg o kanamicina de 30 µg). La resistencia a los aminoglucósidos es diferente en la gentamicina y en la estreptomina por lo que estos dos antimicrobianos deben ser investigados en los antibiogramas en forma independiente.

La resistencia a la gentamicina es debido a la presencia de una enzima inactivante la AAC-6'I (2''-fosfotransferasa-6'-acetiltransferasa). La presencia de esta enzima hace que sea resistente además de la gentamicina a tobramicina, netilmicina, amikacina y kanamicina. Por lo anterior en el antibiograma se debe colocar un disco de gentamicina con carga de 120 µg a tobramicina, netilmicina, amikacina y kanamicina. La utilización del disco de gentamicina es un buen predictor de los otros aminoglucósidos con excepción de la estreptomina (300 µg).

La resistencia a la estreptomina probablemente sea debido a una baja permeabilidad, que puede ser superada si se asocia penicilina (la cual incrementa la entrada del aminoglucósido) es una resistencia de nivel moderado con CIM de 62 a 500 µg/mL para gentamicina y CIM > 2000 µg/mL para estreptomina. La resistencia adquirida a los aminoglucósidos es debida a enzimas inactivantes, plasmídicas constitutivas y por protección ribosomal que le da una resistencia absoluta. En el laboratorio se puede observar la resistencia a los aminoglucósidos de alto nivel producida por enzimas inactivante utilizando discos de estreptomina, gentamicina y kanamicina (10-15).

## **F. Epidemiología y control de los enterococos vancomicina resistentes (ERV)**

Desde su reporte inicial de ERV en 1986 en pacientes en Francia y Reino Unido, éstos han sido aislados en otros países como Australia, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Alemania, Italia, Malasia, Países bajos, España, Suecia, Estados Unidos y actualmente se han presentado estas cepas en Ecuador. Desde 1989 a 1993 el porcentaje de infecciones nosocomiales por enterococos reportadas por el centro de control de enfermedades (por sus siglas en inglés control diseases center CDC) y el Instituto Nacional de Vigilancia Nosocomial (por sus siglas en inglés national nosocomial institute surveillance NNIS) se han incrementado del 0.3% al 7.9% y la resistencia a la vancomicina esta sobre el 50% en los *E. faecium* (15).

El incremento fue principalmente debido a infecciones en las unidades de ciudadados intensivos (UCIs) aunque la tendencia también ha sido marcada en los pacientes que no han estado en UCIs. Las epidemias hospitalarias de infección o colonización han sido debidas a aislado VanA y VanB, estas epidemias pueden ser debidas a una diseminación clonal de cepas indistinguibles con electroforesis de campo pulsado, no solamente dentro de los hospitales locales. A menudo se pueden encontrar clones múltiples y aislados esporádicos de cepas no relacionadas, pueden coexistir con un clon sospechoso de diseminación institucional. En los hospitales en los cuales brotes de ERV han sido detectados en un estado temprano, los casos han sido en su mayoría causados por una única cepa. Cuando un ERV ha estado presente en un hospital o comunidad por meses o años, la tipificación molecular de las cepas a menudo han revelado a través de plásmidos o transposones a diferentes clones (6,15).

Los pacientes pueden estar colonizados más que infectados por un ERV en 60 a 70% de los casos. Aproximadamente la mitad de estos fallecimientos pueden ser atribuidos directamente a la infección (6,15).

Los enterococo son una causa importante de endocarditis y de infecciones adquiridas en el hospital, esto probablemente se deba al uso excesivo de cefalosporinas de tercera generación a los que son intrínsecamente resistentes, convirtiéndose en la segunda causa de bacteriemia nosocomial en los Estados Unidos. Las infecciones de heridas

intraabdominales o heridas pélvicas, generalmente son polimicrobianas y el papel del *Enterococcus* permanece controversial. Cada vez es más frecuente el aislamiento de esta bacteria en heridas, este hallazgo está relacionado con el uso excesivo de antimicrobianos y la emergencia de resistencia entre estos microorganismos (15).

Los reservorios de estas cepas pueden ser varios tipos de animales y consecuentemente sus productos (pollos, cerdos, carne de res). Esto principalmente en Europa y están relacionados al uso de avoparicina en la industria de animales por más de 15 años. En Estados Unidos se ha concluido que al parecer son los pacientes hospitalizados portadores en su tracto gastrointestinal, el principal reservorio de estas cepas.

El principal modo de transmisión son las manos del personal pero también pueden encontrarse en las superficies y equipo médico, debido a que son muy resistentes a la desecación y temperaturas extremas. Pueden permanecer por 5 a 7 días en la superficie de las mesas de las estaciones de enfermería y por 24 horas o más después de la contaminación experimental del teléfono, diafragmas de estetoscopios, termómetros y torniquetes (6-15).

El principal mecanismo de transmisión de *Enterococcus spp.* son las manos del personal, aunque también puede ocurrir por contaminación del equipo médico y por superficies contaminadas, siendo estos dos últimos mecanismos menos importantes (15).

### **1. Resistencia a los glucopéptidos en el género *Enterococcus spp.***

Clásicamente, se consideraba que la infección enterocócica era de origen endógeno, pero la infección exógena, por transmisión cruzada a través de las manos contaminadas del personal sanitario, está claramente demostrada en la actualidad (18).

Los enterococos se caracterizan por presentar resistencia intrínseca a un gran número de antibióticos (beta-lactámicos, lincosaminas, aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol) y por su capacidad para adquirir nuevas resistencias. La resistencia intrínseca a los beta-lactámicos se manifiesta por CIM más elevadas que en el género *Streptococcus*. Estos antibióticos, como los glucopéptidos, tienen actividad bacteriostática, pero no bactericida, frente a estos microorganismos, por lo que en caso de infecciones graves como la endocarditis o la meningitis es necesaria una asociación sinérgica y

bactericida. La combinación de un aminoglucósido y un agente que actúe sobre la pared celular, como los beta-lactámicos o glucopéptidos, permite adquirir la actividad bactericida que desaparece en caso de desarrollo de resistencia elevada a cualquiera de sus componentes (18).

La vancomicina se desarrolló en los años 50 como un antimicrobiano activo frente a gram positivo y, sobre todo, frente a los estafilococos productores de beta-lactamasas. El desarrollo de los nuevos antibióticos con menos efectos indeseables limitó su uso a los casos de alergia a los beta-lactámicos (15-18).

La aparición, en los años 80, de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y el aumento en el número de pacientes susceptibles de presentar infecciones por microorganismos gram positivo, favoreció de nuevo el uso de la vancomicina, en estos momentos con menor desarrollo de reacciones alérgicas, toxicidad ótica y renal (15-18).

No es hasta 1986, treinta años después de la introducción clínica de la vancomicina, cuando se aíslan las primeras cepas de *Enterococcus* resistentes a los glucopéptidos. En la actualidad, este tipo de resistencia se asocia a tres fenotipos bien definidos: VanA, VanB y VanC (Tabla 7). Ultimamente, se ha descrito un cuarto tipo, VanD, en una cepa de *E. faecium* (15-18).

**Tabla 7. Resistencia a vancomicina en el género *Enterococcus spp.* (19)**

Fenotipo	Descrito en	CMI (ug/mL)	
		Vancomicina	Teicoplanina
VanA	<i>E. faecium</i>	64 - >1000	16- 512
	<i>E. faecalis</i>		
	<i>E. avium</i>		
	<i>E. durans</i>		
	<i>E. hirae</i>		
	<i>E. mundtii</i>		
	<i>E. raffinosus</i>		
	<i>E. gallinarum</i>		
	<i>E. casseliflavus</i>		
VanB	<i>E. faecium</i>	4 – 1024	0,25- 2
	<i>E. faecalis</i>		
VanC	<i>E. gallinarum</i>	2- 32	0,12- 2
	<i>E. casseliflavus</i>		
	<i>E. flavescens</i>		
VanD	<i>E. faecium</i>		2 – 4

La resistencia a la vancomicina fue inicialmente descrita en cepas de la especie *E. faecium*, aisladas en Francia y Reino Unido. La epidemiología de los ERV parece ser diferente en América y en Europa (18).

Actualmente, menos de un 5% del total de enterococos aislados en Europa son resistentes a la vancomicina. La mayoría corresponden a aislamientos procedentes de casos de colonización o infección adquirida en la comunidad, aunque existen descritos brotes intrahospitalarios (15-18).

Como se ha dicho, la epidemiología de los ERV en los Estados Unidos, es diferente. Se trata aquí de aislamientos asociados a infecciones nosocomiales que pueden estar causadas por uno o más clones simultáneamente. Los estudios epidemiológicos han

permitido esclarecer los factores de riesgo, los mecanismos de transmisión y el clon o clones implicados en estos brotes (18).

Entre los factores de riesgo de la infección por ERV, hay muchos comunes a la infección por enterococos sensibles a la vancomicina: a) la administración de antibióticos múltiples o de amplio espectro (vancomicina, cefalosporinas, carbapenemas y antibióticos con acción antianaeróbica, como clindamicina y metronidazol), que favorecerían el sobrecrecimiento de los enterococos al actuar sobre el resto de la microbiota bacteriana, b) pacientes con enfermedad de base grave: trasplante, cáncer, diabetes mellitus, etc., c) la hospitalización en una unidad quirúrgica, onco-hematológica o de cuidados intensivos, d) una prolongada estancia hospitalaria, e) la yatrogenia no invasiva, como la inmunosupresión, o invasiva, como la cateterización, y f) la proximidad a pacientes colonizados o infectados por ERV (18-22).

En los brotes intrahospitalarios estas cepas pueden aislarse en pacientes o portadores sanitarios con colonización rectal, aunque en estos últimos con muy baja frecuencia. Así mismo, pueden cultivarse de muestras ambientales, donde es difícil todavía valorar si se trata de un reservorio o es la consecuencia de la liberación de ERV por el paciente colonizado o infectado. Por último, cabe aislarlos de las manos del personal sanitario, que actuaría de transmisor de la infección (18-22).

La resistencia a los glucopeptidos en *Enterococcus* ocasiona la pérdida de una importante alternativa terapéutica en un género que presenta resistencia intrínseca a muchos antibióticos y que muestra una gran capacidad para adquirir nuevas resistencias. Además, no debe descartarse la posibilidad de transferencia *in vivo* de esta resistencia al género *Staphylococcus*, hecho que ya se ha logrado *in vitro*, lo que plantearía graves dificultades terapéuticas, sobre todo en las infecciones causadas por *S. aureus* resistente a la meticilina (18-24).

Por estas razones, los laboratorios de microbiología deben estar alerta para detectar este tipo de cepas lo más rápidamente posible, con el fin de establecer las medidas de aislamiento, de control, de política antibiótica y de detección de nuevos pacientes colonizados o infectados (18-24).

El método de difusión con discos es poco discriminativo. Los glucopéptidos son moléculas de gran tamaño, por lo que difunden poco. Los halos de inhibición son pequeños, al igual que las diferencias entre los halos que indican sensibilidad o resistencia. El método cuantitativo de difusión E-test<sup>®</sup> permite detectar todos los niveles de resistencia pero, al igual que en la técnica con discos, debe valorarse cualquier crecimiento en el interior del halo de inhibición y, en caso de duda, realizar nueva lectura tras 24 horas de incubación (18-24).

Los métodos comerciales automatizados y semiautomatizados son útiles para detectar la resistencia elevada, pero fallan en la detección de la media y baja resistencia, probablemente debido a que el corto tiempo de incubación no permite la inducción ni la expresión de la resistencia.

En algunos casos, la revisión visual de los paneles de sensibilidad o la utilización de una placa de cribado de agar infusión cerebro-corazón con 6  $\mu\text{g/mL}$  o 4  $\mu\text{g/mL}$  de vancomicina, según los autores, mejoran la sensibilidad en la detección de la resistencia. La placa de cribaje de 4  $\mu\text{g/mL}$  sería útil para detectar las especies con bajo nivel de resistencia a la vancomicina, fundamentalmente las pertenecientes al fenotipo VanC, que podrían no crecer en presencia de 6 $\mu\text{g/mL}$  de vancomicina (18-23, 25).

Respecto a la sensibilidad a la vancomicina, los resultados son satisfactorios, y esperables. Al tratarse de una cepa con CIM elevada, los errores deben atribuirse más bien a la necesaria variabilidad inherente a todo control que no a dificultades propias de la cepa a estudio (18-23,25).

No ocurre lo mismo con la teicoplanina, lo que se debe a varias razones que merecen comentarse. En primer lugar, las CIM para este antibiótico de los enterococos son más bajas que las correspondientes a la vancomicina. Nos movemos, por tanto, en un terreno similar a las cepas de sensibilidad intermedia a este último antibiótico. Es bien conocida la dificultad para discernir este tipo de resistencia, especialmente mediante métodos de disco-placa, por la escasa difusión de estas moléculas en el agar y los consiguientes pequeños diámetros de halo. Sin embargo, las dificultades todavía han sido mayores con las técnicas de microdilución comerciales y aquí, en gran medida, obedecen a

la falta de criterios del NCCLS. De seguir dichos criterios, podrían originarse interpretaciones clínicas ambiguas, siendo difícil el reconocimiento de los distintos fenotipos de resistencia (22, 24-27).

Otro factor importante en la detección en el laboratorio de la resistencia a la vancomicina es la correcta identificación de la especie. *E. gallinarum* y el complejo de especies *E. casseliflavus*-*E. flavescens* pueden confundirse, en la práctica diaria, con aislamientos clínicos de *E. faecium*, si no se les realiza el estudio del pigmento y de la movilidad. Algunos aislamientos de *E. gallinarum* no son móviles, lo que dificulta todavía más su identificación. En ocasiones las características fenotípicas no son suficientes para la identificación y es necesario recurrir a métodos genéticos (PCR).

A pesar de que las especies de *Enterococcus* con resistencia intrínseca a la vancomicina representan un número muy pequeño de los aislamientos y se trata generalmente de casos de colonización/infección adquirida en la comunidad, su verdadero papel no estará claramente establecido hasta que no exista un método simple que permita una correcta identificación (22, 24-27).

## **2. Detección de la resistencia a la vancomicina en el laboratorio**

Dentro del género *Enterococcus*, es conocida la dificultad en la detección de la resistencia a determinados antibióticos como, por ejemplo, los beta-láctamicos. Las cepas productoras de beta-lactamasas pueden no detectarse mediante los métodos convencionales de estudio de la sensibilidad (microdilución y difusión en agar), por el bajo nivel de producción de la enzima y los bajos inóculos utilizados. Por esta razón, en las cepas aisladas en casos de endocarditis o de infecciones graves, deberá estudiarse siempre la presencia de beta-lactamasas mediante el disco de nitrocefina (22-29).

Algo similar ocurre con la sensibilidad a los glucopéptidos. Actualmente, está claramente reconocida la dificultad en la detección de las cepas de enterococo con resistencia intermedia o baja, sobre todo cuando se utilizan métodos automatizados o semiautomatizados y el método de difusión en agar. Existen múltiples estudios



multicéntricos que ponen de manifiesto la dificultad en la detección de la resistencia tipo VanB cuando ésta es baja. Probablemente, esta dificultad también se presenta con la teicoplanina, pero pocos estudios hacen referencia directa a ella, ya que la mayoría se han realizado en hospitales de los Estados Unidos, donde la teicoplanina no está comercializada (22-29).

### **G. Sistema de vigilancia en Guatemala**

En el año 2001, Guatemala participó en el informe anual regional de los países de la red de monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos (30).

El laboratorio organizador del sistema es el Laboratorio Central de Salud Pública. La red está constituida por seis instituciones, en tres de ellas se usa equipo automático (MicroScan<sup>®</sup>), para diagnóstico y antibiograma, excepto para los microorganismos fastidiosos (30).

Las instituciones participantes a nivel nacional son: Hospital Roosevelt, Hospital San Juan de Dios, Instituto Guatemalteco del Seguro Social, Hospital Nacional del Quiché, Hospital Nacional de Cobán, Hospital Nacional de Alta Verapaz, Hospital Nacional de Zacapa (30).

Los resultados más importantes del informe fueron: De los 193 aislamientos de *E. faecium* el 75% era resistente a ampicilina y un 8% presentaba una resistencia a la vancomicina. De 104 aislamientos de *E. faecalis* el 1% era resistente a vancomicina y el 42% era resistente a estreptomina, estos resultados se detallan en la tabla 8 (30).

Entre las recomendaciones redactadas en este informe es que, según las posibilidades de cada país, se incorporen los glucopéptidos y aminoglucósidos de alta carga a la vigilancia de *Enterococcus* spp. (30).

**Tabla 8. *Enterococcus*: Porcentaje de resistencia 2001 (30).**

Especie	No.	AMP		CIP		CHL		GEN		VAN		STR	
		I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R
<i>E. faecalis</i>	104	-	2	8	20	-	2	-	17	7	1	-	42
<i>E. faecium</i>	193	-	75	11	47	-	-	-	51	3	8	-	42
<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i>	70	-	39	-	29	-	3	-	44	-	6	-	6

## IV. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones nosocomiales son frecuentes en América Latina, son causadas por microorganismos oportunistas que están presentes en hospitales, provocando al individuo que los contraiga, infecciones severas que incluso podrían provocarle la muerte.

El género *Enterococcus* ocupa el segundo lugar a nivel mundial como agente etiológico de infecciones nosocomiales: se ha observado un incremento en la resistencia antimicrobiana debido a la falta de atención que se le da a este género, a la ausencia de parámetros para determinar su presencia, a la capacidad de ser multirresistente a la mayoría de antibióticos y al tratamiento incorrecto el cual ha provocado una resistencia de antimicrobianos donde antes no existía.

Por lo anterior y debido a que no se cuentan con perfiles de resistencia antimicrobiana de *Enterococcus spp.* en Guatemala. Es importante determinarlos para prevenir y controlar este aumento. Una consideración primordial que se debe tomar en este estudio es la ausencia de atención adecuada a este problema, lo cual se reflejaría en un aumento en los casos de infecciones multirresistentes y en un mayor gasto económico para la sociedad por tratamientos prolongados, sin respuesta favorable en la salud de los pacientes.

## V. OBJETIVOS

### A. OBJETIVO GENERAL

Determinar perfiles de resistencia de *Enterococcus spp.* en el hospital General San Juan de Dios y hospital Roosevelt durante los períodos de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.

### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el perfil de resistencia antimicrobiano más común en el hospital General San Juan de Dios y hospital Roosevelt durante los períodos de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.

2. Identificar en el hospital General San Juan de Dios y hospital Roosevelt las áreas de mayor frecuencia de infecciones por *Enterococcus spp* durante los períodos de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.

## **VI. HIPÓTESIS**

Este estudio no presenta hipótesis, debido a que es un estudio descriptivo.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo

Datos microbiológicos del equipo automatizado MicroScan® del laboratorio clínico del hospital General San Juan de Dios y del equipo automatizado VITEK® del laboratorio clínico del hospital Roosevelt durante los períodos de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.

### B. Muestra

Se tomaron en cuenta todos los datos positivos para *Enterococcus* spp. y su respectiva susceptibilidad antimicrobiana realizados durante los períodos de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.

### C. Recursos

#### 1. Humanos

**a. Tesista:** Jessica Ileana Aldana Castro

**b. Asesor:** Lic. Jorge Raúl Matheu

**c. Asesora:** Licda. Tamara Velásquez

#### 2. Recursos institucionales

Para la elaboración del presente proyecto las instituciones que prestaron su colaboración fueron:

1. Hospital General San Juan de Dios, por medio del Laboratorio Clínico.
2. Hospital Roosevelt, por medio del Laboratorio Clínico.

## D. Materiales

### 1. Equipo

- a. Computadora
- b. MicroScan<sup>®</sup> (Equipo automatizado del hospital General San Juan de Dios)
- c. VITEK<sup>®</sup> (Equipo automatizado del hospital Roosevelt)

### 2. Materiales

Registros microbiológicos de los laboratorios clínicos de los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt durante los períodos de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.

## E. Procedimiento

- a. Se recolectaron datos de aislamientos microbiológicos positivos para *Enterococcus* spp. y su respectiva susceptibilidad en los registros del equipo automatizado MicroScan<sup>®</sup> y VITEK<sup>®</sup> durante el período de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006.
- b. Con los registros obtenidos en el inciso a, se elaboró la base de datos y se determinaron los perfiles de resistencia de los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt.
- c. Se realizó el análisis estadístico de los perfiles de resistencia encontrados en los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt.
- d. Los resultados obtenidos en la base de datos, se analizaron para determinar los perfiles de resistencia antimicrobiano más común de *Enterococcus* spp. en ambos hospitales.
- e. Se realizó una comparación entre los perfiles de resistencia encontrados en los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt.

## F. Diseño de la Investigación

La variable fueron los antibióticos a utilizar (9 antibióticos en todos los aislamientos) y se asumió (para el cálculo de muestra) que se obtuvo una variable binomial, con dos opciones siendo estas: susceptible (S) o resistente(R).

Donde:

p= Probabilidad de resistencia

q= Probabilidad de no resistencia

$\sigma^2$ = Varianza = pq

La máxima variación posible se da cuando  $p = q = 0.5$ .

$\sigma^2 = 0.5 * 0.5 = 0.25$

Para el cálculo de muestra:

$$n = \frac{NC^2 \sigma^2}{\Delta^2}$$

Donde:

NC= Nivel de confianza (95%) =  $Z_{1-\alpha/2}$

Z= 1.96

$\Delta^2$ = Límite de error = 10% (0.10)

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.25)}{(0.10)^2} = 97 \cong 100 \text{ Muestras}$$



El diseño de muestreo retrospectivo se realizó durante el período comprendido de enero a diciembre del año 2005 y de enero a marzo 2006 y fue por cuota, siendo esta de 97 datos aunque por aproximación serán 100 muestras. Este diseño es probabilístico con un nivel de confianza del 95%, con un límite de error del 10%.

El análisis de los resultados fue de tipo descriptivo (tablas, cuadros, gráficas, porcentajes) y los perfiles (frecuencias). Se estimó con un intervalo de confianza (IC) del 95% el perfil de resistencia más frecuente de los resultados obtenidos en la investigación.

## VIII. RESULTADOS

Se realizaron 646 aislamientos del género *Enterococcus* spp. durante el período de enero a diciembre del año 2005, en los hospitales General San Juan de Dios (HGSJD) y Roosevelt (HR). De los cuales 607 aislamientos fueron identificados en el HR y 39 para el HGSJD. La especie más aislada en los dos hospitales es *E. faecalis* seguida de *E. faecium*, como se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1. Total de aislamientos para cada especie del género *Enterococcus* spp. en los hospitales General San Juan de Dios (HGSJD) y Roosevelt (HR) durante el período de enero a diciembre 2005 (n = 646).

Tipo de Microorganismo	No. de aislamientos	
	HR	HGSJD
<i>E. avium</i>	80	0
<i>E. casseliflavus</i>	4	0
<i>E. durans</i>	3	0
<i>E. faecalis</i>	396	29
<i>E. faecium</i>	96	8
<i>E. gallinarum</i>	14	0
<i>E. hirae</i>	12	0
<i>Enterococcus</i> spp.	2	2
<b>Total</b>	<b>607</b>	<b>39</b>

Fuente: datos experimentales

En el período de enero a marzo del 2006, se identificaron 95 especies del género *Enterococcus* spp. en el hospital General San Juan de Dios (HGSJD) y Roosevelt (HR), 63 fueron para el HR y 32 para el HGSJD. Las especies más aisladas son: *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. También se puede observar un aislamiento de *Enterococcus gallinarum* identificado en el HGSJD. *Enterococcus avium* no se logró aislar en el HGSJD y en el HR se aislaron 3 especies, ver tabla 2.

Tabla 2. Microorganismos aislados del género *Enterococcus* spp. en los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt durante el período de enero a marzo de 2006 (n = 95).

<b>Tipo de microorganismo</b>	<b>Hospital</b>	
	<b>HR</b>	<b>HGSJD</b>
<i>Enterococcus avium</i> ( <i>eav</i> )	3	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ( <i>efa</i> )	37	17
<i>Enterococcus faecium</i> ( <i>efm</i> )	14	5
<i>Enterococcus gallinarum</i> ( <i>ega</i> )	0	1
<i>Enterococcus</i> spp. ( <i>ent</i> )	9	9
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>32</b>

Fuente: datos experimentales

En la tabla 3, se presentan datos de los aislamientos realizados del género *Enterococcus* spp. por tipo de muestra en los períodos 2005-2006, los aislamientos presentados se identificaron de las siguientes muestras clínicas: biopsia, catéter, herida quirúrgica, piel, sangre, secreciones, aspirados, orina y líquidos. En la muestra donde se detectó más especies fue en secreciones con 381 aislamientos de un total de 741, mientras que en biopsias solo se obtuvieron 2 aislamientos correspondientes al hospital Roosevelt durante el período 2005, en el hospital General San Juan de Dios durante el período 2006 la muestra donde se encontraron más aislamientos fue la de orina con un total de 19 de 32 aislamientos.

Tabla 3. Tipo de muestra con aislamientos de *Enterococcus* spp. en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) durante los períodos de enero a diciembre 2005 y enero a marzo 2006 ( n = 741).

Hospital/año	Tipo de muestra									Total
	Bx	Ca	Hq	Pe	Sa	Se	As	Li	O	
<b>HR 2005</b>	2	24	99	23	35	327	94	0	3	607
<b>HGSJD 2005</b>	0	0	15	0	0	20	0	4	0	39
<b>HR 2006</b>	0	7	8	1	5	29	8	0	5	63
<b>HGSJD 2006</b>	0	4	0	0	3	5	1	0	19	32
<b>Total</b>	2	35	122	24	43	381	103	4	27	741

Fuente: datos experimentales

Abreviaturas: Bx (Biopsia), Ca (Catéter), Hq (Herida quirúrgica), Pe (Piel), Sa (Sangre), Se (Secreciones), As(Aspirado), Li(Líquido), O (Orina).

En la tabla que a continuación se presenta se puede observar que el servicio hospitalario donde se aisló más especies de *Enterococcus* spp. fue la emergencia de adultos y la cirugía de adultos en los períodos 2005 – 2006. En el período de enero a diciembre del año 2005 la especie que se encontró frecuente fue *E. faecalis* con 396 aislamientos de los cuales 82 se hallaron en la emergencia de adultos, seguida de *E. avium* con 96 aislamientos que también se aislaron en el servicio antes mencionado. *E. gallinarum* solo se encontró aislado en el año 2005 con 14 aislamientos obtenidos en las emergencias de pediatría y adultos y en la medicina de adultos (3 aislamientos en cada uno). En el 2006, la especie aislada en mayor cantidad es *E. faecalis* correspondiente a 37 aislamientos.

Tabla 4. Microorganismo aislado por tipo de servicio en el hospital Roosevelt (HR) durante el período de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006 (n = 670).

Año	Microorganismo	Tipo de Servicio hospitalario											Total
		NR	CEX	CEXP	CA	EMA	EMP	MDA	EA	IP	IA	OTROS	
2005	<i>E. faecalis (Efa)</i>	30	18	11	67	82	15	42	47	17	24	43	396
	<i>E. avium(Eav)</i>	0	0	2	22	32	6	7	5	0	0	6	80
	<i>E. faecium (Efm)</i>	4	2	6	18	13	11	15	5	11	5	6	96
	<i>E. gallinarum(Ega)</i>	1	0	0	2	3	0	3	3	0	1	1	14
	<i>Enterococcus spp. (Ent)</i>	7	0	5	22	26	7	5	12	3	7	7	21
2006	<i>E. faecalis (Efa)</i>	1	6	3	0	12	1	1	0	1	1	11	37
	<i>E. faecium(Efm)</i>	0	2	2	0	3	0	1	0	3	0	3	14
	<i>E. avium(Eav)</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	3
	<i>Enterococcus spp. (Ent)</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	9	9

Fuente: datos experimentales

Abreviaturas: NR (No reportado), CEX (Consulta externa Adultos), CEXP (Consulta externa pediatría), CA (Cirugía Adultos), EMA (Emergencia Adultos), EMP (Emergencia pediatría), MDA (Medicina de adultos), EA (Especialidad adultos), IP (Intensivo Pediatría), IA (Intensivo adultos).

En el hospital General San Juan de Dios en los períodos 2005-2006 se identificaron las especies del género *Enterococcus* de los siguientes servicios: unidad de cuidados intensivos, cirugía mujeres, emergencia adultos, emergencia pediatría y otros (cirugía hombres, encamamientos). En el período 2005, el microorganismo aislado en ambos hospitales con mayor frecuencia es *E. faecalis* con 29 aislamientos de los cuales no se reportó su procedencia, seguida de *E. faecium* con 8 aislamientos. En el año 2006, también se encontraron estas mismas especies en menor cantidad de aislamientos (17 y 5, respectivamente). La especie *E. gallinarum* solo se logró aislar una vez durante el período 2006, correspondiente al servicio hospitalario de la emergencia de pediatría, ver tabla 5.

Tabla 5. Microorganismo aislado por servicio en el hospital General San Juan de Dios (HGSJD) durante el período de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo 2006 (n = 71).

Año	Microorganismo	Servicio hospitalario						TOTAL
		NR	ICU	CM	EMA	EP	Otros	
2005	<i>E. faecalis</i>	28	1	0	0	0	0	29
	<i>E. faecium</i>	5	3	0	0	0	0	8
	<i>Enterococcus spp.</i>	2	0	0	0	0	0	2
2006	<i>E. faecalis</i>	0	1	3	2	2	9	17
	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	5	5
	<i>E. gallinarum</i>	0	0	0	0	1	0	1
	<i>Enterococcus spp.</i>	0	0	1	0	0	8	9

Fuente: datos experimentales

Abreviaturas: NR (no reportado), ICU (unidad de cuidados intensivos), CM (cirugía mujeres), EMA (emergencia adultos), EP (emergencia pediatría), otros (cirugía hombres, encamamientos).

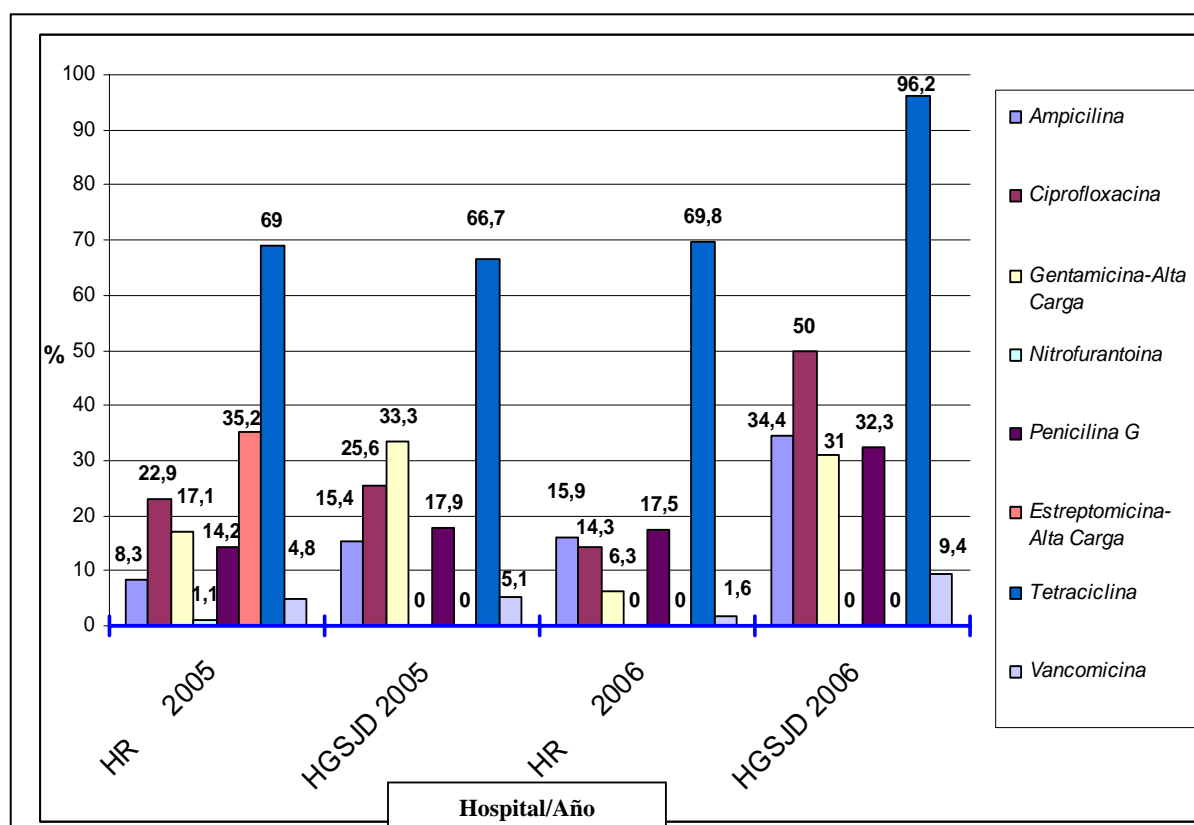
En la tabla 6 y gráfico 1, se puede observar el porcentaje de resistencia antibiótica presentado por las especies del género *Enterococcus spp.* en ambos hospitales en los períodos 2005-2006, los antibióticos evaluados fueron: ampicilina, ciprofloxacina, gentamicina del alta carga, nitrofurantoína, penicilina G, estreptomina de alta carga, tetraciclina y vancomicina. El mayor porcentaje de resistencia hallado fue para tetraciclina con un promedio de 66.7 a 96.2 %. También se observa una resistencia a vancomicina que varía de 1.6 a 9.4%. Solo durante el año 2005, en el hospital Roosevelt, se halló un porcentaje de resistencia para estreptomina de alta carga (35.2%) y nitrofurantoína (1.1%).

Tabla 6. Porcentaje de resistencia encontrado en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) durante el período de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo del año 2006.

Antibiótico	HR	HGSJD	HR	HGSJD
	2005	2005	2006	2006
	(%)	(%)	(%)	(%)
<b>Ampicilina</b>	8.3	15.4	15.9	34.4
<b>Ciprofloxacina</b>	22.9	25.6	14.3	50.0
<b>Gentamicina-alta carga</b>	17.1	33.3	6.3	31.0
<b>Nitrofurantóina</b>	1.1	0	0	0
<b>Penicilina G</b>	14.2	17.9	17.5	32.3
<b>Estreptomicina-alta carga</b>	35.2	0	0	0
<b>Tetraciclina</b>	69.0	66.7	69.8	96.2
<b>Vancomicina</b>	4.8	5.1	1.6	9.4

Fuente: datos experimentales

Gráfico 1. Porcentaje de resistencia encontrado en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) durante el período de enero a diciembre 2005 y de enero a marzo del año 2006.



Fuente: datos experimentales

En la tabla 7 y gráfico 2, se puede observar que la especie de *Enterococcus faecalis*, presentó resistencia antimicrobiana. De los antibióticos evaluados el que mostró mayor resistencia fue gentamicina (100%) seguida de tetraciclina con 87%, en el año 2006 y en el 2005 fue para tetraciclina con 73% de resistencia antibiótica. En ambos períodos evaluados los antibióticos ampicilina y nitrofurantoína no exhibieron perfil de resistencia.

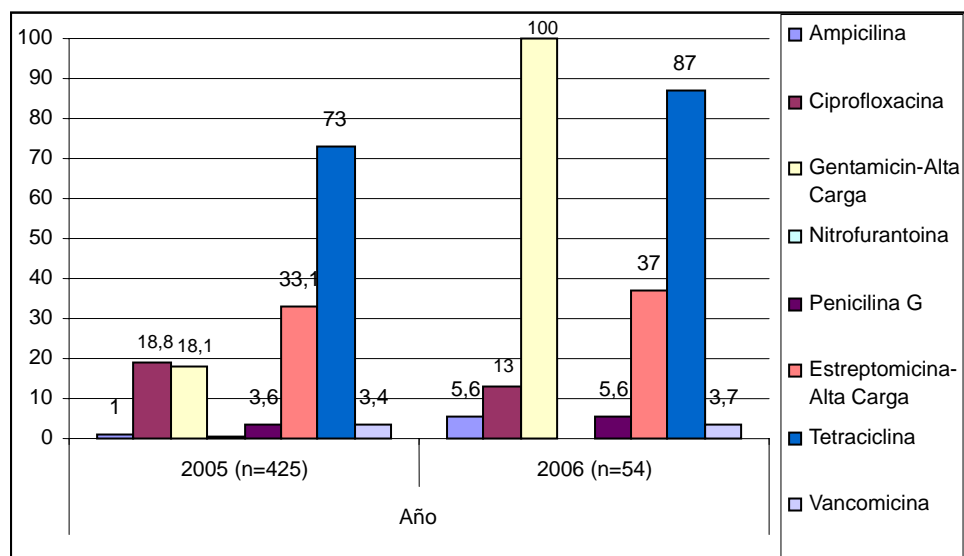
Tabla 7. Perfil de resistencia de *Enterococcus faecalis* encontrado en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) durante los períodos evaluados 2005- 2006.

Antibiótico	Año	
	2005 (n=425) %	2006 (n=54) %
<b>Ampicilina</b>	0,0	0,0
<b>Ciprofloxacina</b>	18,8	13,0
<b>Gentamicina-alta carga</b>	18,1	100,0
<b>Nitrofurantoína</b>	0,5	0,0
<b>Penicilina G</b>	3,6	5,6
<b>Estreptomycin-alta Carga</b>	33,1	37,0
<b>Tetraciclina</b>	73,0	87,0
<b>Vancomicina</b>	3,4	3,7

Fuente: datos experimentales



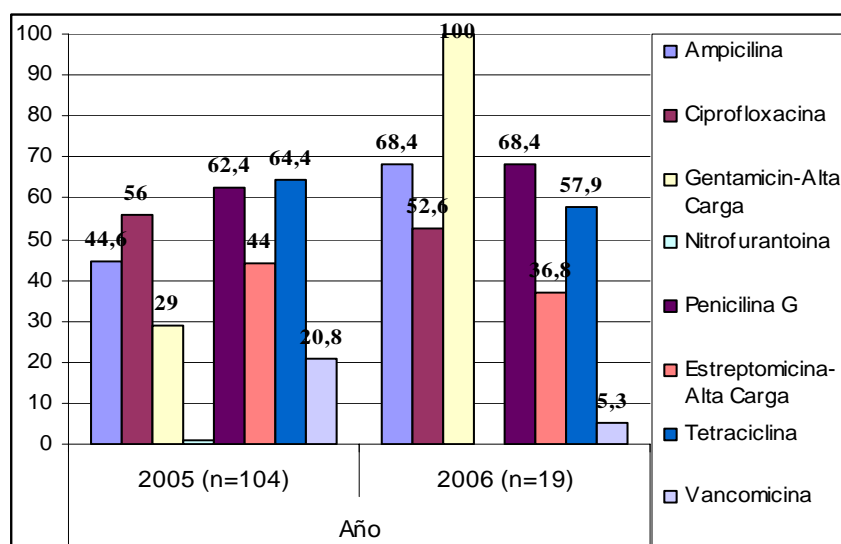
Gráfico 2. Perfil de resistencia de *Enterococcus faecalis* encontrado en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) durante los períodos evaluados 2005-2006.



Fuente: datos experimentales

En el gráfico 3, se observa que el perfil de resistencia antibiótico presentado por la especie de *Enterococcus faecium* en los períodos 2005-2006 en ambos hospitales, de los antibióticos ensayados el que mostró más resistencia fue gentamicina ( 100% ) en el año 2006 y para el 2005 la tetraciclina exhibió un porcentaje de resistencia de 64.4%. vancomicina presentó para el año 2005, 20.8% de resistencia y en el 2006 el porcentaje de resistencia fue de 5.3%.

Gráfico 3. Perfil de resistencia de *Enterococcus faecium* encontrado en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) en los períodos 2005-2006.



Fuente: datos experimentales

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluaron los perfiles de resistencia de *Enterococcus* spp. de muestras aisladas provenientes de pacientes de los hospitales General San Juan de Dios y Roosevelt durante los períodos de enero a diciembre del año 2005 y de enero a marzo 2006. El análisis de los datos obtenidos del equipo automatizado MicroScan<sup>®</sup> y VITEK<sup>®</sup> se realizó con el programa Whonet, el cual reveló la información necesaria para este estudio.

En la tabla 1, se presenta el total de aislamientos del género *Enterococcus* spp. analizados en cada hospital durante el período de enero a diciembre del año 2005, con un total de 607 aislamientos para el hospital Roosevelt (HR) y 39 para el hospital General San Juan de Dios (HGSJD), encontrándose en mayor proporción en el primero debido a la cantidad de población que se atienden en el mismo, aunque cabe resaltar la baja cantidad de aislamientos en el HGSJD se deba a la falta de identificación del microorganismo en esa institución. La especie más aislada en ambos hospitales fue *Enterococcus faecalis*, seguida de *Enterococcus faecium*. Concuerdan estos resultados con los esperados, ya que según la teoría recolectada, *E. faecalis* se aísla en 80-90% de los casos y la especie de *E. faecium* de 5 a 15% (1-5,7-9), en el HR se encontraron las especies de *E. avium* (80), *E. gallinarum* (14), *E. hirae* (12), *E. casseliflavus* (4), *E. durans* (3) y *Enterococcus* spp.(2). Mientras que en el HGSJD solo se encontraron dos aislamientos más correspondientes al género de *Enterococcus* spp., se puede inferir que esta diferencia en la cantidad de aislamientos se debe a que en el HR se lleva un control de calidad en el análisis de muestras más estricto que en el HGSJD.

Se puede observar en la tabla 2, aislamientos correspondientes al período de enero a marzo del año 2006 en los dos hospitales evaluados, se encontraron en total 95 aislamientos, de los cuales 63 pertenecen al HR y 32 para el HGSJD. Aunque este análisis no se hallaba dentro de este estudio era de importancia realizarlo para tener un punto de comparación y confirmación de los aislamientos y su respectiva susceptibilidad. De la

información revelada en los aislamientos, también se aisló en primer lugar a *E. faecalis*, seguido por *E. faecium* (1-10).

La tabla 3, presenta los aislamientos por tipo de muestra evaluado en los hospitales durante el período de enero a diciembre del año 2005 y de enero a marzo 2006, donde se encontró que en los dos períodos analizados la muestra que se encontraba en mayor proporción en el estudio fue la de secreciones varias seguida de herida quirúrgica, a excepción del período de enero a marzo del año 2006 en el hospital General San Juan de Dios el tipo de muestra más frecuente fue la de cultivo de orina con 19 aislamientos de un total de 32, estos datos son de relevancia ya que de este tipo de muestra se realizan más aislamientos del género de *Enterococcus* spp., la especie de *E. faecalis* es la más asociada con infecciones del tracto urinario, infecciones de heridas, abscesos intrabdominales los cuales se complican a diverticulitis y otras enfermedades que alteran la integridad del tracto gastrointestinal (1-3,6,10-12). En un estudio realizado en Chile, durante 1999, *Enterococcus* fue responsable como agente etiológico aislado en el 2.7% de las infecciones del tracto urinario (ITU), 3.8% de las bacteriemias en general, 5.3% de las bacteriemias asociadas a catéter vascular y menos del 1% de las infecciones de herida operatoria, todo esto confirma los tipo de muestra encontrados en este estudio (11).

En la tabla 4, se observan las áreas hospitalarias donde se realizaron los aislamientos de *Enterococcus* spp. por año en el hospital Roosevelt, en la cual el área hospitalaria más frecuente que se presenta en los dos períodos es la emergencia de adultos, encontrándose una excepción en el año 2005 con *Enterococcus faecium* que se aislaron 18 especies de un total de 96 aislamientos en la cirugía de adultos, seguido por el área de medicina y emergencia de adultos. La especie que no se aisló en ningún área hospitalaria durante el período 2006 fue *E. gallinarum*. En contraste con el año 2005, donde se logró aislar esta especie con un total de 14 aislamientos, correspondientes en los servicios hospitalarios de emergencia, cirugía y medicina de adultos con igual cantidad de aislamientos. Esto es de gran trascendencia para este estudio, debido a que en estas áreas donde fueron realizados los aislamientos, los pacientes se encuentran

inmunocomprometidos o inmunosuprimidos ya sea por tratamiento o por su enfermedad de base, siendo esta bacteria más dañina para los pacientes que la padecen, por que puede llegar a la sangre provocando una bacteriemia y por consecuencia una endocarditis, y la falta de un tratamiento adecuado, esto podría causarle la muerte al paciente (1,3,8-10,12).

Como se puede observar en la tabla 5, el microorganismo por tipo de servicio encontrado más común en el hospital General San Juan de Dios durante el período de enero a diciembre 2005, es *E. faecalis* con 29 aislamientos de los cuales 28 no se reportó el servicio del cual provenía la muestra, reportar los datos de procedencia es importante para controlar el microorganismo porque sino se cuenta con este dato no se sabrá en que servicio hay que realizar la vigilancia epidemiológica para que no ocurra un aumento en los casos (15). Durante el período 2006, también se aisló *E. faecalis* en mayor proporción con un total de 17 aislamientos de los cuales, tres aislamientos pertenecían a la cirugía de mujeres y en segundo lugar estaban los servicios de Emergencias de adultos y pediatría, es de suma importancia el observar y monitorear estas áreas debido a la alta posibilidad de contraer este microorganismo, ya que los pacientes que se encuentran en estos servicios pueden encontrarse inmunocomprometidos (1, 3, 5,10-12). Cabe resaltar que el único aislamiento de *Enterococcus gallinarum* se realizó en el período 2006, al cual se le realizó un análisis posterior para confirmar su presencia por la baja probabilidad de aislarlo. Por medio de la prueba de confirmación se encontró que la especie aislada corresponde al género de *Enterococcus faecalis*, lo que indica la importancia de identificar adecuadamente cada microorganismo realizando controles de calidad a cada cierto tiempo (14,16-17).

La importancia de este género radica en su alta resistencia natural a múltiples antimicrobianos y a su capacidad de adquirir resistencia a otros, incluida vancomicina, en ocasiones única alternativa de tratamiento en infecciones severas por *Enterococcus* resistentes a ampicilina (9-15). En la tabla 6 y gráfico 1, se observa un porcentaje de resistencia adquirido por esta bacteria para ampicilina durante el año 2005 en el HR y HGSJD de 8,3% y 15,4%, respectivamente, y en el período 2006 para el HR se encontró un porcentaje de resistencia de 15,9% y para el HGSJD de 34,4%, debiéndose esto a que este

es el antimicrobiano de elección para tratamientos contra *Enterococcus* spp., teniendo un efecto inhibitor y no lítico, por lo cual puede generar resistencia, siendo de bajo nivel porque la concentración mínima inhibitoria (CIM) evaluada se encuentra entre 8-32 µg/mL, asociado esto a una mayor producción de proteína ligada a la penicilina 5 (PBP 5), causando esto un ingreso deficiente del antimicrobiano hacia el interior de la bacteria (9-15). En el año 2005 en el HR se observó una resistencia al antimicrobiano estreptomicina de alta carga de 35,2%, esto se debe a una baja permeabilidad de la bacteria, lo que impide la entrada del antibiótico a la misma, esta resistencia puede ser disminuida si se asocia con penicilina para su tratamiento, lo que permitiría la entrada del aminoglucósido (10-15). La resistencia observada en los aminoglucósidos evaluados (Estreptomicina y gentamicina de alta carga), se debe a la presencia de enzimas inactivantes, plasmídicas constitutivas y por protección ribosomal que le confieren una resistencia absoluta a la bacteria, lo que permite ser reflejado en el porcentaje de resistencia para gentamicina de alta carga en el HGSJD durante los dos períodos 2005 (33,3%) y 2006 (31%).

El antibiótico que presentó un alto porcentaje resistencia en su análisis fue la tetraciclina, encontrándose en el HR en 69% en ambos años y en el HGSJD hubo un incremento del 66,7% a 96,2%, este aumento se debe a que la bacteria genera el mecanismo de Eflujo el cuál es el más frecuente de resistencia adquirida a las tetraciclinas por disminución de las concentraciones intracelulares de la droga, lo que causa resistencia para que penetre el antibiótico al interior de la bacteria, o también puede deberse a los cambios de permeabilidad de la membrana de la bacteria (5,7-8).

Se encontró un aumento en la resistencia a la ciprofloxacina en el período evaluado 2006, con un 50%, debido a que la bacteria eludió el mecanismo de acción del antibiótico o por un mal uso en la terapia antibiótica (5,7-8). Se puede observar en el año 2005 en HR y el HGSJD un porcentaje de resistencia para vancomicina de 4,8% y 5,1%, respectivamente, mientras que en el período 2006 el porcentaje de resistencia para vancomicina, en el HR fue de 1,6% y 9,4% para el HGSJD, esto se debe a una resistencia natural o adquirida, la primera es por tolerancia al antibiótico y se presenta en

*Enterococcus* “móviles”, por lo tanto es necesario e importante incorporar en las pruebas de identificación un tubo para evaluar la motilidad (9-15). Si la resistencia encontrada en los aislamientos fuera de tipo adquirida es debida a la presencia de genes específicos *Van* (9-15), es significativo tomar en consideración que el mayor aumento en la resistencia fue en el HGSJD de 5.1% a 9.4%, de los cuales ninguno fue confirmado para establecer la veracidad en los resultados. También es trascendental resaltar la disminución en la resistencia en el HR que fue de 4.8% a 1.6%, esto se debe a que el número de muestras y el tiempo evaluado es variable, y por tanto el punto de comparación se ve afectado. La importancia de este antibiótico se origina debido a que es la última terapia antibiótica para combatir al género de *Enterococcus* spp y esto motiva la pérdida de una importante alternativa terapéutica en un género que presenta resistencia intrínseca a muchos antibióticos y que muestra una gran capacidad para adquirir nuevas resistencias, sin descartar la posibilidad de transferencia *in vivo* de esta resistencia al género *Staphylococcus*, hecho que ya se ha logrado *in Vitro*, lo que plantearía graves dificultades terapéuticas (18-24).

Con los datos anteriores se logró observar que las especies más aisladas fueron *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, de los cuales se analizó la resistencia adquirida para cada una de estas especies para lograr identificar cuanta resistencia antimicrobiana aportaban ellas en el género *Enterococcus*, observándose en la tabla 7 y gráfico 2, el perfil de resistencia más frecuente de *E. faecalis* hallado en el período 2005 para tetraciclina con 73% y para el 2006 con 87%, se comparó estos datos con los presentados en la tabla 6, lo que indica que esta especie es la que aporta el mayor porcentaje en la resistencia dentro del género *Enterococcus* spp., por lo cual es necesario darle un mayor enfoque a esta especie en el monitoreo de vigilancia nosocomial (15). El porcentaje de resistencia encontrado en el 2006 para gentamicina de alta carga es de 100% comparado con el período del 2005 que fue de 18.1%, donde se observa un aumento de importancia en la resistencia a este antibiótico, ya que este antimicrobiano es utilizado como un tratamiento de primera línea, de forma que su uso se realiza de forma indiscriminada, lo que permite inferir que ya no se tome en cuenta en los tratamientos de

elección para esta especie, debido a que el antimicrobiano anterior ha generado la mayor resistencia para este género (10-15).

La resistencia adquirida por *Enterococcus faecium* para ampicilina se confirmó en los aislamientos realizados en los hospitales Roosevelt (HR) y General San Juan de Dios (HGSJD) durante los períodos evaluados 2005-2006 (Gráfico 3), con un 44.6% y 68.4%, respectivamente, esto confirma que el antimicrobiano, para ser utilizado para esta especie es necesario realizarlo en combinación con otro antibiótico para darle una mayor efectividad sin en dado caso no existiera un tratamiento de elección (9-15).

En el gráfico 3, se observa que el perfil de resistencia más aislado para *E. faecium* es el de gentamicina de alta carga con un porcentaje de resistencia correspondiente al 100% en el año 2006, lo que permite analizar y confirmar que este antibiótico no es recomendado para terapia antimicrobiana para tratar las especies de *E. faecium* y *E. faecalis*. En el 2005 se encontró resistente la tetraciclina con un 64.4%, esto infiere que la especie de *E. faecium* aporta también resistencia antimicrobiana en segundo lugar antecedido por la especie de *E. faecalis*, estas especies son las que aportan en mayor proporción la resistencia encontrada en la tabla 6. También se puede observar que la especie de *E. faecalis*, para gentamicina de alta carga presentó un aumento en la resistencia, por lo que se infiere que este antimicrobiano no se recomienda en la elección para el tratamiento de estas especies (10-12).

En la tabla 7 y Gráfico 3 se puede comparar la resistencia que presentan las especies de *E. faecalis* y *E. faecium* para el antimicrobiano vancomicina, en donde los aislamientos de *E. faecalis* se observa un aumento en la resistencia ascendente de 3.4% (2005) y 3.7% (2006), aunque este aumento es mínimo pero importante porque esta especie esta transmitiendo su resistencia y es significativo resaltar que el número de aislamientos obtenidos no es proporcional ya que los períodos evaluados son desiguales. Mientras que la especie de *E. faecium* aportó para el 2005 una resistencia del 20.8%, esto indica el mayor aporte entre las dos especies, para el encontrado en ese año para el género *Enterococcus*, la



importancia radica en que estas bacterias pueden transmitir por medio de plásmidos resistencia no solo a especies del mismo género sino también a otros géneros (18-24).

## X. CONCLUSIONES

- A. Durante el período de enero a diciembre del año 2005, se aislaron 607 *Enterococcus* spp. para el hospital Roosevelt (HR) y 39 para el hospital General San Juan de Dios (HGSJD).
- B. La especie más aislada en ambos hospitales durante los períodos evaluados 2005-2006, fue *Enterococcus faecalis* (64.64%), seguida de *Enterococcus faecium* (16.60%).
- C. El área hospitalaria donde se realizaron más aislamientos del género de *Enterococcus* spp. en los dos períodos es la emergencia de adultos en ambos hospitales.
- D. El antibiótico que presentó el mayor porcentaje de resistencia fue para tetraciclina, en el HR obtuvo 69% en ambos años y en el HGSJD hubo un incremento del 66,7% (2005) a 96,2% (2006).
- E. El perfil de resistencia antibiótica para *E. faecalis* en el 2005 para tetraciclina fue de 73% y 87 % para el 2006, en ambos hospitales.
- F. La gentamicina de alta carga presentó en el 2006, un porcentaje de resistencia de 100% para *E. faecalis* y *E. faecium*, en ambos hospitales.
- G. La especie de *E. faecium* fue la que aportó el mayor porcentaje de resistencia para vancomicina en el 2005, el cual fue de 20.8%, en ambos hospitales.

## **XI. RECOMENDACIONES**

- A. Elaborar un correcto sistema de vigilancia hospitalaria por parte del comité de infecciones nosocomiales en ambos hospitales para la detección temprana de aislamientos multirresistentes a antibióticos por parte del género *Enterococcus*.
- B. Evaluar las cepas de enterococos vancomicina resistentes para encontrar el fenotipo de resistencia y así mismo realizar un análisis exhaustivo, para detener el aumento en la resistencia hacia este antibiótico debido a que este es la última terapia antibiótica para este microorganismo.
- C. Vigilar la distribución de *enterococcus* sp por servicio y tipo de muestra para la toma correcta de intervenciones.
- D. Diseñar un protocolo de vigilancia epidemiológica sobre resistencia antimicrobiana dentro de cada hospital, con la finalidad de sensibilizar al personal hospitalario sobre las consecuencias que traen para el paciente y la comunidad los aumentos en la resistencia antibiótica.
- E. Plantear alternativas antibióticas para cada caso, tomando en cuenta la relación hospedero- agente etiológico, ya que con ello ayudaría a disminuir la resistencia antibiótica.

## XII. REFERENCIAS

1. Wolfgang K., Joklik, *et.al.* Zinsser Microbiología. 20 ed. Montevideo, Uruguay: Editorial Médica Panamericana, 1997. (p. 208,232-233,550,590-591)
2. Walker S. Microbiología. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1 ed. México, 2000; 112-113,132-134.
3. Todar K. 2002. Microbiología. Wisconsin, E.E.U.U. University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology. Consultado febrero 2004. Disponible en:< <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch006.htm>.>
4. Se detectan *Enterococcus* vancomicina resistentes en hospitales nacionales de Ecuador. Consultado febrero 2004. Disponible en: <[http://www.medicosecuador.com/medicina\\_critica/rev\\_vol2\\_num2/se\\_detectan.html](http://www.medicosecuador.com/medicina_critica/rev_vol2_num2/se_detectan.html)>
5. Giglio Maira MS, Pinto Claude ME, Córdoba JE, Escandar DP, Waman MC. Identification of enterococcus species from clinical samples and susceptibility antimicrobial agents. Rev. Med. Chile, 1996; 124: 70-6.
6. Graninger W., Raggette R. 1992. Nosocomial bacteremia due to *Enterococcus faecalis* without endocarditis. Clin. Infect. Dis. 15:49-57.
7. Chenoweth C. Schaberg, D. 1990. The epidemiology of enterococci. Eur. J. Clin. Microbiol.Infect. Dis. 9:80-89.
8. Chrystal J. 2002. Estudio de susceptibilidad in vitro de *enterococcus spp.* Chile. Consultado Enero 2004. Disponible en:< <http://www.scielo.cl/scielo.php>>

9. Facklam RR. Recognition group d streptococcal species of human origin by biochemical and physiological test, *Appl. Microbiol.* 1972; 23: 1.131–1.139.
10. Horodniceaun T., Delbos F. Les streptocoques du groupe D dans les infections humaines: identification et sensibilité antibiotiques, *An. Microbiol: (Paris)* 1980; 131B: 131 – 144.
11. Resnick M, Novick AC. 2000. *Secretos de la urología México*. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. 2ª ed. p. 264-272.
12. Cedrics M., *et. al.* *Microbiología Médica*. Editorial Harcourt Brace. 2 ed. Madrid, España 1999.
13. Pinto ME; Giglio MS, González P. *et al.* Vigilancia de resistencia a glicopéptidos en *E. faecum* y *E. faecalis* y otras especies aisladas en muestras fecales de pacientes hospitalizados. Libro de Resúmenes. XIV Congreso Chileno de Infectología, Valdivia, 25 diciembre 1997, CO-37.
14. Mundt JO. *Enterococci*. En: Sheat PHA, Mair NS, Sharpe ME, eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Baltimore, Williams and Wilkins Co. 1984; 2: 1063–1065.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test 6th Ed* . NCCLS Documents M2–A6, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania; 1997.
16. Dougherty SH., Flohr AB., Simmons RL., Breakthrough enterococcal septicemia in surgical patients: 19 cases and a review of literature. *Arch. Surg.* 1983; 118: 232–238.

17. Maki DG, Agger WA. Enterococcal bacteriemia: clinical features, the risk of endocarditis, and management. *Medicine ( Baltimore )* 1988; 67: 248–269.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard, M2-A7. 2000. NCCLS, Wayne, PA.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Disk diffusion supplemental tables. Document M100-S10. 2000. NCCLS, Wayne, PA.
20. Ayats Ardite J. 1999. Servicio de Micorbiologia. C.S.U. de Bellvitge. Hospitalet de Llohregat. Consultado 15 Febrero 2004. Disponible en:  [<www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/envancor.html >](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/envancor.html)
21. Murray BE. The life and times of enterococcus. *Clin. Microbiol: Rev.* 1990; 3: 46–65.
22. Klimek JJ. *et. al.* Enterococcal infections in a large community hospital with emphasis on bacteriemia. *Am. J. Infect. Control* 1980; 8: 58–61.
23. Leclercq R., Courvalin P. *Clinic Infect Diseases.* 1997; 24:545-556
24. Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. A guide to sensitivity testing. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27 (supl. D): 1-50.
25. Del Rio A., Marco F. “Los últimos avances en el tratamiento de la endocarditis infecciosa”. Vol 24 No 5, 2000. Consultado Enero 2004. Disponible en:  [<http://www.msc.es./farmacia/infmedic >](http://www.msc.es./farmacia/infmedic)

26. Caballero-Granado, FJ. 1998. “Comparative study of Bacteriemias caused by *Enterococcus spp* with and without High-Level Resistance to Gentamicin”. Journal Clinical Microbiology. Consultado Enero 2004. Disponible en: <<http://www.scielo.cl>>
27. Rossi A. 1999. “ Vigilancia de la Resisitencia a los antibacterianos en argentina, Programa Whonet, 1995-1996”.Argentina. Rev panamericana de la Salud Pública. Consultado Enero 2004. Disponible en: <<http://www.lanic.utexas.edu>>
28. Crespo MP. 2002 “La lectura interpretativa del antibiograma: Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina”. Vol 33 No 4. Colombia. Consultado Enero 2004. Disponible en: <<http://www.colombiamedica.univalle.edu>>
29. Facklam RR., Sahn DS., Texeira LM. Métodos estándares del laboratorio para identificar y crecer enterococos. 7 ed. Editorial asm Prensa. Washington (mayo 2002). Fecha consultada: Febrero 2004. <<http://www.enterococcus.ouhsc.edu>>.
30. Organización Panamericana de la Salud. 2001. “Informe anual regional de los países participantes en la red de monitoreo/Vigilancia de la resistencia a los antibióticos. Consultado Enero 2004. Disponible en: <<http://www.paho.org>>

JESSICA ILEANA ALDANA CASTRO  
AUTORA

LIC. JORGE MATHEU  
ASESOR

LICDA. TAMARA VELÁSQUEZ  
ASESORA

LICDA. ALBA MARINA VALDÉS  
REVISORA

LICDA. KARLA LANGE  
REVISORA

Msc. VIVIAN MATTA DE GARCÍA  
DIRECTORA

OSCÁR COBAR PINTO, Ph.D.  
DECANO