



UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR
SEDE CENTRAL
Sucre – Bolivia

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN “ANÁLISIS CLÍNICOS - III VERSIÓN”

**PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA
PREVENCIÓN DE ENTEROCOCOS INTESTINALES RESISTENTES A
VANCOMICINA (ERV) EN PACIENTES DE MEDICINA INTERNA DEL
HOSPITAL DR. JAIME MENDOZA CAJA NACIONAL DE SALUD. AGOSTO
A OCTUBRE DEL 2018**

**Tesis presentada para obtener el
Grado Académico de Magister en
“Análisis Clínico”**

MAESTRANTE: WEIMAR ABDÓN LEZANO CLAURE

**Sucre – Bolivia
2019**



UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR
SEDE CENTRAL
Sucre – Bolivia

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN “ANÁLISIS CLÍNICOS - III VERSIÓN”

**PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA
PREVENCIÓN DE ENTEROCOCOS INTESTINALES RESISTENTES A
VANCOMICINA (ERV) EN PACIENTES DE MEDICINA INTERNA DEL
HOSPITAL DR. JAIME MENDOZA CAJA NACIONAL DE SALUD. AGOSTO
A OCTUBRE DEL 2018**

**Tesis presentada para obtener el
Grado Académico de Magister en
“Análisis Clínico”**

MAESTRANTE: WEIMAR ABDÓN LEZANO CLAURE
TUTORA: M.Sc. MYRIAM CORRALES CORRALES

Sucre – Bolivia
2019

DEDICATORIA

Con mucho cariño dedico este trabajo.

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a mi hija Mackenzie Rosario que ha sido mi razón de vivir, mi soporte y compañía durante todo el período de estudio.

Mi madre Fanny Claire y mi padre Abdón Lezano, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaron. Padres gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto se los debo a ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que contribuyeron para la realización de la presente investigación,

Le doy gracias a mis padres Fanny y Abdón por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo, por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mi hermana por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar por ser un ejemplo de desarrollo profesional a seguir, por acompañarme en mi vida de alegrías cuando más lo he necesitado.

A mi esposa Marcela, por ser una parte muy importante de mi vida, por haberme apoyado en las buenas y en las malas, sobre todo por su paciencia y amor incondicional. Te Amo Ma.

Le agradezco la confianza, apoyo y dedicación de tiempo a mis profesores: Myriam Corrales, Claudia Olivares y María Elena Rivera, por haber compartido conmigo sus conocimientos y sobre todo su amistad.

A todos los docentes que elevaron mis conocimientos durante este proceso.

RESUMEN

Objetivo. Establecer la prevalencia y factores de riesgo asociados en portadores de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (VRE) en pacientes de medicina interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud. Agosto a Octubre 2018.

Metodología. La presente investigación es de tipo observacional, transversal, descriptiva y analítica. La población objeto de estudio fue de 200 pacientes. La información recabada fue registrada en el programa estadístico SPSS v 25 para su procesamiento estadístico, los resultados fueron presentados en tablas de frecuencia y porcentaje. El análisis de las tablas tetracóricas se realizó con el programa Epidat 3.1.

Resultados. La prevalencia de portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en el Hospital Jaime Mendoza de la Caja Nacional de Salud de agosto a octubre del 2018 fue del 24,0%. El grupo etario de mayor portación de *enterococos* intestinales se registró en pacientes de 61 a 70 años con 29,2%, con referencia al sexo el femenino presentó un 79,2% y pacientes con más de 15 días hospitalizados 50,0%. Las especies reconocidas fueron: *E. faecium* con 91,7% y *E. faecalis* con 8,3%. Asimismo, se identificaron cepas de *Enterococos* resistente (ERV) a través de pruebas de susceptibilidad fenotípica a la Vancomicina Teicoplanina: VanA con el 83,3% y VanB con 16,7%. Los resultados del perfil susceptibilidad: Resistentes 48 cepas a Ampicilina, 40 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina, 40 cepas a Teicoplanina, 20 cepas a Cloranfenicol y 44 cepas a Vancomicina. Sensibles: 6 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina. 26 cepas a Cloranfenicol, 48 cepas a Linezolid y 8 cepas a Teicoplanina. Intermedias: 2 cepas a Vancomicina y 2 cepas a Eritromicina. Se encontró significancia estadística en el grupo etareo de 41 a 90 años $p=0,0005$ y en los pacientes con más de 5 días de hospitalización $p=0,00$, mientras que la variable sexo no presentó significancia estadística $p>0,05$.

Conclusión. La diseminación de una cultura de seguridad centrada en la prevención en la línea de control de infecciones por *enterococos* intestinales asociadas a la atención en salud (IAAS) es imprescindible.

Palabras claves. *Enterococos* intestinales, Vancomicina (EVR), medicina interna

ABSTRACT

Objective. To establish the prevalence and associated risk factors in carriers of intestinal enterococci resistant to vancomycin (VRE) in internal medicine patients of the Dr. Jaime Mendoza Hospital National Health Fund. August to October 2018.

Methodology. The present investigation is of observational, transversal, descriptive and analytical type. The population under study was 200 patients. The information collected was recorded in the statistical program SPSS v 25 for statistical processing, the results were presented in frequency and percentage tables. The analysis of the tetrachoric tables were made with the Epidat 3.1 program.

Results. The prevalence of carrying intestinal *enterococci* resistant to vancomycin (VRE) in the Jaime Mendoza Hospital of the National Health Fund from August to October 2018 was 24.0%. The age group with the greatest intestinal *enterococcal* carrying was registered in patients from 61 to 70 years old with 29.2%, with reference to sex the female presented 79.2% and patients with more than 15 days hospitalized 50.0%. The recognized species were: *E. faecium* with 91.7% and *E. faecalis* with 8.3%. Also, strains of *Enterococci* resistant (ERV) were identified through phenotypic susceptibility tests to Vancomycin Teicoplanin: VanA with 83.3% and VanB with 16.7%. The results of the susceptibility profile: Resistant 48 strains to Ampicillin, 40 strains to Erythromycin, 24 strains to Tetracycline, 40 strains to Teicoplanin, 20 strains to Chloramphenicol and 44 strains to Vancomycin. Sensitive: 6 strains of Erythromycin, 24 strains of Tetracycline. 26 strains of Chloramphenicol, 48 strains of Linezolid and 8 strains of Teicoplanin. Intermediate: 2 strains of Vancomycin and 2 strains of Erythromycin. Statistical significance was found in the age group from 41 to 90 years $p = 0.0005$ and in patients with more than 5 days of hospitalization $p = 0.00$. While the sex variable did not present statistical significance $p > 0.05$.

Conclusion. The dissemination of a safety culture focused on prevention in the line of control of infections associated with health care (IAAS) is essential.

Keywords. Intestinal *enterococci*, Vancomycin (EVR), internal medicine

ÍNDICE

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	2
1.1. Antecedentes del tema de investigación	2
1.1.1. El Problema	6
1.1.2. Justificación y Uso de los resultados	6
1.1.3. Objetivos	7
CAPÍTULO II	9
MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL	10
2.1. Marco Teórico	10
2.1.1. Generalidades. Estado de portación	10
2.1.1.1. Reseña histórica del proceso de portación	10
2.1.1.2. Portación intestinal	11
2.1.1.3. Tipos de portación	12
2.1.1.4. Microbioma, microbiota normal y habitad	13
2.1.2. Taxonomía. Género <i>Enterococcus</i>	17
2.1.2.1. Características microbiológicas y fisiológicas. Genero <i>Enterococcus</i>	21
2.1.2.2. Estructura y factores de virulencia	22
2.1.2.3. Patogenia	41
2.1.2.4. Enfermedades clínicas por <i>Enterococcus</i> y patología asociada	42
2.1.2.5. Epidemiología de la infección por <i>Enterococcus</i> EVR	44
2.1.2.6. Respuesta inmune a la infección	45
2.1.2.7. Antimicrobianos	46
2.1.2.8. Uso prudente de los antimicrobianos	51
2.1.2.9. Resistencia a los antimicrobianos en enterococcus	54
2.1.2.10. Fisiopatología de las infecciones microbianas	61
2.1.2.11. Mecanismos de transmisión	62
2.1.2.12. Diagnóstico de laboratorio. Aislamiento y diferenciación	63
2.1.2.13. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Antibiograma	69
2.1.2.14. Métodos moleculares	72
2.1.2.15. Normas de Bioseguridad. Elementos de protección personal	75
2.2. Hipótesis	76

2.3. Marco contextual	76
2.3.1. Aspectos generales de Bolivia	76
2.3.2. Departamento de Chuquisaca	81
2.3.2.1. Sucre	81
2.3.2.2. Caja Nacional de Salud	83
2.3.2.3. Hospital Jaime Mendoza	84
2.3.2.4. Facultad de Farmacia y bioquímica	86
CAPÍTULO III	87
MARCO METODOLÓGICO	88
3.1. Enfoque, tipo y diseño de investigación	88
3.1.1. Enfoque	88
3.1.2. Tipo y diseño de investigación	88
3.2. Población y muestra	89
3.2.1. Población	89
3.2.2. Muestra	89
3.3 Variables de estudio	90
3.3.1 Identificación de variables	90
3.3.2. Diagrama de variables	90
3.4. Criterios de inclusión y exclusión	91
3.4.1. Criterios de inclusión	91
3.4.2. Criterios de exclusión	91
3.5. Procedimientos para la recolección de la información	92
3.5.1. Fuente de recolección de la información	92
3.5.2. Instrumentos de recolección de información	92
3.5.3. Procedimiento y técnicas. (Anexo N° 4)	92
3.6. Procesamiento y análisis de los datos	103
3.7. Delimitaciones de la investigación	104
3.7.1. Delimitación geográfica	104
3.7.2. Sujetos de estudio	104
3.7.3. Delimitación temporal	104
CAPÍTULO IV	105
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	106
4.1. Resultados descriptivos	106

4.2. Resultados del componente analítico.....	116
CAPÍTULO V.....	121
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	122
5.1. Conclusiones.....	122
5.2. Recomendaciones.....	123
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125
ANEXOS.....	141
Anexo No 1. Consentimiento informado.....	142
Anexo No 2. Ficha de recolección de datos.....	143
Anexo No 3. Ficha de registro de laboratorio.....	144
Anexo No 4. Procedimiento laboratorial.....	145

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla N° 1 Prevalencia de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de Medicina Interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud. Agosto a octubre del 2018 106
- Tabla N° 2 Distribución de frecuencias de pacientes según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018. 107
- Tabla N° 3 Distribución de frecuencias de pacientes según grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018. 108
- Tabla N° 4 Distribución de frecuencias de pacientes según tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018. 109
- Tabla N° 5 Distribución de frecuencias de pacientes según especie de *enterococos*. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 110
- Tabla N° 6 Fenotipificación por susceptibilidad a la Vancomicina y Teicoplanina. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 111
- Tabla N° 7 Portación de *enterococos* según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 112
- Tabla N° 8 Portación de *enterococos* según grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 113
- Tabla N° 9 Portación de *enterococos* según tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 114
- Tabla N° 10 Perfil susceptibilidad a diferentes antibióticos de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV). Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 115
- Tabla N° 11 Relación entre portación de *enterococos* y sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 116
- Tabla N° 12 Relación entre portación *enterococos* y grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 117
- Tabla N° 13 Relación entre portación *enterococos* y tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018 118

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica N° 1	Prevalencia de enterococos intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de Medicina Interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud. Agosto a octubre del 2018	106
Gráfica N° 2	Distribución de frecuencias de pacientes según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.	107
Gráfica N° 3	Distribución de frecuencias de pacientes según grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.	108
Gráfica N° 4	Distribución de frecuencias de pacientes según tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018	109
Gráfica N° 5	Distribución de frecuencias de pacientes según especie de <i>enterococos</i> . Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018	110
Gráfica N° 6	Fenotipificación por susceptibilidad a la Vancomicina y Teicoplanina. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018	111
Gráfica N° 7	Portación de <i>enterococos</i> según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018	112
Gráfica N° 8	Portación de <i>enterococos</i> según grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018	113
Gráfica N° 9	Portación de <i>enterococos</i> según tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.	114
Gráfica N°10	Perfil susceptibilidad a diferentes antibióticos de <i>enterococos</i> intestinales resistentes a vancomicina (ERV). Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018	115

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Modelo de la pared celular <i>enterocócica</i> .	22
Figura N° 2	Biosíntesis de peptidoglicano	24
Figura N° 3	Esquema de la síntesis de lipoproteínas en bacterias Gram positivas	30

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes del tema de investigación

Los *Enterococos* son parte de la flora intestinal normal de humanos y animales. Han sido reconocidos durante mucho tiempo como patógenos humanos importantes y lo son cada vez más. El género *Enterococcus* incluye más de 58 especies, aunque solo unas pocas causan infecciones clínicas en humanos. Desde el comienzo de la era de los antibióticos, han planteado importantes desafíos terapéuticos, incluida la necesidad de combinaciones sinérgicas de antibióticos para tratar con éxito la endocarditis infecciosa enterocócica.

Enterococcus faecalis y *Enterococcus faecium* son las especies más prevalentes cultivadas en humanos, que representan más del 90% de los aislados clínicos. Otras especies de *enterococos* que se sabe causan infección en humanos incluyen *Enterococcus avium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus raffinosus*, *Enterococcus mundtii*, etc.

Enterococcus faecium es responsable de la mayoría de las infecciones por *Enterococcus* resistentes a la vancomicina (ERV). (1)

En la última década, estos organismos han adquirido cada vez más importancia como patógenos nosocomiales, a pesar de su baja virulencia. El género *Enterococcus* tiene ciertas características que les facilita la diseminación entre los pacientes hospitalizados:

- Puede colonizar el tracto gastrointestinal de los trabajadores de la salud y de los pacientes, proporcionando un reservorio continuo para la diseminación intrahospitalaria.
- Es resistente a varios antibacterianos de uso frecuente.
- La resistencia antimicrobiana le permite su supervivencia en un medio

ambiente con alto uso de antibacterianos.

- Puede contaminar el medio ambiente hospitalario y sobrevivir en él por períodos prolongados.
- Puede contaminar las manos de los trabajadores de la salud, permaneciendo por más tiempo si los empleados no cumplen con las normas de lavado de manos.

Estos factores hicieron que los *Enterococcus* emergieran como uno de los patógenos nosocomiales más importantes. (2)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publica su primera lista de “patógenos prioritarios” resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. La lista de la OMS se divide en tres categorías con arreglo a la urgencia en que se necesitan los nuevos antibióticos: prioridad crítica, elevada y media. El *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina se encuentra en prioridad elevada. (3)

Los *Enterococos* han pasado de ser considerados como comensales de baja patogenicidad a convertirse en una importante causa de infección hospitalaria. En Estados Unidos constituyen la tercera causa de infección hospitalaria y de bacteriemia. (4) (5)

En América Latina, datos del Programa SENTRY de vigilancia de resistencia ubican a los *enterococos* en el octavo lugar como causa de bacteriemia y en el cuarto como causa de infección urinaria y de sitio quirúrgico. (6)

En las últimas décadas han incrementado su frecuencia de aislamiento, y adquiriendo mecanismos de resistencia a la mayoría de los antimicrobianos disponibles. Como resultado de esto, se han convertido en un reto para quienes se enfrentan al tratamiento de una infección grave causada por estos agentes. La aparición de resistencia a glicopéptidos ha alarmado a la comunidad científica por varias razones. Primero, la resistencia a vancomicina deja pocas opciones

terapéuticas para su tratamiento. Segundo, ya se han encontrado aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* que portan el genotipo vanA proveniente de *Enterococcus*. (7)

En Centro América, un estudio que se desarrolló de mayo a agosto del año 2001 en 106 pacientes internados en las unidades de cuidado intensivo del Hospital México, Hospital San Juan de Dios y Servicio de emergencias médicas de ese nosocomio, a los que se les tomaron muestras de hisopados rectales, los que fueron cultivados para identificar la presencia de (EVR). Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) para vancomicina, y se realizó el estudio genético de las cepas. La prevalencia de colonización del tracto gastrointestinal de los pacientes fue de 52%. Empleando las pruebas de chi cuadrado y de regresión logística, se identificaron factores que intervienen en la colonización por estas bacterias, siendo el servicio de procedencia antes del ingreso a las respectivas UCI, los días de estancia en UCI y el uso previo de cefalosporinas de tercera generación los principales factores de riesgo para la colonización. El 29.6% de los aislamientos de *Enterococcus* resistentes a vancomicina tenían CIM >512 ug/ml, todos poseían el gen van A y correspondieron a *E. gallinarum*, *E. faecium*, *E. casseliflavus* y *E. hirae* Todos los aislamientos de *Enterococcus faecalis* mostraron CIM 16ug/ml a la vancomicina. (8)

En un hospital de Argentina, se realizaron cultivos de vigilancia a los pacientes admitidos a UCI (n = 113) y cultivos de muestras ambientales (n = 69) y de manos de personal (n = 23) entre agosto y diciembre del 2003. Se obtuvieron 25 aislamientos de ERV (24 *Enterococcus faecium* y 1 *E. avium*) provenientes de 8 pacientes y 7 muestras ambientales. No se obtuvo crecimiento de ERV en manos de personal sanitario. Todos los aislamientos de *E. faecium* resistentes a vancomicina, ambientales y de pacientes, eran portadores del gen vanA y pertenecieron a un mismo clon. (9)

Se realizó un estudio de tipo transversal durante noviembre y diciembre del 2013

en el Hospital Nacional Cayetano Heredia en Lima, Perú. Se encontró una frecuencia de colonización por ERV de 6,2% (IC 95%: 1,67-10,73), todas las cepas aisladas tenían el genotipo de resistencia vanA, y se halló que las variables hospitalización previa ($p=0,001$) y el uso de cefalosporinas de tercera generación ($p=0,016$) estaban asociadas a la colonización por ERV. En conclusión, existe colonización perianal por ERV en los diversos servicios de hospitalización, el gen vanA podría ser transmitido a gérmenes más virulentos y ocasionar la aparición de la bacteria *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA). Es necesario adoptar medidas de control de infecciones para evitar la transmisión de esta bacteria en el ambiente hospitalario. (10)

En Lima, Perú, el hospital Rebagliati es un hospital docente de 1492 camas. Se realizó un estudio transversal para determinar tasas de prevalencia. En la fecha de estudio (23 Agosto 2004), 243 pacientes de alto riesgo de colonización con ERV fueron enrolados al estudio y se les tomó una muestra de hisopado rectal para el aislamiento microbiológico de ERV. Para identificar los factores asociados se realizó un estudio caso control (28 casos y 28 controles). Resultados: La prevalencia de colonización con ERV en pacientes de alto riesgo fue de 11,5% (28/243). La prevalencia en áreas de alto riesgo (UCI, unidades de transplante, oncohematología, nefrología) y en áreas de bajo riesgo (los demás servicios) fue muy similar: 11,6% y 11,5% respectivamente. En medicina interna (16,9%) se halló tasas casi tan altas como en las UCI (18,2%). Los factores de riesgo asociados a la colonización con ERV fueron: postración crónica, hemodiálisis, exposición a múltiples procedimientos invasores y exposición a antibióticos de amplio espectro. El tratamiento con "antibióticos relacionados a ERV" (vancomicina, cefalosporinas de 3ra generación, agentes antianaeróbicos), y en particular con los agentes antianaeróbicos, se relacionaron con la colonización con ERV. Conclusión: El ERV ha emergido hasta volverse endémico en la institución y gran parte de los servicios hospitalarios ya han sido expuestos. Esta emergencia se debe principalmente a las deficientes técnicas de control de infecciones, al uso de antibióticos de amplio espectro y a la presencia de reservorios. Esclarecer la epidemiología del ERV en

la institución permite aplicar medidas estratégicas para controlar su diseminación. (11)

Si bien en Sudamérica existen estudios que han descrito la frecuencia de colonización y sus factores asociados, todos estos han sido desarrollados en subpoblaciones de pacientes hospitalizados y han tenido como resultados frecuencias de colonización entre 6.2 y 52% (8, 10). De la misma manera, en Bolivia, la información sobre ERV no existe, por lo que no se cuenta con un dato exacto acerca de la prevalencia de ERV y mucho menos de subpoblaciones hospitalizadas.

1.1.1. El Problema

¿Cuál será la prevalencia y factores de riesgo asociados a la prevención de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de medicina interna del hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud, Agosto a octubre del 2018?

1.1.2. Justificación y Uso de los resultados

Desde su descubrimiento en Inglaterra y Francia en 1986, *enterococos* resistentes a la vancomicina (ERV) se ha convertido cada vez más en un importante patógeno nosocomial en todo el mundo. Los *enterococos* son colonizadores prolíficos, con una gran plasticidad del genoma y una propensión a la resistencia en entornos hospitalarios, lo que permite una mayor transmisión y la difusión de elementos de resistencia. Las infecciones generalmente se presentan en pacientes inmunosuprimidos que han recibido múltiples ciclos de antibióticos en el pasado. Como los *enterococos* son colonizadores comunes, se necesita una consideración cuidadosa antes de iniciar la terapia dirigida, y el control de la fuente es la primera prioridad. Por tanto, es de gran importancia conocer la prevalencia de portación intestinal de estas bacterias en pacientes de medicina interna para que el personal encargado de la atención en salud tome

el cuidado correspondiente con el propósito de disminuir el surgimiento de nuevas patologías dentro de los ambientes hospitalarios, así como identificar portadores de cepas resistentes a los antimicrobianos convencionales por el desafío terapéutico aplicado para tratar los diferentes cuadros patológicos que puede ocasionar, que van desde bacteriemias, endocarditis, infecciones intraabdominales y pélvicas, infecciones del tracto urinario, infecciones de la estructura cutánea y de la piel y en raras ocasiones, infecciones del sistema nervioso central.

Por tal motivo, es importante que se desarrollen estudios que busquen estimar la prevalencia real de la colonización por (ERV) en los pacientes hospitalizados, a fin de no subestimar o sobreestimar esta cifra, y realizar esfuerzos por controlar su colonización en nuestra ciudad. De igual manera, la tipificación de la subespecie y del gen de virulencia es importante para evaluar el nivel de complejidad en el tratamiento de las infecciones por este germen.

1.1.3. Objetivos

a. Objetivo General

Determinar la prevalencia y factores de riesgo asociados a la prevención de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de medicina interna del hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud Agosto a octubre del 2018.

b. Objetivos específicos

- Determinar el grupo étnico de mayor portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de medicina interna.
- Establecer la prevalencia de portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) según sexo en pacientes de medicina interna.

- Estimar la portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) según tiempo de hospitalización en pacientes de medicina interna.
- Diferenciar las especies de *enterococos* a través de pruebas de fenotipificación en muestras de pacientes de medicina interna.
- Determinar la existencia de cepas de *enterococos* intestinales resistentes (ERV) a través de pruebas de susceptibilidad a la Vancomicina.
- Establecer el perfil de susceptibilidad de *enterococos* intestinales a diferentes antimicrobianos.
- Establecer una asociación ente factores de riesgo presentes entre la portación de *enterococos* intestinales y la edad, sexo, tiempo de internación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL

2.1. Marco Teórico

2.1.1. Generalidades. Estado de portación

2.1.1.1. Reseña histórica del proceso de portación

La vancomicina se usó para tratar infecciones graves debidas a organismos grampositivos durante 30 años antes de que se desarrollara una resistencia significativa a su actividad. En 1986, se describió la resistencia a la vancomicina en 2 aislados clínicos de *Enterococcus faecium* de Francia. (12) Desde entonces el germen continúa emergiendo como una causa importante de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) en todo el mundo. De acuerdo al Sistema de Vigilancia Nacional de Infecciones Nosocomiales (NNIS) de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), el porcentaje de aislamiento de enterococo resistente a vancomicina en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) en Estados Unidos de América (EU) se incrementó de 0,3% en 1989 a 28,5% en 2003. (13)

El tracto gastrointestinal es el mayor reservorio de ERV; varios estudios subrayan las características críticas de la portación por ERV, señalando que el paciente portador "silencioso" de ERV es un importante factor que va a la cabeza en la diseminación nosocomial del microorganismo. Aquellos que están gravemente enfermos y que reciben ciclos múltiples y prolongados de antimicrobianos corren el mayor riesgo de contraer infección por VRE o portación. Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, recomiendan que los hospitales desarrollen un plan integral para prevenir y controlar la infección y la portación de pacientes con ERV. Este plan debe incluir la identificación rápida de los pacientes afectados, el inicio de las precauciones de aislamiento para evitar la transmisión de *Enterococcus* VRE de paciente a paciente y el uso prudente de antimicrobianos, incluida la vancomicina. (14)

La infección o portación con *Enterococcus* ERV ha sido asociado con una variedad

de factores como hospitalización prolongada, severidad de la enfermedad, afecciones quirúrgicas concomitantes, proximidad a un paciente y exposición a equipo contaminado con *Enterococcus* ERV, alimentación enteral, entre otros. Se ha encontrado en pacientes de las Unidad de Cuidado Intensivo (UCI), unidades de trasplantes, oncología, hematología, nefrología y unidad de diálisis tienen riesgo incrementado y por ello sus tasas de ERV son mayores. (15)

La evidencia sugiere que la emergencia y diseminación de estos patógenos son promovidas por pobres técnicas de control de infecciones y por la presión antibiótica selectiva. (16)

2.1.1.2. Portación intestinal

Portador. Persona infectada o animal infectado que alberga a un agente infeccioso específico en ausencia de enfermedad clínica visible o manifiesta y que se convierte en una fuente potencial de infección a otras personas o animales. (17)

Estado de portador hace referencia a la presencia persistente de un microorganismo en la orofaringe, en el intestino o en la piel. Un patógeno potencial adquirido solamente podrá permanecer en forma transitoria en un huésped normal. (18)

Tres elementos tienen que concurrir para convertirse en portador:

- a. La presencia en el cuerpo del agente de la enfermedad.
- b. La ausencia de síntomas reconocibles y signos de enfermedad.
- c. El esparcimiento del agente infeccioso de la enfermedad por medio de excreciones. (17)

Los portadores desempeñan un papel importante en la epidemiología de la enfermedad. Se identifican 6 tipos de portadores:

- **Portador convaleciente:** Persona que ha padecido una enfermedad contagiosa de la que ha curado completamente.
- **Portador paradójico o pseudoportador:** Persona o animal que elimina gérmenes no patógenos.
- **Portador pasivo o contacto:** Se trata de una persona o animal susceptible, que ha estado en contacto con un caso o un portador, y que al final del período de incubación puede enfermar.
- **Portador precoz:** Portador que elimina el microorganismo antes de que aparezca la enfermedad que suele estar incubando.
- **Portador sano:** Persona colonizada pero no infectada. Existe cierta relación con el portador convaleciente o crónico con enfermedad subclínica. (17)
- **El superportador:** se ha definido como el portador de una bacteria hospitalaria adquirida en la unidad de terapia intensiva UTI, generalmente después de la erradicación de los microorganismos comunitarios por los antimicrobianos habitualmente utilizados. (18)

2.1.1.3. Tipos de portación

- **Transitoria o Transeúnte**

En este caso algunas condiciones le son desfavorables y es eliminada con facilidad; es frecuente, sin embargo, que una Microbiota transitoria puede hacerse residente y a la inversa si aparecen o desaparecen respectivamente circunstancias favorables.

- **Intermitente**

Es la que está perfectamente adaptada a la zona donde se encuentra pues todos los factores endógenos (humedad, temperatura) le son favorables; por ello, persiste un cierto tiempo. (19)

2.1.1.4. Microbioma, microbiota normal y habitad

La nueva bibliografía científica en relación con el microbioma humano ha aumentado. Aunque la relevancia clínica de este campo inicialmente puede parecer enigmática para la práctica clínica, existe una paulatina conciencia del papel que juega la microbiota comensal en la salud y la enfermedad de los seres humanos. Es posible que el conocimiento de los conceptos básicos sobre las interacciones entre los seres humanos y su microbioma sea tan importante para los conceptos médicos como lo es el conocimiento de la genética o la teoría del germen.

El término **microbioma** se refiere al número total de microorganismos y su material genético y se usa en contraposición al término **microbiota**, que es la población microbiana presente en los diferentes ecosistemas del cuerpo.

Se pensaba que en gran medida estos microbios no habitaban más que en la piel, el intestino y las superficies mucosas, cada vez es más evidente que el microbioma humano es crucial para la salud y el bienestar. El microbioma humano ha ido evolucionando con los seres humanos a lo largo de los milenios, desarrollándose comunidades de microbios específicos en nichos anatómicos determinado dentro del cuerpo. La ecología microbiana humana y la ecología macroscópica tienen muchas semejanzas que ayudan a comprender el concepto de microbioma.

El equilibrio específico de la diversidad microbiana en cada sitio anatómico específico diferirá entre las personas debido a ciertas variantes como la higiene, el comportamiento social y la genética.

La portación con organismos comensales normales comienza poco después del nacimiento, por la exposición a la microbiota vaginal. Los lactantes siguen captando nueva flora a través de las actividades habituales con otros seres humanos, incluida la alimentación y el juego, lo que da como resultado la

aparición del microbioma en la piel, el intestino y las superficies mucosas. La introducción y la reintroducción de flora continúan durante toda la vida, por las interacciones rutinarias entre las personas.

El microbioma no ocupa simplemente un espacio en el cuerpo, sino que es esencial para varios aspectos del desarrollo normal, a través de las interacciones con el sistema inmunológico de la mucosa. (20)

Una vez establecida, la microbiota normal puede beneficiar al hospedero o impedir el crecimiento de microorganismos potencialmente peligrosos. Este fenómeno es conocido como antagonismo microbiano o exclusión competitiva. El antagonismo microbiano envuelve una competición entre microbios. Una consecuencia de esa competición es la protección de la microbiota contra portación por microbios potencialmente patógenos y competir por los nutrientes, producir sustancias perjudiciales y microbios invasores y afectar condiciones como pH y la disponibilidad de oxígeno. Muchos otros microorganismos normalmente inoocuos se establecen en otras partes del cuerpo saludable de un individuo adulto y en su superficie. El cuerpo humano posee 1×10^{13} células propias, en tanto contiene un número estimado de 1×10^{14} de células bacterianas (o 10 veces más células bacterianas que de células humanas). Eso nos da una idea de la abundancia de microorganismos que normalmente resisten en el cuerpo humano.

Relación hospedero-Microbiota normal: Una microbiota normal puede impedir una infección por patógenos ese fenómeno es conocido como antagonismo microbiano y se presenta por la competencia entre microbios. Cuando se altera este equilibrio entre la microbiota normal y los microbios patógenos puede aparecer la enfermedad.

Microorganismos oportunistas: Los microbios llamado oportunistas son aquellos que normalmente no causan enfermedad cuando están presentes en su hábitat normal en una persona saludable. Entretanto, pueden generar enfermedad cuando está en diferentes ambientes. Por ejemplo, microbios que

penetran el cuerpo a través de una herida abierta en la piel o de las membranas mucosas y pueden causar infecciones oportunistas.

Algunos patógenos oportunistas pueden ser encontrados en localidades del cuerpo, interna o externamente, que son relativamente protegidos de defensas del organismo, en algunas de esas regiones no pueden ser alcanzados por antimicrobianos. (21)

En el intestino grueso conviven más de 500 especies diferentes de bacterias, con un predominio notorio de gérmenes anaerobios. Estos corresponden en su mayoría a microorganismos de los géneros *Bacteroides* y *Fusobacterium*, entre los bacilos Gram negativos y especies de *Peptostreptococcus*, *Sarcina* y *Veillonella* entre los cocos. Los bacilos Gram positivos están representados por especies de *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Lactobacillus* y *Clostridium*.

Entre los anaerobios facultativos predominan las enterobacterias, siendo *E. coli* la más numerosa, seguida de especies de *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter* y *Citrobacter*. De los cocos Gram positivos pueden hallarse especies de *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. (22)

Hábitat

El primer paso en el proceso infeccioso parece ser la colonización del tracto intestinal por parte de cepas intrahospitalarias, que pueden perdurar durante meses o años. (23)

Además, se ha demostrado que el ambiente hospitalario puede estar muy colonizado, y los lugares habituales donde se aíslan incluyen, entre otros, las barandillas, ropa de la cama, tiradores de las puertas, cuñas, orinales, medidores de presión arterial, estetoscopios, y dispositivos de monitorización, etc. (24)

Los factores asociados con el aumento de la colonización por *enterococos* VRE está

directamente relacionado a la presencia de inmunosupresión o condición de comorbilidad grave y también los pacientes con cáncer, estancia hospitalaria prolongada, internamiento en residencia de asistencia sanitaria extrahospitalaria, proximidad a otro paciente colonizado o infectado (incluyendo el hecho de compartir habitación), hospitalización en una habitación previamente ocupada por un paciente colonizado con VRE, procedimientos invasivos, y administración de antibióticos de amplio espectro (p.ej. cefalosporinas) o vancomicina (25, 26, 27, 28).

Las manos de los trabajadores de los centros hospitalarios parecen ser una de las fuentes principales de transmisión de VRE, y la Society for Health Epidemiology of America ha publicado guías específicas para disminuir la transmisión (29).

Los *enterococos* son capaces de sobrevivir en las manos, guantes y batas de los trabajadores de los centros hospitalarios durante períodos prolongados (30).

Los efectos de los antibióticos sobre el tracto gastrointestinal producen la alteración de la flora a favor de los *enterococos*, ya que estos tienen una resistencia intrínseca a un gran número de antibióticos. Los antibióticos provocan un aumento de la colonización en el tracto gastrointestinal por parte de estos *enterococos* (31, 32).

Se ha demostrado que la administración de antibióticos también favorece la emergencia de VRE a través de regulación de la expresión intestinal del péptido intestinal antimicrobiano RegIIIy (una lectina bactericida producida en el epitelio intestinal y las células de Paneth), la cual tiene actividad contra los microorganismos grampositivos intestinales.

Este efecto parece ser debido a que los antibióticos erradican a los microorganismos gramnegativos en el tracto gastrointestinal que son, a su vez, responsables de la activación de las señales necesarias para la producción del péptido RegIIIy a través de la presencia del lipopolisacárido localizado en sus

membranas externas (33). Así pues, la restricción de vancomicina en este tipo de pacientes podría ayudar a disminuir la duración de la colonización por VRE conclusión a la que han llegado varios estudios (34)

2.1.2. Taxonomía. Género *Enterococcus*

Dominio: Bacteria
Filo: Firmicutes
Clase: Bacilli
Orden: Lactobacillales
Familia: Enterococcaceae
Género: *Enterococcus* (35)

El género *Enterococcus* pertenece al *Phylum Firmicutes* (Bacterias Grampositivas), Clase *Bacilli*, Orden *Lactobacillales* y la familia *Enterococcaceae*.

Tienen un genoma con un contenido en G+C < 50%, con una extensión de 3.2 mega bases (Mb) nitrogenadas en *Enterococcus faecalis* y 2.9 Mb para *Enterococcus faecium*. Los miembros de este género eran clasificados como *Streptococcus* Grupo D hasta 1984 cuando los análisis de ADN genómicos mostraron que un género separado era lo más adecuado. (36)

Según (List of prokaryotic names with standing in nomenclature) actualmente existen 58 especies y 2 subespecies. (37)

Las especies de mayor importancia clínica son *E. faecalis* y *E. faecium*, formando entre ambos aproximadamente el 90% de los aislados clínicos. *Enterococcus faecalis* es responsable de la mayoría de las infecciones en humanos; no obstante, *E. faecium* presenta resistencia a antimicrobianos con mayor frecuencia. Existen otras especies que presentan resistencia intrínseca a vancomicina, (*E. gallinarum* y *E. casseliflavus*). Por esto, resulta primordial realizar una adecuada identificación de especie. (26)

Ciertas especies parecen formar linajes distintos, pero la mayoría de las otras pueden asignarse a estos grupos.

El grupo de *Enterococcus faecium* pertenecen al grupo de especies de *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus canis*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus ratti* y *Enterococcus vilorum* y están estrechamente relacionadas filogenéticamente como lo demuestran los estudios de comparación de secuencia del ARNr 16S, Estas especies muestran en su mayoría características fisiológicas y de crecimiento idénticas. La discriminación de especies individuales de este grupo mediante pruebas bioquímicas a menudo no es confiable.

Enterococcus durans, *Enterococcus hirae* y *Enterococcus vilorum* son especialmente difíciles de diferenciar, aunque se pueden distinguir claramente mediante análisis de proteínas de células completas utilizando SDS-PAGE, tDNA-PCR y análisis de PCR arbitrariamente preparado (Devriese et al., 2002)

El grupo de *Enterococcus faecalis* pertenecen al grupo de especies *Enterococcus caccae*, *enterococcus hemoperoxidus*, *enterococcus moraviensis*, *Enterococcus silesiacus* y *enterococcus termitis*. Aunque las distancias filogenéticas son grandes en este grupo, las seis especies comparten muchos rasgos fenotípicos. Forman colonias de color rojo oscuro similares con un brillo metálico en agar Slanetz-Bartley. El crecimiento a 10 °C en NaCl al 6,5% así como la producción de antígeno D son positivos. Sin embargo, estas especies se pueden diferenciar unas de otras mediante algunas pruebas bioquímicas.

El grupo enterococcus *gallinarum* consiste en *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*. La resistencia a la vancomicina intrínseca de bajo nivel y la motilidad son típicas para este grupo, aunque las cepas no móviles pueden ser raramente aisladas.

Enterococcus faecalis. fae. cal'is. L. n. heces *faecales*; N.L. adj. Heces fecales relacionadas con las heces.

Características: Generalmente no hemolítico. La pseudocatalasa se puede producir cuando se cultiva en medios de agar que contienen sangre. Las cepas sobreviven al calentamiento. A 60 °C durante 30 min. El tetrazolio se reduce al formase y las colonias rojas típicas se forman cuando se cultivan en tetrazolium conteniendo medios selectivos. Crece en medios que contienen azida de sodio. El peptidoglicano de la pared celular es del tipo Lys – Ala₂–3.

Los principales ácidos grasos son hexadecanoicos, octadecenoicos y cis 11,12-metilenoctadecanoicos. La mayoría de las cepas contienen demetilmenaquinonas con nueve unidades de isopreno. Malato, serina, El citrato, gluconato y arginina se utilizan como fuente de energía. La tirosina se descarboxila a tiramina. Los resultados aberrantes se pueden ver en la variante asacolítica. Cepas de material clínico humano, que puede ser glicerol, lactosa, manitol, sucrose- y trehalosa negativa. Aislado de materiales clínicos humanos y animales. De la comida, y del medio ambiente. Típicamente asociado con intestinos de humanos y animales.

Enterococcus faecium fae'ci.um. L. n. heces fecales; L. gen. pl. norte. faecio de las heces de heces.

Características. Algunas cepas pueden ser α-hemolíticas. El crecimiento a pH 9.6 es positivo. Sobrevive al calentamiento a 60 °C durante 30 min. Negativo para el citrato. Utilización de malato y serina e hidrólisis de gelatina. Reducción de telurito y tetrazolio negativo. El mayor de los ácidos grasos son hexadecanoicos, octadecenoicos y cis-11,12- metilenoctadecanoico. Las células no contienen menaquinonas. El peptidoglicano de la pared celular es de tipo Lys – d – Asp. Originalmente descrito como negativo para la acidificación de la d-xilosa. La mayoría de las cepas caninas y bovinas son positivas. (Devriese et al., 1987). Originalmente descrito como rafinosa y la acidificación de sorbitol negativa, pero las cepas de aves de corral. Por lo general son rafinosa positiva y cepas de perros también. Como las cepas raras de los humanos son positivas para sorbitol. Aislado de materiales clínicos humanos y animales. De la comida, y del medio ambiente.

Enterococcus gallinarum gall.in.ar'um. L. fem. gen. pl. norte. gallinarum de las gallinas.

Características. Los rasgos son los siguientes: β -hemolítico. En agar de sangre de caballo. La mayoría de las cepas sobreviven al calentamiento a 60 °C para 15 min, pero no durante 30 min. Producción de gelatinasa negativa. Bajos niveles de menaquinonas producidos, con predominio de MK-8.

Los ácidos hexadecanoico y octadecenoico son los principales ácidos grasos de cadena larga no hidroxilados; cis-11,12-metilenoctadecanoico está presente en pequeñas cantidades. Originalmente descrito como negativo para la acidificación de glicerol.

Aislado de materiales clínicos humanos y veterinarios. De la comida y del medio ambiente.

Enterococcus casseliflavus cass.el.i fla'vus. N.L. norte. casseli de Cassel (Cassel amarillo); L. adj. amarillo flavus; Casseliflavus de color amarillo.

Características. Los rasgos son los siguientes: α -hemolítico en sangre de caballo El crecimiento a pH 9.6 es positivo. Las cepas sobreviven al calentamiento a 60 °C durante 30 min. Tirosina descarboxilación negativa. La especie contiene menaquinonas; MK-7 y MK-8 Son los principales isoprenólogos. Hexadecanoico y octadecenoico. Los ácidos son los principales ácidos grasos de cadena larga no hidroxilados. Originalmente descrito como d-rafinosa acidificación negativa, pero declarado positivo por Devriese et al. (1992a) y Teixeira y Facklam (2003). La especie es generalmente considerada ser móvil y pigmentado, aunque no móvil y no pigmentado Se han reportado cepas de muestras humanas (Clark et al., 1998; Vincent et al., 1991). Aislado de muestras humanos y animales de la comida y el medio ambiente. Se considera que es típicamente asociado a la planta. (35)

2.1.2.1. Características microbiológicas y fisiológicas. Genero *Enterococcus*

Enterococcus son células esféricas u ovoides, de tamaño $0,6-2,0 \times 0,6-2,5 \mu\text{m}$. Son cocos grampositivos, no formadores de endosporas. Se presentan en forma de pares o de cadenas cortas. Carecen de motilidad, con excepción de las especies *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*. Son anaerobios facultativos, quimiorganotrofos, con metabolismo fermentativo. Fermentan un amplio rango de carbohidratos con producción principalmente de L (+)- ácido láctico, pero no de gas, y producen un pH final de 4,2-4,6. Son catalasa negativos o, más comúnmente, débilmente positivos. Crecen usualmente en un caldo de cultivo a 10°C y 45°C , aunque el crecimiento óptimo es a 37°C .

El género *Enterococcus* presenta diversos mecanismos que le permiten mantener la homeostasis y el control de las concentraciones de iones, lo cual explica su resistencia a la variación del pH 9,6, con 6,5% de NaCl. Usualmente fermentan la lactosa. Portan el antígeno D del grupo Lancefield y poseen el carbohidrato C. Algunas cepas revelan actividad pseudocatalasa cuando se cultiva en medios de agar que contienen sangre. La actividad hemolítica es variable y en gran parte dependiente de la especie.

Otras características fisiológicas importantes: Todas las especies de *Enterococcus* son capaces de crecer en presencia de 40% de bilis y de hidrolizar la esculina, al igual que *Streptococcus* del grupo D, pero se diferencian de estos últimos porque muestran una respuesta positiva a la prueba de PYR (L-pirrolindonil β -naltil-amida). Todas las cepas producen leucino aminopeptidasa (LAP), por lo que son positivas a esta prueba, son pruebas de caracterización muy útiles para la diferenciación de *Enterococcus* de *Streptococcus*.

Las colonias en los medios agarizados, generalmente, se presentan incoloras a grises, que tienen de 2-3 mm de diámetro a los 2 días de incubación.

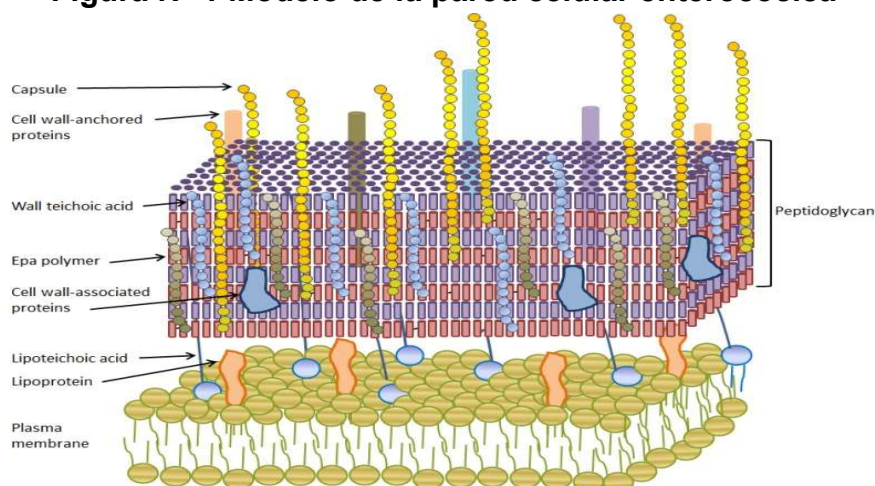
Enterococcus pueden diseminarse por transmisión fecal-oral, por contacto con

fluidos de personas infectadas o por contacto con superficies contaminadas. (35)(38)(39)(40).

2.1.2.2. Estructura y factores de virulencia

Durante casi medio siglo, los estudios bioquímicos se han centrado en la pared celular del género *Enterococcus*. La envoltura celular enterocócica (que consta de la membrana celular, así como los componentes de la pared celular) nos permite no solo examinar las vías que se comparten entre muchas bacterias grampositivas, sino también resaltar las diferencias que hacen que los *enterococos* sean únicos entre los Firmicutes. La pared celular de las bacterias grampositivas se compone principalmente de tres constituyentes principales: un esqueleto de peptidoglicano, polímeros aniónicos (ácidos teicoicos y polisacáridos de la pared celular) y proteínas asociadas a la pared y ancladas a la pared. El esqueleto de peptidoglicano y los polímeros aniónicos comprenden casi el 90% del peso total de la pared celular, con el contenido de proteína que comprende menos del 10% del peso de la pared celular.

Figura N° 1 Modelo de la pared celular enterocócica



Fuente: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190431/figure/structures.F1/?report=objectonly

Peptidoglicano

Estructura. El constituyente principal de la pared celular enterocócica es el

peptidoglicano (PG). El peptidoglicano consiste en el disacárido repetitivo ácido N-acetilmurámico- (β 1-4) - N -acetilglucosamina (MurNAc-GlcNAc). Las hebras de estos azúcares repetitivos, que generalmente varían en tamaño desde 5 a 30 subunidades, están entrecruzadas entre sí por la presencia de péptidos madre que se unen a los residuos de MurNAc (NAM) como parte del proceso de ensamblaje. Durante décadas, los investigadores han intentado determinar la estructura de la solución del peptidoglicano, pero la complejidad y la ausencia de estructuras puras y discretas hicieron de este un esfuerzo difícil de alcanzar. Trabajo de Mobashery y colegas ha arrojado nueva luz sobre la estructura general del peptidoglicano de la pared celular, ya que estos investigadores sintetizaron un segmento de peptidoglicano puro que contenía un segmento de pared celular de tetrasacárido con el péptido troncal Gram positivo típico anclado a los residuos de NAM. Al determinar esta estructura por RMN, estos autores descubrieron que el peptidoglicano de la pared celular adquiere una hélice ordenada y diestra compuesta por tres pares NAG-NAM por giro de la hélice, que orienta los péptidos del tallo con una simetría triple alrededor del eje. Esta simetría permite que una sola hebra de peptidoglicano se reticule con tres hileras vecinas y, dependiendo de la extensión de la reticulación, también permite que estén presentes varios tamaños de poros dentro de la red de peptidoglicano. Un llamado patrón de panal generaría poros de ~ 70 cuando está completamente reticulado. Pared celular de *Staphylococcus aureus*, en la que los poros variaron de tamaño de 50 a 500. Este modelo también construiría peptidoglicanos fuera de la membrana celular y ortogonal, en lugar de ser paralelos a la membrana, como ha sido el dogma aceptado en las descripciones.

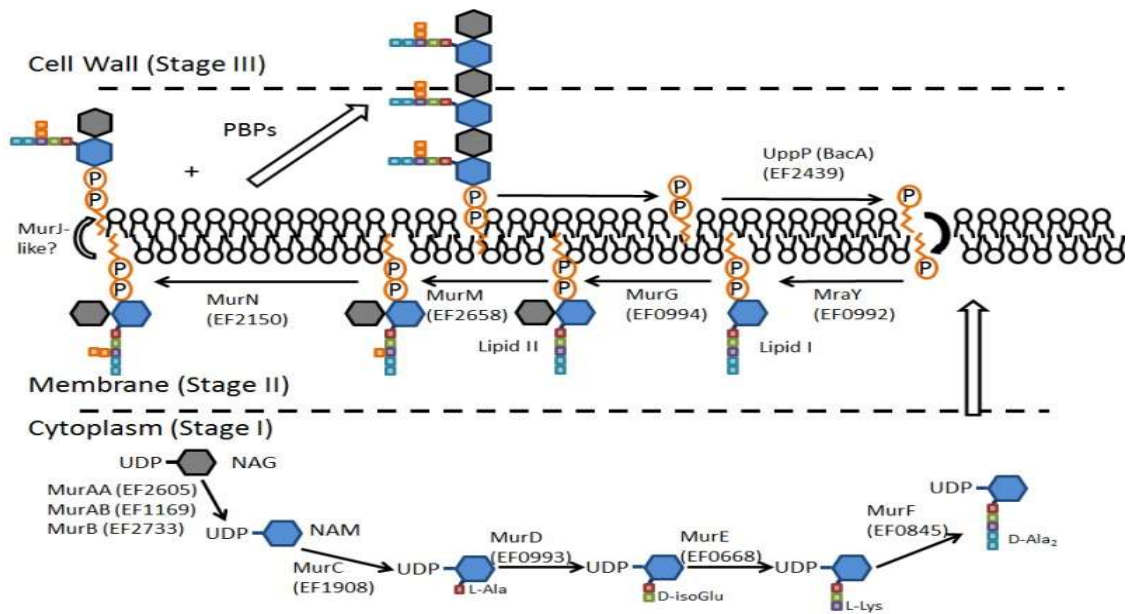
Los péptidos del tallo corto están conectados a los residuos de NAM a través de enlaces amida entre el grupo amino terminal del péptido del tallo L-alanina y el grupo carboxilo del resto D-lactilo de cada MurNAc, con el péptido del tallo compuesto de L- y D alternantes aminoácidos. Al igual que muchos Gram-positivos relacionados, el péptido del tallo enterocócico generalmente consiste en L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala. Estos péptidos troncales reticulan cadenas adyacentes con un puente interpeptídico del grupo ϵ -amino del residuo L-Lys en

la posición 3 al grupo carboxilo de D-Ala en la posición 4 de una cadena adyacente. Esta modificación covalente da como resultado la eliminación del residuo D-Ala terminal en la posición 5. Las diferencias globales en la estructura de peptidoglicanos de los organismos grampositivos se deben a la variación en la secuencia de aminoácidos que forma el puente interpeptídico que se conoce comúnmente como el puente cruzado. Para la mayoría de las especies del género *Enterococcus*, este puente cruzado se compone de un único residuo D-Asp. *E. faecalis* parece ser una excepción a este tema, ya que posee un puente cruzado de 2-3 residuos de L-Ala.

Biosíntesis

La síntesis de las paredes celulares por Gram-positivos se divide generalmente en etapas discretas que se basan principalmente en la compartimentación celular; a saber, etapa 1 = citoplasma, etapa 2 = membrana y etapa 3 = pared celular.

Figura N° 2 Biosíntesis de peptidoglicano



Fuente: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190431/figure/structures.F2/?report=objectonly

Etapa I

Los pasos iniciales de la biosíntesis de la pared celular implican la conversión de

la N-acetil glucosamina [UDP-NAG] derivada de UDP a UDP-NAM, que es catalizada por MurA y MurB, junto con el fosfoenol piruvato. En la reacción catalizada por MurA, UDP-NAG recibe enolpiruvato de PEP, y este intermedio es posteriormente reducido por MurB a un resto lactoilo en UDP-NAM. Recientemente se demostró que MurAA (y no MurAB) fue responsable de la resistencia intrínseca a las cefalosporinas en *E. faecalis*, pero la razón por la que existen dos homólogos de MurA sigue siendo un misterio. Después de la síntesis de UDP-NAM, la adición gradual de los primeros tres aminoácidos en el péptido troncal se logra mediante la acción concertada de las sintetetas MurC, MurD y MurE para producir UDP-NAM-L-Ala-D-isoGlu-L-Lys. Los dos aminoácidos finales (D-Ala-D-Ala) del tallo peptídico son agregados por la transferasa MurF para producir UDP-MurNac-L-Ala-D-isoGlu-L-Lys-D-Ala-D-Ala.

Etapas II

El movimiento del nucleótido de Park soluble a la membrana requiere el portador lipídico undecaprenol, y la transferencia del péptido madre UDP-NAM plus de UDP al portador isoprenoide C55 por la acción catalítica de MraY. Esta reacción de intercambio se produce en la cara interna o citoplásmica de la membrana celular para producir el lípido I (C55-PP-NAM-L-Ala-D-isoGlu-L-Lys-D-Ala-D-Ala). MurG luego cataliza la adición de UDP-NAG soluble al lípido I para generar el lípido II [C55-PP-NAM (-L-Ala-D-isoGlu-L-Lys-D-Ala-D-Ala) - β -1-4-NAG].

En *E. faecalis*, la adición de los péptidos de puente cruzado al lípido II también ocurre en la membrana citoplásmica, y se inicia por la transferencia de L-Ala de un ARNt cargado, al grupo épsilon-amino de la lisina en el péptido troncal por MurM. MurN luego cataliza la adición de L-Ala al precursor del Lípido II-L-Ala de una manera análoga a la observada en *Streptococcus pneumoniae*. Como el puente cruzado en otras especies enterocócicas, incluida *E. faecium*, posee D-isoAsp, estas especies dependen de una D-Asp racemase citoplásmica, con la incorporación de D-Asp a la lisina en el péptido del tallo por la actividad de la D-aspartil transferasa. Un grupo de dos genes de *E. faecium* codifica aspartato

racemasa (Rac fm) y ligasa (Asl fm) para la incorporación de D-Asp en la cadena lateral del precursor de peptidoglicano. La conversión a la forma isoAsp debe ocurrir después de la adición catalizada por Asl fm, ya que isoAsp no fue un sustrato para la enzima Asl fm. Aún no se ha determinado si esta reacción se produce de forma espontánea o está impulsada enzimáticamente.

Después de la adición del (los) péptido (s) de puente cruzado al lípido II, estos derivados deben transferirse por un mecanismo desconocido a la cara externa de la membrana, presumiblemente a través de una reacción de inyección de lípidos llevada a cabo por *E. coli* MviN (MurJ) en Bacterias gramnegativas, donde ahora se posiciona como un sustrato para el ensamblaje de PG.

Etapa III

La etapa final del ensamblaje ocurre en la cara externa de la membrana celular y es catalizada por proteínas de unión a la penicilina (PBP). Tras la eliminación del precursor de peptidoglicano del portador lipídico a través de una reacción de transglicosilación por parte de PBP en la cadena de peptidoglicano naciente, el undecaprenil pirofosfato (UPP) se devuelve a la forma de monofosfato por la acción de UppP (una fosfatasa). El monofosfato de undecaprenilo (UMP) atraviesa la membrana para volver a servir como un portador de lípidos para la síntesis de la pared celular.

Las PBP se pueden clasificar en función de su capacidad para polimerizar cadenas de glicano nacentes al precursor de disacáridos (transglicosilación) o la capacidad de reticulares péptidos de la pared entre las cadenas de glicano adyacentes (transpeptidación). La polimerización de PG en todas las eubacterias está catalizada por PBP unidas a membrana, y estas enzimas son dianas específicas para los antibióticos β -lactámicos.

Las PBP se divide en dos grupos: las PBP multimodulares de alta masa molecular (>60 kDa, HMM-PBPs) y las PBP monofuncionales de baja masa molecular (LMM-

PBPs). Los HMM-PBP se categoriza en función de su actividad funcional. Las HMM-PBP de clase A promueven tanto la polimerización de la cadena de glucano como la reticulación de los péptidos de la pared, mientras que las HMM-PBP de clase B poseen principalmente actividad transpeptidasa e incluir la baja afinidad PBP5 en *E. faecium* y *E. faecalis*, que son responsables del aumento de la resistencia a la ampicilina. Cabe señalar que la reacción de transglicosilación se puede llevar a cabo mediante glicosiltransferasas monofuncionales. Estas enzimas no se consideran PBP, pero pueden compartir similitud de secuencia con el dominio glicosiltransferasa de las PBP de clase A o, en algunos casos, pueden parecer una nueva clase de glicosiltransferasas.

Las nuevas cadenas de glicano se entrecruzan con las PG existentes en la pared mediante reacciones de transpeptidación. La reticulación depende de la disponibilidad de péptidos terminados en D-Ala-D-Ala. Como no todos los péptidos del tallo están entrecruzados con cadenas PG adyacentes, es probable que el grado de entrecruzamiento esté regulado por la acción de LMM-PBP que exhiben actividad carboxipeptidasa. Como fue observado por el trabajo estructural de la pared celular por Mobashery y colegas, se predice que la medida en que el peptidoglicano está totalmente entrecruzado confiere diferentes tamaños de poros a la red de trabajo del peptidoglicano. Las carboxipeptidasas son responsables de la eliminación del residuo D-Ala terminal del pentapéptido del tallo, lo que evita que el péptido resultante sirva como sustrato en otras reacciones de transpeptidación y por lo tanto, desempeñaría un papel en la regulación de la porosidad de la pared celular. Los *enterococos* poseen de cuatro a ocho HMM-PBP y generalmente una LMM-PBP. *E. faecalis* tiene tres PBPs de clase A y tres de clase B, así como una LMM-PBP. *E. faecium* y *E. hirae* tienen tres PBPs de clase A y tres de clase B, así como una LMM-PBP. Parece que hay redundancia funcional, ya que no todas las PBP parecen ser esenciales para el mantenimiento de la pared celular en un momento dado. La exposición a antibióticos puede seleccionar variantes que retengan la función de la pared celular al tiempo que reduce la afinidad por el medicamento. Por ejemplo, PBP3 es la PBP principal requerida para la división celular, pero está

inhibida por la cefotaxima. En ausencia de PBP3, PBPP5, una proteína PBP de baja afinidad, confiere resistencia a los antibióticos β -lactámicos. Consistentes con los roles superpuestos de las PBP múltiples en las reacciones de transglucidación y transpeptidación, las PBP de baja afinidad no son esenciales para la viabilidad celular en condiciones de laboratorio.

Proteínas asociadas a la pared celular

Además de la polimerización de las cadenas de glicano y la extensa reticulación de las cadenas a través de las reacciones de transpeptidación, la síntesis de la pared celular y el recambio están regulados por enzimas autolíticas, que se conocen como muramidasa. Estas enzimas se comportan de manera análoga a las lisozimas derivadas del huésped, ya que pueden dirigirse a los residuos NAG-NAM para la escisión. Shockman y col. (1960) fueron los primeros en describir este tipo de enzimas en *enterococos*. Más recientemente, se han descrito tres muramidasa (AtIA, AtIB y AtIC) para *E. faecalis*, mientras que dos muramidasa diferentes, M1 y M2, se han caracterizado en *E. hirae* ATCC9790. En *E. hirae*, la muramidasa-1 se produce como una proproteína latente de 130 kDa que se activa proteolíticamente a una forma de 87 kDa. M1 parece favorecer la rotación de las paredes celulares derivadas de *E. hirae*, en contraste con la muramidasa M2, que se destaca por una mayor actividad en las paredes celulares de *Micrococcus luteus*.

Se cree que la activación de AtIA por GelE es el mecanismo mediante el cual GelE contribuye a las biopelículas dependientes de ADNn, como la supresión de atIA resulta en defectos similares en la arquitectura de biopelículas como el observado para un mutante gelE. SprE puede dividir a AtIA, pero el mecanismo preciso por el cual estas dos proteasas compiten para regular la actividad de AtIA y la formación de biopelículas de manera dependiente de ADNp es aún desconocido. Las restantes autolisinas de *E. faecalis*, a AtIB y AtIC, son enzimas codificadas por profagos y no están presentes en todas las cepas de *E. faecalis*. El hecho de que estas proteínas estén codificadas por genes que residen en

elementos móviles conocidos probablemente explica la ausencia de correlación del fenotipo GelE con la longitud de la cadena celular.

Dinámica de la envoltura celular

Los *enterococos*, como otros organismos grampositivos relacionados, decoran su PG y membrana celular con una variedad de polisacáridos y proteínas. La mayoría de estos están directamente ligados a la pared celular PG a través de enlaces covalentes (polisacáridos, ácidos teicoicos y proteínas ancladas a la superficie), mientras que el ácido lipoteicoico y las lipoproteínas se anclan a los lípidos de la membrana mediante la unión covalente. Primero se describe las partes lipoproteínas y ácido lipoteicoico anclados en lípidos.

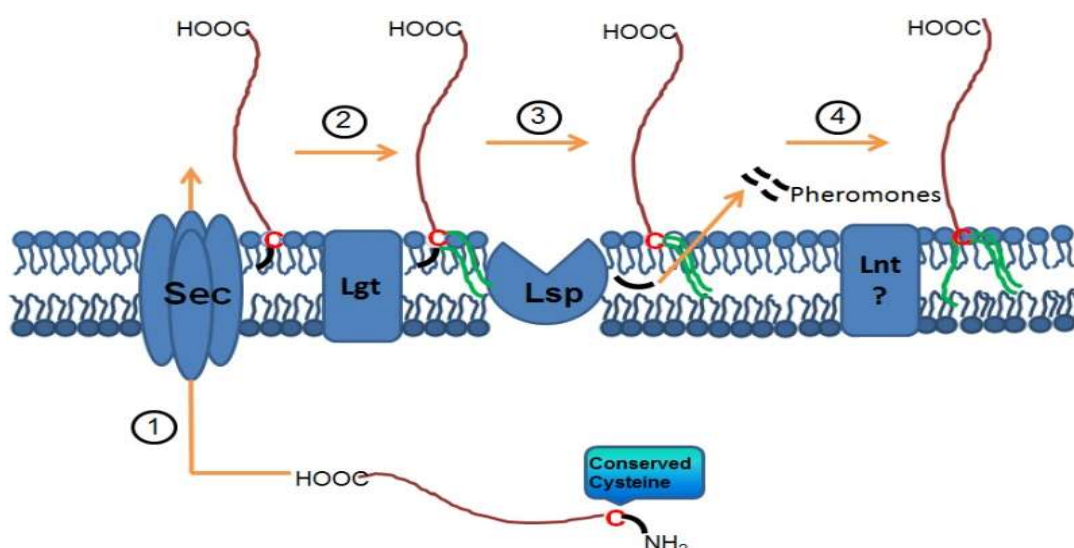
Lipoproteínas

La investigación sobre la biología de las lipoproteínas enterocócicas aún se encuentra en una etapa temprana de desarrollo. La comprensión de que las feromonas peptídicas utilizadas en los sistemas de apareamiento de plásmidos conyugales se derivan de secuencias señal de lipoproteínas también ha despertado el interés en comprender su función biológica. Se sabe que las lipoproteínas en las bacterias grampositivas capturan y facilitan el transporte dentro de la célula de moléculas pequeñas, como el hierro unido al hemo y el manganeso. Los genes que codifican las lipoproteínas a menudo están organizados genéticamente con los que codifican los transportadores ABC.

La lipoproteína que se ancla a la lámina externa de la membrana celular se logra mediante la adición covalente de diacilglicérido al residuo de cisteína conservado en el péptido señal de la lipoproteína, y sigue la secreción de proteínas a través de la membrana citoplásmica por la vía Sec o Tat. Después de la translocación, se cree que la biogénesis de las lipoproteínas en bacterias grampositivas requiere dos pasos. El primer paso es catalizado por Lgt (EF1748), una prolipoproteína diacilgliceril transferasa que transfiere un resto diacilglicerilo de

un glicerofosfolípido al grupo tiol de la cisteína conservada. En el segundo paso, el péptido señal se escinde por la señal peptidasa tipo II, Lsp (EF1723) en el residuo de cisteína conservado en el lipobox.

Figura N° 3 Esquema de la síntesis de lipoproteínas en bacterias Gram positivas



Fuente: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190431/figure/structures.F3/?report=objectonly

En las bacterias grampositivas, se piensa que las lipoproteínas funcionan dentro de una región subcelular definida por la membrana plasmática y la PG, y pueden considerarse equivalentes funcionales de proteínas periplásmicas de bacterias gramnegativas. La evidencia de un periplasma bacteriano en bacterias Gram-positivas parece estar ganando popularidad con los avances recientes en las técnicas de microscopía electrónica. Las lipoproteínas se ubicarían en este espacio definido para facilitar la captura de nutrientes importados, como el hierro, o para localizar enzimas detoxificantes, como la β -lactamasa, en estafilococos y *enterococos*.

Lo que se desprende de los estudios en bacterias grampositivas relacionadas es que las enzimas responsables de la biogénesis de las lipoproteínas no son esenciales para la viabilidad celular, sino que contribuyen a la patogénesis en los modelos de enfermedad construyó recientemente un mutante por delección de *E. faecalis lgt* (ef1748), y este mutante mostró un fenotipo atenuado en un

modelo de infección por *Galleria mellonella*, que es consistente con un papel importante para las lipoproteínas en la patogenia de la infección. El estudio de la biología de las lipoproteínas en los *enterococos* continuará siendo un área de investigación interesante en los próximos años.

Ácido lipoteicoico

A principios de la década de 1930, Rebecca Lancefield desarrolló un esquema de tipificación serológica para identificar y tipificar las especies de estreptococos conocidas que son importantes en la infección humana. De acuerdo con el esquema de tipificación de Lancefield, los *enterococos* se clasificaron como estreptococos del grupo D, junto con *Streptococcus bovis*, según su estructura de ácido lipoteicoico (LTA). Más recientemente, Theilacker et al, resolvió la estructura de RMN del LTA de *E. faecalis* 12030. La estructura consiste en un polímero de ácido teicoico fosfato de glicerol con sustituciones kojibiosas (disacárido de 1, 2 enlaces de glucosa), con decoraciones de D-alanilación intercaladas a lo largo de la columna vertebral del polímero de glicerol. La LTA está anclada a la membrana lipídica por las enzimas BgsA y BgsB. Estas etapas catalizadas producen el precursor de LTA diglucosil-diacilglicerol o diglicérido 1-kojibiosil, en el que se ancla el políglicerol fosfato en crecimiento. El enlace de los ácidos lipoteicoicos a la membrana celular contrasta con la unión de los ácidos teicoicos de la pared celular, que se producen a través de los residuos de ácido N-acetil murámico en la PG.

El trabajo del laboratorio de Schneewind ha identificado a LtaS como la enzima polimerizante clave en la biosíntesis de LTA. La razón detrás de esta identificación se centró en seleccionar una biblioteca genómica de *S. aureus* clonada en *E. coli* para la producción de LTA, ya que este polímero no existe en gramnegativos. Además, dado que la LTA es esencial en Gram-positivos, los autores mostraron que la expresión inducible de LtaS dio lugar a la viabilidad, mientras que las células agotadas de LtaS no crecieron.

Modificaciones de LTA: Glicosilación y D-alanilación

Se cree que el papel de la D-alanilación del LTA desempeña un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis catiónica, particularmente con el magnesio, así como en la modulación de las actividades autolíticas en la célula. Se ha demostrado que la D-alanilación de LTA afecta la tasa de autólisis en *B. subtilis*, sensibilidad ácida en *S. mutans* y coagregaciones intragenericas en *S. ordonii* DL1 (Challis). En *E. faecalis*, la eliminación de *dltA* da lugar a una mayor sensibilidad a los péptidos catiónicos (polimixina B y nisina), así como a la disminución de la producción de biopelículas, con defectos en la adhesión a las células eucariotas.

Los estudios de microscopía crioelectrónica que utilizan LTA marcada en *B. subtilis* sugieren que la LTA es un componente importante del "espacio periplásmico" de las células grampositivas y puede de hecho constituir el límite periplásmico de la célula, lo que da mayor credibilidad a su importante papel en la función celular. Un elemento que este modelo no explica es la forma en que el LTA puede servir como un antígeno de superficie principal en los serotipos A y B de *E. faecalis*, y ser aglutinado por el antisuero específico de LTA en la superficie de la célula, pero aún conservan propiedades subcelulares consistentes con un papel en el marcado del límite periplásmico. Se necesita un estudio adicional para abordar esta hipótesis desafiante sobre el papel de LTA en la célula.

Ácidos teicoicos de la pared celular

Los ácidos teicoicos de la pared celular de las bacterias grampositivas confieren una carga superficial aniónica similar a la pared celular que las impuestas por el ácido lipoteicoico. Estos polímeros de ácido teicoico (WTA) de pared consisten en unidades repetitivas de glicerolfosfato o ribitolfosfato, que están sustituidas por glicosilación y D-alanilación, como es el caso del esqueleto LTA. Las cadenas de LTA y WTA se sintetizan generalmente por sistemas enzimáticos separados. El LTA utiliza glicerol 1-fosfato (fosfatidilglicerol) derivado de sustratos lipídicos y

cuya síntesis, por lo tanto, es probable que ocurra en la capa externa de la membrana citoplásmica. Esto es consistente con las predicciones de topología de membrana para LtaS unida a membrana. En contraste, WTA utiliza glicerol 3-fosfato o ribitol fosfato derivado de CDP-glicerol o CDP-ribitol y azúcares activados por nucleótidos para su biosíntesis y probablemente ocurra en el citoplasma, donde se debe transportar a las paredes a través de transportadores de membrana finalmente enlazado covalentemente a los residuos de NAM en el PG. Las estructuras de RMN para ácidos teicoicos de pared purificada se han dilucidado recientemente tanto para *E. faecium* como para *E. faecalis*. El *E. faecium* WTA se compone de un polímero repetido de fosfato de glicerol con dos moléculas de N-acetil galactosamina. En contraste, la WTA de *E. faecalis* tenía una estructura más compleja que contenía glucosa, galactosa, N-acetil galactosamina, N-acetil glucosamina y fosfato de ribitol. La genética subyacente para estas dos estructuras no se conoce en la actualidad. Los operones biosintéticos WTA bien conservados de *Bacillus* y *Staphylococcus* parecen estar presentes solo en parte en las especies enterocócicas; ya sea eso, o sus funciones están codificadas en vías genéticas de polímeros de la pared celular separadas (es decir, genes epa).

Antígeno de polisacárido enterocócico (Epa)

El locus del gen del antígeno polisacárido (o epa); este locus se definió más tarde como un grupo de 18 genes que se extiende desde epaA a epaR. En la virulencia y en los fenotipos asociados a la virulencia. El grupo epa contiene genes que se predice que codifican proteínas involucradas en la síntesis de precursores de nucleótidos de azúcar, formación y polimerización de unidades repetitivas y su exportación a la superficie celular. El análisis del polisacárido Epa purificado de *E. faecalis* OG1RF demostró que está compuesto por glucosa, ramnosa, N-acetil glucosamina, N-acetil galactosamina y galactosa, y la interrupción de epaA, epaB, epaE, epaM o epaN resultaron en un cambio en este contenido de polisacárido Epa. Un análisis adicional del polisacárido producido por el mutante epaB reveló el reemplazo de ramnosa con manosa en la composición de azúcar general, lo

que sugiere que las glicosil transferasas codificadas por el operón epaBCD contribuyen a la incorporación de ramnosa en el polisacárido Epa. El mismo estudio también informó que todas estas mutaciones de Epa dieron como resultado una forma de célula más redonda, en comparación con las células de forma más ovalada de OG1RF de tipo salvaje, lo que sugiere que las alteraciones en el polisacárido de Epa afectan la estructura o integridad de la envoltura celular. Se desconoce la estructura de Epa o su ubicación y mecanismo de unión a la pared celular, pero se ha sugerido que este polisacárido puede estar inmerso dentro de la envoltura celular.

Proteínas ancladas en la pared celular

La envoltura celular de las bacterias grampositivas contiene una gran cantidad de proteínas que, después de la secreción a través de la membrana celular, se adhieren a la pared celular y luego se muestran hacia el entorno externo. Las proteínas ancladas en la pared celular (CWA) son una clase importante de estas proteínas, que contienen LPXTG C-terminal o motivos similares a LPXTG. Estos motivos son reconocidos por las enzimas transpeptidasas unidas a la membrana, llamadas sortasas, que son responsables del anclaje covalente de las proteínas CWA a la pared celular y de la polimerización de las proteínas de la subunidad del pilus. Las estructuras de varias bacterias Gram-positivas han revelado estructuras similares con una secuencia TLXTC conservada en sus sitios activos, además de otros residuos conservados que son necesarios para la actividad de la sortasa. Los análisis de genomas bacterianos han revelado una gran cantidad de sortasis que representan a casi todas las bacterias grampositivas. Sobre la base de sus similitudes de secuencia, los motivos de escisión del sustrato y las moléculas diana a las que se enlazan los sustratos de la proteína CWA, las sortasas se han dividido en cuatro categorías estructurales diferentes, que se designan como clases AD. Las sortasas de clase A denominada sortases de limpieza; anclan covalentemente la mayoría de la multitud de proteínas CWA bacterianas grampositivas de esta clase al peptidoglicano de la pared celular. Las sortasas de clase B se han encontrado en un número más limitado de géneros grampositivos, como *Staphylococcus*, *Bacillus*

y *Listeria*, pero no se han reportado en *enterococos*. Estas sortasas catalizan el anclaje de la pared celular de las proteínas involucradas en la eliminación del hierro hemo del ambiente exterior, y reconocen un motivo C-terminal claramente diferente, NP (Q/K) TN. Las sortasas de clase C también se conocen como sortasas específicas de pilina; pueden reconocer una variedad de motivos similares a LPXTG [(I/L) (P/A) XTG] y dirigir el entrecruzamiento de proteínas de la subunidad de pilus en una estructura fibrosa polimerizada. A diferencia de las sortasas domésticas, los genes que codifican para las pilinasas se suelen ubicar al lado o dentro de grupos de genes estructurales de pilina, a menudo en elementos adquiridos. En algunos casos, incluso en estreptococos y corinebacterias, se han encontrado varias sortasas de clase C como parte del mismo grupo de genes de pilus. También hay informes de varios grupos de genes pilus en una sola cepa: por ejemplo, hay cinco sortasas de clase C de *E. faecium* TX16, cuatro de los cuales están ubicados en cuatro grupos de genes pilus separados y uno está ubicado en otro lugar en el cromosoma (Sillanpää, et al., 2008). El cuarto grupo, que consiste en sortasas clase D, participa en el reconocimiento y anclaje de un conjunto específico de motivos de clasificación (LPNTA) durante la formación de esporas en *Bacillus spp.*

Tras la síntesis de una forma precursora de una proteína CWA en el citoplasma, su transporte a través de la membrana celular a través de la maquinaria Sec se guía por una secuencia de señal N-terminal, que se elimina mediante una peptidasa señal de tipo I durante la translocación. El extremo C-terminal de una proteína CWA contiene un dominio tripartito CWA, que consiste en un motivo similar a LPXTG o similar a LPXTG, un dominio transmembrana hidrófobo y un tramo corto de residuos cargados positivamente.

MSCRAMM (Componentes microbianos de la superficie que reconocen las moléculas de la matriz adhesiva)

Ace (un dhesin a colágeno de *E. faecalis*) fue el primer componente de la superficie microbiana que reconoció las moléculas de la matriz adhesiva (MSCRAMM) adhesina identificada en *enterococos*. Su papel en la patogenia se

discute en Patogénesis y modelos de infección enterocócica. Similar a varios MSCRAMM estafilocócicos, Ace contiene un motivo LPXTG, con un péptido señal N-terminal seguido de un segmento no repetitivo, llamado dominio A, y un número variable (2.4 a 5.4) de repeticiones de secuencia, que se conocen como las repeticiones B. El dominio A de Ace tiene una similitud del 46% con la región correspondiente del CNA de *S. aureus* MSCRAMM. Los estudios de unión con ELISA y espectroscopía de resonancia de plasmón superficial (SPR) mostraron que una versión recombinante con etiqueta His 6 del dominio Ace A se unía a múltiples regiones en el colágeno tipo I, aunque con una cinética claramente diferente a la del dominio A que se une al colágeno Cna. En contraste con Cna, el dominio rAce A también mostró una unión dependiente de la concentración y saturable al colágeno tipo IV y laminina. El análisis de la estructura cristalina de este dominio A de unión a ligando de Ace reveló dos subdominios de tamaño similar, N1 y N2, los cuales adoptan el pliegue DEv-IgG (DE variante-IgG), previamente encontrado en MSCRAMM estafilocócicos, con la supuesta superficie de unión a colágeno en la interfaz entre los dos subdominios. (41)

Factores de Virulencia

Entre los diferentes determinantes patogénicos en *enterococos* estudiados destacan la citolisina, gelatinasa, serin-proteasa, y las proteínas G1s24, las cuales han sido identificadas en *E. faecalis*.

En *E. faecium*, un gen hialuronidasa-like se ha sido localizado en un plásmido de virulencia que ha sido altamente relacionado con aislamientos de cepas clínicas versus colonizadores comensales (42).

Una proteína codificada genéticamente con un plásmido con un dominio hialuronidasa (hylEfm) se ha postulado como uno de los factores de virulencia más importantes para *E. faecium*. El gen está presente dentro de un grupo de genes que codifican para proteínas supuestamente involucradas en el metabolismo del azúcar. (42)

La hemolisina-citolisina es una toxina bacteriana frecuentemente codificada por plásmidos respondedores a feromonas capaces de lisar células eucariotas (y procariotas) que ha demostrado su contribución como factor de virulencia de *E. faecalis* (43). Sin embargo, la presencia de hemolisina no parece influir en la mortalidad, ni de manera aislada ni en combinación con otros factores de virulencia, entre los pacientes con bacteriemia por *E. faecalis* (44).

La gelatinasa y la serin-proteasa son enzimas bacterianas que pueden contribuir como factor de virulencia de *E. faecalis* a través de diferentes mecanismos que pueden incluir, entre otros:

- Facilitar la invasión microbiana tras la alteración de las inmunoglobulinas o moléculas del complemento (45).
- Procesar factores de virulencia que regulan la autólisis y liberan ADN extracelular de alto peso molecular, un componente crítico para el desarrollo de biopelículas de *E. faecalis* (46).
- Producir la degradación de los tejidos conectivos del huésped exponiendo los ligandos para facilitar la relación bacteriana y así proveer nutrientes a la célula.

La expresión de la gelatinasa y la serin-proteasa está regulada por el sistema *fsr*, compuesto por dos componentes que actúan como un regulador global de la expresión de un número de genes en *E. faecalis* (47, 48).

El sistema quorum sensing hace referencia al término inglés que designa el fenómeno mediante el cual la acumulación de unas moléculas con función señalizadora permite a una bacteria “percibir” el número de bacterias de determinadas especies que se encuentran en el medio (la densidad poblacional) y cuándo ha alcanzado dicha densidad un valor crítico para que respondan de una manera establecida genéticamente. Sin embargo, la presencia de gelatinasa no parece influir en la mortalidad, ni de manera aislada ni en combinación con otros factores de virulencia, entre los pacientes con bacteriemia por *E. faecalis* (44).

Gls24 es una proteína general de estrés que ha demostrado ser importante en la virulencia de *E. faecalis*. Aunque su función no está del todo determinada, Gls24 está asociada con la resistencia de *E. faecalis* a las sales biliares (49).

Los componentes de la superficie celular son factores de virulencia bacterianos importantes porque suelen ser las primeras moléculas en interaccionar con el tejido del huésped o del sistema inmunológico. La sustancia de agregación (AS) es la descripción que se usa para denominar un grupo de proteínas de superficie codificadas por plásmidos conjugativos inducibles por feromonas. La AS promueve la conjugación direccionando la agregación bacteriana. Las proteínas AS aumentan la adherencia e internalización de los *enterococos* dentro de diversas células eucariotas (fagocitos, células renales, intestinales y epiteliales) e intensifican la adherencia a las proteínas de la matriz extracelular como la fibrina, fibronectina, trombospondina, vitronectina y colágeno tipo I. Este proceso es de vital importancia de cara a la transferencia de plásmidos facilitando tanto la colonización como la infección por *enterococos* (50).

1. Citolisina o Hemolisina

La citolisina es una enzima de *E. faecalis* capaz de destruir células de eucariotes y procariotes, así como a los eritrocitos de humano y de animales como el caballo, la vaca y el conejo. Se considera que dicha sustancia desempeña un papel durante la primera fase de la infección por *enterococos* la cual, aun cuando es asintomático, implica la penetración bacteriana en los tejidos intestinales humanos, así como una toxemia y cierto daño tisular que antecede a la segunda fase, en la que ocurre la manifestación de los principales síntomas. (51)

La citolisina desempeña relevantes funciones patogénicas: actúa como toxina, provocando la ruptura del sistema membranoso de los glóbulos rojos y de diversas células humanas. Los mecanismos implicados en el daño tisular son desconocidos, pero es probable que esta proteína induzca la liberación de mediadores inflamatorios a partir del tejido dañado o de las células fagocitarias

y de esta manera contribuya a la severidad del proceso inflamatorio. (52, 53)

2. Sustancia de agregación (AS)

Esta sustancia tiene un papel decisivo en la patogenia; esta es una proteína superficial, cuya presencia incrementa la adherencia e internalización enterocócica en los macrófagos, interaccionan con las integrinas CD11b, CD18 y CR3, presentes en otras células de defensa del humano. (53, 54)

En general, las principales funciones que desempeña la sustancia de agregación AS, son las siguientes:

- Potenciación de la conjugación de plásmidos.
- Adhesión a los tejidos del hospedero.
- Internalización y la supervivencia en los fagocitos.

Potenciación de la conjugación de plásmidos

Una de las características importantes del género *Enterococcus* es la eficacia que lleva a cabo la conjugación plasmídica; el proceso inicia cuando un clon que actúa como potencial receptor libera al medio ciertos péptidos, denominados feromonas, que promueven la aproximación de *enterococos* hacia ella y la secuencial transferencia de diversos plásmidos provenientes de las células bacterianas capaces de actuar como donadoras. (53, 55)

Adhesión a los tejidos del hospedero

Este es un factor de importancia por su capacidad de adhesión, para que se produzca la colonización de la bacteria. Requiere de la presencia de estructuras de la pared bacteriana denominadas adhesinas que es el primer paso en la producción de la infección, le permite unirse a receptores específicos de las células epiteliales, es de naturaleza peptídica, ya que se encuentran en unas

estructuras llamadas pilis o fimbrias que realizan la adhesión a unos receptores de membrana y la infección resultará si los microorganismos son llevados a sitios donde los mecanismos defensivos del huésped no los eliminen. (53, 55)

Promoción de la internalización y la supervivencia en los fagocitos

En las numerosas infecciones endógenas debidas a *enterococos*, es determinante el papel de los macrófagos, los cuales suelen actuar como vehículos responsables de la translocación del microorganismo, desde el intestino hasta el sistema linfático o el torrente circulatorio del individuo involucrado. (52)

3. Gelatinasa

Es una enzima capaz de degradar a la gelatina, caseína, hemoglobina y a ciertos péptidos bioactivos, incluidas las feromonas quimiotácticas de *E. faecalis*, las cuales promueven la llegada de neutrófilos a los tejidos colonizados por el microorganismo; una de las posibles funciones de esta proteasa podría consistir en modificar, junto con las feromonas quimiotácticas, la defensa del hospedero, induciendo alternativamente la ausencia o la acumulación de leucocitos en los tejidos colonizados. (56)

4. Proteína de superficie de *enterococos*

La proteína de superficie extracelular de *enterococos*, es una adhesina que se describió inicialmente en *E. faecalis* MMH594, una cepa muy virulenta y resistente a la gentamicina. (54)

5. Carbohidratos de la pared celular y polisacáridos capsulares

Son componentes de las cápsulas bacterianas que juegan un papel importante en la patogenia de las enfermedades infecciosas, debido a su complejidad y a su capacidad para conferir resistencia a la fagocitosis pueden intervenir en los

procesos de evasión del sistema inmunitario del hospedador. (54)

Por último, diversos estudios *in vitro* han demostrado que las adhesinas enterocóccicas más destacadas corresponden a proteínas, ácidos lipoteicoicos de la pared celular y uno o más carbohidratos superficiales. Cuando el microorganismo ya ha realizado el proceso de adherencia, puede invadir otras regiones e ingresar al sistema linfático o a la circulación sanguínea, lo que provoca diversas alteraciones patológicas, muchas de estas inician con severas respuestas inflamatorias, e inclusive, con la participación de enzimas y toxinas enterocóccicas. (52, 56)

2.1.2.3. Patogenia

Los *enterococos* forman parte de la microbiota normal endógena humana y manifiestan un bajo potencial patogénico en el huésped normal. Esta situación puede cambiar ante determinados factores de riesgo en el huésped como: (57)

- Paciente anciano.
- Uso previo de antibióticos.
- Pacientes sometidos a procedimientos o uso de dispositivos invasivos.
- Presencia de co-morbilidad: (neoplasias, hemopatías malignas, SIDA).
- Pacientes sometidos a transplantes, uso de quimioterapia, dializado etc.

Su espectacular aparición como causa de infección nosocomial o infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) se debe a su resistencia a los antibióticos de empleo habitual en la práctica clínica hospitalaria. Aparte de los genes de resistencia a antibióticos, se han descrito unos pocos factores clásicos de virulencia entre los *enterococos*. Los factores que promueven la adhesión, como la proteína de superficie Eps, dan cuenta probablemente de la propensión de este organismo a producir endocarditis e infecciones del tracto urinario (ITU). La capacidad para formar biofilms probablemente facilita la colonización de los catéteres urinarios y vasculares. Muchos aislados de *enterococos* producen

también una citolisina que actúa en un amplio rango de células huésped y se libera a una alta densidad bacteriana en un proceso denominado quorum sensing (acción por mayoría). La citolisina contribuye a la virulencia en modelos experimentales de endocarditis, peritonitis y endoftalmitis. Se han planteado otros factores de virulencia, entre ellos la sustancia agregadora, la gelatinasa y el superóxido extracelular. (58)

2.1.2.4. Enfermedades clínicas por *Enterococcus* y patología asociada

A pesar de ser *Enterococcus* reconocido como habitante normal de tracto gastrointestinal, es también reconocido su papel patógeno en algunas patologías específicas y productor de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS).

1. Endocarditis

Los *Enterococos* pueden estar implicados en infecciones graves, las más importantes son endocarditis y bacteriemia. En Norte América el género *Enterococcus* está situado en el cuarto lugar (10,2%) y el quinto en Europa (7,2%) en lo que se refiere a patógeno causante de bacteriemia según el programa de vigilancia antimicrobiana (59).

Generalmente producen endocarditis del lado izquierdo del músculo cardíaco, donde la válvula mitral es más afectada que la aórtica (60). La infección se puede generar tanto en las válvulas nativas como en las prostéticas. Los pacientes afectados son predominantemente hombres con un promedio de edad entre 50 y 60 años. En las mujeres la endocarditis enterocócica se presenta durante la edad fértil, incluso durante el embarazo; estas infecciones se originarían al parecer en el tracto genitourinario (TGU) y el tracto gastrointestinal (TGI) (61). Si bien *E. faecalis* es la especie más comúnmente aislada, también se han reportado casos de endocarditis infecciosa por *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans* y *E. raffinosus* (62).

2. Infección del tracto urinario (ITU)

Las infecciones enterocócica del tracto urinario tienen una baja mortalidad y morbilidad, sin embargo, incrementan considerablemente la estadía y los costos de hospitalización. Las ITU complicadas y no tratadas adecuadamente generan pielonefritis y abscesos perinefríticos desencadenado a su vez bacteriemias más severas (63).

Los pacientes (principalmente hombres adultos) que han tenido cateterización urinaria o algún tipo de instrumentación, enfermedades del tracto urinario, o recibieron deficiente tratamiento con antibióticos son los principalmente afectados (64).

3. Bacteriemias

El incremento de bacteriemias se presenta en pacientes hospitalizados por períodos muy prolongados. Actualmente los *enterococos* son terceros como agentes causantes de bacteriemias nosocomiales en Estados Unidos, por su parte las cepas EVR han producido 25% de las infecciones en las unidades de cuidado intensivo (UCI). Las bacteriemias provienen de infecciones del tracto urinario y del TGI, pero también se asocian con cateterización uretral, dispositivos intravasculares, cirugías recientes, quemaduras, y terapia antimicrobiana previa, mientras que las infecciones de tejidos blandos pueden ser la fuente de las bacteriemias. Los pacientes con un riesgo particular de bacteriemia causada por ERV son aquellos que están recibiendo hemodiálisis y los receptores de cortico-esteroides, de agentes anti-neoplásicos o de nutrición parenteral. Por otra parte, las bacteriemias secundarias ocurren principalmente en procedimientos ginecológicos e infecciones de heridas quirúrgicas (65) (66).

4. Infecciones intraabdominales y pélvicas

Los *enterococos* son raramente aislados de las infecciones postquirúrgicas

derivadas de un trauma abdominal penetrante, pero cuando están presentes se encuentran asociadas a otros microorganismos Gram negativos y anaerobios. Su rol en estas infecciones es aún muy controvertido, pero a pesar de este amplio debate se ha demostrado que pueden contribuir en la producción de abscesos y sepsis, y cuando se produce una bacteriemia enterocócica desde un foco intraabdominal la mortalidad es alta. Además, se ha reportado que los *enterococos* son capaces de producir peritonitis espontánea y empieza en pacientes cirróticos o que presenten falla renal. Cuando las infecciones intraabdominales son ocasionadas por cepas EVR en los pacientes sometidos a trasplante desencadena un serio problema de salud (65).

5. Otras infecciones enterocócicas

Raramente se reportan a los *enterococos* como únicos causantes de infecciones en la piel y tejidos blandos. Sin embargo, se observan frecuentemente en infecciones mixtas de heridas post quirúrgicas, úlceras de pie diabético, y quemaduras. Son responsables de las infecciones del sitio quirúrgico; en infecciones de piel y tejidos blandos han sido identificadas como la fuente de las bacteriemias enterocócicas (67).

Se observan con mayor frecuencia asociadas a infecciones pediátricas, bacteriemias neonatales y sepsis. Los *enterococos* son responsables de los casos de sepsis neonatal y raramente se reportan casos de meningitis. Otras infecciones no frecuentes incluyen las endoftalmitis endógenas o la otitis media con efusión. Los *enterococos* están raramente implicados en las infecciones del tracto respiratorio inferior.

2.1.2.5. Epidemiología de la infección por *Enterococcus* EVR

Entre los *enterococos*, *E. faecalis* es la causa más común de infecciones, pero *E. faecium* es intrínsecamente más resistente a los antibióticos, con más de la mitad de los aislamientos nosocomiales en los EE.UU, que expresan resistencia

a la ampicilina y vancomicina y frente a los aminoglucósidos.

En todo el mundo, las tasas de VRE se encuentran en su nivel alto en América del Norte. De acuerdo con la National Health-care Safety Network (NHSN), entre 2009 y 2010, el 35.5% de las infecciones por *enterococos* en hospitales asociados fueron resistentes a la vancomicina, y se ubicó como la segunda causa más común de infecciones nosocomiales en los EE.UU. En contraste, Canadá tiene una prevalencia más baja de VRE; según Canward, el 6% de los *enterococos* en Canadá fueron resistentes a la vancomicina entre 2007 y 2011. (68)

2.1.2.6. Respuesta inmune a la infección

El organismo responde a la agresión de los patógenos por diferentes mecanismos:

Inmunidad Innata

Los macrófagos y las células dendríticas son centinelas que nivel de la piel y de las mucosas cumplen la función de vigilancia sobre la llegada de microorganismos patógenos para iniciar un proceso de defensa innata e inducir la adquirida. Por medio de receptores para el complemento y para las inmunoglobulinas, reconocen a los patógenos e inician su captura, fagocitosis y destrucción, así como la presentación de los antígenos que de ellos extraen a los linfocitos T y B para que inicie la respuesta adquirida.

Inmunidad adquirida

La respuesta humoral o por anticuerpos juega un papel importante en la defensa contra agentes extracelulares. Las diferentes clases de inmunoglobulinas protegen los distintos compartimentos del organismo. Así la IgM actúa esencialmente en el intravascular, en tanto que la IgG en los tejidos, y la IgA a nivel de las mucosas y en las secreciones. La IgA, que es transportada

activamente a través de epitelios, constituye una protección fuera de organismo porque evitan la adherencia del microorganismo o de sus toxinas a sus mucosas. Cada patógeno y aun cada forma del ciclo de algunos de ellos inducen una respuesta diferente. (69, 70)

Los prebióticos pueden modular el sistema inmunológico, confiriendo efectos beneficiosos al huésped. Se ha demostrado que *Enterococcus faecalis* CECT7121 se implanta y persiste en el tracto gastrointestinal, mejora y desvía el perfil de las citoquinas hacia el fenotipo Th1 en varios modelos biológicos. Dada la importancia de las células dendríticas (DC) en la orquestación de la inmunidad. Se determinó la influencia de *E. faecalis* CECT7121 en DCs y el resultado de las respuestas inmunes. Se muestra que *E. faecalis* CECT7121 induce una fuerte activación dependiente de la dosis de las DC y la secreción de altos niveles de IL-12, IL-6, TNF α e IL-10. Esta estimulación depende de la señalización de TLR y sesga la activación de las células T hacia la producción de IFN γ . La influencia de esta activación en el establecimiento de respuestas Th in vivo muestra la acumulación de células productoras de IFN γ específicas. Estos hallazgos indican que la activación ejercida por *E. faecalis* CECT7121 de *faecalis* en DC y su consecuencia en la respuesta inmune adaptativa celular puede tener amplias implicaciones terapéuticas en la inmunomodulación. (71)

2.1.2.7. Antimicrobianos

Se denomina agente antimicrobiano a la sustancia producida por microorganismos o sintetizada químicamente, que es capaz de inhibir, e incluso, destruir microorganismos sin producir efectos tóxicos en el huésped. Entre los antimicrobianos que se utilizan en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana se encuentran:

1. Glucopéptidos

Los glucopéptidos inhiben la síntesis de la pared celular al unirse a los

precursores pentapeptídicos del peptidoglicano, de forma que la pared bacteriana pierde su integridad estructural ejerciendo su poder bactericida. Los fármacos que se encuentran en este grupo son: vancomicina y teicoplanina.

2. β -lactámicos

Inhiben la proliferación bacteriana por interferencia con la reacción de transpeptidación en las síntesis de la pared celular, una capa externa rígida exclusiva de las bacterias, que rodea por completo a la membrana citoplásmica mantiene la forma e integridad de la célula e impide su lisis por una presión osmótica alta. La pared celular está constituida por un polímero complejo de polisacáridos y polipéptidos con enlaces cruzados, el péptido glucano (mureína, mucopéptido). El polisacárido contiene azúcares aminados alternantes, N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. Un péptido de cinco aminoácidos está enlazado con el azúcar ácido N-acetilmurámico, que termina en o-alanil-o-alanina. La proteína de unión de penicilina (PBP, una enzima) retira la alanina lateral en el proceso de formación del enlace cruzado con un péptido cercano. Los enlaces cruzados dan a la pared celular su rigidez estructural. Los antibióticos lactámicos, análogos estructurales del sustrato de D-Ala-D-Ala natural se unen covalentemente al sitio activo de PBP, lo que inhibe la reacción de transpeptidación y detiene la síntesis de peptidoglucanos, y la célula muere. No se conoce por completo el mecanismo exacto de la muerte celular, pero participan las autolisinas y la alteración de la morfogénesis de la pared celular. Los antibióticos lactámicos eliminan las células bacterianas sólo cuando se encuentran en proceso de crecimiento activo y síntesis de pared celular.

3. Aminoglucósidos

Deben su denominación a todos aquellos que contienen un anillo amino cíclico unido por enlaces glucosídicos a dos o más azúcares (generalmente aminoazúcares). En el citoplasma bacteriano los aminoglucósidos se unen a los ribosomas bacterianos en la subunidad 30s (algunos también a la subunidad 50s)

e interfieren en la síntesis proteica bacteriana al alterar la lectura del ARNm.

Se clasifican en dos grupos:

- Sintetizados por actinomicetos: estreptomicina, gentamicina, tobramicina, neomicina, kanamicina.
- Semisintéticos: amikacina, metilmicina

4. Macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLS)

Los macrólidos son agentes bacteriostáticos que inhiben la síntesis de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano e impiden la translocación. Constituyen un grupo de compuestos muy relacionados, caracterizados por un anillo macrocíclico de lactona (por lo general constituido por 14 a 16 átomos) al que se unen desoxiazúcares. El fármaco prototipo, la eritromicina, formado por dos moléculas de azúcar unidas al anillo de 14 átomos de lactona, se obtuvo en 1952 a partir de *Streptomyces erythreus*. La daritromicina y la azitromicina son derivados semisintéticos de la eritromicina.

En ocasiones, dependiendo del tipo de microorganismo, del tamaño del inóculo, las concentraciones alcanzadas o el tiempo de exposición, pueden producir un efecto bactericida.

Las lincosamidas: a este grupo pertenecen la lincomicina y la clindamicina. Al igual que los macrólidos se unen a la subunidad 50s del ribosoma bacteriano e inhiben la formación de la cadena peptídica- Los mecanismos de resistencia son las mismas para los macrólidos y las resistencias son cruzadas. Su actividad antimicrobiana es adecuada frente a gérmenes aerobios grampositivos y anaerobios grampositivos y gramnegativos. La clindamicina es 2 a 4 veces más potente que la lincomicina.

Las estreptograminas son dos componentes de este grupo son la quinupristina

(estreptogramina B) y la dalfopristina (estreptogramina A), derivados semisintéticos de pristinamicina. La quinupristina inhibe la fase tardía de la síntesis de proteínas en el ribosoma bacteriano, y la dalfopristina, la fase temprana. Asociados ejercen un efecto bactericida frente a las bacterias grampositivas que son habitualmente sensibles.

5. Quinolonas

La actividad antimicrobiana de las quinolonas se basa en la inhibición de la topoisomerasa IV y de la DNA girasa, codificadas por los genes *parC* y *gyrA* respectivamente, esenciales para la replicación del DNA.

6. Oxazolidinonas.

Las oxazolidinonas son una nueva clase de antimicrobianos que producen una inhibición de la síntesis proteínica, fijándose a la subunidad 50S ribosómica, y de la formación del complejo de iniciación 70S 1–14. Son activos contra bacterias grampositivas e inicialmente fueron abandonadas por problemas de toxicidad. Posteriormente se sintetizó el linezolid, cuya estructura tricíclica le confiere actividad contra estafilococos resistentes a la meticilina.

7. Cloranfenicol y Tetraciclinas

El cloranfenicol inhibe la síntesis de proteínas a nivel de la subunidad ribosómica 50S. El mecanismo de resistencia a cloranfenicol se basa en la producción de acetiltransferasas codificadas por genes *cat*. Las tetraciclinas actúan fundamentalmente como bacteriostáticos a las dosis habituales, aunque resultan bactericidas a altas dosis, generalmente tóxicas. Actúan por varios mecanismos:

- Desacoplan la fosforilación oxidativa de las bacterias.
- Provocan una inhibición de la síntesis proteica en el ribosoma de la bacteria. Actúan inhibiendo la síntesis proteica al unirse a la subunidad 30

S del ribosoma y no permitir la unión del ácido ribonucleico de Transferencia (tRNA) a este, ni el transporte de aminoácidos hasta la subunidad 50 S.

- Existe también evidencia preliminar que sugiere que las tetraciclinas alteran la membrana citoplasmática de organismos susceptibles, permitiendo la salida de componentes intracelulares.
- Las resistencias bacterianas a las tetraciclinas son de aparición lenta, aunque mucho más rápida si se utiliza por vía tópica. El mecanismo bacteriano implicado puede ser mediante plásmido, lo que explica la reticencia a usar las tetracilinas en el ámbito hospitalario, para evitar la aparición de resistencias simultáneas a varios antibióticos. Existen resistencias cruzadas entre los miembros del grupo.

8. Trimetoprim

La estructura química de las sulfamidas se caracteriza por un núcleo de benceno, un grupo amino (NH₂) en posición 4, que es esencial para su actividad farmacológica, y un grupo sulfonamida (SO₂NH₂) en posición 1. Las sulfamidas se clasifican en tres grupos: absorbibles (de acción rápida y prolongada), no absorbibles, y de uso tópico.

Las sulfamidas y la trimetoprim bloquean competitiva y secuencialmente la síntesis del ácido fólico bacteriano, produciendo un efecto bacteriostático. El ácido fólico interviene en la síntesis de timidina, purinas y metionina, necesarias para la síntesis de ADN y ARN y proteínas necesarios a su vez para el crecimiento bacteriano. Las bacterias no son capaces de captar ácido fólico del medio, como los organismos superiores y, por consiguiente, lo sintetizan.

Las sulfonamidas análogas estructurales del p-aminobenzoico (PABA) compiten con la incorporación de éste a la molécula del ácido fólico inhibiendo la enzima dihidropteroico-sintasa. Este efecto puede revertirse si hay exceso de PABA en el medio. (72, 73, 74, 75)

2.1.2.8. Uso prudente de los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos (AMR) es un problema de salud pública mundial y a su vez una amenaza para la salud humana, así como para el desarrollo y la seguridad.

El elevado nivel de AMR registrado hoy en día en el mundo es consecuencia del abuso y mal uso de los antibióticos y otros antimicrobianos en seres humanos. En el contexto más amplio de la AMR, la resistencia a los antibióticos se considera como la amenaza global más importante y urgente.

En mayo de 2015, la 67ª Asamblea Mundial de la Salud adoptó la resolución WHA67.25 sobre resistencia a los antimicrobianos en dicha resolución se solicitó a la Directora General que, entre otras medidas, elaborara un proyecto de plan de acción mundial para luchar contra la resistencia a los antimicrobianos, incluida la resistencia a los antibióticos, y que presentara el proyecto a la 68ª Asamblea Mundial de la Salud.

El 27 de mayo del 2015 en la 68ª Asamblea Mundial de la Salud, se adopta el Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos; en dicha asamblea se insta a los estados miembros a implementar las acciones del plan. En el mencionado Plan Mundial se formulan cinco objetivos Estratégicos: Mejorar la concienciación y la comprensión con respecto a la resistencia a los antimicrobianos a través de una comunicación, educación y formación efectivas; Reforzar los conocimientos y la base científica a través de la vigilancia y la investigación; Reducir la incidencia de las infecciones con medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención de la infección; Utilizar de forma óptima los medicamentos antimicrobianos en la salud humana y animal; Preparar argumentos económicos a favor de una inversión sostenible que tenga en cuenta las necesidades de todos los países, y aumentar la inversión en nuevos medicamentos, medios de diagnóstico, vacunas y otras intervenciones.

El 1º de octubre del 2015 mediante Resolución CD54.R15 de la Organización

Panamericana de la Salud (OPS) sobre Resistencia Antimicrobiana el Comité Regional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para las Américas resolvió: aprobar el Plan sobre AMR y su aplicación en el contexto de las condiciones propias de cada país e instará los miembros a que: renueven su compromiso para apoyar el establecimiento de planes de acción; asignen los recursos necesarios para su desarrollo e implementación; establezcan plataformas de diálogo e intervención multisectorial; y tomen acción urgente para promover el uso apropiado de los antimicrobianos.

En mayo del 2016, en Lima, la OPS realiza la 1ra Reunión Regional de resistencia a los antimicrobianos para la elaboración e implementación de estrategias y planes nacionales de acción sobre AMR; dicha reunión tuvo como uno de sus principales objetivos el proporcionar a los países guías y herramientas para ayudar en el desarrollo, planificación, implementación, seguimiento y evaluación de los Planes Nacionales de Acción participando representantes del sector salud, agricultura, alimentación y de la sanidad animal procedentes de 15 países de Latinoamérica.

En septiembre del 2016 en la reunión de alto nivel de la Asamblea General de las Naciones Unidas sobre la AMR los jefes de Estado y de Gobierno se comprometieron a adoptar una estrategia de amplio alcance y coordinada para abordar las causas fundamentales de la AMR en múltiples sectores, en especial en la salud humana, la salud animal y la agricultura. (76, 77)

El informe Antibacterial agents in clinical development – an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis, publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) revela una grave falta de nuevos antibióticos en fase de desarrollo para combatir la creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos.

La mayoría de los fármacos que se están desarrollando son modificaciones de clases de antibióticos ya existentes que ofrecen soluciones solamente a corto

plazo. En el informe se indica que hay muy pocas opciones terapéuticas posibles para las infecciones resistentes a los antibióticos señaladas por la OMS como las mayores amenazas para la salud, y que incluyen la tuberculosis farmacorresistente, que causa alrededor de 250 000 fallecimientos cada año.

A juicio del Dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus, Director General de la OMS, «la resistencia a los antimicrobianos es una emergencia para la salud mundial que comprometerá gravemente el avance de la medicina moderna. Hay una necesidad urgente de aumentar la inversión en investigación y desarrollo para luchar con las infecciones resistentes a los antibióticos, entre ellas la tuberculosis. De otro modo, volveremos a los tiempos en que la gente temía contraer infecciones habituales y ponía en riesgo su vida si se sometía a intervenciones quirúrgicas sencillas».

La OMS ha identificado 12 clases de patógenos prioritarios, algunos de ellos causantes de infecciones frecuentes como la neumonía o las infecciones en las vías urinarias, que son cada vez más resistentes a los antibióticos existentes y requieren con urgencia nuevos tratamientos.

En el informe se mencionan 51 nuevos antibióticos y biofármacos en desarrollo clínico que se podrían utilizar para tratar infecciones causadas por los patógenos resistentes a los antibióticos más prioritarios.

Sin embargo, solo ocho de estas moléculas con potencial terapéutico han sido clasificados por la OMS como tratamientos innovadores que ofrecerán alternativas válidas al actual arsenal de antibióticos.

Hay una grave falta de opciones terapéuticas para *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente y ultrarresistente y contra bacterias gramnegativas, entre ellas enterobacterias (como *Klebsiella* y *E. coli*) y *Acinetobacter*, que pueden causar infecciones de gravedad –con frecuencia mortales– y son especialmente peligrosas en los hospitales y las residencias de ancianos.

Además, hay muy pocos antibióticos en fase de desarrollo que se podrán administrar por vía oral, a pesar de que estas formulaciones son muy necesarias para tratar las infecciones fuera de los hospitales y en lugares de escasos recursos.

La Dra. Suzanne Hill, Directora del Departamento de Medicamentos Esenciales de la OMS, señala que «los investigadores y las empresas farmacéuticas deben desarrollar urgentemente nuevos antibióticos contra determinados tipos de infecciones muy graves que pueden matar a los pacientes en cuestión de días, porque no tenemos modo de defendernos contra ellas».

La obtención de nuevos tratamientos no bastará para combatir la amenaza de la resistencia a los antimicrobianos. La OMS trabaja con los países y los asociados para mejorar la prevención y el tratamiento de las infecciones y para promover el uso correcto de los antibióticos disponibles actualmente y en el futuro. Además, la OMS está elaborando directrices sobre el uso responsable de los antibióticos en los sectores de la salud humana, animal y en la agricultura y la ganadería. (78)

2.1.2.9. Resistencia a los antimicrobianos en enterococcus

Las bacterias resistentes surgen por un proceso de selección adaptativa bajo la acción del propio antimicrobiano. En cualquier población bacteriana existen de manera natural células bacterianas que no se inhiben por las concentraciones de antibacterianos que habitualmente inhiben la mayoría de los microorganismos pertenecientes a esta población (mutantes resistentes). Cuando se somete una población bacteriana que contiene mutantes resistentes a la acción inhibitoria del antibiótico puede producirse un efecto deletéreo de la subpoblación sensible, mientras que la subpoblación resistente puede continuar su desarrollo, llegando a sustituir a toda la población bacteriana (selección).

Cuando la selección del antimicrobiano, la dosis, la pauta y la duración del tratamiento son los adecuados, la selección de mutantes resistentes tiene una escasa relevancia; pero cuando se emplean inadecuadamente los agentes

antimicrobianos de forma reiterada y generalizada, al cabo de algunos años se origina una fuerte presión selectiva en el mundo microbiano, lo que favorece la aparición y el aumento de la población es resistentes, lo que se asocia con el fracaso terapéutico. Básicamente, la resistencia de las células bacterianas a los agentes antimicrobianos se puede producir:

- Dificultando el acceso del antimicrobiano a su diana farmacológica.
- Facilitando la eliminación o la expulsión del antimicrobiano del interior de la bacteria.
- Inactivando o modificando el antimicrobiano antes de que actúe sobre la diana.
- Produciendo grandes cantidades de la diana o modificándola.
- Desarrollando de vías metabólicas que suplan la inhibida por el antimicrobiano.

Además, es habitual que en un mismo microorganismo coexistan más de uno de estos mecanismos, con lo que aumenta el número de antimicrobianos a los que es resistente el microorganismo. La diseminación de estos mecanismos entre las bacterias patógenas ha sido extraordinariamente rápida y en la actualidad ningún antimicrobiano escapa a la acción de alguno de estos mecanismos.

Desde un punto de vista genético, la resistencia a los antimicrobianos puede producirse por adquisición de elementos genéticos que confieren resistencia a los antimicrobianos a partir de otras bacterias (en este caso, es imprescindible el intercambio genético entre los microorganismos y la recombinación) o por mutación en genes preexistentes, aunque también debe considerarse la posibilidad de aparición de mutaciones en genes adquiridos previamente.

En este sentido, algunos de los genes que se adquieren por las bacterias y que les confieren resistencia a determinados antimicrobianos tienen su origen en los propios microorganismos que producen antibióticos, ya que gracias a estos genes son capaces de resistir a la acción del antibiótico que sintetizan. La

resistencia por transferencia genética es típica de bacterias que comparten nichos ecológicos con otros microorganismos. Cuando no es posible el intercambio genético, las bacterias recurren a procesos mutantes que se manifiestan bajo la acción selectora. (79)

1. Resistencia a Glucopéptidos.

El mecanismo bioquímico de resistencia a los glucopéptidos en *enterococos* se basa en la modificación de la diana: el pentapéptido de la pared celular terminado en D-Ala-D-Ala. El pentapéptido modificado puede contener D-Ala-D-lactato (D-Lac) o bien D-Ala-D-serina (D-Ser), poseyendo una afinidad 1.000 veces menor o 7 veces menor por la vancomicina, respectivamente.

Se han descrito 8 operones distintos que intervienen en la resistencia adquirida a glucopéptidos en *enterococos* denominados vanA, vanB, vanD, vanE, vanG, vanL, vanM y vanN, y uno que interviene en la resistencia intrínseca, denominado vanC, con las variantes vanC-1, vanC-2 y vanC-3, que es una característica intrínseca de algunas especies de *enterococos* (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus* y *E. flavescens*) (80, 81).

En los tipos VanA, VanB, VanD y VanM, el precursor alternativo es D-Ala-D-Lac, mientras que en los tipos VanC, VanE, VanG, VanL y VanN, el precursor alternativo es D-Ala-D-Ser.

De los mecanismos de resistencia a vancomicina adquiridos, los que más importancia y más frecuentemente se localizan a nivel clínico son los codificados por los genes vanA y vanB. (82).

Operón vanA

El operón vanA codifica resistencia inducible de alto nivel a vancomicina y a teicoplanina y se adquiere generalmente a través del transposón Tn1546, de

10,8 Kb, generalmente localizado en un plásmido, aunque, en algunos casos, se ha transferido al cromosoma. Este operón contiene 7 genes: tres (*vanH*, *vanA*, *vanX*) responsables de la resistencia, dos (*vanR* y *vanS*) son los responsables de la regulación de la resistencia, y uno (*vanY*) es el responsable de eliminar los precursores normales de la pared celular. Se desconoce la función de un séptimo gen (*vanZ*).

Fenotipo de resistencia VanA se caracterizan por presentar resistencia inducible de alto nivel tanto a la vancomicina (CIM ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$) y resistencia intermedia o alta a la teicoplanina (CIM ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$). La resistencia tipo VanA es transferible a cocáceas grampositivas.

Operón vanB

El operón *vanB* produce resistencia inducible de bajo o alto nivel a la vancomicina, pero no a teicoplanina. Tanto el mecanismo de resistencia como la estructuración del operón, es similar a la del *vanA*. En base a las diferencias en la secuencia del gen que codifica la ligasa, el clúster génico *vanB* puede corresponder a tres subtipos: *vanB1*, *vanB2* y *vanB3* (83). Este operón suele estar presente en el cromosoma, aunque también se puede diseminar por plásmidos o transposones conjugativos (84, 85).

La diseminación de esta resistencia se produce por la transferencia de elementos genéticos grandes que contienen el transposón Tn1547. La transmisión de la resistencia de tipo *vanB* junto con la resistencia a ampicilina se ha encontrado en el transposón Tn5382.

Se está observando en los últimos años un incremento en la detección de *enterococos vanB2* a nivel hospitalario y asimismo se está evidenciando también su presencia en el ámbito animal (80, 81, 82).

Fenotipo de resistencia VanB las cepas portadoras del gen *vanB* se

caracterizan por niveles variables de resistencia a la vancomicina (CIM entre 8 y $\geq 1000 \mu\text{g/ml}$) y sensibilidad a la teicoplanina (CIM $<1 \mu\text{g/ml}$). En estos casos, a diferencia de las cepas VanA, la resistencia estaría inducida por la vancomicina pero no por la teicoplanina.

Operón vanC

El operón vanC es una propiedad intrínseca de determinadas especies de *enterococos* produce bajo nivel de resistencia a la vancomicina y sensibilidad a teicoplanina. Como se indicó anteriormente, los genes que codifican el fenotipo de resistencia VanC son endógenos en *E. gallinarum* (vanC-1), *E. casseliflavus* (vanC-2) *E. flavescens* (vanC-3). La disposición de estos genes es similar en las 3 especies, pero cada gen es específico de especie. El tipo de resistencia VanC es de codificación cromosómica y se expresa constitutivamente. Se diferencia de los vanA y vanB en la situación de los genes reguladores en el operón (81).

Fenotipo de resistencia VanC se observa en las especies *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* y *Enterococcus flavescens*, intrínsecamente resistentes a la vancomicina (CIM entre 2-32 $\mu\text{g/ml}$), pero sensibles a la teicoplanina.

2. Resistencia a β -lactámicos

Los *enterococos* poseen cierta resistencia natural intrínseca a los β -lactámicos, debido a la baja afinidad de sus proteínas de unión a penicilinas (PBPs o penicillin-binding proteins).

Dentro de estos β -lactámicos, las penicilinas tienen mayor actividad frente a los *enterococos* y, en menor medida, las cefalosporinas, puesto que, para éstas, poseen un nivel intrínseco de resistencia tan elevado que no son aptas para el uso en pacientes con infecciones por *enterococos*. (80,86)

La resistencia de alto nivel (RAN) a penicilinas es debida mayoritariamente a la

hiperproducción de la PBP5, que posee una baja afinidad natural por las penicilinas y la capacidad para sustituir las funciones de las PBP sensibles a β -lactámicos, pero también es debida a mutaciones en el gen *pbp5*, por lo que las cepas no presentan sustituciones de aminoácidos cerca del sitio activo de las PBP que implican una todavía menor afinidad por las penicilinas y por tanto son las responsables del aumento de la resistencia. (87)

La síntesis de β -lactamasas como mecanismo de resistencia frente a penicilinas y cefalosporinas, producen la inhibición de dichos antibióticos por pérdida de su estructura activa.

3. Resistencia a Aminoglucósidos

Los *enterococos* poseen intrínsecamente una resistencia de bajo nivel a los aminoglucósidos que es debida a un deficiente transporte del antibiótico aminoglucosídico al interior de la bacteria.

Sin embargo, con la asociación de un antibiótico que actúe en la pared celular, se produce un efecto sinérgico que aumenta la captación del aminoglucósido (80).

Esta sinergia bactericida es capaz de ser evitada mediante la adquisición de genes que codifican la producción de enzimas que inhiben la actividad aminoglucosídica llegando a producirse una RAN. Estas enzimas son fosfotransferasas (APH), acetiltransferasas (AAC) o nucleotidiltransferasas (ANT) (88).

Las APH inactivan los aminoglucósidos, de forma que se transfiere el γ -fosfato del ATP a un grupo hidroxilo en el aminoglucósido, las AAC utilizan la acetil-coenzima A como dador y acetilan un grupo amino, y las ANT utilizan el ATP como dador y adenilan un grupo hidroxilo en el aminoglucósido.

La resistencia a estreptomycin en los *enterococos* se produce por modificaciones en la subunidad ribosómica 30S que conlleva una disminución de

la unión de la estreptomina. No se ha documentado resistencia a aminoglucósidos en *enterococos* asociada con cambios ribosómicos, excepto para la estreptomina. La RAN a estreptomina implica resistencia solamente a ésta, mientras que la RAN a gentamicina conlleva RAN al resto de los aminoglucósidos a excepción de la estreptomina.

4. Resistencia a Macrólidos, lincosaminas y estreptograminas (MLS)

Puesto que los *enterococos* son intrínsecamente resistentes a las lincosamidas (como la clindamicina) y frecuentemente a los macrólidos, no se utilizan para el tratamiento de las infecciones enterocócicas.

Uno de los mecanismos de resistencia más frecuentes frente a macrólidos (eritromicina, azitromicina y claritromicina), que también está presente frente a lincosamidas y estreptograminas B, es la metilación, por medio de una enzima, de un residuo de adenina en la subunidad 23S del RNA ribosómico, reduciendo su unión al ribosoma. Este mecanismo es producido por la presencia del gen *erm(B)* y por el gen *erm(A)* en menor medida (89). Este fenotipo se denomina MLS_b (macrólidos-lincosamidas-estreptograminas B) y produce RAN a todos los macrólidos.

5. Resistencia a Quinolonas

La actividad antimicrobiana de las quinolonas se basa en la inhibición de la topoisomerasa IV y de la DNA girasa, codificadas por los genes *parC* y *gyrA* respectivamente, esenciales para la replicación del DNA. Los mecanismos de resistencias frente a estas quinolonas (mayoritariamente fluoroquinolonas) se basan en la modificación de sus dianas y en la disminución de permeabilidad de la membrana por pérdida de porinas (82, 90).

6. Resistencia a Oxazolidinonas

Esta resistencia, debida a la mutación G2576T en la subunidad 23S del rRNA, es

poco frecuente y ha sido descrita en *E. faecium* y *E. faecalis*.

En la mayoría de los casos descritos era procedente de pacientes que recibieron linezolid durante largos períodos de tiempo y fueron seleccionados en presencia del antibiótico, aunque también se ha descrito la diseminación clonal.

También existen cepas de *enterococos* que poseen un mecanismo de resistencia transferible a linezolid, que es expresado por el gen *cfr*, el cual codifica una metilasa ribosómica (91).

7. Resistencia a Cloranfenicol y Tetraciclinas

Respecto a tetraciclinas, su mecanismo de resistencia se basa en modificaciones en la diana codificadas por los genes *tet*, siendo *tet(M)* y *tet (L)* los más frecuentes. (92)

8. Resistencia a trimetoprim

El mecanismo de resistencia más frecuente frente a este antibiótico son las mutaciones en los genes *dfr*, los cuales codifican las DHFR, produciéndose enzimas DHFR resistentes al trimetoprim (82, 93).

2.1.2.10. Fisiopatología de las infecciones microbianas

Una enfermedad infecciosa sobreviene cuando un microorganismo patógeno causa inflamación o disfunción de un órgano. Esto a menudo es causado de modo directo por la infección en sí, como cuando el agente causal se multiplica en el huésped, o de manera indirecta como resultado de la respuesta inflamatoria del huésped. Para causar infección manifiesta, todos los microorganismos deben pasar por las etapas: 1) encontrar al huésped, 2) entrar en el huésped, 3) multiplicarse y propagarse desde el sitio de entrada, y 4) causar lesión en los tejidos del huésped, sea de modo directo (citoquinas) o indirecto (respuesta inflamatoria del huésped).

La gravedad de la infección varía desde asintomática hasta fatal, y la evolución puede caracterizarse como aguda, subaguda o crónica. Independientemente si la evolución es subclínica o manifiesta, el resultado es: 1) resolución, ejm. con erradicación del agente infeccioso, 2) infección activa crónica, ejm. VIH o hepatitis, 3) excreción asintomática prolongada del agente, ej portador *Salmonella typhi* 4) latencia del agente dentro del tejido del huésped, 5) muerte del huésped por infección. (94)

2.1.2.11. Mecanismos de transmisión

La mayoría de la colonización por VRE ocurre en el tracto gastrointestinal, también se puede encontrar en menor medida en la piel, en el tracto genitourinario y en la cavidad oral. *E. faecalis* es el colonizador principal en estos sitios. Una vez que se produce la colonización gastrointestinal con VRE, puede persistir durante meses o años y los esfuerzos de descolonización suelen ser transitorios, con una recurrencia de VRE días o semanas más tarde. Las manos de los trabajadores de la salud son la fuente consistente de transmisión. VRE puede persistir hasta 60 minutos en las manos y hasta 4 meses en las superficies. La vía común para el VRE nosocomial comienza con la adquisición a través del contacto persona a persona o la exposición a objetos contaminados. La microbiota intestinal se suprime luego a través de la presión selectiva antimicrobiana, lo que permite el crecimiento excesivo de VRE, ya que es intrínsecamente resistente a varios antibióticos. Cuando el paciente queda inmunosuprimido, la VRE puede prosperar, causando una enfermedad clínica.

Los factores de riesgo para la colonización incluyen las características del huésped y la exposición a los antimicrobianos. Se produce un mayor riesgo de colonización por VRE con inmunosupresión, neoplasias malignas hematológicas, trasplante de órganos, aumento de la unidad de cuidados intensivos (UCI) o estadía en el hospital, residencia en un centro de atención a largo plazo, infección de un sitio corporal adicional, proximidad a otro paciente colonizado o infectado, hospitalización en una unidad con una alta prevalencia

de VRE, afecciones comórbidas graves como diabetes, insuficiencia renal y puntajes altos de Fisiología aguda y Evaluación de salud crónica (APACHE) II. La exposición previa a los antimicrobianos es el predictor más grande de colonización por VRE, incluida la administración oral e intravenosa (IV) de vancomicina, aminoglucósidos, cefalosporinas, agentes antianaerobios tales como clindamicina y metronidazol, y carbapenems. (68)

2.1.2.12. Diagnóstico de laboratorio. Aislamiento y diferenciación

a. Toma de Muestra

No existe un método estandarizado para el aislamiento del ERV a partir de muestras de heces y/o hisopado rectal. Esta muestra sólo se utiliza para buscar portadores de *enterococos*. El aislamiento de *enterococos* resistente a la vancomicina (EVR) a partir de las muestras de heces o hisopado rectal, los hisopados rectales y la materia fecal fueron sembrados en medio de cultivo y de forma paralela fueron inmersos en caldo BHI e incubados a 35 °C por 18-24 una vez enriquecido se procedió a la resiembra. (95)

b. Cultivo

A partir de la materia fecal, hisopado rectal y del enriquecimiento en BHI se inocularon placas de agar BD Enterococcosel Agar enriquecido con 8 µg/ml de vancomicina (96). Se incubaron y se examinaron los cultivos a las 24, 48 y 72 horas para ver la presencia de crecimiento.

c. Tinción de Gram

Fundamento: La distinta composición de la pared celular de grampositivas que contienen una capa gruesa de peptidoglucano con numerosos entrecruzamientos de ácido teicoico y las paredes celulares gramnegativas, que presentan una capa más delgada, y la causa de las diferencias de coloración de Gram entre estos dos

grupos principales de bacterias. Las bacterias grampositivas se teñirán de azul por el cristal violeta y no perderán la coloración durante los pasos sucesivos. Las bacterias gramnegativas perderán la coloración inicial del cristal violeta en los siguientes pasos y se teñirán de rosa debido a la safranina. (97)

d. Prueba de la catalasa

Comprueba la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo, la excepción es *Streptococcus*. La enzima catalasa convierte el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. La liberación de oxígeno se observa por la formación de burbujas. (98)

e. Hidrolisis de la Esculina

Medio de cultivo nutritivo por la presencia de extracto de carne y peptona de carne que aportan nutrientes para el desarrollo microbiano. Los estreptococos del grupo D crecen rápidamente en el agar bilis esculina e hidrolizan la esculina, que en presencia de iones hierro forman un compuesto de color verde oliva hasta negro. La bilis de buey inhibe el desarrollo de la flora acompañante. (99)

f. Clasificación Lancefield (Serotipificación de estreptococo grupo D)

La clasificación de los estreptococos de Lancefield se basa en las reacciones serológicas de los carbohidratos de la pared celular de la bacteria, es decir, en la distinta naturaleza antigénica de los polisacáridos de la pared. Es un método muy útil para clasificar a muchos de los estreptococos patógenos, pero no tanto para el resto. Los antígenos de Lancefield son llamados con letras desde la A hasta la W, con la excepción de la I y la J. Estos antígenos de grupo se pueden demostrar mediante sencillos métodos como la precipitación, aglutinación o anticuerpos marcados. (100)

Es una prueba inmunológica de aglutinación por látex para el serotipado estreptocócico mediante la extracción química de los antígenos específicos del grupo con reactivos de extracción de ácido nitroso. La extracción y el serotipado se realizan a temperatura ambiente.

g. PYR PYR (pirrolidonil arilamidasa)

La prueba del PYR permite la identificación presuntiva de ciertas bacterias en base a la actividad enzimática l-pirrolidonilarilamidasa (PYRasa). Los microorganismos que contienen esta enzima hidrolizan en forma rápida el sustrato presente en los discos y liberan un grupo pirrónico que reacciona con el reactivo cinamaldehído originándose un compuesto de color rosado-rojizo.

Las pruebas positivas de PYR permite la identificación presuntiva de estreptococos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) y el grupo D *enterococos*. Debe tenerse en cuenta que algunas especies de estafilococos (*Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus scheleiferi*, *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus intermedius*) son generalmente PYRasa positivo, por lo que se puede utilizar esta prueba en su identificación. (40)

h. Prueba de Tolerancia a la sal

La prueba de tolerancia a la sal (caldo con 6.5% de NaCl) diferencia las especies de *Enterococcus* de los *Streptococcus* del grupo D no *enterococos* (*Streptococcus bovis*). Se basa en la capacidad de la bacteria de desarrollarse en presencia de cantidades variadas de cloruro de sodio (NaCl). Es una propiedad Las especies de enterococcus serán tolerantes a la concentración de NaCl al 6,5%. (40)

i. Leucina aminopeptidasa (LAP)

La prueba LAP se utiliza para identificar cocos grampositivos no productores de catalasa. El disco para la prueba LAP es un método rápido para la detección de la enzima leucina aminopeptidasa. Los discos impregnados con leucina-B-

naftilamina sirven como sustrato para la detección de la leucina aminopeptidasa. Tras la hidrólisis del sustrato por la enzima la B-naftilamina resultante produce un color rosado cuando se agrega el reactivo cinamaldeido. (101)

j. Diferenciación Fenotípica

La diferenciación entre *E. faecalis* y *E. faecium* se puede hacer básicamente con la ayuda de los siguientes tests: acidificación de la arabinosa, y el test de litmus milk (LM). El reactivo para el LM puede ser obtenido de BBL u otro fabricante y preparado de acuerdo a las instrucciones. El reactivo para el test de la arabinosa se prepara usando l-arabinosa al 1% disuelta en caldo de infusión cerebro/corazón (brain heart infusion-BHI) y con el indicador púrpura de bromocresol al 0,006%. Los reactivos se pueden autoclavar por 10 min., a 121 °C. Para realizar el test se pone 0,5 ml (o unas 6 gotas) en un tubo transparente y se agregan unas 4 o 5 colonias frescas del organismo en estudio. Los tubos se incuban durante 4 horas a 42 °C. Un cambio de color de púrpura a amarillo es considerado una reacción positiva para la arabinosa y un cambio de coloración de rosado a blanco es positivo para el LM. *E. faecalis* es LM positivo y arabinosa negativo, *E. faecium* es LM negativo y arabinosa positivo. Ocasionalmente otras especies de *enterococos* pueden ser aisladas de muestras clínicas, pero en general, no es necesario tratar de identificarlas, a menos que sean resistentes a vancomicina.

k. Movilidad y producción de pigmento

Si se aísla una cepa de *enterococos* resistente a vancomicina, debe hacerse la diferenciación de aquellos VREs de importancia clínica con aquellos intrínsecamente resistentes como son *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*. Aunque el estudio de la motilidad y de la producción de pigmento es importante para diferenciar estos dos grupos de organismos, estos tests no siempre dan los resultados esperados y son, en algunos casos, bastante subjetivos. El test que pareciera ser más específico es la acidificación de metil-a-D-glucopiranosido

(MGP). El reactivo se prepara usando caldo de BHI con MGP al 1% y 0,06% de púrpura de bromocresol. En la mayoría de los casos, este test necesita incubación a 35 °C durante 18 horas, aunque una incubación más prolongada puede ser necesaria en aquellos casos de resultados dudosos. El desarrollo de un color amarillo demuestra una reacción positiva.

Como describiéramos en nuestra revisión anterior, el test de la susceptibilidad a la efrotomicina (disco de 100 µg) ha sido recomendado para diferenciar entre las especies de *enterococos*. En este caso, la cepa en estudio es inoculada en una placa de agar sangre usando la técnica de cuadrantes y el disco se coloca en el primer cuadrante donde el crecimiento es más denso. La placa se incuba a 35 °C durante 18 a 24 horas. Si después de la incubación por 18 horas se observa un área de inhibición alrededor del disco, independiente de su tamaño, el organismo es clasificado como susceptible a la efrotomicina 4. Hasta el momento, este disco no se encuentra disponible comercialmente y aunque los discos se pueden preparar, este es un test que se utiliza fundamentalmente en investigación (Cuadro N° 1). (102)

Cuadro N° 1 Características fenotípicas usadas para la identificación de especies en *enterococos* con importancia clínica

Especie	LM	ARA	MGP	EFRO
<i>E. faecalis</i>	+	-	-	R
<i>E. faecium</i>	-	+	-	S
<i>E. casseliflavus</i>	+ ¹	+ ¹	+	R
<i>E. gallinarum</i>	+	+ ¹	+	+1

Fuente: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000200003

1: Algunas cepas (< 10%) pueden dar una reacción negativa

LM: Litmus milk; ARA: Arabinosa; MGP: Metil-a-D-glucopiranosido; EFRO: Efrotomicina

I. ChromID™ VRE Agar

CHROMID® VRE de BioMérieux ofrece una detección rápida de *E. faecalis* y *E. faecium* con resistencia a la vancomicina (VRE) adquirida, bacterias multirresistentes que están cada vez más involucradas en infecciones asociadas con la atención médica (HAI). Al igual que con todos los productos de la chromID

® rango, confiable y fácil de usar, método estandarizado. La calidad de chromID
® disminuye el número de pruebas de confirmación, la reducción de la carga de trabajo, y el ahorro de tiempo y costes. ChromID ® VRE contiene dos sustratos cromogénicos (α -glucosidasa y β -galactosidasa) y vancomicina, que permiten: Identificación directa de *E. faecalis* y *E. faecium*. (103)

Aislamiento y detección específicos y selectivos de *enterococos* resistentes a la vancomicina (VRE) adquiridos (VanA y VanB) Diferenciación de *E. faecium* resistente a vancomicina y *E. faecalis* resistente a vancomicina.

La coloración específica facilita la diferenciación:

- Colonias azul-verdes: *E. faecalis*
- Colonias violetas: *E. faecium*

La mezcla selectiva inhibe: *Enterococos* no resistentes. *Enterococos* con resistencia natural (VanC). La mayoría de las bacterias gramnegativas y grampositivas. Levaduras y mohos.

m. Prueba ONPG (β -galactosidasa): principio, procedimiento y resultados

El O-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG) es estructuralmente similar a la lactosa (es decir, ONPG es un análogo de la lactosa), excepto que el oronitrofenilo ha sido sustituido por la glucosa.

En la hidrólisis, a través de la acción de la enzima β -galactosidasa, ONPG se divide en dos residuos, galactosa y o-nitrofenol. El ONPG es un compuesto incoloro: el O-nitrofenol es amarillo y proporciona evidencia visual de hidrólisis.

Las bacterias fermentadoras de lactosa poseen permeasa de lactosa y β -galactosidasa, dos enzimas necesarias para la producción de ácido en la prueba de fermentación de lactosa. La permeasa es necesaria para que la molécula de

lactosa penetre en la célula bacteriana donde la β -galactosidasa puede romper el enlace galactosido, produciendo glucosa y galactosa. Las bacterias que no fermentan la lactosa carecen de ambas enzimas y son incapaces de producir ácido a partir de la lactosa.

Algunas especies bacterianas parecen ser fermentadores sin lactosa porque carecen de permeasa, pero poseen β -galactosidasa y dan una prueba positiva de ONPG. Los llamados fermentadores tardíos de lactosa pueden retrasarse en la producción de ácido a partir de la lactosa debido a la lenta actividad de la permeasa. En estos casos, una prueba positiva de ONPG puede proporcionar una identificación rápida de la fermentación tardía de la lactosa.

Resultados de la prueba ONPG vs. Fermentación de lactosa:

- Fermentador de lactosa (positivo para ONPG): *Enterococcus faecium* produce β -galactosidasa.
 - Fermentador tardío de lactosa (ONPG positivo): *Citrobacter spp*, *Arizona spp* producen solo β -galactosidasa por lo que fermentan lentamente la lactosa.
 - Fermentador sin lactosa (ONPG Negativo): *Salmonella spp*; *Shigella spp*; *Proteus spp*; *Providencia spp* y *Morganella spp* *Enterococcus Faecalis* no producen β -galactosidasa, por lo que no pueden fermentar la lactosa.
- (104)

2.1.2.13. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Antibiograma

Las bacterias son naturalmente susceptibles a algunos antimicrobianos y resistentes a otros (resistencia natural); sin embargo, entre los microorganismos sensibles han aparecido cepas resistentes a antibióticos que eran activos (resistencia adquirida), por lo que, al aislar un microorganismo, no puede saberse si es sensible a un determinado antibiótico o si ha adquirido resistencia frente a él. (105)

a. Ensayo de difusión en agar. Método Bauer Kirby

Se basa en la inhibición del crecimiento de la bacteria alrededor de un disco cargado con un antimicrobiano que difunde en un medio sólido. Esta técnica consiste en la siembra de la bacteria en la superficie de una placa con un medio de cultivo, sobre el que se depositan unos discos de papel cargados con una cantidad precisa de antibiótico, que difunde casi instantáneamente a través del agar formándose una gradiente de concentración del mismo alrededor del disco. Posteriormente, se lleva a incubar a 37 °C durante 18 horas.

El microorganismo crece en la superficie de la placa, pero alrededor de los discos se forman unos halos de inhibición más o menos grandes, dependiendo de la mayor o menor sensibilidad de la bacteria a cada antimicrobiano. Se mide el halo (expresado en milímetros) y se lleva a tablas que correlacionan los diámetros con la sensibilidad. (106, 107,108)

Control de calidad

Es un proceso sistemático y continuo que debe llevarse a cabo dentro de un laboratorio, esto nos permitirá de manera simultánea monitorear lo siguiente: precisión y exactitud del procedimiento, calidad de los reactivos, equipos e instrumentos, desempeño del personal, control de resultados emitidos. El control del medio de cultivo, controlar un medio cuando es un nuevo frasco, observando signos de humedad, composición del medio. pH, profundidad (4mm), humedad adecuada, esterilidad, crecimiento de cepas control, refrigeración.

b. Método de dilución en caldo

La prueba de dilución en caldo consiste en atacar el microorganismo de interés con agentes antimicrobianos en un medio líquido (caldo de cultivo). Cada agente antimicrobiano se prueba en un rango de concentraciones que habitualmente se expresa en pg de fármaco activo/ml de caldo (pg/ml). El rango de concentraciones

probado para cada fármaco depende de varios criterios, entre los que se incluyen la concentración que es alcanzable con seguridad en el suero del paciente. Por consiguiente, el rango de concentraciones probado variará a menudo de un fármaco a otro, en función de las propiedades farmacológicas de cada uno. Además, el rango de concentraciones probado puede basarse en el nivel del fármaco que se necesita para detectar de forma más confiable un mecanismo de resistencia subyacente en particular.

La prueba de dilución en caldo se divide en dos categorías: microdilución y macro dilución. La única diferencia es el volumen del caldo en el que se realiza. Las suspensiones bacterianas estandarizadas con la misma turbidez del estándar 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) se usan habitualmente como punto de partida que diluciones que finalmente alcanzan la concentración bacteriana estándar de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL en cada cubeta. Posterior a la incubación según las condiciones del microorganismo en estudio se procede a la lectura, examinando las placas de dilución en busca de desarrollo bacteriano. Una vez que se confirma el desarrollo en el control de desarrollo que no contiene antimicrobianos y un control de esterilidad puede establecerse el perfil de desarrollo para cada dilución del antimicrobiano y determinarse la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM). Cuando se revisa la cubeta de dilución que contiene la concentración del fármaco más baja inhibe por completo el desarrollo bacteriano visible se registra como la CIM. Posteriormente se asigna las categorías de interpretación en la serie de documentos publicados por la Clinical and Laboratory Standards Institute M100 (CLSI). (109,110)

Se la define como la concentración más baja de droga que previene el crecimiento visible de microorganismos luego de entre 18 y 24 horas de cultivo. Es intuitivamente fácil de concebir que, si un antibiótico se mantiene en el organismo en concentraciones por encima de la CIM para determinada cepa de un microorganismo, será capaz de inhibir el desarrollo de esa bacteria con comodidad.

Se debe diferenciar la CIM de la Concentración bactericida mínima (CIM) que representa la mínima concentración de antimicrobiano capaz de matar al 99,9 por ciento de los microorganismos inoculados luego de 18 y 24 horas de cultivo. (111)

c. Epsilon-Test

Existe una prueba de difusión en gradiente denominada Epsilon test (E test, AB Biodisk) que combina la simplicidad y flexibilidad de las pruebas de disco difusión con la capacidad para cuantificar la concentración inhibitoria mínima.

El E test consiste en una tira de plástico no poroso de 5 cm., de largo por 5 mm., de ancho a lo largo de la cual se dispone un gradiente predefinido y señalado en la tira de un antimicrobiano equivalente a 15 concentraciones dobles progresivas. Una vez que se ha sembrado la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E test sobre la superficie produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte de plástico hasta el agar, creándose de este modo alrededor y a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano.

Tras la incubación de las placas, se puede observar a ambos lados de la tira una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. La carga indicada del punto de la tira en que el extremo de la zona de inhibición intersecciona con ella en valor de la CIM. El E test es un método alternativo para el estudio cuantitativo de la sensibilidad antimicrobiana del que cabe destacar su sencillez y buena correlación con la técnica estándar de dilución. (112)

2.1.2.14. Métodos moleculares

Extracción de DNA: Protocolo InstaGene™ Purification Matrix

Para la extracción del DNA en *Enterococcus* se puede utilizar el sistema

InstaGene Matrix (BioRad), una matriz que absorbe los productos de la lisis celular, que interfieren en la reacción de PCR, facilitando la preparación de DNA válido para amplificación por PCR y permitiendo además eliminar los pasos correspondientes a la extracción con fenol/cloroformo.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa se define como una técnica que amplifica in vitro un fragmento de DNA que suele corresponder a la expresión de un gen específico.

Para ello, se deben seleccionar los cebadores (o también denominados primers) específicos que delimitarán la región a amplificar y, con los cuales, la DNA polimerasa comenzará la réplica del DNA mediante ciclos repetitivos. Del mismo modo, se precisa de la presencia de 4 desoxynucleótidos (dNTPs): dATP, dGTP, dTTP y dCTP; y de unas condiciones buffer para que se lleve a cabo.

La ADN polimerasa utilizada es la llamada Taq-Polimerasa, la cual es aislada de la bacteria thermus aquaticus, puesto que debe ser capaz de soportar elevadas temperaturas.

Los ciclos repetitivos constan de 3 etapas diferenciadas:

- Desnaturalización.
- Hibridación.
- Enlongación.

Desnaturalización:

La mezcla de reacción se calienta aproximadamente a 95 °C, produciéndose que las hebras complementarias se separen en un proceso de desnaturalización. Las hebras obtenidas tras cada uno de los ciclos sirven de molde para las siguientes.

El resultado final de cada ciclo consiste en un fragmento de DNA de doble hebra determinado por la secuencia de los oligonucleótidos cebadores y la distancia entre éstos.

Hibridación:

Se reduce la temperatura a 55 °C produciéndose la unión de los cebadores (primers) al DNA en un proceso denominado hibridación. Los enlaces resultantes son estables sólo si la cadena del cebador y del segmento de DNA es complementaria.

Elongación:

Se aumenta la temperatura hasta 72 °C. Se alcanza la temperatura óptima de trabajo de la taq-polimerasa y se favorece la unión de los dNTPs con la ayuda de los iones Mg^{2+} , formando complejos solubles con éstos.

Electroforesis en gel de agarosa

Para la visualización del DNA de los fragmentos amplificados por PCR, se utilizó la técnica de electroforesis en gel de agarosa. Para la preparación del gel se debe previamente preparar TBE 5X (54 g/l Tris-base; 27,5 g/l Ácido bórico; 20 ml EDTA 0,5M pH=8). A continuación, se mezcla 1 g de agarosa con 20 ml de TBE 5X y 80 ml de agua destilada. Tras calentar la mezcla hasta ebullición durante 2 minutos, se adiciona 6 µl de Midori Green (agente intercalante del DNA que emite fluorescencia con luz UV) y se vierte sobre una cubeta de electroforesis, la cual se debe sellar previamente con cinta de carroceros para evitar fugas, provista con unos peines que formarán los pocillos (tras solidificar el gel) donde se cargarán los productos de PCR.

Una vez solidificado el gel, se retiran los peines y se cargan los pocillos con 10µl de producto de PCR mezclado con tampón de carga (10% sacarosa (p/v),

0,0025% azul de bromofenol en TE [10mM Tris(hidroximetil) aminometano, 1mM EDTA pH8])

Una vez que se terminen de cargar todos los productos de PCR, se retira la cinta de carroceros y el gel se sumerge totalmente en una cámara de electroforesis con TBE 1X, en la que se somete a un campo eléctrico de 75-100V durante 45 min para que los fragmentos amplificados se separen según su peso molecular. Posteriormente, se visualizan las bandas obtenidas con luz ultravioleta en un transiluminador, y se fotografian. (113)

2.1.2.15. Normas de Bioseguridad. Elementos de protección personal

Todo el personal del establecimiento de salud debe tener las competencias necesarias para enfrentar los dilemas que plantea la bioseguridad en la atención de pacientes en el trabajo cotidiano.

Todo el personal de salud debe reconocer los riesgos en su entorno y evitar que ellos provoquen un contagio a sí mismos, pacientes, medio ambiente social, familia, animales y otros.

En la formación del personal de salud se debe tomar conciencia de los riesgos y entregar todos los elementos que permitan crear los mecanismos para enfrentarlos, diseñando las medidas más seguras para ser aplicadas.

Todo esto se debe sustentar en el concepto moral de la responsabilidad. “Si conozco el riesgo y sé cómo evitarlo tengo, entonces, la responsabilidad de hacerlo”. Una forma de aplicar esta responsabilidad es recurriendo a la bioética, inculcando el respeto estricto a las normas que dictan las políticas del estado boliviano.

Las normas de bioseguridad deben ser absolutas, de aplicación universal, comprometidas con los principios de la ética y tener como fin la protección del ser humano y su entorno.

Elementos de protección personal (barreras físicas)

Los elementos de protección personal son un complemento indispensable de los métodos de control de riesgos para proteger al trabajador colocando barreras en las puertas de entrada para evitar la transmisión de infecciones. Sin embargo, debe recordarse que muchos de los elementos de protección personal en instituciones de salud no fueron diseñados para este propósito sino para evitar la contaminación de campos quirúrgicos y la transmisión de microorganismos de paciente a paciente a través del personal de salud, por lo cual tiene doble función.

El personal debe contar con:

- Barbijos
- Lentes protectores
- Bata estéril
- Guantes
- Guantes estériles
- Bata y delantales IMPERMEABLES
- Zapatos o Botas
- Gorros (114)

2.2. Hipótesis

Cuál será la prevalencia y factores de riesgo asociada a la prevención de enterococos intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de Medicina Interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud.? Agosto a octubre del 2018.

2.3. Marco contextual

2.3.1. Aspectos generales de Bolivia

Bolivia, constituida el 6 de agosto de 1825 como República unitaria, libre,

independiente y soberana, está ubicada en la zona central de América del Sud, entre los paralelos: 1° 39' y 22° 53' de latitud Sud; y entre los meridianos: 57° 25' y 69° 38' de longitud occidental del meridiano de Greenwich. Limita al Norte y al Este con la República Federativa de Brasil, al Sudeste con la República del Paraguay, al Sud con la República Argentina, al Sudoeste con la República de Chile y al Oeste con la República del Perú.

Lleva el nombre de Bolivia, en homenaje al Libertador Simón Bolívar. La capital de la República Sucre, en reconocimiento al Mariscal Antonio José de Sucre.

Tiene una superficie de 1.098.581 km². Es un país mediterráneo a causa de la pérdida de su costa al Pacífico en la guerra con Chile en 1879.

Estado plurinacional de Bolivia

El 7 de febrero de 2009, el presidente Evo Morales promulgaba la nueva Constitución Política del Estado. En la que hacía referencia del nacimiento de un nuevo Estado Plurinacional de Bolivia.

División política

Bolivia se divide política y administrativamente en nueve departamentos: Beni, Oruro, Potosí, Chuquisaca, Cochabamba, Tarija, Santa Cruz, La Paz y Pando. Todos los departamentos se dividen en 112 provincias. A su vez las provincias en 327 secciones y éstas en 1394 cantones. El régimen municipal además ha establecido la división por municipios territorializados, cada municipio corresponde a una sección de provincia. Hay 327 municipios. (115)

Censo de población y vivienda

Según el Censo de Población y Vivienda ejecutado el 2012 el Estado Plurinacional de Bolivia, tiene 10.027.254 habitantes en todo el país. El

crecimiento de la población boliviana alcanzó a poco más de dos millones de habitantes desde el 2001. Con una densidad población de 10 habitantes por kilómetro cuadrado (km²).

Estructura de la población por sexo

La población masculina es ligeramente menor que la población femenina. El índice de masculinidad se mantiene por debajo del 100% en todo el período de 1976-2012, lo que significa que por cada 100 mujeres existen menos de 100 hombres.

Estructura de la población por edad

La información fue recogida en número de años cumplidos a la fecha de empadronamiento, esto es, el 21 de noviembre de 2012. En donde del 100% de la población el 31,02% corresponde a individuos entre 0-14 años, el 62,86% a personas entre 15-64 años, y 6,12% pertenece a habitantes de 65 años y más.

Atención materna

Se observa que 67,30% de los partos declarados se atendieron en establecimientos de salud, 28,02% en domicilios y 2,23% en otro lugar. Del total de partos declarados en 45% corresponde a mujeres de 26 a 44 años de edad, 13,57% a jóvenes de 19 a 25 años y 11,74% a mujeres de 45 y 64 años.

Alfabetismo

La tasa de alfabetismo en Bolivia el año 2012 alcanza a 94,98%, es decir 6,55 millones de personas que saben leer y escribir. La tasa de Alfabetismo por sexo muestra mayor incremento en la población femenina con relación a la masculina; en los años 2012 alcanza a 92,54%, 11,89 puntos más respecto a 2001. En tanto que, para la población masculina, la Tasa de Alfabetismo aumentó 93,06% en

2001, con incremento de 4,90 puntos porcentuales en el año 2012 esta tasa llega a 97,49%, es decir, aumenta en 4,43 puntos porcentuales con relación a 2001.

En 2012, los departamentos de La Paz, Oruro, Santa Cruz, Beni y Pando registran tasas de alfabetismo superiores al promedio nacional de 94,98%; sin embargo, Chuquisaca, Cochabamba, Potosí y Tarija presentan tasas inferiores.

Los departamentos de Pando y Santa Cruz registran mayor nivel de alfabetismo, 97,69 y 97,48% respectivamente; mientras Chuquisaca registra el menor nivel con 88,98% de personas de 15 años o más que saben leer y escribir.

Según los dos últimos censos, el departamento que presenta mayor aumento del nivel de alfabetismo es Potosí, de 71,58% en 2001 a 89,19% el año 2012, con incremento de 17,61 puntos porcentuales; seguido del departamento de Chuquisaca que registraba 73,03% en 2001 aumenta a 88,98% el 2012, con incremento de 15,95 puntos porcentuales.

El departamento con menor incremento es Santa Cruz, de 92,74% en 2001 a 97,48% en el año 2012, con diferencia de 4,74 puntos porcentuales.

Asistencia escolar

Según el censo 2012, la Tasa de Asistencia de la población en edad escolar alcanza a 83,54%, mientras en 2001 y 1992 llegó a 79,71%, respectivamente.

La Tasa de Asistencia Escolar masculina asciende a 83,63% y la femenina a 83,45%. Se observa que en relación a los censos de 1992 y 2001, la Tasa de Asistencia Escolar marcha en ascenso y la diferencia entre hombres y mujeres disminuye.

Vivienda

El Censo Nacional de Población y Vivienda de 2012 registró 3.158.691 viviendas

en el país, de las cuales 3.134.613 corresponden a viviendas particulares y 24.078 viviendas colectivas. Este resultado, respecto a las viviendas particulares empadronadas en el Censo 2001 significa un aumento de 876.451. El incremento de viviendas colectivas en el mismo periodo fue de 11.509.

Servicios básicos

Se observa incremento de la disponibilidad de servicios básicos en las viviendas durante el período intercensal. El porcentaje de viviendas particulares que tiene agua por cañería de red aumentó de 62,27% en 2001 a 66,09% en 2012; la cobertura del servicio de energía eléctrica aumentó de 64,38% en 2001 a 78,18% en 2012. El porcentaje de viviendas que disponen de servicio sanitario pasó de 63,69% en 2001 a 69,92% en 2012.

En 56,07% de las viviendas que disponen de servicio sanitario, este es usado solamente por los habitantes de la vivienda. En el resto, el uso es compartido con habitantes de otras viviendas. El 56,39% tiene desagüe a alcantarillado, 31,16% pozos ciegos, y 11,71% cámaras sépticas.

Tratamiento de residuos sólidos

La eliminación de los desechos sólidos es fundamental para asegurar un ambiente saludable a la población. En un total de 2.812.715 de viviendas particulares con ocupantes presentes, se observa que 344.291 depositan en el basurero público o contenedor, 1.247.265 utilizan el servicio público de recolección, 205.955 botan en un terreno baldío o en la calle, 199.861 la botan al río. 660 304 la queman, 115.751 la entierran, y 39.288 desechan la basura de otras formas.

Tecnologías de información y Comunicación (TIC)

El 74.73% del total de viviendas particulares con ocupantes presentes tiene

aparato de radio, 67,24% televisión y 23,36% computadora. En cuanto a los bienes relacionados con la telefonía, 71,59% cuenta con servicio de telefonía fija o celular. Los departamentos de Santa Cruz, Tarija, La Paz y Cochabamba presentan los mayores niveles de acceso a TIC en las viviendas particulares. (116)

2.3.2. Departamento de Chuquisaca

Fue creado el 23 de enero de 1826, durante el gobierno del Mariscal Antonio José de Sucre. Está situado al sur del Estado Plurinacional de Bolivia. Limita al Norte con el departamento de Cochabamba, al Sur con el departamento de Tarija, al Este con el departamento de Santa Cruz y la República del Paraguay y al Oeste con el departamento de Potosí.

2.3.2.1. Sucre

Mientras continúa la investigación en los archivos acerca de la fecha real de fundación de la ciudad de Sucre, las autoridades municipales hacen hincapié que la efeméride se celebrará el 29 de septiembre.

Existen hechos de gran trascendencia, tanto local como continental que tuvieron lugar en esta ciudad y que la fueron convirtiendo, a mediados del siglo XVIII, en una de las más grandes ciudades de América del Sur, la mayor después de Lima. Entre estos hechos cabe destacar la creación de la Real Audiencia de Charcas o de La Plata, con la finalidad de administrar justicia sobre los mineros de la villa Imperial de Potosí y ser un núcleo de resistencia contra los chiriguano y la expansión portuguesa. Asimismo, se produce la fundación, el 27 de marzo de 1624, de la Universidad Mayor de San Francisco Xavier con los títulos de Real y Pontificia.

Las ideas de rebelión existentes desde 1780, junto a las doctrinas filosóficas que se desarrollaron en los claustros de la Universidad Mayor de San Francisco

Xavier, crearon el ambiente propicio para que allí se emitiera el primer grito de libertad, el 25 de mayo de 1809, dando inicio al proceso que culminó con la independencia del continente sud americano.

Otro hecho trascendental ocurrido en Chuquisaca, se produce el 6 de agosto de 1825. Después de 16 años de cruenta lucha, se firma el Acta de la independencia y se crea la República de Bolívar. Posteriormente, en la Asamblea del 10 de agosto de 1825, se aprobó la nueva denominación de República de Bolivia, a propuesta del diputado del departamento de Potosí, Presbítero Manuel Martín Cruz.

La ciudad, que había sido construida sobre el tolderio de los Charcas, con el nombre de La Plata, y que posteriormente había recibido la denominación de Chuquisaca, pasó a llamarse Sucre en homenaje al Mariscal Antonio José de Sucre, siendo declarada Capital de la República de Bolivia. De esta forma, comenzó a ser conocida como la "Ciudad de los Cuatro Nombres". Su trazado se basa en manzanas cuadradas y calles rectas en torno a la plaza mayor, característica propia de las ciudades españolas en América. Se encuentra dominada por la arquitectura propia de la época colonial: casas con techo de tejas, patios con fuentes centrales y pórticos labrados. Por estar pintada con cal, también se la conoce como la "Ciudad Blanca".

La Casa de la Libertad, construida en 1621, fue sede del Congreso Nacional desde 1825 hasta 1899. En ella se encuentra el Salón de la Independencia, donde se reunió el primer Congreso Constituyente de la Nación y se firmó el Acta de la independencia del País. Entre otras construcciones se destaca el Palacio Arzobispal, construido en 1609; la Catedral Metropolitana, iniciada en 1559; numerosas iglesias y conventos edificados durante la Colonia y la Biblioteca Nacional, que cuenta con recursos documentales exclusivos publicados desde 1492, y más de 100.000 volúmenes; y el Archivo Nacional que cuenta con documentos inéditos desde 1546 hasta la fecha, conservados en más de 2.000 metros lineales de archivo. (117)

2.3.2.2. Caja Nacional de Salud

La Caja Nacional de Salud (CNS), inicia sus actividades como Caja Nacional de Seguridad Social (CNSS), etapa que abarca de diciembre de 1956 hasta marzo de 1987 y comprende la promulgación del Código de Seguridad Social en fecha 14 de diciembre de 1956 y la de su Decreto Reglamentario o Reglamento del Código de Seguridad Social el 30 de septiembre de 1959. En esta etapa están comprendidos el Decreto Ley de Racionalización de Aportes de 28 de marzo de 1972, el Decreto Ley de Reformas al Código de Seguridad Social y el Decreto Ley de complementación de Reformas de 3 de junio de 1977.

La promulgación del Código de Seguridad Social significó un avance de la seguridad social boliviana con relación a los demás países latinoamericanos. Sin embargo, desde su inicio la administración de los seguros establecidos en el citado código no cumplió con el principio de unidad de gestión, por cuanto se encargó la gestión del seguro social obligatorio Integral, con más de 89% de asegurados activos y pasivos, pertenecientes a la mayoría de las ramas de la actividad económica.

Las prestaciones señaladas en el Código de Seguridad Social comprendían los regímenes de enfermedad, maternidad, riesgos profesionales, invalidez, vejez, muerte y el régimen especial de asignaciones familiares.

Después de 30 años de administración integral del seguro social, el 15 de abril de 1987 se promulga la Ley Financial 0924, que en su artículo tercero afecta a los esquemas administrativo y financiero del sistema de seguridad social, procediéndose a la separación de los seguros, administrados integralmente hasta ese entonces, dejándose a las cajas la administración de los seguros a corto plazo: Enfermedad, Maternidad y Riesgos profesionales a corto plazo y a los Fondos complementarios la administración de las prestaciones a largo plazo: invalidez, vejez y muerte, aspectos que son ratificados por su Decreto Reglamentario No 21637 del 25 de junio de 1987.

En consecuencia, la Caja Nacional de Seguridad social que hasta marzo de 1987 administraba el seguro integral, se convierte en Caja Nacional de Salud, institución descentralizada de derecho público sin fines de lucro, con personalidad jurídica, autonomía de gestión y patrimonio independiente, encargada de la gestión aplicación y ejecución del régimen de seguridad social a corto plazo: enfermedad, maternidad y riesgos profesionales.

Misión

La misión de la Caja Nacional de Salud a través de sus Administraciones Regionales y Agencias Distritales es brindar protección integral en el campo de la salud a toda la población protegida, como parte activa y componente de la población boliviana. Se rige por los principios de Universalidad, Solidaridad, Unidad de Gestión, Economía, Oportunidad y Eficacia en el otorgamiento de las prestaciones de salud, optimizando el uso de recursos y buscando ampliar el nivel de cobertura.

Visión

La Caja Nacional de Salud busca mantener el liderazgo nacional en la provisión de seguros de corto plazo, con efectividad, equidad y calidad probada.

2.3.2.3. Hospital Jaime Mendoza

Ubicado en la ciudad de Sucre Bolivia calle el Villar No 1, el Hospital Jaime Mendoza fue creado el 25 de mayo de 1976 durante la Presidencia del General Hugo Banzer Suarez, destinado a la atención de 70.000 asegurados en las especialidades de Cirugía, Medicina interna y Pediatría, posteriormente se implementaron los servicios de Maternidad, Ginecología y Obstetricia, más tarde Terapia intensiva, Tomografía axial computarizada, Traumatología, Emergencia, Unidad de Terapia Intensiva, etc. (118)

Dr. Jaime Mendoza Paz

El médico poeta, músico, escritor y geopolítico, Jaime Mendoza vivió entre 1874 y 1939. Nació en Sucre el 25 de julio de 1874 y murió en la misma ciudad en 26 de enero de 1939.

Una vez concluido sus estudios médicos y graduado, el 2 de julio de 1901, se trasladó a los hospitales mineros de Uncía y Llallagua, atendiendo a los míseros mineros y murió en vida por tuberculosis, la pobreza y la ignorancia. Su labor filantrópica lo llevó a fundar las primeras escuelas, hospitales y centros deportivos de sana diversión para combatir el alcoholismo endémico que imperaba en los centros mineros. En 1903 participó en la penosa campaña del Acre. Luego de una visita por Europa en 1914, ejerció la cátedra en Patología General e interna, Medicina legal y psiquiatría en la Facultad de Medicina, y en Derecho Medicina Legal en Sucre. En 1925 fue director de Hospital Psiquiátrico Gregorio Pacheco. Fue rector de la Universidad Mayor de San Francisco Xavier. En 1931 ejerció en cargo de Diputado y luego senados de la República representando al Departamento de Chuquisaca y por último candidato a la Presidencia de la República. Entre sus obras se destacan: Trípode psíquico, Apuntes de un Médico, etc. Entre sus famosas obras literarias están: "En las tierras del Potosí", "Tiahuanaco", "El toque del silencio", "La tragedia del Chaco", la "Rosa de oro", etc. (119)

Población hospitalizada

Según datos del registro de la oficina de unidad sanitaria de la Caja Nacional de Salud Hospital Jaime Mendoza en la gestión 2017 se contabilizaron a nivel hospital 12471 pacientes que egresaron de este centro hospitalario 384 transferencias, con 2640 pacientes en medicina interna, 687 cardiopulmonar, 1481 cirugía general, 633 ginecología, 924 obstetricia, 183 terapia intensiva, 603 pediatría, 927 neonatología, 3859 hemodiálisis, 534 traumatología. (120)

Personal de salud

El Hospital Jaime Mendoza cuenta con 52 médicos, 49 licenciadas en enfermería, y 57 auxiliares de enfermería, distribuidas en todos los servicios, en horarios diurno, y nocturno, que se encuentran encargados de la atención de pacientes hospitalizados como ambulatorios. (121)

Capacidad de internación

Actualmente el Hospital Jaime Mendoza cuenta con 164 camas destinadas a aquellos pacientes que requieran hospitalización. Las mismas están distribuidas de la siguiente manera: Medicina interna 56, Cirugía 21, Neonatología 12, Pediatra 18, Traumatología 23, Hemodiálisis 6, Ginecología 9, Obstetricia 15, y para la Unidad de Terapia intensiva con 4 camas.

2.3.2.4. Facultad de Farmacia y Bioquímica

La Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, fue creada el 10 de Noviembre de 1838, cumplió 177 años de vida Institucional y cobija a la Carrera de Biología con 2 años al servicio de la juventud que busca profesionalizarse. En conmemoración a un nuevo aniversario el Decanato organizó por vez primera un acto académico, en el que se presentaron resultados de las gestiones 2015 y logros para la Unidad Académica; asimismo, se distinguió con certificaciones a docentes meritorios, a ex autoridades (decanos), docentes en ejercicio y los mejores estudiantes de cada Carrera. Los laboratorios de enseñanza universitarias se encuentran en el instituto Luis Adam Briancon, ubicado en la calle Dalence No 235. (122)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque, tipo y diseño de investigación

3.1.1. Enfoque

Se realizó un estudio con un enfoque cuantitativo, por el cual se estableció la prevalencia y factores de riesgo asociados a colonización intestinal de *enterococos* resistentes a vancomicina (ERV), realizando su aislamiento e identificación fenotípica y un perfil de susceptibilidad de este microorganismo a la Vancomicina así como a diferentes antimicrobianos.

3.1.2. Tipo y diseño de investigación

La presente investigación es de tipo observacional, transversal, descriptiva y analítica.

- **Observacional** porque no existió manipulación de variables en el proceso de la investigación.
- **Transversal** porque se realizó en un período de tiempo desde Agosto a Octubre de la gestión 2018, que permitió realizar la revisión bibliográfica, la toma de muestra, procesamiento, realizar las pruebas de identificación, diferenciación y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, para determinar la prevalencia de con factores de riesgo de portadores de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de medicina interna del hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud Agosto a octubre del 2018.
- **Descriptivo** porque se determinó la prevalencia de portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de medicina interna del hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud. Agosto a octubre del 2018, de la ciudad de Sucre.
- **Analítico** porque se analizó los factores de riesgo asociados y la portación con *enterococos* intestinales resistentes a la vancomicina (ERV) y las

posibles relaciones estadísticas entre las variables de estudio dependiente e independiente.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

La población o universo de estudio en el Servicio de Medicina Interna en la gestión 2017 fue de 2640 pacientes.

3.2.2. Muestra

La muestra se calculó con la ecuación para población finita.

$$n = \frac{Z^2 * p * q * N}{d^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Dónde:

N = 2640 Pacientes

Z = 1,96

p = 16,9

q = 100 – 16,9 = 83,1

d = 5%

Este mismo cálculo realizado manualmente utilizando los procedimientos indicados, fue efectuado haciendo uso informático del “Programa de Análisis Epidemiológico” EPIDAT versión 3.0

Tamaño poblacional:	2640
Proporción esperada :	16,900%
Nivel de confianza:	95,0%
Efecto de diseño:	1,0

Precisión (%)	Tamaño de muestra
-----	-----
5,000	200

n = 200 Pacientes

3.3. Variables de estudio

3.3.1. Identificación de variables

Independientes

- Edad
- Sexo
- Tiempo de Internación

Dependientes

- Pacientes portadores de *enterococos* intestinales

3.3.2. Diagrama de variables

Objetivos	Variabes	Definición conceptual	Definición operacional	Categorías	Instrumentación
Objetivo General					
Establecer la prevalencia y factores de riesgo asociados en portadores de <i>enterococos</i> intestinales resistentes a vancomicina (erv) en pacientes de medicina interna del hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud Agosto a octubre del 2018.	Prevalencia de Portación	Número de Individuos que son hospederos de algún microorganismo	Cantidad de personas que pueden llevar en su organismo algún microorganismo patógeno	Portador - Si - No	Hoja de Registro
Objetivos Específicos					
Determinar según edad la mayor portación de <i>enterococos</i> intestinales resistentes a vancomicina (erv) en pacientes de medicina interna.	Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Años de vida de hombres y mujeres	- 11 - 20 - 21 - 30 - 31 - 40 - 41 - 50 - 51 - 60 - 61 - 70 - 71 - 80 - 81 - 90 - > 90	Encuesta Hoja de Registro
Establecer la prevalencia de portación de <i>enterococos</i> intestinales resistentes a vancomicina (erv) según sexo en pacientes de medicina interna.	Sexo	Característica biológica que diferencia masculino y femenino	Características biológicas	- Hombre - Mujer	Encuesta Hoja de Registro

Objetivos	VARIABLES	Definición conceptual	Definición operacional	Categorías	Instrumentación
Estimar la portación de <i>enterococos</i> intestinales resistentes a vancomicina (erv) según tiempo de hospitalización en pacientes de medicina interna.	Tiempo de Hospitalización	Período de permanencia de un paciente en un área hospitalaria	Tiempo de permanencia en Servicio Hospitalario	- 0 - 5 días - 6 - 10 días - 11 - 15 días - >15 días.	Encuesta Hoja de Registro
Determinar la existencia de cepas de <i>enterococos</i> intestinales resistentes (ERV) a través de pruebas de susceptibilidad a la Vancomicina.	Prueba de susceptibilidad a la Vancomicina.	Grado de respuesta del microorganismo en estudio frente a vancomicina	Formación de halos de inhibición, en el crecimiento de un microorganismo frente a un disco con antimicrobiano	Medición de halos - Resistente - Intermedio - Sensible	Hoja de Registro
Establecer el perfil de susceptibilidad de <i>enterococos</i> intestinales a diferentes antimicrobianos.	Perfil de Susceptibilidad	Grado de respuesta del microorganismo en estudio a diferentes antimicrobianos	Formación de halos de inhibición, en el crecimiento de un microorganismo frente a diferentes antimicrobianos	Halos de Inhibición frente a - Vancomicina - Ampicilina - Eritromicina - Teicoplanina - Cloranfenicol - Linezolid	Hoja de Registro

3.4. Criterios de inclusión y exclusión

3.4.1. Criterios de inclusión

Pacientes internados en el hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud que ingresaron al Servicio de Medicina Interna entre los meses de agosto a octubre del 2018 y que cuenten con el consentimiento informado y la aceptación del paciente para participar del estudio (Anexo N° 1).

3.4.2. Criterios de exclusión

Pacientes internados en el hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud que ingresen al Servicio de Medicina Interna entre los meses agosto a octubre que estén cursando tratamiento antibiótico con Vancomicina.

Se excluyó a pacientes que no estuvieron de acuerdo con el estudio.

3.5. Procedimientos para la recolección de la información

3.5.1. Fuente de recolección de la información

La información fue de fuente primaria ya que los datos que se obtuvieron fueron recolectados de manera directa por medio de una encuesta, y por procedimientos microbiológicos de la población en estudio, de diferentes edades, sexo y tiempo de hospitalización.

3.5.2. Instrumentos de recolección de información

Encuesta. La recolección de datos se realizó a través, de una encuesta, que contenía toda la información necesaria para responder a los objetivos propuestos en la presente investigación (Anexo N° 2). Esta herramienta tuvo siguientes variables:

- Edad.
- Sexo.
- Tiempo de hospitalización.

Hoja de registro. Todos los datos recolectados de la encuesta y los resultados de las pruebas de laboratorio (Anexo N° 3) fueron ingresados en una hoja de registro que posteriormente se lo transfirió a una base de datos previamente codificada.

3.5.3. Procedimiento y técnicas. (Anexo N° 4)

A. Toma de muestra

Posterior a la explicación por parte del responsable del estudio y firma del consentimiento informado se procedió a la recolección de la muestra para su procesamiento.

Materiales:

- Hisopos estériles
- Frascos estériles para materia fecal
- Tubo de hemólisis conteniendo un medio de enriquecimiento estéril infusión Cerebro Corazón BHI (Infusion Brain Heart) enriquecido con ClNa.
- Gradillas.

Procedimiento:

- Se instruyó al paciente objeto de estudio a tomar una posición cómoda para la toma de muestra.
- Se introdujo cuidadosamente en la región del esfínter anal (1-5 cm humedecido en caldo de enriquecimiento BHI), realizando movimientos rotativos en la mucosa anal, teniendo cuidado de no entrar en contacto con la piel y contaminar el hisopo con la microbiota normal de la piel.
- Una vez obtenida la muestra se procedió a cultivar en Enterococcosel en enriquecido con 8 µg de vancomicina (Becton Dickinson).
- Se introdujo el hisopo en el medio de enriquecimiento para ser incubado 24 horas a 37 °C. Para su posterior resiembra en Enterococcosel el enriquecido con 8 µg de vancomicina (Becton Dickinson).
- En l pacientes que no aceptaron la toma de muestra por hisopado anal se les proporciono un frasco estéril para recolectar materia fecal y proceder a la inmediata siembra en Enterococcosel el enriquecido con 8 µg de vancomicina (Becton Dickinson). Además de introducir una azada de materia fecal en Cerebro Corazón BHI (Infusion Brain Heart) enriquecido con NaCl al 6.5%, para su posterior resiembra en Enterococcosel enriquecido con 8 µg de vancomicina (Becton Dickinson).

B. Cultivo Agar Enterococcosel (Becton Dickinson)**Equipos:**

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador a 2-8 °C

Materiales:

- Asa bacteriológica o hisopo sumergido en el medio de enriquecimiento BHI
- Mechero o quemador Bunsen

Reactivos:

- Medio selectivo: Agar Enterococcosel el enriquecido con 8 µg de vancomicina (Becton Dickinson).

Procedimiento:

- Con el asa bacteriológica o el hisopo embebido en el medio de enriquecimiento se realizó la siembra en la placa de agar Enterococcosel el con la técnica de estriamiento.
- Incubar a 35 °C por 24 horas, en ambiente de aerobiosis

Resultados:

- Posterior a las 24 horas de incubación en el agar Enterococcosel el, se procede a la observación de las colonias, identificando a las colonias pequeñas, translúcidas, colonias de color beige, halos de color negro intenso con zonas de color marrón oscuro a negro para *enterococos*, y Grandes, blancos, opacos para *Estafilococos*, Grandes, blancos, grisáceos para *Micrococos*, Pequeños a grandes, blancos para *Cándida*.

C. Tinción de Gram**Equipos:**

- Microscopio de luz
- Mechero o quemador Bunsen

Materiales:

- Portaobjetos
- Hilo bacteriológico
- Solución fisiológica 0,9%
- Lápiz graso
- Aceite de inmersión

Procedimiento:

- En un portaobjeto se colocó una pequeña gota de solución fisiológica

sobre éste y con el hilo de siembra depositó una pequeña porción de la colonia sospechosa, se dejó seco y fijó en la llama.

- Se realizó la tinción utilizando la batería de Gram.
- Posterior al secado, se observó al microscopio con el objetivo de inmersión 100x.

Resultados:

- Positivo. Observación de células esféricas Grampositivas dispuestas forma de pares o de cadenas cortas, propias del género *Enterococcus*
- Negativo. Observación de otras formas celulares.

D. Prueba de la Catalasa

Prueba en portaobjetos

Equipos:

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador de 2-8 °C
- Mechero

Materiales:

- Portaobjetos
- Asa bacteriológica

Reactivos:

- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Solución fisiológica 0,09%

Procedimiento:

- Colocar una gota de peróxido en el portaobjetos limpio y seco
- Con un asa o hilo bacteriológico emulsionar una porción de la colonia aislada a probar en cada gota, primero en el agua o solución fisiológica. homogeneizar
- Realizar movimientos suaves en el portaobjeto por 5 a 10 segundos

Resultados:

- Positivo: formación de burbujeo en 10 segundos
- Negativo: no hay formación de burbujeo.

E. Hidrolisis de la Esculina

Equipos:

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador de 2-8 °C
- Autoclave

Materiales:

- Asa bacteriológica
- Mechero

Reactivos:

- Placas de Agar bilis esculina. Liofilchem

Procedimiento:

- Se sembraron las colonias sospechosas directamente Enterococcusel (Becton Dickinson) tras la incubación por 24 horas a 35 °C al tubo de Agar bilis esculina. por el método de estriamiento
- Se incubó a 35 °C por el lapso de 24 a 48 horas en medio de aerobiosis
- Se verificó a diario la formación de desarrollo

Resultados:

- Positivo. Se observa un oscurecimiento u ennegrecimiento del medio de cultivo, con cambio de color del medio de beige a negro.
- Negativo. Crecimiento de colonias blancas y ningún cambio de color del medio.

F. Kit de análisis enzimático en látex ImmuLex™

Equipos:

- Estufa de incubación a 35° C
- Refrigerador de 2-8° C
- Baño maría (37 °C)

Materiales:

- Mechero
- Asa o aguja de inoculación

- Pipetas de Pasteur
- Tubos de ensayo de 12 x 75 mm
- Cronómetro

Reactivos:

- ImmuLex™ prueba Streptococcus
- Suspensiones de látex con antisuero del grupo D
- Reactivo de extracción 1 (tapón rojo)
- Reactivo de extracción 2 (tapón amarillo)
- Reactivo de neutralización 3 (tapón azul)

Procedimiento:

- No realice más de tres reacciones simultáneamente antes de leer el resultado.
- Antes de utilizar el reactivo de látex es muy importante que las botellas estén a temperatura ambiente y las agite.
- Añada una gota de reactivo 1 (tapón rojo) en un tubo.
- Suspenda 1 μL de cultivo de bacterias en un asa bacteriológica de una placa de agar sangre de 5 - 10 % en reactivo 1 en un tubo.
- Añada una gota de reactivo 2 (tapón amarillo) en el tubo y mezcle.
- Espere 10 minutos como mínimo (60 minutos como máximo).
- Añada una gota de reactivo 3 (tapón azul) en el tubo y mezcle.
- Añada una gota de reactivo de látex por cada reacción en la tarjeta de prueba (aproximadamente 10 μL , apriete la botella con cuidado),
- Por cada reacción, añada 10 μL de extracto bacteriológico en la tarjeta de prueba. Para un control negativo utilice una mezcla de una gota de reactivo 1, 2 y 3 respectivamente.
- Mezcle la gota de látex y la gota de extracto bacteriológico con la varilla de mezcla. Utilice varillas diferentes para cada una de las reacciones.
- Extienda hasta abarcar el área del círculo.
- Balancee la tarjeta lentamente y observe si se produce aglutinación en 30 segundos. Cualquier aglutinación que se produzca una vez transcurridos más de 30 segundos, no será una reacción positiva.

Resultados:

- Un resultado positivo en uno de los reactivos de látex identifica el grupo.
- El grupo D de antígeno es conocido por su reacción cruzada y por ello puede darse más de una reacción positiva, pero si hay una reacción positiva en el producto de látex del grupo D, la cepa es un estreptococo del grupo D o una especie de *enterococos* (la cual tiene un antígeno del grupo D).
- El producto de látex del grupo D se ha desarrollado para identificar las siguientes especies: *S. alactolyticus*, *S. bovis*, *S. durans*, *S. hazem*, *S. gallolyticus*, *S. equinus*, *E. faecium* and *E. faecalis*.

G. ChromID™ VRE Agar**Equipos:**

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador de 2-8 °C
- Autoclave

Materiales:

- Asa bacteriológica
- Mechero

Reactivos:

- Placas de agar ChromID™ VRE

Procedimiento:

- No debe exponerse el medio a la luz, excepto durante la inoculación y etapas de lectura.
- Permitir que las placas alcancen la temperatura ambiente en oscuridad.
- Sembrar la muestra: Bien sea directamente sobre el Agar chromID™ VRE - o tras el enriquecimiento (18-24 horas a 37 °C) en Caldo Cerebro-Corazón que contenga 3,3 mg/l de vancomicina (concentración obtenida mediante la adición de 30 µg de discos de vancomicina).
- Procesar en la estufa, con la tapa hacia abajo, a 37 °C en condiciones aeróbicas, en oscuridad. Los cultivos se examinan generalmente tras 24

horas de incubación.

- En caso de un resultado negativo (ausencia de crecimiento o color), se debe dejar el medio en la estufa durante otras 24 horas.

Resultados:

- Después de la incubación, observar el crecimiento bacteriano y el color de las colonias aisladas. Las colonias características de *E. faecium* y *E. faecalis* con resistencia adquirida a la vancomicina (VRE) son:
 - ✓ Un color violeta: especies de *E. faecium*
 - ✓ Un color verde azulado: especies de *E. faecalis*
- Las colonias incoloras o las de otro color no corresponden a VRE. En cualquier caso, hay que confirmar el carácter cocos Gram + de las colonias que presentan una tinción característica.

H. Movilidad y producción de pigmento

Equipos:

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador de 2-8 °C
- Autoclave

Materiales:

- Asa bacteriológica
- Mechero

Reactivos:

- Tubos con medio MIO. Liofilchem

Procedimiento:

- Se sembró directamente del medio de enriquecimiento tras la incubación por 24 horas a 35° C al tubo de Agar bilis esculina. por el método de picada en un ángulo de 90 grados.
- Se incubó a 35° C por el lapso de 24 a 48 horas en medio de aerobiosis
- Se verificó a diario la formación de desarrollo

Resultados:

- Se observó la motilidad y el color del medio de cultivo.

- ✓ Positivo. Presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra. *E. casseliflavus* se presenta pigmentado en un tono amarillo.
- ✓ Negativo. Crecimiento solamente en la línea de siembra.

I. Discos de O.N.P.G (liofilchem)

Equipos:

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador a 2-8 °C
- Autoclave

Materiales:

- Mechero Bunsen
- Asa bacteriológica
- Pinza anatómica
- Hisopos de algodón
- Gradillas
- Tubos de vidrio

Reactivos:

- Tubos con sustrato orto-nitrofenilgalactopiranosido (O.N.P.G.) liofilchem deshidratado
- Solución salina 0,9% estéril

Procedimiento:

- Se retira el empaque del refrigerador, tome uno o más tubos y déjelos en el banco por unos minutos hasta que se alcance la temperatura ambiente.
- Se agrega 0.2 mL de solución fisiológica a los tubos
- Con un asa bacteriológica estéril, suspenda una colonia bacteriana de incubación bien aislada de 24 horas del medio de cultivo del tubo.
- Cultivo selectivo o no selectivo que contiene lactosa.
- Luego en segundo tubo y se agrega 0.2 ml de solución fisiológica este tubo no se siembra para un control negativo
- Se incuban los dos tubos a 36 ± 1 °C durante 4 horas hasta un máximo de 24 horas. Incubación antes de descartar una reacción como negativa.

Interpretación de resultados:

- Observar el color del disco de O.N.P.G y/o de la suspensión.
 - ✓ Positivo: color amarillo.
 - *Enterococcus faecium*: Positivo.
 - *Enterococcus gallinarum*: Positivo.
 - *Enterococcus casseliflavus*: Positivo
 - ✓ Negativo: ausencia de color amarillo.
 - *Enterococcus faecalis*: Negativo

J. Perfil de susceptibilidad.

Equipos:

- Estufa de incubación a 35 °C
- Refrigerador a 2-8 °C
- Autoclave

Materiales:

- Mechero Bunsen
- Asa bacteriológica
- Regla o calibre
- Pinza anatómica
- Hisopos de algodón
- Gradillas

Reactivos:

- Microorganismo aislado en medio de enriquecimiento
- Sensidiscos de Ampicilina Eritromicina Tetraciclina Cloranfenicol Linezolid Teicoplanina. Britania
- Escala 0,5 de McFarland o $1,5 \times 10^8$ UFC/mL
- Solución salina 0,9% estéril
- Placas de agar Müller Hinton de 4mm. Britania

Procedimiento:

- Preparación del inóculo
 - ✓ Método de crecimiento previo. Seleccionar colonias de la misma

morfología, tocando la parte superior de cada colonia con un asa, transferir las colonias a un tubo que contenga caldo BHI, incubar a 35° C durante 24 horas, luego estandarizar el inóculo con la solución fisiológica hasta alcanzar el grado de turbidez con la escala 0,5 de McFarland, se realizó la siembra en el medio de cultivo.

- ✓ Método de suspensión directa. Seleccionar colonias de la misma morfología, tocando la parte superior de dicha colonia con el asa, transferir las colonias directamente en la solución fisiológica, comparar el grado de turbidez con la escala 0,5 de McFarland e inmediatamente sembrar en el medio de cultivo.
- Inoculación en las placas:
 - ✓ Homogeneizar el inóculo, introducir un hisopo estéril en la suspensión, hacer rotar por las paredes del tubo para eliminar el excedente, luego sembrar suavemente en la superficie del medio en tres dimensiones, haciendo girar la caja Petri en un ángulo de 65° esto permitirá la distribución homogénea del inóculo.
- Aplicación de los discos de antimicrobianos:
 - ✓ Sacar los sensidiscos dos horas antes para que adquieran la temperatura ambiente antes de ser utilizados.
 - ✓ Verificar la carga de los discos a utilizar
 - ✓ Con la pinza flameada colocar los discos sobre la superficie del agar, presionando ligeramente sobre el disco para que no se despegue.
 - ✓ La distancia entre disco y disco debe ser de 2,5 cm y de disco al borde de la caja de 2 cm.
 - ✓ Una vez colocado los discos no deben ser removidos, pues inmediatamente difunde el antimicrobiano sobre el agar.
 - ✓ Incubar las placas en forma invertida en la estufa 24 horas a 35°C
- Medida de zonas de inhibición:
 - ✓ Primero se debe verificar el crecimiento uniforme.
 - ✓ Observar zonas de inhibición uniformes y circulares
 - ✓ Con una regla o calibre realizar la medición de los halos de inhibición.
 - ✓ Observar la forma de los halos para detectar mecanismos de

resistencia que estuviera exhibiéndose.

- ✓ Para detectar cepas Vancomicino resistentes, se utiliza los discos de Vancomicina 30 ug, sugerido por CLSI
- Interpretación de resultados:
 - ✓ Los resultados obtenidos se deben llevar a tablas del Clinical and Laboratory Standard Institute CLSI 2018, tomándose en cuenta los siguientes puntos de corte:
 - Ampicilina 10 ug: Susceptible >17 mm; Resistente <16 mm
 - Eritromicina 15 ug: Susceptible >23 mm; intermedio 14-22 mm; Resistente < 13
 - Tetraciclina 30 ug: Susceptible >19 mm; intermedio 15-18 mm; Resistente < 14
 - Cloranfenicol 30ug: Susceptible >18 mm; intermedio 13-17 mm; Resistente < 12
 - Linezolid 30 ug: Susceptible >23 mm; intermedio 21-22 mm; Resistente < 20
 - Teicoplanina 30ug: Susceptible >14 mm; intermedio 11-13 mm; Resistente < 10

Observaciones: La Teicoplanina 30ug: solo se usa para investigación de mecanismo de resistencia. Las cepas intermedias por el método E-test (liofilchem-italia). Para el control de calidad se usan cepas de *E. faecalis* ATCC 29212 como susceptible y *E. faecalis* ATCC 51299 como resistente.

3.6. Procesamiento y análisis de los datos

Toda la información recabada fue registrada en una hoja de Excel, luego se los transfirió a la base de datos del programa estadístico SPSS v25, para su procesamiento estadístico; los resultados fueron presentados en tablas de frecuencia y porcentaje. El análisis de las tablas tetracóricas se realizó con el programa Epidat 3.1 para establecer la relación de la variable dependiente con las independientes. Se utilizó la prueba de Chi cuadrado a un nivel de confianza

del 95% y se considera significancia estadística valores de p menor a 0,05.

3.7. Delimitaciones de la investigación

3.7.1. Delimitación geográfica

El estudio se realizó en el Hospital Jaime Mendoza, ubicado en calle el Villar N° 1, de la ciudad de Sucre, del departamento de Chuquisaca, Bolivia. El procesamiento de muestras se realizó en el Instituto de Biología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, ubicado en la calle Dalence 235.

3.7.2. Sujetos de estudio

Pacientes hospitalizados en el área de medicina Interna del Hospital Jaime Mendoza perteneciente a la Caja Nacional de Salud.

3.7.3. Delimitación temporal

El estudio se realizó en el transcurso de los meses de agosto a octubre de la gestión 2018.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

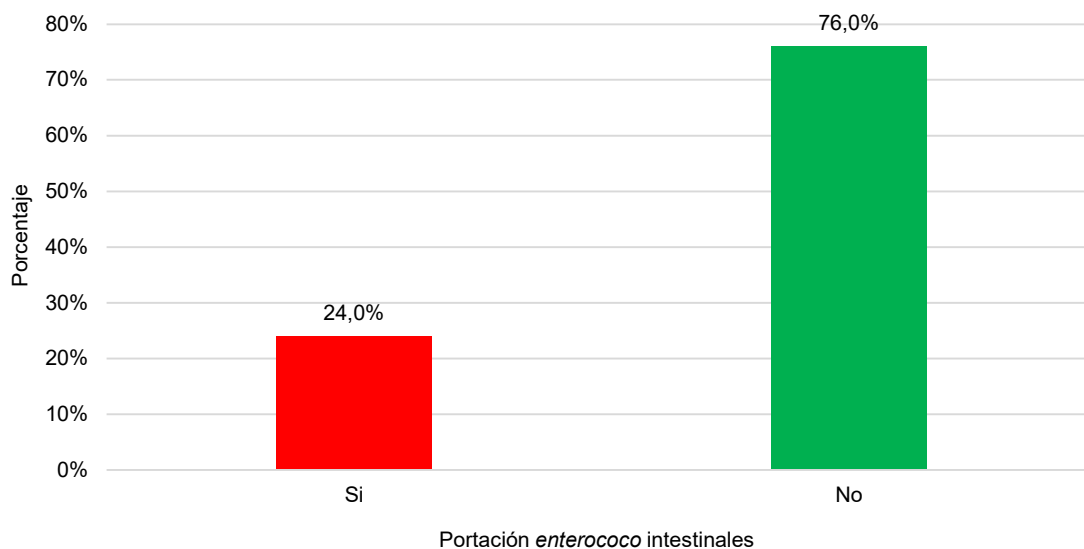
4.1. Resultados descriptivos

Tabla N° 1 Prevalencia de enterococos intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de Medicina Interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud. Agosto a octubre del 2018

Portación <i>Enterococo</i> intestinales	Frecuencia	Porcentaje
Si	48	24,0%
No	152	76,0%
Total	200	100,0%

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 1 Prevalencia de enterococos intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de Medicina Interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud. Agosto a octubre del 2018



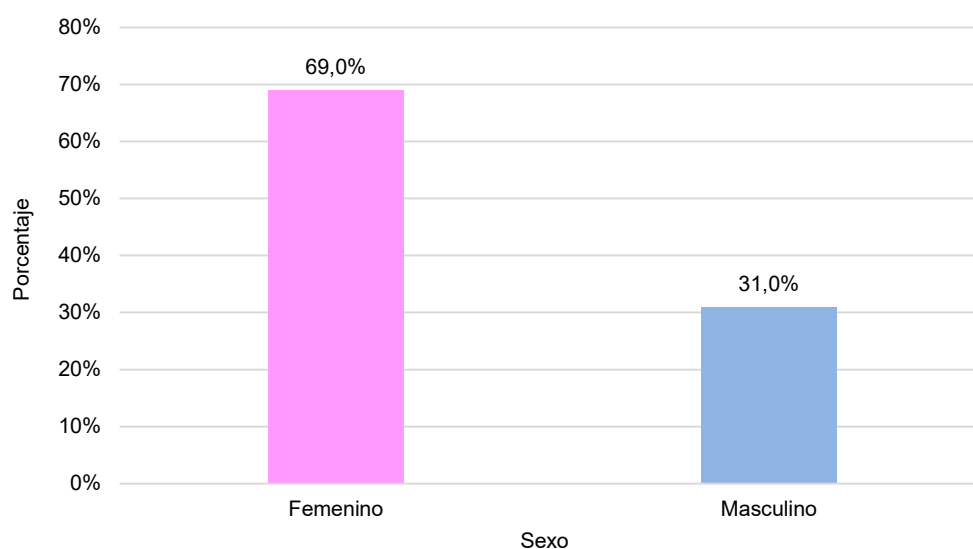
La prevalencia de portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en el servicio de medicina interna del Hospital Jaime Mendoza de la Caja Nacional de Salud de agosto a octubre del 2018 fue de 24,0% de casos positivos en relación al 76,0% de casos negativos.

Tabla N° 2 Distribución de frecuencias de pacientes según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Femenino	138	69,0%
Masculino	62	31,0%
Total	200	100,0%

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 2 Distribución de frecuencias de pacientes según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.



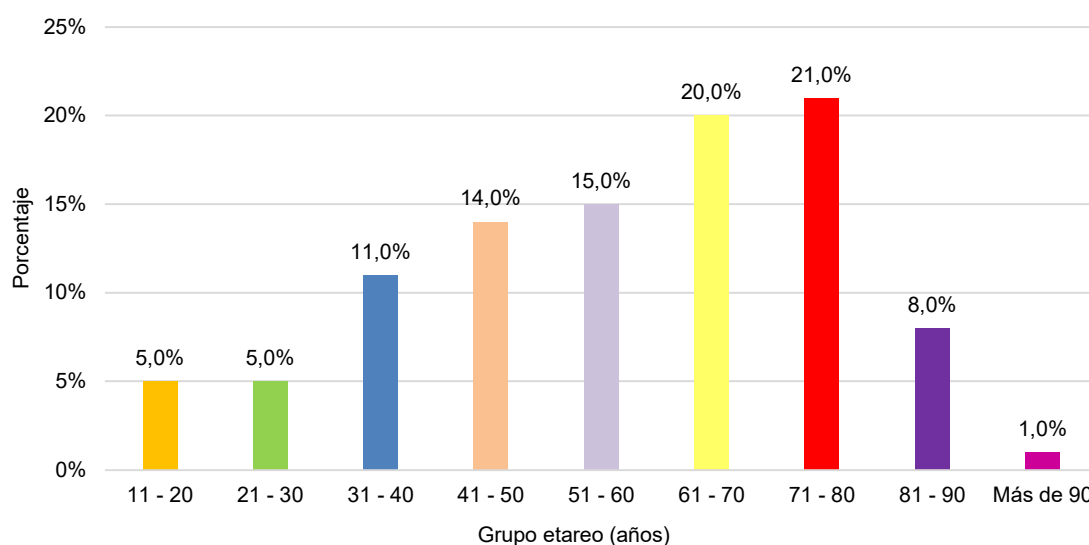
En el estudio de prevalencia y factores de riesgo asociados a la prevención de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en pacientes de medicina interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza Caja Nacional de Salud se identificó una mayor participación del sexo femenino con 69,0% en relación con al sexo masculino de 31,0%.

**Tabla N° 3 Distribución de frecuencias de pacientes según grupo etareo.
Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.**

Grupo etareo	Frecuencia	Porcentaje
11 - 20	10	5,0%
21 - 30	10	5,0%
31 - 40	22	11,0%
41 - 50	28	14,0%
51 - 60	30	15,0%
61 - 70	40	20,0%
71 - 80	42	21,0%
81 - 90	16	8,0%
Más de 90	2	1,0%
Total	200	100,0%

Fuente: Elaboración propia

**Gráfica N° 3 Distribución de frecuencias de pacientes según grupo etareo.
Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.**



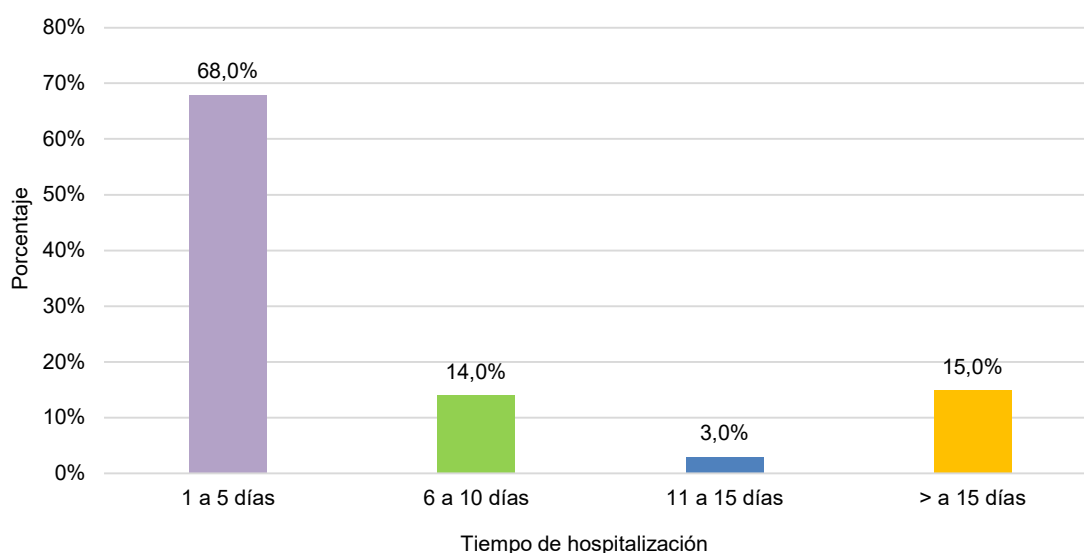
Los grupos etareos de pacientes de medicina interna de portadores de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina es mayor en el grupo etareo de 71 – 80 años con una proporción de 21,0% y en menor porcentaje el grupo etareo de más de 90 años con el 1,0%.

Tabla N° 4 Distribución de frecuencias de pacientes según tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018.

Tiempo de hospitalización	Frecuencia	Porcentaje
1 a 5 días	136	68,0%
6 a 10 días	28	14,0%
11 a 15 días	6	3,0%
> a 15 días	30	15,0%
Total	200	100,0%

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 4 Distribución de frecuencias de pacientes según tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018



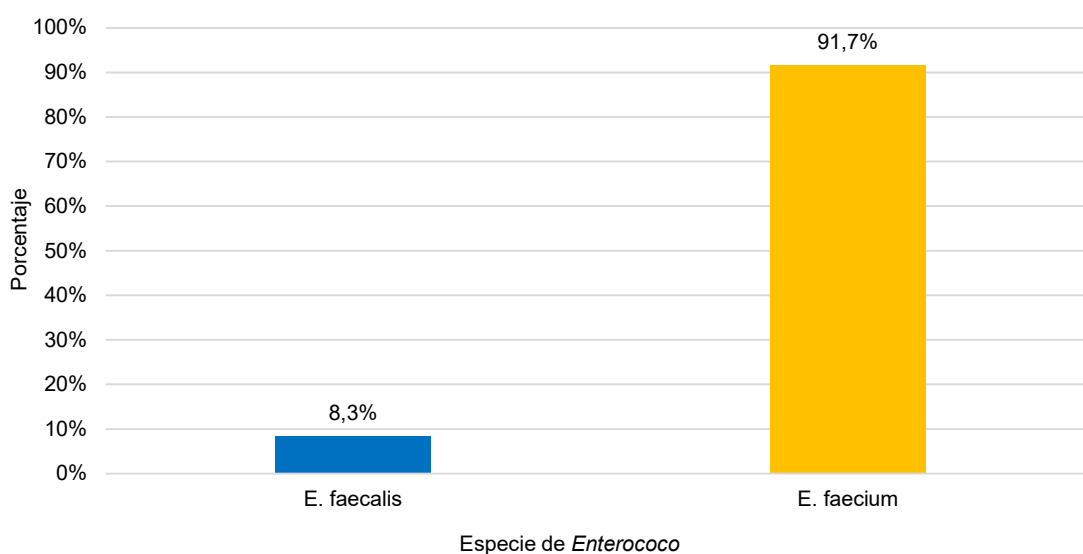
El 68,0% de los pacientes estuvieron hospitalizados en el servicio de medicina interna del Hospital Dr. Jaime Mendoza de la Caja Nacional de Salud entre 1 a 5 días y el 15,0% de estos pacientes hospitalizados estuvieron más de 15 días.

Tabla N° 5 Distribución de frecuencias de pacientes según especie de enterococos. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Especie de Enterococos	Frecuencia	Porcentaje
<i>E. faecalis</i>	4	8,3%
<i>E. faecium</i>	44	91,7%
Total	48	100,0%

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 5 Distribución de frecuencias de pacientes según especie de enterococos. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018



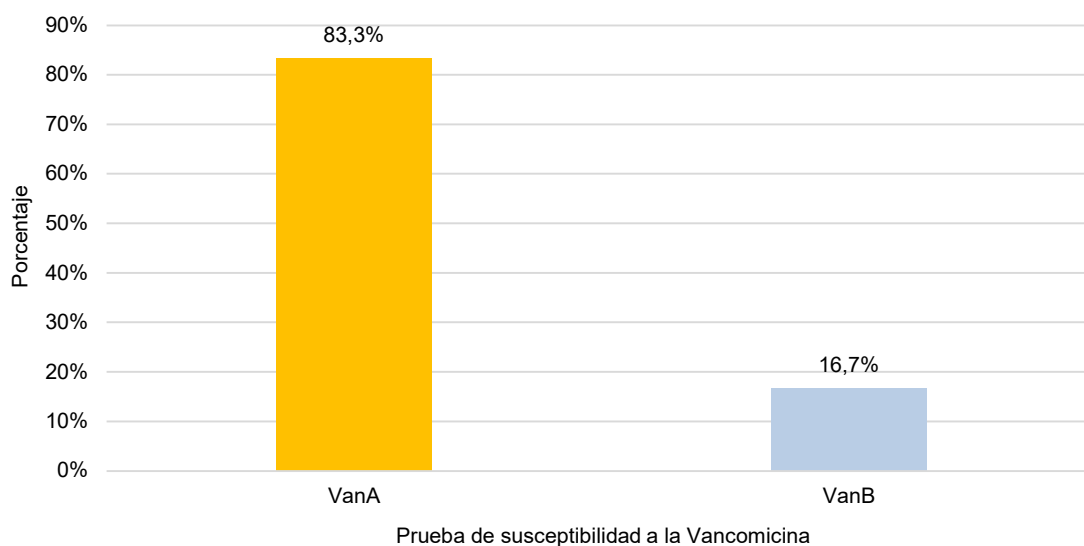
De 48 pacientes internados portadores de *enterococos* intestinales, hospitalizados en el servicio de medicina interna del Hospital Jaime Mendoza de la Caja Nacional de Salud, se identificaron las especies: *E. faecium* con 91,7% y *E. faecalis* con el 8,3%.

Tabla N° 6 Fenotipificación y susceptibilidad a la Vancomicina y Teicoplanina. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Fenotipo	Frecuencia	Porcentaje
VanA	40	83,3%
VanB	8	16,7%
Total	48	24,0%

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 6 Fenotipificación y susceptibilidad a la Vancomicina y Teicoplanina. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018



La fenotipificación y susceptibilidad a la Vancomicina y Teicoplanina en las cepas de enterococos intestinales se identificó el fenotipo VanA con el 83,3% y en menor frecuencia el fenotipo VanB con 16,7%.

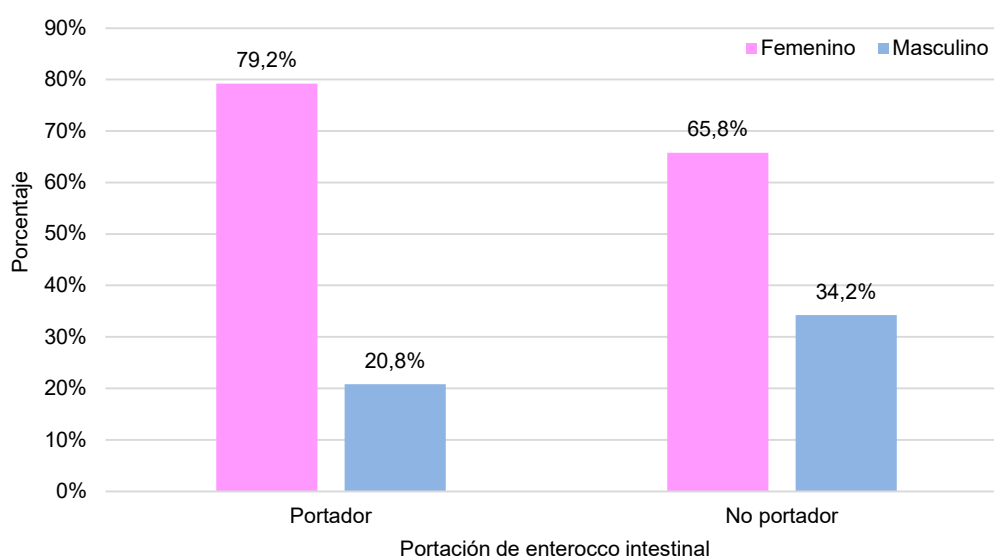
4.2 Relación entre variable dependiente e independiente

Tabla N° 7 Portación de *enterococos* según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Sexo	Portación de enterococos intestinales				Total
	Portador		No portador		
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	
Femenino	38	79,2%	100	65,8%	138
Masculino	10	20,8%	52	34,2%	62
Total	48	100,0%	152	100,0%	200

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 7 Portación de *enterococos* según sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018



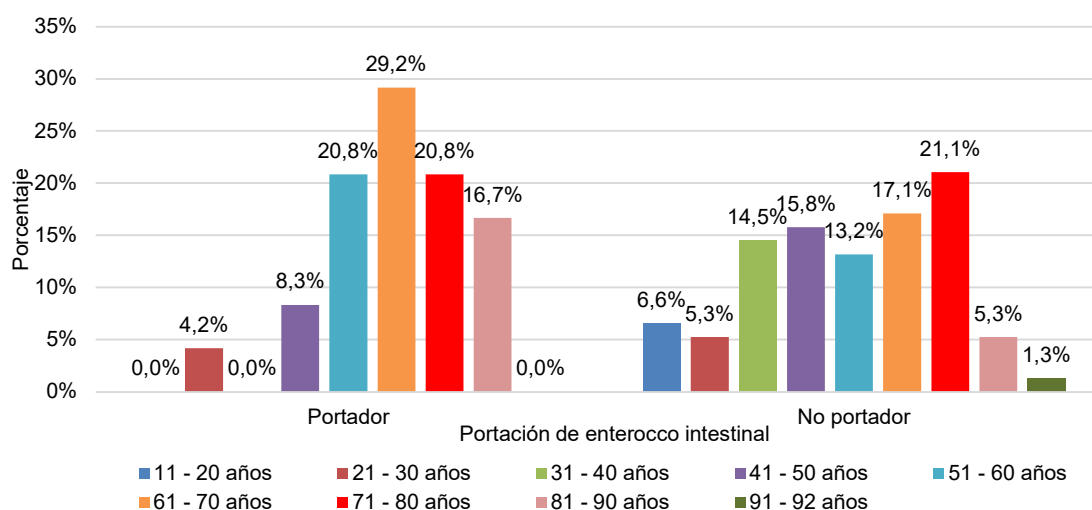
La portación de *enterococos* según sexo presentó una mayor frecuencia en el sexo femenino con 79,2%, similar comportamiento se observa en el grupo de no portadores de *enterococos* intestinales en la población femenina con una frecuencia de 65,8%, las frecuencias más bajas en ambas categorías se registró en el sexo masculino con 20,8% de portadores y 34,2% de no portadores.

Tabla N° 8 Portación de *enterococos* según grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Grupo etareo	Portación de enterococos intestinales				Total
	Portador		No portador		
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	
11 - 20 años	0	0,0%	10	6,6%	10
21 - 30 años	2	4,2%	8	5,3%	10
31 - 40 años	0	0,0%	22	14,5%	22
41 - 50 años	4	8,3%	24	15,8%	28
51 - 60 años	10	20,8%	20	13,2%	30
61 - 70 años	14	29,2%	26	17,1%	40
71 - 80 años	10	20,8%	32	21,1%	42
81 - 90 años	8	16,7%	8	5,3%	16
91 - 92 años	0	0,0%	2	1,3%	2
Total	48	100,0%	152	100,0%	200

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 8 Portación de *enterococos* según grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018



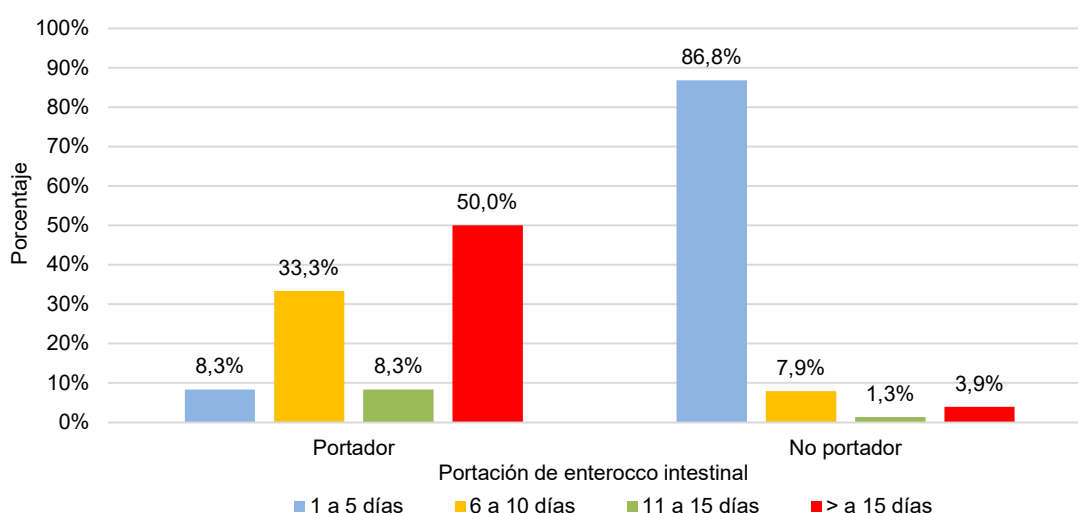
El grupo etareo de mayor portación de *enterococos* intestinales fue el de 61 a 70 años con 29,2% y en menor proporción de portación les correspondió a los grupos etareos de 11 – 20, 31 – 40 y 91 – 92 años con 0,0%. En relación a la no portación, la mayor frecuencia presentó el grupo etareo de 71 a 80 años de edad con 21,1%; el porcentaje más bajo fue de 1,3% correspondiente al grupo etareo de 90 a 92 años.

**Tabla N° 9 Portación de *enterococos* según tiempo de hospitalización.
Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018**

Tiempo de hospitalización	Portación de <i>enterococos</i> intestinales				Total
	Portador		No portador		
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	
1 a 5 días	4	8,3%	132	86,8%	136
6 a 10 días	16	33,3%	12	7,9%	28
11 a 15 días	4	8,3%	2	1,3%	6
> a 15 días	24	50,0%	6	3,9%	30
Total	48	100,0%	152	100,0%	200

Fuente: Elaboración propia

**Gráfica N° 9 Portación de *enterococos* según tiempo de hospitalización.
Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018**



En el grupo de portación de *enterococos* intestinales en relación al tiempo de internación corresponde a pacientes que se encontraban más de 15 días hospitalizados con 50,0%. En el grupo de no portadores de *enterococos* el mayor porcentaje fue de 86,8% de pacientes entre 1 a 5 días hospitalizados.

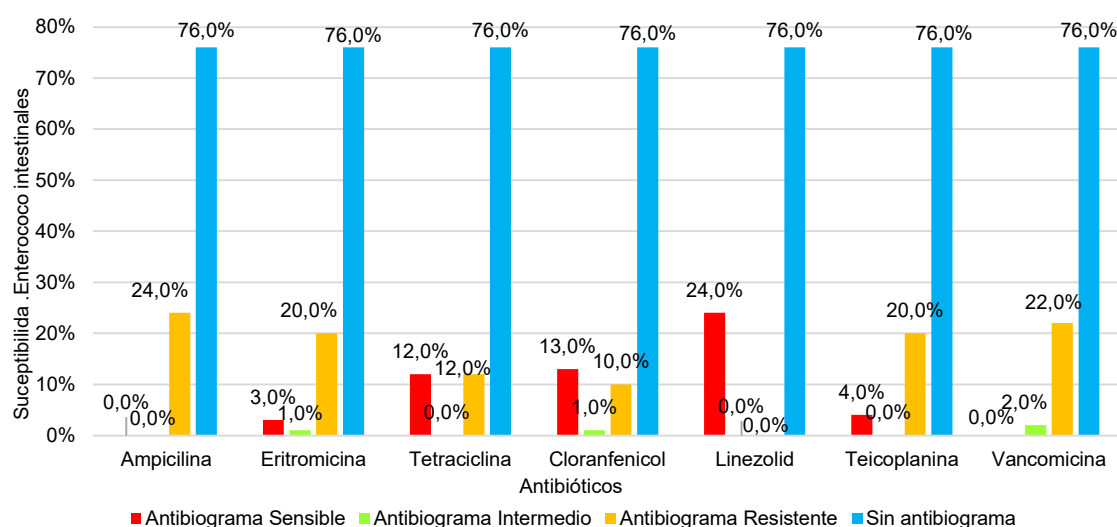
Un dato muy importante encontrado en este estudio es la portación de *Enterococos* resistente a la vancomicina (EVR) en la mitad de los pacientes con mas de 15 días de hospitalización, lo que sugiere una mayor probabilidad de portación (50%) a mayor tiempo de hospitalización.

Tabla N° 10 Perfil susceptibilidad a diferentes antibióticos de *enterococos* intestinales resistente a vancomicina (ERV). Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Antibióticos	Antibiograma						Sin Antibiograma		Total	
	Sensible		Intermedio		Resistente		N°	%	N°	%
	N°	%	N°	%	N°	%				
Ampicilina	0	0,0%	0	0,0%	48	24,0%	152	76,0%	200	100
Eritromicina	6	3,0%	2	1,0%	40	20,0%	152	76,0%	200	100
Tetraciclina	24	12,0%	0	0,0%	24	12,0%	152	76,0%	200	100
Cloranfenicol	26	13,0%	2	1,0%	20	10,0%	152	76,0%	200	100
Linezolid	48	24,0%	0	0,0%	0	0,0%	152	76,0%	200	100
Teicoplanina	8	4,0%	0	0,0%	40	20,0%	152	76,0%	200	100
Vancomicina	0	0,0%	4	2,0%	44	22,0%	152	76,0%	200	100

Fuente: Elaboración propia

Gráfica N° 10 Perfil susceptibilidad a diferentes antibióticos de *enterococos* intestinales resistente a vancomicina (ERV). Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018



Los resultados del perfil susceptibilidad a diferentes antibióticos efectuado a través del antibiograma a los *enterococos* intestinales, establece que de 48 cepas positivas todas son resistentes a la Ampicilina, 40 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina, 20 cepas a Cloranfenicol, 40 cepas a Teicoplanina y 44 cepas a Vancomicina. Son sensibles 6 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina, 26 cepas a Cloranfenicol, 48 cepas a Linezolid y 8 cepas a Teicoplanina. Intermedias resultaron, 2 cepas a Vancomicina, 2 cepas a Eritromicina y 2 cepas a Cloranfenicol.

4.2. Resultados del componente analítico: tablas tetracóricas

Tabla N° 11 Relación entre portación de *enterococos* y sexo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Sexo	Portación <i>Enterococos</i>		Total
	Si	No	
Femenino (Expuestos)	38	100	138
Masculino (No expuestos)	10	52	62
Total	48	152	200
Prevalencia de expuestos	27,5%		
Prevalencia de no expuestos	16,1%		
OR (Odds ratio)	1,976 IC 95% (0,912 – 4,280)		
p (Yates)	0,1169		

Resultados Programa Epidat 3.1

Prevalencia de la enfermedad	Estimación	IC (95,0%)	
En expuestos	0,275362	-	-
En no expuestos	0,161290	-	-
Razón de prevalencias	1,707246	0,910320	3,201831
Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p	
Sin corrección	3,0519	0,0806	
Corrección de Yates	2,4586	0,1169	
Prueba exacta de Fisher		Valor p	
Unilateral		0,0559	
Bilateral		0,1067	

La prevalencia de portación de *enterococos* intestinales según sexo en pacientes de la unidad de medicina interna del Hospital Jaime Mendoza presentó una prevalencia del 27,5% del sexo femenino porcentaje mayor al masculino que fue de 16,1%. El sexo femenino presentó un OR = 1,976 (IC 95% 0,912 – 4,280), probablemente las pacientes femeninas están más expuestas a ser portadores de *Enterococos* intestinales en relación a pacientes masculinos. Al observar los valores de intervalos de confianza esta incluye la unidad y realizada la prueba de Chi cuadrado el valor de $p = 0,1169$ es mayor a 0,05 por lo cual las variables sexo y la portación de *Enterococos* no presenta significancia estadística.

Tabla N° 12 Relación entre portación *enterococos* y grupo etareo. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Grupo etareo	Portación <i>Enterococos</i>		Total
	Si	No	
41 a 90 años (Expuestos)	46	112	158
11 a 40 años (No expuestos)	2*	40	42
Total	48	152	200
Prevalencia de expuestos	29,1%		
Prevalencia de no expuestos	4,7%		
OR (Odds ratio)	8,214 IC 95% (1,906 – 35,406)		
p (*Fisher)	0,0005		

Resultados Programa Epidat 3.1			
Prevalencia de la enfermedad	Estimación	IC (95,0%)	
-----	-----	-----	-----
En expuestos	0,291139	-	-
En no expuestos	0,047619	-	-
Razón de prevalencias	6,113924	1,547058	24,162031
-----	-----	-----	-----
Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p	
-----	-----	-----	-----
Sin corrección	10,7875	0,0010	
Corrección de Yates	9,4937	0,0021	
-----	-----	-----	-----
Prueba exacta de Fisher	Valor p		
-----	-----	-----	-----
Unilateral	0,0003		
Bilateral	0,0005		

La prevalencia de portación de *enterococos* intestinales según el grupo etareo en pacientes de la unidad de medicina interna del Hospital Jaime Mendoza presentaron una prevalencia del 29,1% para los pacientes de 41 a 90 años proporción mayor al grupo etareo no expuesto de 11 a 40 años que fue de 4,7%. El grupo etareo de 41 a 90 años presentó un OR = 8,214 (IC 95% 1,906 – 35,406), probablemente este grupo de pacientes están más expuestas a ser portadores de *Enterococos* en relación a los pacientes comprendidos entre las edades de 11 a 40 años. Al observar los valores de intervalos de confianza, esta no incluye la unidad y realizada la prueba exacta de Fisher el valor de $p = 0,0005$ es menor a 0,05 por lo cual las variables grupo etareo y la portación de *Enterococos* presenta significancia estadística. Se usó el test exacto de Fisher para analizar variables dicotómicas porque la muestra a estudiar es demasiado pequeña y no se cumplen las condiciones necesarias para que la aplicación de la prueba del Chi cuadrado al existir en la tabla una celda con un valor menor a 5.

Tabla N° 13 Relación entre portación *enterococos* y tiempo de hospitalización. Hospital Jaime Mendoza. Agosto a octubre del 2018

Tiempo de hospitalización	Portación <i>Enterococos</i>		Total
	Si	No	
> a 5 días (Expuestos)	44	20	64
1 a 5 días (No expuestos)	4*	132	136
Total	48	152	200
Prevalencia de expuestos	68,8%		
Prevalencia de no expuestos	2,9%		
OR (Odds ratio)	72,600 IC 95% (23,536 – 223,944)		
p (*Fisher)	0,0005		

Resultados Programa Epidat 3.1			
Prevalencia de la enfermedad	Estimación	IC (95,0%)	
-----	-----	-----	-----
En expuestos	0,291139	-	-
En no expuestos	0,047619	-	-
Razón de prevalencias	6,113924	1,547058	24,162031
-----	-----	-----	-----
Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p	
-----	-----	-----	-----
Sin corrección	10,7875	0,0010	
Corrección de Yates	9,4937	0,0021	
-----	-----	-----	-----
Prueba exacta de Fisher	Valor p		
-----	-----	-----	-----
Unilateral	0,0003		
Bilateral	0,0005		

La prevalencia de portación de *enterococos* intestinales según el tiempo de hospitalización en pacientes de la unidad de medicina interna del Hospital Jaime Mendoza presentó una prevalencia del 68,8% para los pacientes expuestos con tiempo de hospitalización mayor a los 5 días, proporción mayor a los pacientes que estuvieron hospitalizados entre 1 a 5 días que fue de 2,9%. Los pacientes con más de 5 días presentaron un OR = 72,000 (IC 95% 23,536 – 223,944), probablemente este grupo de pacientes están más expuestos a ser portadores de *enterococos* intestinales en relación a los hospitalizados entre 1 a 5 días. Al observar los valores de intervalos de confianza, esta no incluye la unidad y realizada la prueba de Chi cuadrado el valor de p = 0,000 es menor a 0,05 por lo cual las variables tiempo de hospitalización y la portación de *enterococos* presenta significancia estadística. Se uso el test exacto de Fisher para analizar variables dicotómicas porque la muestra a estudiar es demasiado pequeña y no se cumplen las condiciones necesarias para que la aplicación de la prueba del Chi cuadrado al existir en la tabla una celda con un valor menor a 5.

4.3. Discusión de Resultados

Este estudio de prevalencia logró identificar que de un total de 200 muestras procesadas se encontraron 48 cepas de *Enterococco* resistentes a la Vancomicina (ERV) (24%). Este resultado no se relaciona con los datos publicados por Flores W. en el Hospital Rebagliati del servicio de medicina interna que una prevalencia de (16.9%), este estudio mostró mayor porcentaje. (11) Además se encontró menor porcentaje de cepas de *Enterococco* resistente a la Vancomicina (ERV) en relación al estudio publicado por Salas-AV, Boza R, Bustamante W, García F, Barrantes E en el cual presentaba una prevalencia de (52%). (8)

En relación al sexo, se observa que la mayor prevalencia de portación se encuentra en el sexo femenino con una prevalencia de 27,5% que del sexo masculino con un 16.1%. La razón de prevalencia (RP) nos indica que existe 1.707 veces más de probabilidad de portación en el sexo femenino. Los datos obtenidos del Chi Cuadrado el valor de $p=0,1169$ es mayor a 0,05 por lo cual las variables sexo y la portación de *Enterococos* no presenta significancia estadística.

En cuanto a la relación de portación con la edad, se determinó el grupo etáreo de 41 a 90 años, presenta mayor prevalencia de 29.1% con razón de prevalencia (RP) de 6.113 de portación de *Enterococos*. Los datos obtenidos del Chi Cuadrado el valor de $p=0,0005$ es menor a 0,05 por lo cual las variables sexo y la portación de *Enterococos* si presenta significancia estadística. No se encuentran datos de prevalencia por grupo de edad ni sexo en la bibliografía revisada.

El dato de mayor importancia que se encuentra en el presente estudio se relaciona con el tiempo de hospitalización, la mayor prevalencia se encuentra en los pacientes expuestos con tiempo de hospitalización mayor a 5 días con 68.8%, con razón de prevalencia (RP) de 6.113. Los datos obtenidos del Chi Cuadrado

el valor de $p=0,0005$ es menor a 0,05 por lo cual las variables tiempo de hospitalización y la portación de *Enterococos* si presenta significancia estadística, Reale A., Depetri M., Culasso C., Paviolo M. exhiben en su trabajo que la internación prolongada (media 42,8 días) ($p=0,0001$) fueron factores de riesgo asociados. (123)

Las pruebas de susceptibilidad demostraron la existencia de 48 cepas de *Enterococco* resistente a la Vancomicina (ERV), de 48 muestras positivas en la población estudiada. Así como la presencia de cepas resistentes a las 48 cepas positivas todas son resistentes a la Ampicilina, 40 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina, 20 cepas a Cloranfenicol, 40 cepas a Teicoplanina y 44 cepas a Vancomicina. Son sensibles 6 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina. 26 cepas a Cloranfenicol, 48 cepas a Linezolid y 8 cepas a Teicoplanina. Intermedias resultaron, 2 cepas a Vancomicina, 2 cepas a Eritromicina y 2 cepas a Cloranfenicol.

De 48 pacientes internados portadores de *enterococos* intestinales, se ha identificado el fenotipo VanA con el 83,3% y en menor propoción el fenotipo VanB con 16,7%, se identificaron a las especies: *E. faecium* con 91,7% y *E. faecalis* con el 8,3%. En el estudio presentado por Salas-AV, Boza R, Bustamante W, García F, Barrantes E. todos poseían el gen van A y correspondieron a *E. gallinarum*, *E. faecium*, *E. casseliflavus* y *E. hirae*. (8)

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La prevalencia de portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en el servicio de medicina interna del Hospital Jaime Mendoza de la Caja Nacional de Salud de agosto a octubre del 2018 fue de 24,0%
- El grupo etario de mayor portación de *enterococos* intestinal se presentó en pacientes de 61 a 70 años con el 29,2%
- El sexo femenino presentó la mayor portación de *enterococos* intestinales con el 79,2%.
- Los pacientes con más de 15 días hospitalizados presentaron portación de *enterococos* intestinales del 50,0%
- Las especies fenotípicamente identificadas en los pacientes portadores de *enterococos* intestinales fue: *E. faecium* con 91,7% y *E. faecalis* con 8,3%.
- Las cepas identificadas de *enterococos* intestinales resistentes (ERV) a través de pruebas de susceptibilidad a la Vancomicina y Teicoplanina fueron: fenotipo VanA con el 83,3% y fenotipo VanB con 16,7%.
- Los resultados del perfil susceptibilidad a diferentes antibióticos fue: Resistentes 48 cepas a Ampicilina, 40 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina, 20 cepas a Cloranfenicol, 40 cepas a Teicoplanina y 44 cepas a Vancomicina. Sensibles: 6 cepas a Eritromicina, 24 cepas a Tetraciclina. 26 cepas a Cloranfenicol, 48 cepas a Linezolid y 8 cepas a Teicoplanina. Intermedias: 2 cepas a Vancomicina y 2 cepas a Eritromicina.
- Se encontró significancia estadística en el grupo etareo de 41 a 90 años OR = 8,214 (IC 95% 1,906 – 35,406) $p=0,0005$ y en los pacientes con más de 5 días de hospitalización OR=72,000 (IC 95% 23,536 – 223,944, $p=0,0$, mientras que la variable sexo no presento significancia estadística $p>0,05$.

5.2. Recomendaciones

- Implementar un PROGRAMA DE CONTROL DE INFECCIONES Y VIGILANCIA NACIONAL DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS QUE PUEDEN PRODUCIR INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD (IAAS).
- Elaborar normas técnicas sobre vigilancia de resistencia a los antimicrobianos en bacterias que pueden producir infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS).
- Dar a conocer la presente tesis a la Dirección del Hospital "Dr. Jaime Mendoza" y autoridades regionales de la Caja Nacional de Salud para informar sobre la prevalencia del 24,0 % de portación de *enterococos* intestinales resistentes a vancomicina (ERV) en internos en el área de medicina interna de ese nosocomio, para fines estadísticos y con el objeto que adopten las medidas sanitarias pertinentes.
- Implementar en coordinación con el Servicio Departamental de Salud, Gobierno Autónomo del Departamento de Chuquisaca y Gobiernos Autónomos Municipales de Chuquisaca un programa departamental de control de patologías y vigilancia de antimicrobianos resistentes a bacterias que pueden producir infecciones asociadas en los servicios de salud (IAAS) a cargo de los laboratorios de microbiología de la Caja Nacional de Salud y de los centros de salud de I, II y III niveles.
- Emitir por las autoridades competentes a nivel central y departamental normas técnicas para la vigilancia y control de microorganismos patógenos resistentes a antimicrobianos que puedan producir infecciones asociadas, en pacientes que son internados en los centros hospitalarios dependientes de la Caja Nacional de Salud.
- Instruir mediante circular o comunicación interna a ser emitidas por las autoridades competentes de la Caja Nacional de Salud y específicamente del Hospital Dr. Jaime Mendoza, sobre la importancia del uso de barreras físicas por el personal de salud, con el objeto de cautelar la salud del personal y de los pacientes que acuden a ese nosocomio.

- Plantear al Comité de Infecciones Intrahospitalarias la realización de cursos, talleres y seminarios dirigidos al personal de salud dependiente de la Caja Nacional de Salud, con el objeto de actualizar sus conocimientos sobre los riesgos de ser portador de microorganismos como *enterococos* intestinales y que estos microorganismos puedan ser resistentes a antimicrobianos entre ellos a la vancomicina (ERV).
- Difundir los manuales de bioseguridad vigentes en la Caja Nacional de Salud y centros hospitalarios que se encuentran bajo su dependencia, instruyendo su estricta aplicación.
- Sugerir al área de Microbiología, elaborar un manual técnico operativo para detectar, identificar y controlar a portadores de:
 - *Enterococos* Vancomicina Resistentes (VRE) y diferenciación de especie
 - Aislamiento e identificación de *Estafilococo* resistente a la meticilina (MRSA)
 - Cultivos de vigilancia epidemiológica de *Acinetobacter*
 - Cribado de enterobacterias productoras de Betalactamasa de espectro extendido (BLEE)
 - Detección de Enterobacterias productoras de Carbapenemasas
- Efectuar una investigación periódica de portación de microorganismos *enterococos* intestinales en las áreas de medicina interna, terapia intensiva y en los servicios donde se presentes brotes.
- Ampliar las líneas de investigación con respecto a la materia en mayores poblaciones para ratificar la prevalencia de microorganismos *enterococos* intestinales resistentes a la vacomicina y otros agentes antimicrobianos.
- Investigar, evaluar e implementar técnicas y métodos de tamizaje para la lucha contra infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) y sus riesgos en la atención en nosocomios de la Caja Nacional de Salud.
- De acuerdo a los factores de riesgo encontrados se sugiere medidas de prevención para colonización por *Enterococos* ERV. Esta es la primera investigación realizada en nuestro país en pacientes de medicina interna lo que permite un aporte significativo sobre este tema en Bolivia.
- Se se recomienda la técnica de RPC múltiple para *Enterococos* ERV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fraser S. Enterococcal Infections. [Internet]. Medscape: WebMD LLC. c 1994-2018 [actualizado 30 Jul 2018; citado 10 Ago 2018]. Disponible en: <https://emedicine.medscape.com/article/216993-overview>
2. Acosta-Gnass S. *Enterococcus*. CODEINEP Grupo Asesor en Control de Infecciones y Epidemiología [Internet]. 2005. [Citado 10 Ago 2018]; [aprox. 16p.]. Disponible en: <http://codeinep.org/wp-content/uploads/2017/02/Enterococcus.pdf>
3. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Comunicados de prensa: OMS: 2018 [Page last updated: 29 de enero de 2018: citado 2018 agosto 14]. [aprox. 2 p.]. Disponible en: www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed
4. Moellering RC. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. [Internet]. Clin Infect Dis Vol. 14, No. 6 [junio de 1992], págs. 1173-1176 [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 4 p.]. Disponible en: www.jstor.org/stable/4456494?seq=1#page_scan_tab_contents
5. Murray B.E. The life and times of the *Enterococcus*. [Internet]. Clin Microbiol Rev 1990; 3(1): 46-65. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 62 p.].
6. Sader H.S. Resistencia antimicrobiana en Latinoamérica: ¿Cómo estamos? [Internet]. Rev. Chilena Infectol 2002; 19(suppl 1): S5-S13. [Citado 08 Sep 2018]; [aprox. 4 p.]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002019100001
7. Sievert D.M, Boulton M.L, Stoltman G, Johnson D, Stobierski M.G., Downes FP, et al. Staphylococcus aureus resistant to vancomycin-United States, 2002. [Internet]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002; 51(26): 565-7. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox 5 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12139181
8. Salas A.V., Boza R, Bustamante W, García F, Barrantes E. Prevalencia e identificación genotípica de *enterococos* Vancomicina resistentes en pacientes en un medio hospitalario [Internet]. Acta méd. costarric vol.46 n.1 San José Mexico

- Mar. 2004. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 7 p.]. Disponible en: www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022004000100005&script=sci_arttext
9. Záratea M, Gales A, Jordá L, Yahnic D, Relloso S, Bonvehi P, Monteiro J, Campos-Pignatarib A, Smayevsky J. Contaminación ambiental durante un brote de enterococo resistente a vancomicina en un hospital de Argentina. Environmental contamination during a vancomycin-resistant Enterococci outbreak at a hospital in Argentina. [Internet]. Vol. 25, Issue 8, October 2007, Pages 508-512. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 10 p.]. Disponible en: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X07743446
 10. Estrada A, Mendo-López R, Astocondor L, Zervos M, García C. Colonización por enterococo resistente a vancomicina en pacientes internados en un hospital de Lima, Perú. [Internet]. Rev. Perú. med. exp. salud pública vol.34 no.4 Lima oct./dic. 2017 [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 5 p.]. Disponible en: www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342017000400013
 11. Flores W. Epidemiología de la colonización intestinal con enterococo resistente a vancomicina en pacientes de alto riesgo del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima, Perú. [Internet]. Vol. 21, Núm. 3 (2010) [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 2 p.]. Disponible en: www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/RMH/article/view/1122/1132
 12. Leclercq R, Derlot E, Duval J, et al. Resistencia mediada por plásmidos a vancomicina y teicoplanina en *Enterococcus faecium*, [Internet]. N Engl J Med, 1988, vol. 319 (pg. 157-61) [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 2 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2968517
 13. National National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, [Internet]. issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 1 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14647111
 14. Beltrami E.M, Singer D.A, Fish L, et al. Risk factors for acquisition of vancomycin-resistant enterococci among patients on a renal ward during a community hospital outbreak. Am J Infect Control. [Internet]. 2000;28(4):282-5. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 1 p.]. Disponible en:

- www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10926704
15. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall C.G. Vancomycin-resistant enterococci. [Internet]. Clin Microbiol Rev 2000; 13(4):686-707. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 1 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11023964
 16. Hayden M. Insights into the epidemiology and control of infection with vancomycin-resistant enterococci. [Internet]. Clin Infect Dis. 2000;31(4):1058-65. [Citado 07 Sep 2018]; [aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/31/4/1058/373055>
 17. Isaza P. Glosario de epidemiología. 1ª ed. Ibagué (Colombia): Academia nacional de medicina de Colombia; 2015.
 18. Lovesio C. La infección y la microbiología en terapia intensiva. La Gaceta Infect Micr Clin [Internet]. 2008 Mar [citado 11 agosto 2018]; 2(1): [Aprox. 32 p.]. Disponible en: www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/elea_la_gaceta_vol2_n1.pdf
 19. Liebana J., Andrés T., Alvarez M. Arancegui N., Aznar J., Baca A., et al. Microbiología oral. 2º ed. Madrid: Mc Graw-Hill: Interamericana de España; 2002.
 20. IntraMed Medicina General. "El microbioma humano" Art. [Internet] Mar 2014. Fray Justo Sarmiento 2350, Olivos 1636 - Buenos Aires-Argentina: [citado 11 agosto 2018]; 2(1): [Aprox. 32 p.]. Disponible en: www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=83120
 21. Tortora G., Funke O., Case C. Microbiología. 1º ed. Porto Alegre: Artmed: 2012
 22. Torres M., Relación huésped parásito: Flora humana normal. [Internet] Instituto de higiene Universidad de la república de Uruguay. [Internet] Montevideo 02-Jun-2015 07:09 [Citado 11 agosto 2018]; [Aprox. 5 p.]. Disponible en: www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2013.pdf
 23. Patel R. Clinical impact of vancomycin-resistant enterococci. J Antimicrob Chemother. 2003 Jun;51 Suppl 3: iii13-21. [Citado 11 octubre 2018]; [Aprox. 10 p.]. Disponible en: https://academic.oup.com/jac/article/51/suppl_3/iii13/2473485
 24. Goodman E.R, Platt R, Bass R, Onderdonk A.B, Yokoe D.S, Huang SS. Impact of an environmental cleaning intervention on the presence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant

- enterococci on surfaces in intensive care unit rooms. *Infect Control Hosp Epidemiol*. [Internet] 2008 Jul;29(7):593-9. [Citado 2018 octubre 11]; [Aprox. 20 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2670228/
25. Almyroudis N, Lesse A, Hahn T, Samonis G, Hazamy P, Wongkittiroch K, et al. Molecular epidemiology and risk factors for colonization by vancomycin-resistant *Enterococcus* in patients with hematologic malignancies. *Infection control and hospital epidemiology: the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America*. [Internet] 02 January 2015 [Citado 11 oct. 2018]; [Aprox. 20 p.]. Disponible en: www.cambridge.org/core/journals/infection-control-and-hospital-epidemiology/article/molecular-epidemiology-and-risk-factors-for-colonization-by-vancomycin-resistant-enterococcus-in-patients-with-hematologic-malignancies/C32BCDACF844DA6AE3AAAB5FF1085871
26. Vergis E.N., Hayden M.K., Chow J.W., Snyderman D.R., Zervos M.J., Linden P.K., et al. Determinants of vancomycin resistance and mortality rates in enterococcal bacteremia. a prospective multicenter study. [Internet] *Ann Intern Med*. 2001 Oct 2;135(7):484-92. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 20 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11578151>
27. Furtado G.H., Mendes R.E., Pignatari A.C., Wey S.B., Medeiros E.A. Risk factors for vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* bacteremia in hospitalized patients: an analysis of two case-control studies. *Am J Infect Control*. 2006 [Internet] Sep;34(7):447-51. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: [https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(05\)00920-X/fulltext](https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(05)00920-X/fulltext)
28. Matar M, Tarrand J, Raad I, Rolston K. Colonization and infection with vancomycin-resistant *Enterococcus* among patients with cancer. *American journal of infection control*. [Internet] 2006 Oct;34(8):534-6. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: [www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(06\)00516-5/fulltext](http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(06)00516-5/fulltext)
29. LeDell K, Muto C.A., Jarvis W.R., Farr B.M. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. [Internet] 2003 mayo; 24 (5): 362-86. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en:

- www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12785411
30. Snyder G.M., Thom K.A., Furuno J.P., Perencevich E.N., Roghmann M.C., Strauss S.M., et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci on the gowns and gloves of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol*. [Internet] Julio de 2008; 29 (7): 583–589. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2577846/
 31. Donskey C.J., Chowdhry T.K., Hecker M.T., Hoen C.K., Hanrahan J.A., Hujer A.M., et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. *N. Engl J Med*. [Internet] 2000 Dec 28;343(26):1925-32. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM200012283432604
 32. Yoon Y.K., Lee S.E., Lee J, Kim H.J., Kim J.Y., Park D.W., et al. Risk factors for prolonged carriage of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* among patients in intensive care units: a case-control study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 183 [Internet] [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011 Aug;66(8):1831-8. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: www.researchgate.net/publication/259848437_Risk_factors_for_vancomycin-resistant_Enterococcus_colonization_in_hematologic_patients
 33. Brandl K, Plitas G, Mihu C.N., Ubeda C, Jia T, Fleisher M, et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. [Internet] *Nature*. 2008 Oct 9;455(7214):804-7. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18724361
 34. Bossaer J.B, Hall P.D, Garrett-Mayer E. Incidence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) infection in high-risk febrile neutropenic patients colonized with VRE. *Supportive care in cancer: official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*. [Internet]. 2010 Feb;19(2):231-7. [Citado 11 oct 2018]; [Aprox. 5 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20069435
 35. De Vos P., Garrity G, Jones D., Krieg N, Ludwig W, Rainey F., Schleifer K., Whitman W., *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Volume Three The Firmicutes. Hoboken, New Jersey: Wiley, [Internet] [2015].

- [Citado 2018 Sep 09]; [Aprox. 5 p.].
36. Schleifer K, Kilpper-Balz R (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. [Internet] nov. Int. J. Sys. Bacteriol. 34: 31-34 [Citado 10 sep 2018]; [Aprox. 4 p.]. Disponible en: www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/34/1/ij-s-34-1-31.pdf?expires=1536434235&id=id&acname=guest&checksum=57424CCE9564C47EA3C306EE5DD745B4
 37. Parte, A.C. LPSN-list of prokaryotic names with standing in nomenclature. Nucleic Acids Research, [Internet] Volume 42, Issue D1, 1 January 2014, pages D613-D616. [Citado 10 sep 2018]; Disponible en: www.bacterio.net/enterococcus.html
 38. Porte L, Hervé B, Prat S, Chanqueo L. *Enterococcus* sp. Parte I. [Internet] Rev Chil Infect 2007;24(3):231. [Citado 10 sep 2018]; [Aprox. 2 p.]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000300010
 39. Díaz M., Rodríguez Cl., Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. [Internet]. Habana, Cuba, 6 de agosto de 2010. [Citado 10 sep 2018]; [Aprox. 6 p.]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol_48_2_10/hie06210.htm
 40. Koneman E., Allen S. Diagnostico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana, 30 jun. del 2008 (1691 pág. 667-671)
 41. Hancock L., Murray B., Sillanpää J. Enterococcal Cell Wall Components and Structures. Created: February 13, 2014. Department of Molecular Biosciences, University of Kansas, 1200 Sunnyside Ave., 8047 Haworth Hall, Lawrence, KS 66045 [Citado 10 oct 2018]; [Aprox. 60 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190431/
 42. Arroz LB, Carias L, Rudin S, Vael C, Goossens H, Konstabel C, et al. A potential virulence gene, hylEfm, predominates in *Enterococcus faecium* of clinical origin. J Infect Dis. 2003 Feb 1;187(3):508-12. [Citado 10 oct 2018]; [Aprox. 20 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article/187/3/508/897453>
 43. Johnson A.P. The pathogenicity of enterococci. J Antimicrob Chemother.

- 1994 Jun;33(6):1083-9. [Citado 10 oct 2018]; [Aprox. 3 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7928803
44. Vergis E.N, Shankar N, Chow JW, Hayden MK, Snyderman DR, Zervos MJ, et al. Association between the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin, and enterococcal surface protein and mortality among patients with bacteremia due to *Enterococcus faecalis*. Clin Infect Dis. 2002 Sep 1;35(5):570-5. [Citado 10 oct 2018]; [Aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/35/5/570/446213>
45. Park S.Y, Kim K.M, Lee J.H, Seo S.J, Lee I.H. Extracellular gelatinase of *Enterococcus faecalis* destroys a defense system in insect hemolymph and human serum. Infect Immun. 2007 Apr;75(4):1861-9. [Citado 10 oct 2018]; [Aprox. 17 p.]. Disponible en: <https://iai.asm.org/content/75/4/1861>
46. Thomas V.C, Thurlow L.R, Boyle D, Hancock L.E. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development. J Bacteriol. 2008 Aug;19(16):5690-8. [Citado 20 oct 2018]; [Aprox. 17 p.]. Disponible en: <https://jb.asm.org/content/190/16/5690>
47. Qin X, Singh K, Weinstock G, Murray B. Characterization of *fsr*, a regulator controlling expression of gelatinase and serine protease in *Enterococcus faecalis* OG1RF. J Bacteriol. 2001 Jun;183(11):3372-82. [Citado 23 oct 2018]; [Aprox. 20 p.]. Disponible en: <https://jb.asm.org/content/183/11/3372>
48. Bourgogne A, Hilsenbeck S, Dunny G, Murray B. Comparison of OG1RF and an isogenic *fsrB* deletion mutant by transcriptional analysis: the *Fsr* system of *Enterococcus faecalis* is more than the activator of gelatinase and serine protease. J Bacteriol. 2006 Apr;188(8):2875-84. [Citado 24 oct 2018]; [Aprox. 21 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1446981/
49. Nannini E, Teng F, Singh K, Murray B. Decreased virulence of a *gls24* mutant of *Enterococcus faecalis* OG1RF in an experimental endocarditis model. Infect Immun. 2005 Nov; 73(11):7772-4. [Citado 24 oct 2018]; [Aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/IAI.73.11.7772-7774.2005>
50. Rozdzinski E, Marre R, Susa M, Wirth R, Muscholl-Silberhorn A. Aggregation substance-mediated adherence of *Enterococcus faecalis* to immobilized

- extracellular matrix proteins. *Microb Pathog.* 2001 Apr;30(4):211-20. [Citado 24 oct 2018]; [Aprox. 10 p.]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11312614
51. Nes I, Diep D, Holo, H. Bacteriocin Diversity in *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of bacteriology.* 189(4): 1189-1198. [Citado 29 oct 2018]; [Aprox. 30 p.]. Disponible en: <https://j.b.asm.org/content/189/4/1189>
52. Velasco, R, Acosta, K Y Chavez, A. Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*. Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM.: 1-14. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: <http://depa.fquim.unam.mx/bacteriologia/pdfs/ART%20CDC-Enterococcus.pdf>
53. Valenzuela A.S 1, Benomar N, Abriouel H, Cañamero M.M, Gálvez A. Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. *Food Control* 20: 381–385. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20688238
54. Herraiz, C. "Lactococcus lactis" productores de pediocina pa-1 y *enterococos* aislados de leche materna como agentes bioconservantes en quesos. Facultad de veterinaria Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Madrid. [Citado 29 oct 2018]; [Aprox. 286 p.]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/8209/1/T30584.pdf>
55. Rodriguez, G. 2001. Géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*. Temas de bacteriología y virología médica. 273-290. [Citado 27 oct 2018]; Disponible en: www.higiene.edu.uy/cefa/cefaed2006.htm
56. Platero. A; Valdivia. E; Maqueda. M Y Bueno. M. 2009. Characterization and safety evaluation of enterococci isolated from Spanish goats' milk cheeses. Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias, Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain. *International Journal of Food Microbiology* 132: 24–32. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19375810
57. Enterococos: actualización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas.* Rev haban cienc méd v.9 n.4 Ciudad de La Habana oct.-nov. 2010. [Citado 28 oct 2018]; Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400010
58. Robert Kliegman, Bonita M.D. Stanton, Joseph St. Geme, Nina F Schor. Vol.

- ElSilvier.Traducción 19° Ed. 2014. Tratado de pediatría: Parte XVII Enfermedades infecciosas. Enterococcus. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: www.studentconsult.es/ficheros/booktemplate/9788480869591/files/179_0_con_tbb.pdf
59. Biedenbach D.J, Moet G.J, Jones R.N. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004 Sep;50(1):59-69. [Citado 26 oct 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15380279
60. Louis B. Rice, Stephen B. Calderwood, George M. Eliopoulos, Bruce F. Farber y Adolf W. Karchmer Enterococcal endocarditis: a comparison of prosthetic and native valve disease. *Clinical Infectious Diseases*. 1991. vol.13, N° 1, p. 1-7. [Citado 26 oct 2018]; Disponible en: www.jstor.org/stable/4455755?seq=1#page_scan_tab_contents
61. Preeti M, Dyke D; Pagani F; Chenoweth C. Nosocomial infections in left ventricular assist device recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 2002. Vol. 34, N° 10, p.:1295-300. [Citado 26 oct 2018]; Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3772/Rojas_cf.pdf?sequence=1&isAllowed=y
62. Stepanovic S., Jovanovic M., Lavadinovic L., Stošovic B., Pelemis M. Report Enterococcus durans endocarditis in a patient with transposition of the great vessels. *Journal of Medical Microbiology*. 2004, vol. 53, n° 3, p. 259–261. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: <http://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.05382-0>
63. Upadhyaya P.M, Ravikumar G, Umapathy B.L. Review of virulence factors of Enterococcus: an emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2009. Vol. 27, p. 301 –305. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: www.ijmm.org/article.asp?issn=0255-0857;year=2009;volume=27;issue=4;spage=301;epage=305;aui=Giridhara
64. Seno Y, Kariyama R, Mitsuhata R, Monden K, Kumon H. Clinical implications of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* in the urinary tract. *Acta medica Okayama*. 2005. Vol. 59, p.79–87. [Citado 28 oct 2018]; Disponible en:

<https://pdfs.semanticscholar.org/ef64/9a976035e2e0b4319de4d07a7c8d86dace41.pdf>

65. Panesso D, Reyes J, Rincon S, Diaz L, Galloway-Peña J, Zurita J, Carrillo C, Merentes A, Guzman M, Adachi J, Murray B, Arias C. Molecular Epidemiology of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*: A Prospective, Multicenter Study in South American Hospitals. *Journal of clinical microbiology*. 2010; vol. 48, N° 5, p.1562–1569. [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/34a5/7be15ebc622c77e540e3d786ddf62815ece9.pdf>
66. Ghanem G, Hachem R, Jiang Y, Chemaly Rf, Raad I. Outcomes for and risk factors associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in cancer patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007 vol. 28, n° 9, 1054-1059. [Citado 28 oct 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17932826
67. Michele H, Wixson R, Pertel P. Linezolid treatment for osteomyelitis due to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Clinical Infectious Diseases*. 2002. Vol 34, n° 10, p.1412-1414. [Citado 27 oct 2018]; Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/34/10/1412/329495>
68. O'Driscoll T, WCrnk Ch. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. Published online 2015 Jul 24. doi: [10.2147/IDR.S54125]. [Citado 28 oct 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4521680/
69. Rojas M.W, Anaya C.J.M, Aristázabal B.B, Cano R.L.E, Gomez O.L.M, Lopera H.D. *Inmunología de Rojas*. 15a ed. Medellín: la Sabana; 2010.
70. Margni R. *Inmunología e Inmunofísica*. 5° ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1996.
71. Molina M, Díaz A, Hesse Ch, Ginter W, Gentilini M, Nuñez G, Canellada A, Sparwasser T, Berod L, Castro M, Manghi M. Immunostimulatory Effects Triggered by *Enterococcus faecalis* CECT7121 Probiotic Strain Involve Activation of Dendritic Cells and Interferon-Gamma Production. Published online 2015 May 15. doi: [10.1371/journal.pone.0127262], [Citado 29 oct 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4433276/

72. Leza C.J, Lizasoain H.I, Lorenzo F.P, Moreno G.A, Moro S.M, Portolés P.A et al, Manual de Farmacología. 18a ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2013.
73. Goodman L.S. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 11a ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2007.
74. Katzung B.G, Masters S.B, Trevor A.J. Farmacología básica y clínica. 11a. Editorial McGraw-Hill: 2013.
75. Velasquez. Farmacología Básica y Clínica. 18ª. Ed. Buenos Aires Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2008.
76. Organización Mundial de la Salud. [Internet]. Comunicado. Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. 2015. Comunicados de prensa: OMS: 2015 [citado 15 agosto 2018]. [aprox. 32 p.]. Disponible en: www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/es/
77. Ministerio de Salud. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas [Internet]. Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2017-2021. Perú: 2017: [citado 15 agosto 2018]. [aprox. 94 p.]. Disponible en: www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/Uploaded/PDF/Acceso/URM/GestionURMTrabSalud/ReunionTecnica/VIII/Dia2/Antimicrobianos/PlanNacionalATM-2017-2021.pdf
78. Organización Mundial de la Salud. [Internet]. Comunicado de prensa. Un informe de la OMS confirma que el mundo se está quedando sin antibióticos. 20 de septiembre de 2017. Ginebra: OMS: 2015 [v]. [aprox. 2 p.]. [Citado 29 agosto 2018]; Disponible en: www.who.int/es/news-room/detail/20-09-2017-the-world-is-running-out-of-antibiotics-who-report-confirms
79. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. [Internet]. El estado actual de la lucha contra la resistencia bacteriana a los antibióticos. 2 feb. 2017 [citado 15 agosto 2018]. [aprox. 21 p.]. Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/documentos/2017/2/2/106327.pdf>
80. Torres C., Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2010; 28:541-53. [Citado 28 agosto 2018]; Disponible en: <https://medes.com/publication/61486>
81. Lozano C., Gonzalez-Barrio D., Camacho M.C., Lima-Barbero J.F., de la Puente, J., Höfle, U. & Torres, C. Characterization of fecal vancomycin-

- resistant enterococci with acquired and intrinsic resistance mechanisms in wild animals, Spain. *Microb. Ecol.* 2015. [Citado 28 agosto 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26194421
82. López M. Prevalencia, caracterización genética y estructura poblacional de *Enterococcus* resistentes a vancomicina de diversos orígenes. Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja. 2011. [Citado 29 agosto 2018]; Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=138672>
83. Cetinkaya, Y., Falk, P. & Mayhall, C.G. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13:686-707. [Citado 28 agosto 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11023964
84. Zheng, B., Tomita, H., Inoue, T. & Ike, Y. Isolation of VanB-type *Enterococcus faecalis* strains from nosocomial infections: first report of the isolation and identification of the pheromone-responsive plasmids pMG2200, Encoding VanB-type vancomycin resistance and a Bac41-type bacteriocin, and pMG2201, encoding erythromycin resistance and cytolysin (Hly/Bac). *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53:735-747. [Citado 28 agosto 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19029325
85. Dahl, K.H., Rokenes, T.P., Lundblad, E.W. & Sundsfjord, A. Nonconjugative transposition of the vanB containing Tn5382-like element in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47:786-789. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/47/2/786>
86. Zhou, Q., Moore, C., Eden, S., Tong, A. & McGeer, A. Factors associated with acquisition of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in roommate contacts of patients colonized or infected with VRE in a tertiary care hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2008; 29:398-403. [Citado 20 sep 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18419360
87. Galloway-Peña J, Rice L., Murray B. Analysis of PBP5 of Early U.S. Isolates of *Enterococcus faecium*: Sequence Variation Alone Does Not Explain Increasing Ampicillin Resistance over Time 2011 Jul; 55(7): 3272–3277. [Citado 24 agosto 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3122385/
88. Del Campo, R., Galán, J.C., Tenorio, C., Ruiz-Garbajosa, P., Zarazaga, M., Torres, C. & Baquero, F. New aac(6')-I genes in *Enterococcus hirae* and

- Enterococcus durans*: effect on {beta}-lactam/aminoglycoside synergy. J. Antimicrob. Chemother. 2005; 55:1053-1055. [Citado 24 agosto 2018]; Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/55/6/1053/725602>
89. Portillo, A., Ruiz-Larrea, F., Zarazaga, M., Alonso, A., Martinez, J.L. & Torres, C. Macrolide resistance genes in *Enterococcus spp.* Antimicrob. Agents Chemother. 2000; 44:967-971. [Citado 24 sep 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10722498
90. Chow, J.W. & Kak, V. Acquired antibiotic resistances in enterococci. 2002 Ed. ASM Press; The enterococci: pathogenesis, molecular biology and antibiotic resistance. [Citado 20 sep 2018]; Disponible en: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000052&pid=S1413-8670200900020001000003&lng=en
91. Bourgeois-Nicolaos N, Nguyen T, Defrance G, Massias, Alavoine L, Lefort A, Noel V, Senneville E, Doucet-Populaire F. Mentré F. Andremont A, Duvalc X. The Emergence of Linezolid Resistance among Enterococci in Intestinal Microbiota of Treated Patients Is Unrelated to Individual Pharmacokinetic Characteristics 2014 May; 58(5): 2681–2687. [Citado 28 sep 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993229/
92. Bentorcha, F., De Cespédès, G., Horaud, T. Tetracycline resistance heterogeneity in *Enterococcus faecium*. Antimicrob. Agents Chemother. 1991; 35:808-812. [Citado 28 agosto 2018]; Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/ebd6/f75d0b9cad86c584a84ed12fb721b330ea2e.pdf>
93. Houvinen, P. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. Clin. Infect. Disp. 2001; 32:1608-1614. [Citado 24 agosto 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11340533
94. Ganón W.F, McPhee S.J, Hammer G.D, Aagard E.M, Barzh G, Bauer D.C. et al. Fisiopatología de la Enfermedad. China: Mc Graw Hill; 2010.
95. Flores W. Epidemiología de la colonización intestinal con enterococo resistente a vancomicina en pacientes de alto riesgo del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima, Perú. Vol. 21, Núm. 3 (2010). [Citado 28 agosto 2018]; Disponible en: www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/

- index.php/RMH/article/view/1122/1132
96. Van Horn K, Gedris Ch, Rodney K. Selective isolation of vancomycin-resistant Enterococci. J Clin Microbiol. 1996;34(4):924-7. [Citado 26 nov 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC228918/pdf/340924.pdf
 97. Aragón A, Ruiz A, Hernández SJM. Manual práctico de Microbiología. 2ª ed. Barcelona: Masson; 1999.
 98. Trigo C. Bacteriología Clínica. 1ª ed. La Paz Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés; 1992.
 99. Facklam, R. Recognition of Group D Streptococcal Species of Human Origin by Biochemical and Physiological Tests 1972 Jun; 23(6): 1131–1139. [Citado 24 nov 2018]; Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC380519/
 100. Rebecca C. Lancefield, la mujer que puso orden en los *estreptococos*. domingo, 3 de enero de 2016. [Citado 24 nov 2018] Disponible en: <https://microbioun.blogspot.com/2016/01/rebecca-c-lancefield-la-mujer-que-puso.html>
 101. Forbes B, Sahm D., Weissfeld A. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Edición: 12ª Editorial Panamericana 2009 Buenos Aires Argentina Páginas: 1160
 102. Revista Chilena de Infectología. Puesta al día en *enterococos* - año 2001: Identificación de especies y estudio de susceptibilidad antimicrobiana. Rev. chil. infectol. v.18 n.2 Santiago 2001. [Citado 24 nov 2018] Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000200003
 103. BioMérieux. Copyright 2018 bioMérieux SA. [Citado 26 nov 2018] Disponible en: www.biomerieux-diagnostics.com/chromidr-vre
 104. Prueba ONPG (para β -galactosidasa): principio, procedimiento y resultados. 6 de febrero de 2015 tankeshwar Bacteriología, Pruebas bioquímicas en microbiología. [Citado 28 nov 2018] Disponible en: <https://microbeonline.com/onpg-test-beta-galactosidase-principle-procedure-results/>
 105. Rodríguez E, Gamboa M.C, Hernández F. Bacteriología General. 1 Ed. Costa Rica: Universidad de Costa Rica; 2008.
 106. Winn W., Allen S., Janda W., Koneman E., Procop., Schreckenberger p.,

- Woods G. Diagnostico Microbiológico. 6ta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2000
107. Cavalieri S. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. American society for Microbiology [Internet]. 2005. [citado 2013 mar 231; Aprox.240. [Citado 27 nov 2018] Disponible en: www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=docview&gid=22539&Itemid=
 108. Collins C., Lyne P., Grange J., Falfinham. Methods Microbiological. Bva. Ed. New York: Arnold; 2004
 109. Palavecino E. Interpretacion de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana. boletin de escuela de medicina [Internet] 1997. [Citado 10 nov 2018]; [aprox. 1 p.]. Disponible en: www.arsmedica.cl/index.php/MED/article/view/1267/1108
 110. Cercenado E., Saavedra L. El antibiograma. Interpretación del antibiograma, conceptos generales. Anales de Pediatría Continuada [Internet]. 2009 Jul. [Citado 24 nov 2018]. [Aprox. 1p.]. Disponibte en: www.apcontinuada.com/es/el-antibioigrama-interpretacion-del-antibiog-ramal-articulo/80000S04/
 111. El uso racional de los antimicrobianos. Food and Agriculture Organization of the United Nations finternet]. [Citado 24 nov 2018]. Disponible en: www.fao.org/docrep/Ttys46Bs/y546gs0g.htm
 112. Prats G. Microbiología Clínica. 1a ed.2005 Médica Panamericana;
 113. Varela A., Identificación y caracterización del fenotipo y genotipo de resistencia a antibióticos en aislados deEnterococcus de la microbióta intestinal del ganado vacuno. [disertacion]. La Rioja. España Universidad de La Rioja, 2015
 114. Reglamento para la aplicación de norma boliviana de bioseguridad en estabrecimientos de sarud, Ministerio de sarud y Deportes. NormativaTécnica. Publ 190. LaPaz: macro producciones; 2010
 115. Mesa G. Mesa J., Gisbert T. Historia de Bolivia. 8Th ed. La Paz Bolivia: Gisbert; 2012
 116. Bolivia características de población y Vivienda. Censo Nacional depoblación y vivienda 2012. Instituto Nacional de Estadística. Bolivia Características de población y Vivienda [Internet]. [Citado 19 nov 2018]. [Aprox.32p]. Disponible en: www.bivica.org/upload/censo-resultados.pdf

117. El Diario. Historia de Bolivia [citado 2018 octubre 14]. Disponible en: www.eldiario.net/bolivia/
118. Caja nacional de Salud [Internet]. Le Paz: Caja Nacional de Salud; 2017 [Actualizado 2017; [Citado 25 nov 2018]. Disponible en: <http://chuquisaca.cns.gob.bo/Servicios/centrosmedicos>
119. Campohermoso O., Silva W. El insigne Médico Jaime Mendoza Gonzales. Revistas Bolivianas (Internet). Julio 200. [Citado 04 nov 2018].; 52(2). [Aprox. 3p]. Disponible en: <http://biblioteca.fment.umsa.bo/docs/tc/chc200719.pdf>
120. Doctora Jakelin Davila, Aux. Maria del Carmen Tellez. Responsable de unidad sanitaria Hospital Jaime Mendoza. Gestion 2018
121. Andrade Jhony. Responsable de Recursos Humanos Hospital Jaime Mendoza
122. Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca. [Internet]. [Citado 2018 octubre 15]. 2008 [Aprox. 1p.]. [Citado 24 nov 2018]. Disponible en: <https://farbio.usfx.bo/principal/institucional/>
123. Reale A., Depetri M., Culasso C., Paviolo M. *Enterococos* resistentes a la vancomicina: prevalencia y factores asociados con la colonización intestinal en pacientes oncológicos del Hospital de Niños de Córdoba Artículo [Internet]. [Citado 2019 enero 09]. Abril de 2009 en de microbiología 41 (2): 92-6 [Aprox. 1p.]. Disponible en: www.researchgate.net/publication/26687430_Vancomycin-resistant_enterococci_Prevalence_and_factors_associated_with_intestinal_colonization_in_oncology_patients_from_Hospital_de_Ninos_de_Cordoba

ANEXOS

Anexo No 1. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El consentimiento informado es la potestad que Usted tiene de aceptar libremente y sin presiones, que, por necesidad diagnóstica o terapéutica, se practique en su propio cuerpo algún procedimiento microbiológico.

Nombre del paciente

Servicio de Medicina Interna # Sala.....# cama..... No Asegurado.....

Nombre del bioquímico que realizará el muestreo **Lic. Weimar Lezano Claire**

Tipo de muestra: Hisopado región del esfínter anal con fines microbiológicos.

Materiales que serán usados en la realización del procedimiento de toma de muestra

- Hisopo estéril sumergido en caldo de enriquecimiento BHI o materia fecal recién obtenida.

Utilidad de la toma de muestra

- Con la identificación de portación intestinal de *Enterococcus* resistente a la vancomicina (ERV), se podrá realizar una vigilancia epidemiológica en cuanto a infecciones nosocomiales.

Confidencialidad

Todos los datos obtenidos serán traducidos a la institución con un formato epidemiológico, manteniéndose en reserva y confidencialidad el nombre de los participantes.

Una vez que usted ha leído y llenado la presente ficha y habiendo comprendido como se realiza la toma de muestra y objetivo del estudio, sírvase señalar claramente que usted está de acuerdo o no con su realización.

Si estoy de acuerdo [] No estoy de acuerdo []

Firma paciente

CI:

Lugar y fecha

Firma

Lic. Weimar Lezano Claire Bioquímico responsable del estudio.

Anexo No 2. Ficha de recolección de datos

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

“PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS EN PORTADORES DE *ENTEROCOCOS* INTESTINALES RESISTENTES A VANCOMICINA (ERV) EN PACIENTES DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL DR. JAIME MENDOZA CAJA NACIONAL DE SALUD. AGOSTO A OCTUBRE DEL 2018”

Nombre completo:

No Registro:

Domicilio: Tel.: Cel.:

1. Sexo

Masculino [] Femenino []

2. Edad en Años

3. Tiempo de Hospitalización

- De 1 a 5 Días
- De 6 a 10 Días
- 11 a 15 Días
- Mas de 15 Días

Muestreo realizado en Sucre Bolivia

Fecha:

Hora:

Operador: Lic. Weimar Lezano Claire

Anexo No 3. Ficha de registro de laboratorio

FICHA DE REGISTRO DE LABORATORIO

Número de registro	
--------------------	--

Nombre del Paciente	
---------------------	--

Fecha de toma de muestra	
--------------------------	--

Cultivo

Agar <i>Enterococcosel</i>	colonias	
Tinción de Gram		

Pruebas de identificación (genero)

Prueba de la Catalasa	Positivo		Negativo	
Hidrolisis de la Esculina	Positivo		Negativo	
Kit de análisis enzimático en látex	Positivo		Negativo	
PYR	Positivo		Positivo	

Pruebas de identificación (Especie)

Movilidad y producción de pigmento	Positivo		Negativo	
Discos de O.N.P.G	Positivo		Negativo	
ChromID™ VRE				
Microorganismo identificado				

Antibiograma				
	Med. del Halo	S	I	R
Ampicilina 10 ug				
Vancomicina 30 ug				
Eritromicina 15 ug				
Tetraciclina 30ug				
Cloranfenicol 30ug				
Linezolid 30ug				
Teicoplanina 30ug				

Observaciones

.....

Anexo No 4. Procedimiento laboratorial

PROCEDIMIENTO LABORATORIAL

1. Toma de Muestra Hisopado Rectal en medio de Transporte Stuart o materia fecal
2. Incubación en BHI 24 horas a 35 C.
3. Las muestras se cultivarán en agar Enterococcosel (Becton Dickinson) enriquecido con 8 ug de vancomicina/mL 24, 48 y 72 horas a 35 °C (dif. De colonias Pequeñas, translúcidos, con zonas de color marrón oscuro a negro).
4. Se identificarán primero a género *Enterococcus*.
5. Tinción de Gram de las colonias sospechosas (Obs. De cocos grampositivas en cadenas cortas o en parejas, 100X)
6. Prueba de catalasa
7. Hidrolisis de la Esculina
8. PYR
9. Kit de análisis enzimático en látex
10. Para la diferenciación de especie
11. ChromID™ VRE Agar
12. Movilidad y producción de pigmento
13. O.N.P.G
14. Para el perfil de susceptibilidad a las cepas de *enterococos* se les realizará la siembra en Agar Mueller Hinton con disco de Vancomicina de 30 ug. (las cepas intermedias por el método E-test (liofilchem - italia)), junto con la susceptibilidad a ampicilina, eritromicina y teicoplanina), se realizará por difusión en disco difusión en disco (liofilchem - italia). Para el control de calidad se usará cepas de *E. faecalis* ATCC 29212 como susceptible y *E. faecalis* ATCC 51299 como resistente.

PROCEDIMIENTO LABORATORIAL

