

ARTICULO CLÁSICO

Aislamientos de *Enterococcus* en muestras clínicas

MSc. Dra. Isabel de la Concepción Gorrín Alemán¹

MSc. Dr. Robin Rodríguez Pérez²

MSc. Dr. José A. Rodríguez Rodríguez³

Dra. C. MSc. Dianelys Quiñones Pérez⁴

RESUMEN

En los últimos años el género *Enterococcus* ha cobrado gran importancia como agente etiológico de infecciones nosocomiales y por la adquisición de resistencia a muchos antimicrobianos. Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo y longitudinal con el objetivo de caracterizar los aislamientos de *Enterococcus* en muestras clínicas cultivadas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Provincial Universitario “Arnaldo Milián Castro” en el año 2009; para recopilar la información se revisaron los resultados de los cultivos del laboratorio en esta etapa, búsqueda que fue efectuada en los Libros de Registro de trabajo diario. Los aislamientos que se tuvieron en cuenta fueron los que cumplieron con los siguientes criterios: toda muestra cultivada en el laboratorio en esta etapa cuyo resultado en el cultivo informara el aislamiento de *Enterococcus* y a la que se le hubiera realizado estudio de susceptibilidad. El universo de estudio constituyó un total de 32500 muestras, de las que, en solo 31, se aisló este microorganismo. Los 31 cultivos positivos al género de interés se distribuyeron en número y según las diferentes categorías de fluidos corporales en: secreciones -18 aislamientos-, orina -cuatro-, sangre-cuatro-, bilis -cuatro- y catéter -uno-; predominaron en secreciones (58.06% del total); el *Enterococcus faecalis* y el *Enterococcus faecium* fueron las

SUMMARY

In recent years, the genus *Enterococcus* has become extremely important as an etiologic agent of nosocomial infections and the acquisition of resistance to many antimicrobials. A descriptive, retrospective and longitudinal study was conducted in order to characterize the isolates of *Enterococcus* in clinical samples grown in the Microbiology Laboratory of the Arnaldo Milian Castro Provincial University Hospital in 2009. To gather the information, the results of laboratory cultures at this stage were reviewed. This search was made in the Record Books of daily work. The isolates that were considered were those that met the following criteria: all lab-grown sample in this period whose result in the culture showed the isolation of *Enterococcus* and which had undergone a susceptibility study. The universe was formed by 32500 samples, and this organism was isolated in only 31 of them. The 31 cultures that were positive for the genus of interest were separated in number and according to the different categories of body fluids: secretions -18 isolates; urine - four; blood - four; bile - four; and catheter - one. They were predominant in secretions (58.06% of total). *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* were the most isolated species.

especies más aisladas; las pruebas de susceptibilidad mostraron mayor resistencia a la eritromicina (58.06%) y a la tetraciclina (51.62%) y se diagnosticó solo una cepa de *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina (3.24% del total de cepas estudiadas).

DeCS:

ENTEROCOCCUS/aislamiento &
purificación
FARMACORRESISTENCIA
MICROBIANA

INTRODUCCIÓN

El término *Enterococcus* fue utilizado por primera vez en 1899 por Thiercelin para describir diplococos grampositivos de origen intestinal que formaban pares o cadenas cortas. Estos microorganismos fueron clasificados dentro del género *Streptococcus* como *Streptococcus faecalis* por Andrewes y Horder en 1906; un segundo microorganismo fecal, *Streptococcus faecium*, que presentaba características similares al anterior, fue descrito por Orla-Jensen en 1919.¹

Los *Enterococcus* pueden diseminarse por transmisión fecal-oral, por contacto con fluidos de personas infectadas o por contacto con superficies contaminadas; es una bacteria que habita en el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos. Como otras especies del género *Enterococcus*, el *Enterococcus faecalis* y el *faecium* pueden causar infecciones en humanos, especialmente en ambientes de hospital; son muy resistentes a condiciones adversas (congelación, desecación y tratamiento térmico, entre otras), por lo que son buenos indicadores para valorar las condiciones higiénicas y de conservación de los alimentos congelados y desecados.²⁻⁴ Son responsables de infecciones clínicas, hospitalarias y comunitarias que incluyen la infección urinaria, la bacteriemia, la endocarditis, la diverticulitis y la meningitis. Desde un punto de vista médico la característica más importante de este género es su alto nivel de resistencia antibiótica.⁵

Para el tratamiento de las infecciones por este género se ha usado, convencionalmente, la combinación de un antibiótico betalactámico (penicilina, ampicilina) más un aminoglucósido (gentamicina), lo que ejerce un efecto sinérgico y bactericida, pero el aumento de su resistencia llevó al uso del glicopéptido vancomicina como principal alternativa terapéutica para tratar infecciones graves, fundamentalmente de la especie *faecium*. Desde mediados y finales de la década de los 80 se ha informado su resistencia a la vancomicina, primero en Europa y después en Estados Unidos; su incidencia ha ido en aumento en los últimos años.^{3,5} Los *Enterococcus* resistentes a la vancomicina (ERV) emergieron como patógenos nosocomiales en los años 1990. Desde 1989 hasta 1993 el Sistema Nacional de Vigilancia y Control de los Estados Unidos informó que el porcentaje de infecciones nosocomiales causadas por ERV se incrementó de 0,3 a 7,9% en solo cuatro años.⁵

Susceptibility testing showed increased resistance to erythromycin (58.06%) and tetracycline (51.62%) and only one strain of *Enterococcus faecium* was diagnosed as resistant to vancomycin (3.24% of strains tested).

MeSH:

ENTEROCOCCUS/isolation &
purification
DRUG RESISTANCE, MICROBIAL

Información reciente proporcionada por el Centro de control de las enfermedades de los Estados Unidos muestra que, actualmente, la prevalencia de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina en ese país es cercana a un 30%; en Inglaterra se han incrementado en un 50% por año las infecciones por estos microorganismos en algunos hospitales.⁴ Hoy en día existe una situación de colonización endémica en la mayor parte de los hospitales, con una prevalencia de ERV en bacteriemias enterocócicas en Unidades de Cuidados Intensivos próxima al 28%. Durante la última década se han descrito brotes nosocomiales en infecciones esporádicas por ERV en Europa, especialmente en Unidades de Hematología, aunque su prevalencia en general era baja; sin embargo, en los últimos años se evidencia un incremento de la resistencia a la vancomicina entre estos aislamientos y se observa también una mayor implicación de *Enterococcus faecium* entre los ERV y una diversificación en el mecanismo de resistencia.¹ En ocasiones ha sido necesario usar variantes terapéuticas como el Synercid, una combinación de las estreptograminas quinupristin-dalfopristin, o como la Iaoxazolidina Linezolid (Zyvox), así como la evernimomicina y la daptomicina, que han mostrado potente actividad antienterocócica.^{6,7} En Cuba, afortunadamente, el porcentaje de resistencia frente a este glicopéptido es muy bajo (2,7%), lo que contrasta con varios informes sobre epidemias por *Enterococcus* resistentes a la vancomicina.²

Cuba cuenta con un programa de vigilancia de infecciones nosocomiales donde se sigue estrechamente a este microorganismo y se han realizado diversos estudios sobre este género, pero en este medio no se ha particularizado en el conocimiento sobre sus aislamientos en muestras clínicas, por ello surge la interrogante de cómo se comporta en el ambiente hospitalario.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo y longitudinal con el objetivo de caracterizar los aislamientos de *Enterococcus* de muestras clínicas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Provincial Universitario "Arnaldo Milián Castro" en el año 2009. Para la obtención de la información se revisaron los resultados de cultivos (32500) realizados en este período; esta búsqueda fue realizada en los Libros de Registro de trabajo diario del Laboratorio de la institución y con el auxilio de una Guía de Revisión Documental.

Se tuvieron en cuenta los aislamientos independientemente del origen de la infección, es decir, que fueran pacientes que se infectaran durante su estadía hospitalaria o hayan ingresado infectados de la comunidad, además de los atendidos por la consulta externa; se conformó así el universo de estudio. Solo se consideró como criterio de inclusión toda muestra cultivada en el laboratorio en esta etapa cuyo resultado en el cultivo informara el aislamiento de *Enterococcus*, a la que se le hubiera realizado estudio de susceptibilidad y, además, enviado para la confirmación de su diagnóstico y los resultados de las pruebas de susceptibilidad al Laboratorio del Instituto Nacional "Pedro Kourí" (de Referencia Nacional); el total fue de 31 aislamientos (muestreo por conveniencia).

Se realizó la marcha técnica para el diagnóstico de este género y de estas especies según las Normas del Clinical Laboratory Estándar Institute (CLSI),⁸ así como de las técnicas recomendadas para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana en especies de *Enterococcus* que son por difusión en discos y la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM), esta última

especialmente importante para el informe de la susceptibilidad a la vancomicina, la que fue realizada en el Laboratorio de Referencia Nacional.

RESULTADOS

En el período en que se enmarca el estudio se realizaron un total de 32500 cultivos; con diagnóstico del género *Enterococcus* solo 31, para un 0,09%. Los 31 cultivos positivos al género de interés se distribuyeron en número y según las diferentes categorías de fluidos corporales de la siguiente manera: secreciones, 18 aislamientos, -predominaron con un 58.06% del total-; orina, cuatro; sangre, cuatro; bilis, cuatro y catéter, uno (tabla 1). El *Enterococcus faecalis* fue el más aislado en todas las muestras, principalmente en las secreciones, con un 64%, seguido de orina y sangre, con un 12% ambos; de manera general el diagnóstico según las especies demostró predominio del *Enterococcus faecalis* (80,64%), seguido del *Enterococcus faecium* (19,36%) -tabla 2-. Los resultados de las pruebas de susceptibilidad mostraron mayor resistencia de las especies de *Enterococcus* a la eritromicina (58.06%) y la tetraciclina (51.62%), sin encontrar resistencia a la nitrofurantoína; solo una cepa de *Enterococcus faecium* mostró resistencia a la vancomicina y representó el 3,24% del total de las aisladas (tabla 3).

Tabla 1. Aislamientos de *Enterococcus spp* por el tipo de muestra

| Muestra | No. | % |
|--------------|-----------|------------|
| Aislamientos | | |
| Secreciones | 18 | 58.06 |
| Orina | 4 | 12.9 |
| Bilis | 4 | 12.9 |
| Sangre | 4 | 12.9 |
| Catéter | 1 | 3.24 |
| Total | 31 | 100 |

Fuente: Libros de Registros del laboratorio

Tabla 2. Especies de *Enterococcus* aisladas en las muestras colectadas

| Tipo de muestra | Especie de <i>Enterococcus</i> | | | | | |
|-----------------|--------------------------------|--------------|-------------------|--------------|-----------|------------|
| | <i>E. faecalis</i> | | <i>E. faecium</i> | | Total | |
| | No. | % | No. | % | No. | % |
| Secreciones | 16 | 64 | 2 | 33.3 | 18 | 58.06 |
| Orina | 3 | 12 | 1 | 16.6 | 4 | 12.9 |
| Bilis | 2 | 8 | 2 | 33.3 | 4 | 12.9 |
| Sangre | 3 | 12 | 1 | 16.6 | 4 | 12.9 |
| Catéter | 1 | 4 | - | - | 1 | 3.24 |
| Total | 25 | 80.64 | 6 | 19.36 | 31 | 100 |

Fuente: Libros de Registros del laboratorio

Tabla 3. Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Enterococcus spp* aisladas

| Antibióticos | Sensible | | Intermedio | | Resistente | |
|-----------------|----------|-------|------------|-------|------------|-------|
| | No. | % | No. | % | No. | % |
| Ampicillin | 26 | 83.87 | - | - | 5 | 16.13 |
| Tetraciclina | 9 | 29.03 | 6 | 19.35 | 16 | 51.62 |
| Eritromicina | 8 | 25.8 | 5 | 16.14 | 18 | 58.06 |
| Cloranfenicol | 17 | 54.8 | 5 | 16.14 | 9 | 29.06 |
| Ciprofloxacina | 14 | 45.16 | 5 | 16.14 | 11 | 35.48 |
| Nitrofurantoína | 31 | 100 | - | - | - | - |
| Vancomicina | 30 | 96.77 | - | - | 1 | 3.24 |

Fuente: Libros de Registros del laboratorio

DISCUSIÓN

En el total de las muestras cultivadas en el año 2009 los aislamientos de *Enterococcus* no constituyeron un por ciento significativo, dentro de las categorías de fluidos corporales el mayor número de aislamientos positivos a este germe se encontró en las secreciones, seguido de la orina, la sangre y la bilis y, en un por ciento muy bajo, se aisló en el catéter; al revisar otras bibliografías se aprecia que difieren con los resultados de esta investigación. En los Estados Unidos se han informado, en un año, alrededor de 110000 infecciones del tracto urinario, 25000 casos de bacteriemia, 4000 casos de infecciones de heridas y 1100 casos de endocarditis, todas causadas por *Enterococcus*, por lo que se considera este género como la tercera causa más frecuente de infecciones nosocomiales en ese país y responsable de más del 10% de todas las infecciones adquiridas en los hospitales.⁹

¹¹ En este estudio se constató que las especies de *Enterococcus* más aislados en las muestras fueron el faecalis y el faecium y que predominó el primero, resultados que coinciden con otros autores, que citan aislamientos de *Enterococcus faecalis* superiores al 80% y alrededor del 10% de faecium.⁹ En cuanto a la resistencia a antibióticos como la vancomicina y la nitrofurantoína en este estudio fue baja; en antibióticos como la tetraciclina y la eritromicina se detectó un por ciento más alto de resistencia. Otros autores no coinciden con estos resultados e informan, en los Estados Unidos, que en los últimos cuatro años aumentó de un 0,3 a 7,9% la resistencia de los *Enterococcus* a antibióticos como la vancomicina; en Inglaterra se apreció también un aumento de ERV incluso de hasta un 50% en un año.^{1,4} Autores cubanos que han investigado este género bacteriano coinciden en sus trabajos con este hallazgo y plantean que cepas de *Enterococcus faecalis* como *Enterococcus faecium* son muy sensibles a la vancomicina y a la nitrofurantoína y obtienen un porcentaje de resistencia bajo a ambos antimicrobianos; así mismo coinciden, además, en que los *Enterococcus* presentan alta resistencia a otros antibióticos como son la tetraciclina (66%) y la eritromicina (33%).^{7,9}

Aunque en Cuba las infecciones por *Enterococcus*, así como sus niveles de resistencia a los antimicrobianos de mayor uso clínico no alcanzan niveles alarmantes, las infecciones por *Enterococcus* y su resistencia se han manifestado de forma ascendente en varios países del mundo y, por tal motivo, se debe mantener la

vigilancia clínico-epidemiológica-microbiológica de este género con laboratorios capaces de desarrollar este diagnóstico con la marcha técnica adecuada para tales efectos.¹²

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fariñas MC, Torres C. Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Enterococos ¿un patógeno emergente en nuestros hospitales? Enferm Infect Microbiol Clin. 2007; 25(4): 500-2.
2. Quiñones Pérez D, Marrero D, Falero B, Tamargo I, Llop A, Kobayashi N, et al. Susceptibilidad antimicrobiana y factores de virulencia en especies de *Enterococcus* causantes de infecciones pediátricas en Cuba. Rev Cubana Med Trop [revista en Internet]. 2008 ago [acceso 6 de agosto de 2012]; 60(2): [Aprox. 9 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000200004&lng=es
3. Elsner HA, Sobottka I, Mack D, Claussen M, Laufs R, Wirth RA. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010; 19(1): 39-42.
4. Leyva Quert AY, Ruiz Camejo T, González Corrig M, Méndez Peralta T, Ramos Emperador C. Perfil clínico, epidemiológico y microbiológico de la endocarditis infecciosa en el Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2005-2008. Rev Cubana Med [revista en Internet]. 2009 sep [acceso 6 de agosto de 2012]; 48(3): 1-14. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232009000300001&lng=es
5. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. Rev Cubana Hig Epidemiol [revista en Internet]. 2010 ago [citado 2012 Ago 06]; 48(2): 147-61. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032010000200006&lng=es
6. Díaz Álvarez M, Salas Izquierdo CC, Fernández de la Paz MT, Martínez Izquierdo A. Características clínicas y epidemiológicas de las infecciones por *Enterococcus* en el niño. Rev Cubana Pediatr [revista en Internet]. 2007 [acceso 19 de diciembre de 2008]; 79(1): [Aprox. 5 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312007000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
7. Murray BE. The life and times of the *Enterococcus*. Clin Microbiol Rev. 1990 jan; 3(1): 46-65.
8. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty First Information Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. 2011; 3(1): M100- S21.
9. González Mesa M, Morffi Figueroa J, Nodal Becerra L. Frecuencia de aislamientos de *Staphylococcus* spp meticilina resistentes y *Enterococcus* spp vancomicina resistentes en hospitales de Cuba. Rev Cubana Farm [revista en Internet]. 2005 [acceso 7 de enero de 2010]; 39(3): [Aprox. 10 p.] Disponible en: www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol39_3_05/far03305.htm
10. Porte L, Hervé B, Prat S, Chanqueo L. *Enterococcus* sp. Parte I. Rev Chil Infect 2007; 24(3): 231.
11. Köhler W. The present state of species within the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. Intern J Med Microbiol 2007; 297(3): 133-50.
12. Hernández Betancourt O, Cuesta Villoa Y, Méndez del Río D. *Enterococcus* spp y su identificación en los laboratorios microbiológicos. AMC [revista en Internet]. 2008 [acceso 20 de diciembre de 2010]; 9(1): [Aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.amc.sld.cu/amc/2005/v9n1/997.htm>

DE LOS AUTORES

1. Máster en Enfermedades Infecciosas. Especialista de I Grado en Microbiología. Profesor Auxiliar de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara.
2. Máster en Enfermedades Infecciosas. Especialista de I Grado en Microbiología. Especialista de I Grado en Medicina General Integral. Profesor Asistente de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara.
3. Máster en Enfermedades Infecciosas. Especialista de I y II Grados en Microbiología. Profesor Titular y Consultante de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara.
4. Doctora en Ciencias. Máster en Bacteriología-Micología. Especialista de I y II Grados en Microbiología. Departamento de Bacteriología-Micología. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri.