



11227

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

225

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"SALVADOR ZUBIRAN"

Caracterización de las bacteremias por enterococo en el
Instituto Nacional de Ciencias Médicas Y Nutrición
"Salvador Zubirán"

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA
P R E S E N T A:

Dra. Alejandra Ugarte Torres

TUTOR PRINCIPAL

Dr. José Sifuentes Osornio

ASESORES DE TESIS:

Dra. J. Miriam Bobadilla del Valle
Dra. María de Lourdes García García
Dr. L. Alfredo Ponce de León Garduño

México, D.F. Octubre del 2002



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

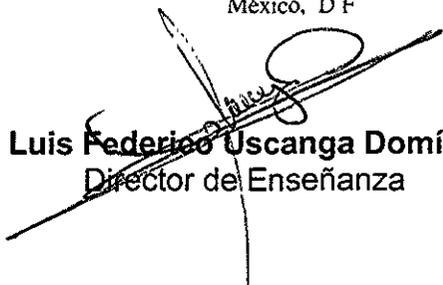
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

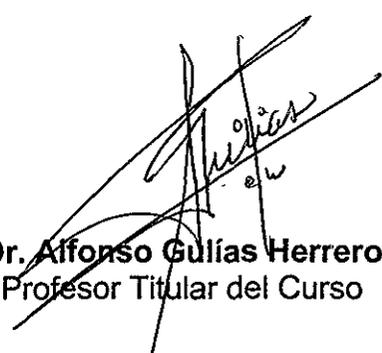


INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
"DR. SALVADOR ZUBIRAN"
DIRECCION DE ENSEÑANZA
México, D F


Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez
Director de Enseñanza



Dr. José Sifuentes Osornio
Tutor Principal de Tesis


Dr. Alfonso Guías Herrero
Profesor Titular del Curso



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
C.P. No. 1

TUTORES

- 1 **Dr. José Sifuentes Osornio.** Departamento de Infectología del INCMNSZ, D F
TUTOR PRINCIPAL.
- 2 **Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño.** Departamento de Infectología del
INCMNSZ, D F **ASESOR GENERAL.**
- 3 **Dra. J. Miriam Bobadilla del Valle.** Laboratorio de Microbiología del INCMNSZ
ASESORA DE BIOLOGIA MOLECULAR.
- 4 **Q.F.B. Ana Lilia Rolón Montes de Oca.** Laboratorio de Microbiología del
INCMNSZ **ASESORA DE MICROBIOLOGIA.**
- 5 **Dra. Lourdes García García.** Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca,
Morelos, México **ASESORA DE ESTADÍSTICA.**
- 6 **Dra. Cecilia García Sancho.** Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias,
Ciudad de México **ASESORA DE ESTADÍSTICA.**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Esta tesis fue realizada y financiada por el laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", con fondos del proyecto "Programa de la Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana en México"

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

Indice	4
Resumen	6
Introducción	7
Antecedentes	8
Aspectos microbiológicos	8
Resistencia antimicrobiana	8
Potencial patógeno de los enterococos	11
Importancia clínica de las bacteremias por enterococo	11
Factores predisponentes de las bacteremias por enterococo	12
Mortalidad atribuible a las bacteremias por enterococo	12
Bacteremias por enterococo en América Latina y en México	13
Hipótesis	14
Objetivos	14
Material y Métodos	15
Método	15
Variables del estudio	15
Metodología	16
Cepas de enterococo	16
Obtención de datos	16
Susceptibilidad antimicrobiana	17
Método de electroforesis de campo pulsado	17
Identificación del gen <i>vanB</i>	18
Análisis estadístico	19
Resultados	20
Características clínicas de los pacientes	20
Características de las cepas de enterococo	22
Susceptibilidad antimicrobiana	22
Análisis de mortalidad	24
Análisis multivariado de mortalidad	24
Análisis genético	25

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Discusión	27
Conclusiones	31
Tablas	32
Tabla 1. Definición de variables	32
Tabla 2 Características basales de los 72 pacientes con bacteremia por enterococo	34
Tabla 3 Características de las 93 cepas de enterococo	36
Tabla 4 Características de los 72 pacientes con bacteremia Asociada a mortalidad	37
Tabla 5 Porcentaje de resistencia, CMI ₅₀ CMI ₉₀ por antibiótico	38
Tabla 6 Susceptibilidad general por especie	39
Tabla 7 Resistencia por especie	40
Tabla 7a Valores de CMI para <i>E faecium</i>	41
Tabla 7b Valores de CMI para <i>E faecalis</i>	42
Tabla 8 Tendencia de resistencia para quinolonas	43
Tabla 9 Asociación de resistencia con mortalidad	44
Tabla 10 Análisis de regresión logística para mortalidad	45
Tabla 11 Descripción del dendograma general	46
Gráfica Tendencia de resistencia a quinolonas	47
Figuras	48
Figura 1. Gel de electroforesis de campo pulsado	48
Figura 2 PCR para gen <i>vanB</i>	48
Figura 3 Distribución de las diferentes especies en el análisis del dendograma	49
Figura 4 Dendograma de cepas de <i>E faecium</i>	50
Figura 5 Dendograma de cepas de <i>E faecalis</i>	51
Anexo	52
Bibliografía	54

Resumen

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Caracterización de las bacteremias por Enterococo en un hospital de tercer nivel.

Ugarte Alejandra*, Ponce de León Alfredo*, García-García Lourdes**, Bobadilla Miriam*, Rolón AnaLilia*, García Cecilia***, Sifuentes-José*

*Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubiran", México, D F

**Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca Morelos

***Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México D F

Introducción: Recientemente se ha descubierto el potencial patógeno de los enterococos como causa de infecciones nosocomiales, especialmente bacteremias. Se ha reportado una mortalidad hasta del 20 al 40% y una alta resistencia a múltiples antibióticos. Condición que representa un serio problema epidemiológico en la actualidad.

Objetivos: Conocer las características epidemiológicas de las bacteremias por enterococo, la susceptibilidad antimicrobiana, la correlación geno-fenotípica y los factores de riesgo de muerte, en un hospital de tercer nivel de la ciudad de México.

Material y Métodos: Revisamos todos los casos de bacteremia por enterococo de enero 1993 a abril 2002. La susceptibilidad se determinó por método de microdilución para ampicilina, vancomicina, ciprofloxacino, gatifloxacino, levofloxacino, teicoplanina, y difusión de disco para gentamicina (120µg) y estreptomina (300µg). El análisis genético se realizó con técnica de electroforesis de campo pulsado y PCR para la búsqueda del gen *vanB*. Se hizo un análisis descriptivo de las características basales de la población con medidas de tendencia central y chi cuadrada para variables categóricas. Para determinar las características asociadas a mortalidad se estimó el riesgo relativo e intervalos de confianza al 95%. Se hizo análisis de supervivencia y análisis de riesgos proporcionales de Cox, introduciendo en el modelo las variables con un P menor de 0.20.

Resultados: Se detectaron 93 bacteremias en el periodo de estudio. Las especies más frecuentes fueron *E. faecalis* 55.9% y *E. faecium* 38.7%, la bacteremia múltiple se presentó en el 29%. La máxima resistencia se presentó para concentración alta de gentamicina hasta en el 81% de los casos. La resistencia a quinolonas se ha incrementado en los últimos 4 años de forma significativa. La resistencia a vancomicina fue identificada en una cepa de *E. faecium* (1.3%) y fue confirmada por presencia de *vanB* mediante PCR. Las variables asociadas a mortalidad fueron: APACHE II >15 puntos, estancia en UTI y resistencia combinada a ampicilina y gentamicina. El análisis genético de las cepas identificó 4 familias asociadas a >65% de coeficiente de similitud, sin presentar brotes. En cuanto a la asociación de las familias similares genéticamente se encontró que 5 grupos se asociaron a la especie de *E. faecium* y 4 de estos grupos se asociaron a resistencia a penicilina, quinolonas y gentamicina ($p < 0.05$).

Conclusiones. Nuestros datos muestran incremento en la frecuencia de las bacteremias por enterococo durante los últimos años en este Instituto, sin embargo se asocia a una mortalidad similar a la reportada en la literatura. La frecuencia de cepas resistentes a vancomicina es menor del 2%, sin embargo es muy alta para gentamicina (dosis altas) y ampicilina, lo cual se asocia significativamente a mortalidad. Por todo ello es necesario replantear los esquemas de tratamiento. La resistencia a quinolonas se ha incrementado también en los últimos años.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales se han incrementado de forma alarmante en la última década. De éstas, las bacteremias son actualmente una causa importante de morbi-mortalidad¹

Los enterococos son patógenos nosocomiales reconocidos recientemente. En Estados Unidos se reportaron como la segunda causa de infecciones nosocomiales¹ y su frecuencia se incrementó 20 veces entre 1989 y 1993 según lo reportado por el Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (the National Nosocomial Infection Surveillance System)². El surgimiento de enterococo como patógeno se atribuye de forma directa a su característica de resistencia intrínseca y de su capacidad para adquirir nuevas resistencias a múltiples antimicrobianos³

Los enterococos representan el tercer germen más frecuente entre las bacteremias nosocomiales en Estados Unidos. El programa Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance (SCOPE) reportó que el 11.7% de las bacteremias nosocomiales eran causadas por enterococo en 1996⁴. Por otro lado, el programa SENTRY dio a conocer que el 14.1% de las bacteremias por enterococo eran producidas por cepas resistentes a vancomicina⁵ en 1997 y en los resultados reportados de este mismo programa de 1997 a 1999, este porcentaje fue del 81.7%⁶. Esta proporción tan elevada de cepas de enterococo resistentes a vancomicina es preocupante debido a las opciones de tratamiento limitadas y por el riesgo potencial de transmisión de genes de resistencia a otros organismos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTECEDENTES

Aspectos microbiológicos.

El nombre de *Enterococcus* proviene del francés *Entérocoque*, que se utilizaba en el siglo pasado para describir las infecciones de origen entérico producidas por estas bacterias⁷ Los enterococos forman parte de la flora intestinal normal de humanos y otros animales. Anteriormente se clasificaban dentro de la familia de los estreptococos del grupo D, sin embargo a partir de los 1980 s después de analizar su contenido de DNA, los observaron que no estaban relacionados con los estreptococos, por lo que han sido agrupados en su propio género¹ Las especies con importancia clínica son *E faecalis*, el más frecuente, seguido de *E faecium*, y los otros enterococos menos frecuentes son: *E durans*, *E avium*, *E raffinosus*, *E gallinarum* y *E casseliflavus*²

Los enterococos son cocos grampositivos que se agrupan en pares y cadenas cortas, son anaerobios facultativos y el crecimiento óptimo ocurre a 35°C. Se caracterizan por crecer en medios que contengan azida de sodio, azul de metileno, sales biliares (40%) y esculina hidrolizada, ó NaCl (6.5%) de y a temperaturas hasta de 45°C. Producen α , β y γ hemólisis en el agar sangre³. Las pruebas bioquímicas estándar para su identificación son las siguientes: hidrólisis de pirrolidoni- β -naftilamida (PYR), reacción de catalasa negativa, producción de leucina-aminopeptidasa y reacción de hidrólisis positiva en medio de bilis-esulina⁸

Resistencia antimicrobiana.

Se conoce que la mayoría de los enterococos tienen resistencia natural a diferentes antibióticos (β -lactámicos, lincosaminas, aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol) y también se caracterizan por su capacidad de adquirir nuevas resistencias. La resistencia a los β -lactámicos se manifiesta por concentraciones inhibitorias mínimas más elevadas que en el género de *Streptococcus*⁹

La mayoría de los enterococos tienen resistencia natural o adquirida a diversos antimicrobianos, incluyendo cefalosporinas, penicilina, ampicilina, ureidopenicilinas, tetraciclinas, entromicina, cloramfenicol y trimetoprim

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la última década se ha reportado una rápida emergencia mundial de cepas resistentes a vancomicina a partir de 1986 y a dosis altas de gentamicina, atribuido al sobreuso de antibióticos en todo el mundo. Esta resistencia está determinada genéticamente, siendo intercambiado a través de plásmidos, bacteriófagos, transposones⁹ y oligopéptidos llamados feromonas. Estas últimas son secretadas al medio de cultivo, y si se encuentra con un plásmido que responda a la feromona, se activa la transcripción de un gen produciendo una proteína que produce agregación de las células de enterococo, transfiriéndose el material genético por un mecanismo no conocido¹⁶. No solo existe un intercambio genético a través de todos estos mecanismos entre las diferentes cepas de enterococos, sino también con otras bacterias de géneros como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *E. Coli*, los cuales también pueden encontrarse en el tubo digestivo¹⁰.

La producción de beta-lactamasas en *E. faecalis* se describió en 1983. La enzima es típicamente penicilasa transferible, producida constitutivamente e inhibida por clavulanato. La secuencia del gen *blaZ* confirma que la enzima es indistinguible de algunas beta lactamasas tipo A de estafilococos. Aunque la mayor parte de los enterococos productores de beta lactamasas muestran resistencia a altas concentraciones de gentamicina, no son características inseparables⁵².

Se han determinado diferentes fenotipos de resistencia a vancomicina y los genes que la confieren^{9 16 30}:

- El primero de ellos es **vanA**, el cual se caracteriza por resistencia de alto nivel a vancomicina (concentración mínima inhibitoria (CMI) = 64 a >1000 µg/mL) y a la teicoplanina de 16-512 µg/mL. Las especies donde se ha encontrado este gen son: *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. avium*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*. Este tipo de resistencia es transferible, pues se localiza en el transposón Tn 1546 de 10 8 Kb.
- El genotipo **vanB** se ha descrito en *E. faecium* y *E. faecalis*, se caracteriza por resistencia variable a vancomicina (CMI de 4-1,000 µg/mL y 0.5-32 µg/mL para teicoplanina), este gen es adquirido (Tn 1547) y transferible en algunas cepas por conjugación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- El genotipo *vanC1* está presente en *E gallinarum* y *vanC2* y *vanC3* en *E casseliflavus*, *E flavescens* y forman parte del material genético normal de estas especies. Se definen por CMI de 2 a 32 µg/mL pero sensibles a la teicoplanina CMI 0.5 a 1 y no son transferibles¹²
- El genotipo *vanD* se describió en una cepa de *E faecium* en Estados Unidos. La presencia de este gen confiere resistencia constitutiva moderada a la vancomicina (CIM 16-64 µg/mL) y bajo nivel a la teicoplanina (CMI de 2-4 µg/mL). Es un gen que puede ser adquirido.
- El genotipo *vanE*. Confiere resistencia baja a vancomicina (CIM 16 µg/mL) y es sensible a teicoplanina (CMI de 0.5 µg/mL). Se ha encontrado en cepas de *E faecalis* y puede ser adquirido.

Las nuevas fluoroquinolonas (moxifloxacino, clinafloxacino, gemifloxacino y sitafloxacino) ofrecen la ventaja de mayor potencia contra organismos grampositivos comparado con otras quinolonas como ciprofloxacino, levofloxacino u ofloxacino. Existe poca información acerca de la eficacia de las fluoroquinolonas para las infecciones graves por enterococo, sin embargo existen reportes aislados de casos de enterococos sensibles y resistentes a vancomicina que se han beneficiado al agregar una fluoroquinolona al tratamiento¹⁰ con aparición posterior de cepas resistentes a estos antibióticos.

Con el uso extendido de aminoglucósidos y penicilina, los enterococos desarrollaron resistencia a dosis altas de gentamicina. Cuando una misma cepa presenta resistencia a dosis altas de gentamicina y de estreptomina, existen pocos esquemas terapéuticos disponibles¹⁶.

Así mismo con la aparición de nuevos medicamentos contra cepas resistentes a vancomicina, se han ido reportando la aparición de cepas resistentes a drogas como quinupristin/dalfopristin y linezolid, con una susceptibilidad intermedia hasta del 12.6% y resistencia en el 3.8%^{5, 20}. Este incremento ha sido también relacionado al uso de análogos de estreptograminas (quinupristin/dalfopristin) en animales de consumo humano, como promotor de crecimiento en alimentos para animales, al demostrarse la diseminación de cepas resistentes^{20, 21, 22, 26}.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A través de múltiples análisis se ha confirmado la transmisión de enterococos resistentes a vancomicina de persona a persona a través de termómetros rectales¹¹, guantes¹⁵ y por contaminación de la piel, por lo que su estudio ha cobrado mucho interés

Potencial patógeno de los enterococos.

Los enterococos se conocen desde hace muchos años por ser patógenos importantes en la infecciones de vías urinarias asociadas a instrumentación o a anomalías anatómicas, meningitis y endocarditis, abscesos intraabdominales y pélvicos¹

Hasta la época de los 90 s los enterococos eran considerados como comensales, debido a su alta frecuencia en la flora de infecciones intraabdominales o pélvicas, basando su potencial patógeno en su sinergismo con otros patógenos, por lo que se dudaba sobre la necesidad de dar tratamiento antimicrobiano. De los primeros estudios que cambiaron este concepto fue el publicado por Garrison et al⁷, donde se analizaron retrospectivamente las bacteremias por enterococos encontrando que tenían un alto potencial patogénico ya que tenían una mortalidad mayor del 50%

Recientemente se han descrito posibles determinantes de patogenicidad de los enterococos productores de bacteremias, como la *citolisina* (toxina estructural) y la *proteína de superficie Esp* (contribuye a la colonización vesical¹⁸)

Importancia clínica de las bacteremias por enterococo.

En 1993 el centro para el control y prevención de enfermedades (CDC Atlanta) informó el incremento de 20 veces en el porcentaje de bacteremias nosocomiales por enterococos a nivel mundial entre 1989 y 1993²

En 1997 se encontró en datos del programa de monitorización de bacteremias nosocomiales SCOPE, que los enterococos representaron el 11.7% de las bacteremias nosocomiales, y ésta se incrementó hasta el 81.7% para 1999. En el SENTRY

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Antimicrobial Surveillance Program de 1997, se reportó que las bacteremias por enterococo representaban la 3ª causa de bacteremia nosocomial⁵

Factores predisponentes de las bacteremias por enterococo.

Se han logrado encontrar los factores predisponentes para la bacteremia por enterococos, y son en general enfermedades crónico degenerativas y debilitantes, así como el antecedente de uso de esteroides^{12 7 13 19} En el caso de bacteremias producidas por cepas resistentes a vancomicina, se ha encontrado una asociación importante con el antecedente de uso de antibióticos, en especial cefalosporinas, vancomicina y agentes contra anaerobios^{23 24 25} Se han identificado a las infecciones de vías urinarias como origen más frecuente de las bacteremias asociadas a cateterismo vesical^{7 13 19} y hasta en cerca de 50% no se logra identificar el origen, es decir son bacteremias primarias

Mortalidad atribuible a las bacteremias por enterococo

La mortalidad atribuida a las bacteremias por enterococo se ha estudiado extensamente. Los primeros reportes demostraron entre 40 y 50% de mortalidad entre los pacientes con bacteremia⁷ Algunos estudios han demostrado que la mortalidad atribuida a la bacteremia es aproximadamente del 25% al 31%^{13 27 28}

Se han identificado factores asociados a mortalidad como son: bacteremia múltiple, bacteremia nosocomial, estancia en terapia intensiva,³⁰ insuficiencia renal aguda, cáncer²⁹, ventilación mecánica, neutropenia grave, escala de APACHE II (acute physiology and chronic health evaluation)²⁷

El tema de la resistencia bacteriana y su asociación con la mortalidad ha sido objetivo de múltiples estudios^{17 19 28 31 32 33 34} Hasta el momento sigue siendo un tema controvertido ya que se han reportado resultados opuestos Sin embargo la mayoría de los estudios han reportado que la resistencia a vancomicina no es un factor independiente de mortalidad

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Bacteremias por enterococo en América Latina y en México.

En la literatura existen escasos reportes de estudios realizados en América Latina. En estos estudios se reporta una frecuencia baja de cepas de enterococo resistentes a vancomicina, del 0 al 15%, en Argentina, Brasil y en Colombia^{5 34 35 36}

La resistencia reportada en general para América Latina a través del programa SENTRY de 1997 a 1999, mostró sensibilidad del 100% de las cepas de enterococo para teicoplanina y vancomicina, para las quinolonas se reportó una resistencia del 60% para ciprofloxacino y del 20% para gatifloxacino, para ampicilina y gentamicina se encontró resistencia del 28%

De los estudios realizados en México se han reportado una frecuencia del 5 al 12% de resistencia a dosis altas de gentamicina en cepas de enterococo y del 25% para enterococos responsables de bacteremias, en un estudio realizado en este Instituto^{39 40 53}

Se carecen de estudios que analicen la situación actual de las bacteremias en México así como los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de enterococo que producen bacteremia

Por lo descrito anteriormente nos damos cuenta que las bacteremias por enterococos son un problema de salud pública, sin embargo todavía son tema de controversia, y no conocemos bien la virulencia real de estos microorganismos. Mientras tanto es importante conocer cuáles son las características de las bacteremias por enterococos en nuestro hospital, en relación a la susceptibilidad antimicrobiana y sus aspectos epidemiológicos, para determinar el tratamiento más adecuado y tratar de detectar los factores asociados a mortalidad en nuestra población

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

HIPÓTESIS

- Existen factores del enterococo (resistencia antimicrobiana) y del huésped (el antecedente de procedimientos invasivos, estado de gravedad), que determinan la muerte, entre los pacientes que desarrollan bacteremia por enterococo
- Las cepas similares genéticamente comparten características fenotípicas semejantes y se asocian a un desenlace similar

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la epidemiología y la tendencia de las bacteremias por enterococo, así como los factores de riesgo de muerte y determinar características fenotípicas y genotípicas de los enterococos responsables de bacteremias, en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Conocer la epidemiología y tendencia de las bacteremias por enterococo
- Identificar la enfermedad y condiciones subyacentes en los pacientes que desarrollan bacteremia por enterococo
- Identificar los factores de riesgo del huésped y del germen que determinan mortalidad
- Identificar las características fenotípicas y genotípicas de los enterococos causantes de bacteremia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

HIPÓTESIS

- Existen factores del enterococo (resistencia antimicrobiana) y del huésped (el antecedente de procedimientos invasivos, estado de gravedad), que determinan la muerte, entre los pacientes que desarrollan bacteremia por enterococo
- Las cepas similares genéticamente comparten características fenotípicas semejantes y se asocian a un desenlace similar

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la epidemiología y la tendencia de las bacteremias por enterococo, así como los factores de riesgo de muerte y determinar características fenotípicas y genotípicas de los enterococos responsables de bacteremias, en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Conocer la epidemiología y tendencia de las bacteremias por enterococo
- Identificar la enfermedad y condiciones subyacentes en los pacientes que desarrollan bacteremia por enterococo
- Identificar los factores de riesgo del huésped y del germen que determinan mortalidad
- Identificar las características fenotípicas y genotípicas de los enterococos causantes de bacteremia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MATERIAL Y MÉTODOS

MÉTODO:

Se realizó un estudio de serie de casos, retrospectivo de en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubiran" (INCMNSZ) ciudad de México de enero de 1993 hasta abril del 2002

Los **critérios de inclusión** fueron:

- Pacientes con fiebre de $\geq 38.3^{\circ}\text{C}$ y sospecha clínica de bacteremia y 2 hemocultivos para enterococo, o
- 1 hemocultivo positivo con aislamiento de cualquier especie de enterococo con identificación del sitio de origen de donde se haya aislado la misma cepa de enterococo, o
- 1 hemocultivo positivo para cualquier especie de enterococo con sospecha clínica del origen de la bacteremia y sin cultivo positivo para enterococo de ese sitio

Los **critérios de exclusión** fueron:

- Pacientes que no cumplan con los requisitos de bacteremia
- Falta de expediente clínico

VARIABLES DEL ESTUDIO:

La **variable dependiente** fue muerte y las **variables independientes** fueron:

- **Socioeconómicas:** edad, género, lugar de residencia
- **Enfermedades subyacentes:** diabetes mellitus (DM), cirrosis hepática (CH), insuficiencia renal crónica (IRC), cáncer sólido, cáncer hematológico, lupus eritematoso generalizado (LEG), trasplante de órgano sólido, trasplante de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

células hematopoyéticas, antecedente quirúrgico, antecedente de procedimiento invasivo relacionado en tiempo con la bacteremia y síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA)

- **Condición inmunosupresora:** uso de esteroides, uso de otros inmunosupresores, esplenectomía y neutropenia grave
- **Sitio de origen la bacteremia.** infección de herida quirúrgica, infección de vías urinarias, endocarditis, celulitis, neumonía, osteomielitis, meningitis, colangitis, sepsis abdominal o absceso
- **Características de la bacteremia:** Fecha de la bacteremia, número de hemocultivos positivos, bacteremia múltiple, bacterias asociadas a la bacteremia múltiple, tiempo de hospitalización entre la fecha de admisión y la bacteremia, bacteremia en unidad de terapia intensiva (UTI)
- **Datos clínicos de la bacteremia y gravedad complicaciones:** síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, total de días de estancia intrahospitalaria, estancia en UTI, APACHE, leucocitos y neutrófilos totales, hemoglobina y hematocrito, tratamiento adecuado, tratamiento previo a la bacteremia, complicaciones: insuficiencia renal aguda, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto (SIRPA), insuficiencia hepática, choque séptico, coagulación intravascular diseminada y hemorragia de tubo digestivo alto (HTDA)
- **Desenlace:** causa de muerte, sobrevivida a 3 y 6 meses, fecha de última consulta médica en el Instituto. (Ver tabla1)

METODOLOGÍA:

Cepas de enterococo. Se estudiaron todas las cepas de enterococo aisladas de sangre de pacientes con sospecha de bacteremia en los servicios de urgencias, unidad de terapia intensiva y hospitalización del INCMNSZ durante el periodo de enero de 1993 a abril del 2002

Obtención de datos: Se revisó la base de datos de hemocultivos del Laboratorio de Microbiología Clínica del INCMNSZ para seleccionar las cepas de enterococo Se

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

recuperaron 93 cepas de enterococo, 52 de *E faecalis*, 36 de *E faecium*, 2 de *E avium*, 1 de *E durans*, 1 de *E casseliflavus* y 1 de *E gallinarum*

Las variables independientes de cada paciente se obtuvieron del expediente clínico y se colectaron en un cuestionario (anexo 1) Posteriormente, fueron capturadas en una base de datos

Susceptibilidad antimicrobiana: A todas las cepas se les realizó susceptibilidad por el método de microdilución en placa, según especificaciones de la National Committee for Laboratory Standards (NCCLS) a los siguientes antibióticos: penicilina (BD[®] BBL[®] Becton Dickinson and Company, Sparks, MD EU) para predecir la susceptibilidad a ampicilina, vancomicina (SIGMA[®] Chemical Company, St Louis, MO EU) ciprofloxacino (BD[®] BBL[®]), gatifloxacino (BD[®] BBL[®]), levofloxacino (BD[®] BBL[®]) y teicoplanina (BD[®] BBL[®])⁴⁹

La determinación de la susceptibilidad a gentamicina 120 µg (BD[®] BBL[®]) y a estreptomicina 300 µg (BD[®] BBL[®]) se realizó por difusión de disco Como control de la prueba se usó la cepa *E faecium* ATCC 51299 y *E faecalis* ATCC 29212⁴⁹

En breve, a partir de un cultivo puro en gelosa sangre de carnero, se tomaron colonias hasta ajustar el inóculo al 0.5 de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) Posteriormente se diluyó 1:1000 Se utilizó como control de la prueba *Enterococcus faecalis* ATCC 29212⁴⁹

Método de electroforesis de campo pulsado. Las cepas se sembraron en agar sangre de carnero y se incubaron a 37°C por 20 a 24hr Del cultivo se tomó una colonia y se inocularon en un tubo con 5mL de caldo de BHI, se incubaron a 37°C con agitación (250 rpm) toda la noche Se tomaron 150µL de cada cultivo en tubos Eppendorff y se centrifugaron a 14,000 rpm durante 2 min El sobrenadante se decantó El paquete celular se lavó con 400µL de buffer PIV (Tris-HCL 1M, NaCl 1M, pH=7.6) y se resuspendió en 150 µL del mismo buffer Los tubos se incubaron a 50°C para equilibrar la temperatura, posteriormente se agregaron 150µL de agarosa de bajo punto de fusión al 1.6%, se tomaron 100 µL para preparar los bloques en los moldes. Los bloques se

dejaron solidificar y se colocaron en un tubo Eppendorff, se resuspendieron con 500 μ L de buffer de lisis pH=7.6 (Tris 1M, NaCl 1M, EDTA 100mM, Brij 58 0.5%, desoxicolato ácido 0.2%, laurilsarcosinato de sodio 0.5%, ribonucleasa A 50 μ g preparado al momento) y se incubaron a 50°C toda la noche. Se eliminó el buffer de lisis y se agregaron 500 μ L de buffer ESP (EDTA 0.4M, laurilsarcosinato de sodio 0.1%, pH 9.5 y 0.5 mg/mL de proteinasa K, preparado al momento) y se incubaron a 50°C durante 24 hr. Los bloques se lavaron 7 veces con buffer TE 1X (Tris 5mM, EDTA 5mM, pH=7.5, fenil-metil-sulfonyl-fluorido 1mM), a 37°C 30 min, después se lavaron 3 veces con buffer TE 0.1X durante 30 min. Se colocaron en 300 μ L de buffer de restricción 1X para equilibrar por 45 min y después a cada bloque se le adicionaron 50U de enzima *Sma* I (Bio-Rad Laboratories®, Hercules CA, EU) y se incubaron a 37° toda la noche⁵⁰

Se preparó el gel de agarosa al 1% con buffer TBE 0.5X para realizar el campo pulsado al y se colocó la mitad de cada bloque en cada pozo del gel, colocando marcador de peso molecular lambda ladder (New England Biolabs® Inc) en los carriles 1 y 15. Se incluyó el control de *Staphylococcus aureus* (Bio-Rad Laboratories®) en el carril 8. La electroforesis se corrió en el programa de estafilococo del equipo GenePath System Bio-Rad Laboratories®. Después de la electroforesis el gel fue teñido con de bromuro de etidio (1 μ g/mL), se lavó con agua durante 15 minutos para el análisis y se tomó fotografía (Fig 1)

Las fotografías de cada gel fueron analizadas por el software Gel Print (Genomic Solutions Inc®, versión 4.0.0, 1998, EU). Cada dendograma obtenido se realizó con el método DICE, con tolerancia del tamaño de banda de 5.0 y umbral de pareamiento de línea de 80.0

Identificación del gen *vanB* Se amplificó por PCR un fragmento de 635 pb (región de gen *vanB*) con las siguientes condiciones: el volumen final de reacción fue de 25 μ L, 15 pmol de oligonucleótidos *vanB* (5' ATGGGAAGCCGATAGTC 3') y *vanB1* (5' GATTCGTTCTCGACC 3') MgCl₂ 2mM; mezcla de dCTP, dATP, dGTP, dTTP 5 mM (Gibco BRL, NY, EUA) y *taq* polimerasa 1U (Gibco BRL, NY, EUA), 5 μ L DNA de cada cepa. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador PTC-100 MJ (Research Inc

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Watertown, Mass EUA) El programa consistió de un ciclo a 94°C 5 min, 30 ciclos de: 94° 30 seg, 54° 30 seg, 72° por 45 seg, y 1 ciclo a 72° por 7 min⁵¹

En cada lote de de amplificación del gene se usó un control positivo con DNA de *E faecium* resistente a vancomicina con genotipo *VanB* aislada en el laboratorio de Microbiología Clínica del INCMNSZ, un control negativo con DNA de *E faecalis* ATCC 29212 y un control negativo de reactivo

Los productos de amplificación fueron separados en un gel de agarosa al 2% y se tñieron con bromuro de etidio (10 mg/mL), para observar la banda de 635 pb⁵¹

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Los datos fueron procesados y analizados con el programa estadístico SPSS versión estándar 10 0 para Windows (SPSS Inc® 1999) Se hizo un análisis descriptivo de las características basales de la población con medidas de tendencia central, con medias y desviación estándar para las variables continuas, y de proporciones y chi cuadrada para las variables categóricas Para determinar las características asociadas a mortalidad se estimó el riesgo relativo e intervalos de confianza al 95% El nivel de significancia considerado para todo el análisis fue de 0 05

Se hizo análisis de sobrevida y análisis de riesgos proporcionales de Cox, introduciendo en el modelo las variables con una P menor de 0 20 El tiempo de sobrevida fue definido a partir de la fecha de primer reporte de cultivo positivo y la fecha de último seguimiento del paciente La causa de muerte fue obtenida del certificado de defunción

El análisis de la tendencia de sensibilidad durante el periodo de estudio se realizó mediante la prueba de χ^2 para tendencia lineal

RESULTADOS

Se recuperaron 93 cepas de enterococos provenientes de hemocultivos durante el periodo de estudio. Con fines del análisis de sensibilidad y genético se consideraron las 93 cepas de enterococo responsables de las bacteremias, sin embargo para el análisis del resto de las variables solo se consideraron los 72 casos de bacteremias, todos ellos con expediente clínico.

Características clínicas de los pacientes.

Las características basales de los casos se describen en la tabla 2. La edad de los pacientes fue en promedio de 47 años (desviación estándar (DE) \pm 19.6). De éstos 27 casos (37.5%) eran \geq 60 años y 46 casos (62.5%) $<$ 60 años. La distribución por sexo fue 39 hombres (54.2%) y 33 (46%) mujeres.

La media de estancia intrahospitalaria fue de 29 días con una DE \pm 40.9 días. De los 72 casos, 29 estuvieron en la UCI en algún momento de la hospitalización, y de ellos, 16 desarrollaron la bacteremia en esa unidad.

Los pacientes tuvieron más de una enfermedad subyacente, las más frecuentes fueron cáncer hematológico 15 casos, cáncer sólido 12, diabetes mellitus 9, insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) 6 y lupus eritematoso generalizado (LEG) 5. Veinte pacientes (27%) no tuvieron ninguna enfermedad subyacente. El 66.7% (48 casos) tuvo algún tipo de inmunosupresión, siendo la más frecuente el uso de esteroides (23/48 casos), seguida de otros inmunosupresores (6/48 casos).

En 38 pacientes la bacteremia apareció después de 60 minutos de los procedimientos invasivos: 18 casos (25%) con evento quirúrgico abdominal, 10 casos (13.8%) con colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE), 5 casos (6.9%) con línea venosa central y 5 casos (4%) con cateterización urinaria con sonda Foley.

Los procedimientos invasivos más frecuentes que no fueron seguidos de bacteremia fueron: cateterización urinaria con sonda Foley en 31 pacientes (43%), catéter venoso central en 8 casos (11.1%), nutrición parenteral total (NPT) 2 (2.8%) y 31 pacientes que no tuvieron ningún tipo de procedimiento invasivo (43%). La media de tiempo entre el procedimiento invasivo y el desarrollo de la bacteremia en estos casos fue de 6.8 días con una DE \pm 10.3 días.

El desarrollo de respuesta inflamatoria sistémica se presentó en 57 casos (79%). De las variables de laboratorio, la media de leucocitos fue de 11,351 cel/mm³, DE \pm 8,800 cel/mm³, de neutrófilos totales de 8,529 cel/mm³, DE \pm 7,900, de hemoglobina fue de 11 g/dL, DE \pm 3.8 y de hematocrito de 32.7%, DE \pm 8.9. En cuanto a la escala de gravedad, APACHE II, tuvo una media de 13 puntos, DE \pm 7 puntos. Al dividir los casos por APACHE II \geq de 15 puntos y <14 puntos al momento de la bacteremia, se encontró una frecuencia de 28 pacientes con APACHE \geq 15 puntos (38%) y 44 pacientes con APACHE II <14 (62%).

Se identificaron 21 (29.7%) casos que habían recibido antibióticos antes de la bacteremia, los antibióticos más frecuentemente utilizados fueron: cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima y ceftriaxona) seguida de aminoglucósidos, quinolonas y agentes contra anaerobios. Se analizó el tratamiento para cada paciente con bacteremia, y se clasificó como "adecuado" si era el sugerido según las recomendaciones válidas para el año en que se presentó la bacteremia, señaladas en la tabla 1, y se encontró que el 73.6% (53 casos) habían tenido tratamiento adecuado y de los 19 casos restantes, 2 pacientes no recibieron ningún tipo de tratamiento.

Al analizar las complicaciones se encontró que por paciente se presentaron de 1 a 4 complicaciones. Las complicaciones más frecuentes fueron: choque séptico en 36 casos, insuficiencia renal aguda (IRA) 31 casos, insuficiencia hepática en 12, síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SIRPA) 11, coagulación intravascular diseminada (CID) 8, hemorragia de tubo digestivo alto (HTDA) y evento vascular cerebral 3 casos cada uno, choque cardiogénico 2 y en 20 pacientes no se presentó ninguna complicación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Características de las bacteremias.

De los 72 pacientes incluidos en el estudio, 43 casos (59.7%) desarrollaron bacteremia nosocomial y 29 (40.2%) bacteremia adquirida en la comunidad

La frecuencia de las bacteremias primarias, es decir aquellas en las que el origen de la infección no se determinó, fue de 3 casos (4%) En el 96% restante se localizó el sitio de origen de la bacteremia, siendo los sitios más frecuentes: infección de la vía biliar (colangitis) 18 casos (25%), infección de vías urinarias 15 (20.8%) y sepsis abdominal 11 (15.3%)

En 21 de los 72 casos de bacteremia (29.2%) se encontraron bacteremia múltiple Los organismos que se asociaron a la bacteremia múltiple con más frecuencia fueron: *E coli*, *P mirabilis*, *S epidermidis* De ellos, 17 (80%) se acompañaron de 1 bacteria más y en 4 casos se aislaron 2 bacterias más La distribución de las especies de enterococo asociadas a las 21 bacteremias múltiples fue: *E faecalis* en 14 casos, *E faecium* en 6 casos y *E casseliflavus* en 1 caso

Características de las cepas de enterococo responsables de las bacteremias.

Las bacteremias se presentaron con frecuencia diferente cada año, con una media de 9.3 ± 5.5 casos por año Los años que más casos presentaron fueron 1999 y 2001 con 18 casos cada uno (19.4%) y el que menos casos tuvo fue 1997 con 1 caso (Ver tabla 3).

Las especies de enterococo tuvieron la siguiente distribución: *E faecalis* 52 casos (55.9%), *E faecium* 36 casos (38.7%), *E avium* 2 casos (2.2%), *E durans* 1 caso, *E casseliflavus* 1 caso y *E gallinarum* 1 caso (1.1%)

En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana, se analizó la frecuencia de resistencia para cada uno de los antibióticos en los 93 aislados El patrón de susceptibilidad se observa en la tabla 5 La resistencia encontrada para penicilina fue de 29%, para ciprofloxacino y gatifloxacino del 43%, para levofloxacino 33%, para

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

teicoplanina 0%, para vancomicina 1 07%, para gentamicina 67% y para estreptomina 52% (Ver tabla 5). El patrón de susceptibilidad por especie se muestra en las tablas 6, 7, 7ª y 7b

Solo se identificó 1 caso de resistencia a vancomicina. Fue una cepa de *E faecium* y se confirmó por técnica de microdilución, prueba E para vancomicina y por la detección del gen *vanB* (Fig 1 cepa 1987)

En cuanto a la susceptibilidad a quinolonas, se encontró el mismo patrón de resistencia para ciprofloxacino y gatifloxacino, independientemente de la especie de enterococo. En general la resistencia fue levemente menor para levofloxacino (Ver tabla 7)

Como se observa en la tabla 8, la resistencia aumentó con el tiempo: desde el 2000 para ciprofloxacino y desde 1999 para gatifloxacino, sin alcanzar significancia estadística. Para levofloxacino, hubo un incremento de 1 8 veces para 1999, 2 6 veces para el 2000, de 4 3 veces para 2001 y de 3 7 veces para el 2002 ($p < 0.02$) (Ver gráfica 1)

E faecium presentó mayor resistencia para todos los antibióticos, excepto para aminoglucósidos (Ver tablas 6, 7, 7ª y 7b). La mayor resistencia en *E faecium* se presentó para quinolonas: ciprofloxacino y gatifloxacino de 72 2% con CMI_{90} 8 $\mu\text{g/mL}$, levofloxacino 58 3% y CMI_{90} 16 $\mu\text{g/mL}$, seguida de penicilina 61% y CMI_{90} 16 $\mu\text{g/mL}$. Para *E faecalis* la resistencia fue más alta para aminoglucósidos: gentamicina 82 6% y para estreptomina del 67 3%

Las cepas de *E gallinarum*, *E avium*, *E casseliflavus* y *E durans* mostraron sensibilidad alta a todos los antibióticos así como falta de resistencia a vancomicina. Únicamente la cepa de *E casseliflavus* mostró resistencia a quinolonas y penicilina. Y las cepas de *E durans* y *E avium* presentaron resistencia del 100% a aminoglucósidos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Análisis de mortalidad

La mortalidad fue del 40.2% (29/72 casos). Del total de pacientes, 26 casos (36.1%) tuvieron como primera causa de muerte el choque séptico. La sobrevida se consideró como el tiempo en meses entre la fecha de reporte del crecimiento del cultivo hasta la fecha en que el paciente fue visto en la última consulta en el hospital. La sobrevida media fue de 1 mes \pm 24.1 meses.

Al analizar la mortalidad, se encontró asociación con las siguientes variables: escala de Apache II mayor de 15 puntos ($p=0.001$) con riesgo relativo (RR) =5.4, estancia en la UTI en cualquier momento del internamiento ($p=0.001$) con RR=8.4 y la bacteremia que se desarrolló en la UTI ($p=0.0001$) con RR=10.8. Los pacientes que presentaron cualquier complicación asociada a la bacteremia tuvieron una mortalidad del 100% (ver tabla 4).

La resistencia a antimicrobianos se asoció con muerte excepto en aquellos pacientes que tenían un aislado resistente a gentamicina y a ampicilina ($p=0.009$) que es el régimen recomendado (Ver tabla 9).

El tratamiento inadecuado de la bacteremia no se asoció a mortalidad. Dos pacientes no recibieron tratamiento para la bacteremia, teniendo en los dos casos como enfermedad de base cáncer sólido y como origen de la bacteremia para el primer caso infección de vías urinarias y para el segundo infección de herida quirúrgica. Los dos casos tuvieron una adecuada evolución siendo egresados y con sobrevida del primer caso de 9 meses y del segundo de 61 meses.

Análisis multivariado para mortalidad.

Se realizó análisis multivariado de regresión de Cox para muerte, incluyéndose las variables que resultaron con valor de p menor de 0.2. Las variables que resultaron ser predictores de mortalidad fueron: la estancia en la unidad de terapia intensiva en cualquier momento de la hospitalización ($p=0.009$) con RR 5.2, escala de APACHE II mayor de 15 puntos ($p=0.024$) con RR 4.4, resistencia a penicilina/ampicilina y gentamicina ($p=0.013$) con RR 6.2. La prueba de ajuste Hosmer-Lemeshow para χ^2

fue de 0.95 (Ver tabla 10) Estas variables se controlaron por edad y sexo, sin presentar asociación ni modificación de los valores

Análisis genético.

Se realizó electroforesis en gel con campo pulsado a las 93 cepas de enterococos. Se agruparon de manera arbitraria aquellas cepas con >65% de similitud y se encontraron 4 familias. La familia I es la más grande y está conformada por 33 cepas, subdividiéndose a su vez en 5 grupos, con coeficiente de similitud mayor del 70%. La familia II está constituida de 15 cepas y se subdivide en 4 grupos con coeficiente de similitud mayor del 72%. La familia III tiene 10 cepas y se subdivide en 3 grupos con coeficiente de similitud mayor del 67%. La familia IV es la más pequeña, la conforman solo 3 cepas pero con el coeficiente de similitud más alto entre todos los casos, de 90%. Se encontraron 31 cepas sin parentesco entre ellas, con un coeficiente de similitud menor de 60%. (Ver tabla 11 y figura 3)

Al analizar la asociación de las familias con la especie de enterococo se encontró que la especie de *E. faecium* se agruparon en las familias Ia, Ib, Ic, IIa y IIIc ($p < 0.05$)

No se obtuvo asociación significativamente estadística cuando se analizó la asociación de familias con mortalidad, bacteremia nosocomial, bacteremia múltiple, bacteremia en UTI y estancia en UTI

Al analizar la asociación de familias y sensibilidad a los diferentes antibióticos se encontró asociación con resistencia a penicilina y quinolonas similar entre las familias Ib, Ic, IIa y IIIc ($p < 0.05$). En el caso de quinolonas, la resistencia a ciprofloxacino y gatifloxacino se asoció con las familias Ib, Ic, Id, IIa y IIIc ($p < 0.05$). La asociación para levofloxacino fue significativa con las familias Ia, Ib, Id y IIIc ($p < 0.05$). Todas estas familias fueron las que más se asociaron a la especie *E. faecium*.

En caso de resistencia a concentraciones elevadas de gentamicina y de estreptomycin, la asociación a familias fue diferente. Para gentamicina la asociación se

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

presentó asociación con las familias Ib, IIa y IV ($p < 0.05$) y para la resistencia a estreptomycinina no se presentó asociación significativa con ninguna familia. Las familias Ib y IIa son las que presentaron asociación a resistencia con múltiples antibióticos (penicilina, quinolonas y a dosis altas de gentamicina).

Se analizaron por dendogramas separados las cepas de *E faecium* y *E faecalis*, encontrando agrupamiento de cepas desde el 60% de coeficiente de similitud para ambas especies. Para las cepas de *E faecium* se encontraron 2 grandes familias, la familia I, estuvo constituida por 27 cepas con coeficiente de similitud de 60%, subdividida en 7 grupos y la familia II por 4 cepas con coeficiente de similitud del 70% y 5 cepas no relacionadas entre sí. Para *E faecalis* se encontraron 5 familias emparentadas a más del 61%. La familia I fue la más grande formada por 16 cepas; la familia II por 9, la familia III por 5, la familia IV por 6 y la familia V por 3. No se encontró asociación con resistencia a los diferentes antimicrobianos. Sin embargo al analizar la asociación con mortalidad se encontraron 2 familias (IV, V) de las cepas de *E faecalis* con significancia estadística ($p < 0.05$) y RR de 4.5. Y para *E faecium* se encontró solo el grupo Ia de la familia I asociado a mortalidad ($p = 0.02$) y RR 5.

Se realizó búsqueda de gen *vanB* por PCR resultando negativo en todas las cepas con excepción de dos casos: una cepa de *E faecium* con MIC para vancomicina de 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (resistente), confirmada por prueba E para vancomicina y teicoplanina 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, compatible con el fenotipo del gen *vanB* y una cepa de *E faecium* con CMI de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para vancomicina (sensible), confirmada por prueba E, teicoplanina de 0.062 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSIÓN

En la actualidad se reconoce que los enterococos tienen un potencial patógeno importante en ciertos tipos de infecciones, principalmente las de origen nosocomial y en especial las bacteremias. El incremento en las cepas resistentes a vancomicina productoras de bacteremias es alarmante y motivo de múltiples estudios para determinar factores de riesgo que permitan el control de estas infecciones, así como patrones de resistencia para plantear estrategias de tratamiento y factores de riesgo para muerte. Desafortunadamente en México se desconoce la situación de las bacteremias por enterococo; Sifuentes-Osornio et al informaron un incremento notable en el número de bacteremias por enterococo en el INCMNSZ durante el periodo de 1981 a 1992⁵³

En este estudio encontramos que la población en que se desarrollaron las bacteremias por enterococo fueron en pacientes de edad adulta, con una media de 47 años, siendo hasta un tercio mayor de 60 años, con alguna enfermedad desgastante, como cáncer y diabetes mellitus, lo cual es similar a lo reportado en la literatura y forman parte de los factores predisponentes ya identificados para las bacteremias por enterococo^{17 27 29}. Sin embargo un tercio de nuestros casos eran previamente sanos, esto probablemente se deba a que los casos de pacientes sanos tenían como origen de la infección la sepsis abdominal secundaria a traumatismos, o infecciones de la vía biliar por obstrucción benigna.

En cuanto a procedimientos invasivos se ha estudiado su asociación con el desarrollo de las bacteremias, sin embargo no se ha hecho la distinción entre los procedimientos que son seguidos del desarrollo de la bacteremia de forma inmediata. En nuestro estudio pudimos encontrar procedimientos con desarrollo de bacteremia hasta 1 hr después de la intervención, siendo los más frecuentes la cirugía abdominal y la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica. Probablemente, estos procedimientos son los que se asociaron más con la bacteremia por la posible movilización bacteriana con dichos procedimientos, así como por que fueron los sitios de origen de la bacteremia más frecuentes entre los casos.

Se han reportado porcentajes de mortalidad asociados a bacteremias por enterococo tan altos como del 40% en algunas series^{15 17 28 29 33} Algunos estudios encuentran porcentajes hasta del 25% cuando se analiza la mortalidad atribuible a la bacteremia

En nuestro estudio se encontró una mortalidad cruda del 40 2% Para conocer el impacto de las bacteremias sobre la mortalidad, se consideró solo la mortalidad asociada al choque séptico, la cual fue de 26% Sin embargo, el diseño del estudio no permite realizar esta asociación

Los factores independientes de mortalidad que identificamos al realizar análisis multivariado de regresión de Cox fueron la estancia en UTI en cualquier momento de la hospitalización con un riesgo de morir de 5 veces más, escala de APACHE II mayor de 15 puntos, con riesgo de muerte hasta de 4 4 veces más; y la resistencia combinada a penicilina y gentamicina con riesgo de muerte de 6 veces más Este último hallazgo fue muy importante, ya que se encontró una alta resistencia a estos dos antimicrobianos en nuestra población y es el esquema de tratamiento más empleado Por lo anterior, es necesario replantear los esquemas de antimicrobianos para el tratamiento de infecciones graves por enterococo, debido a la resistencia elevada a los antimicrobianos más empleados

Los patrones de sensibilidad observados en nuestro estudio, son muy diferentes a los reportados en la literatura de Estados Unidos y países de Europa, donde la resistencia a la vancomicina representan problemas de salud pública²⁴ En México, se habían reportado frecuencias de resistencia a dosis altas a gentamicina en los enterococos responsables de bacteremias del 5 al 25%^{38 39}, sin embargo en nuestro estudio encontramos una frecuencia más alta, del 69%, siendo más importante para las cepas de *E faecalis*

La resistencia a vancomicina entre nuestra población fue del 1 07% y la resistencia a otros antibióticos parece ser más importante

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Entre las quinolonas estudiadas, levofloxacin es el antibiótico con menor porcentaje de resistencia. Sin embargo, se ha visto un incremento progresivo de cepas resistentes para todas las quinolonas probadas y significativo únicamente para levofloxacin en los últimos 3 años, tanto para cepas de *E. faecium* como de *E. faecalis*. Este fenómeno de resistencia a quinolonas probablemente refleje el uso indiscriminado que se ha hecho de las quinolonas en países como en México, y más aún su empleo en infecciones asociadas a las bacteremias por enterococo, como son infección de vías urinarias.

En el caso de glicopéptidos, estos no representan un problema ya que el 99% de las cepas de nuestra población mostraron ser sensibles a este grupo de antibióticos. Esto podría obedecer a la racionalización estricta que existe para la prescripción de este tipo de antibióticos en el hospital de estudio. Estos resultados pueden no extrapolarse al resto de la población y hacen necesario la realización de estudios de sensibilidad en otras instituciones de la Ciudad de México y del resto del país. Sin embargo, éstos constituyen una herramienta terapéutica valiosa para las cepas de enterococo resistentes.

Hasta el momento actual se han realizado diversos estudios para analizar la asociación genética de cepas de *E. faecium* obtenidas de muestras animales (cerdos y pollos) y de humanos, con la finalidad de identificar la transmisión de cepas principalmente resistentes a vancomicina de animales a humanos. Se ha logrado demostrar la existencia de un geno-grupo común para los cerdos y humanos tanto en cepas de un mismo país como en cepas provenientes de países diferentes (Holanda y Grecia⁵⁰). Recientemente se publicó un estudio⁵¹ que valora la asociación a dos antimicrobianos en muestras de heces de animales y de humanos, donde encontró que la resistencia a altas dosis de gentamicina se asociaron a resistencia también a quinupristin/dalfopristin en cepas de *E. faecium*, tanto de pollos como de humanos. Sin embargo hasta el momento no existen asociaciones de geno-familias con resistencia a más de una droga.

En diversos estudios se determinó la diversidad genética mediante la siguiente fórmula: $DG = [n/(n - 1)](1 - \sum x_i^2)$ donde x_i es la frecuencia de cepas idénticas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(coeficiente de similitud mayor del 95%) y n es el número de cepas^{35,36} Cuando las cepas son altamente diversas y no existen cepas idénticas, la $DG = 1$ Cuando las cepas son idénticas la $DG = 0$ Por lo tanto a mayor valor de GP mayor heterogeneidad genética En el caso de las cepas estudiadas en este análisis el valor de GP fue de 1 No se observaron brotes, y las cepas con mayor similitud fueron aisladas en años diferentes (1995, 1999 y 2001)

Los estudios donde se analizan las geno-familias de muestras de cepas de humanos, se han tomado solo cepas de *E faecium* por ser las que más tienden a formar familias. En nuestro estudio realizamos análisis de asociación de las geno-familias con las diferentes especies, encontrando también formación de geno-familias unicamente de las cepas de *E faecium*

Por otro lado los estudios previos se han enfocado a confirmar transmisión de cepas de enterococo En nuestro estudio se analizó la asociación de las geno-familias con diferentes variables clínicas: mortalidad, estancia en la UTI, bacteremia desarrollada en la UTI, de las cuales ninguna mostró significancia estadística Este fenómeno probablemente esté en relación a que no se presentaron brotes en el periodo de estudio

En cuanto a la asociación de las geno-familias con la resistencia a diversos antimicrobianos, se encontró asociación significativa de 2 geno-familias con la resistencia a quinolonas en especial con ciprofloxacino y gatifloxacino, gentamicina y penicilina Al analizar por separado las diferentes especies en un dendograma cada una, se encontró heterogeneidad entre las cepas de una misma especie No se encontró asociación con resistencia a los diferentes antimicrobianos En cuanto a la asociación con mortalidad, para las cepas de *E faecium* se encontró asociación con 1 familia conformada por 4 cepas ($p=0.02$) y para las cepas de *E faecalis* se encontraron 2 familias formadas por 6 y 3 cepas respectivamente ($p<0.05$) Una limitante importante del estudio desde el punto de vista genético es la cantidad pequeña de cepas que formaban una familia, en la mayoría de los casos fue menor de 5, ya que este numero es considerado en la literatura como significativo para 1 familia^{50,51} Lo que da terreno para nuevos proyectos de investigación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

- 1 Las bacteremias por enterococo en nuestro INCMNSZ se asocian a muerte cuando se presenta: resistencia tanto a ampicilina como a concentraciones altas de gentamicina, estancia en la UTI y escala de gravedad APACHE II mayor de 15 puntos
- 2 Los enterococos responsables de las bacteremias en el INCMNSZ muestran un incremento en frecuencia y resistencia elevada a diferentes antimicrobianos, en especial a aminoglucósidos y ampicilina, haciendo necesario replantear los esquemas terapéuticos en nuestra población
- 3 Los glicopéptidos siguen siendo herramientas terapéuticas importantes en nuestra población para las infecciones graves por enterococo y deberían ser el esquema terapéutico empírico ante el aislamiento de un coco gram positivo en sangre
- 4 Las cepas de *E faecium* tienden a tener mayor similitud genotípica y mayor traducción fenotípica, mostrando patrones de resistencia a diversos tipos de antimicrobianos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1 Descripción de las variables

Variable	Definición	Escala de medición	Categoría
Bacteremia por enterococo	Fiebre con temperatura corporal > 38.5°C más 2 Hemocultivos positivo para cualquier especie de enterococo ó 1 hemocultivo positivo más identificación de la fuente de la bacteremia por cultivo positivo con el mismo germen o por datos clínicos de infección en un sitio determinado	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Bacteremia nosocomial	Si los hemocultivos positivos fueron realizados 5 días después de la hospitalización	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Sexo		Nominal	Masculino (1) femenino (2)
Edad	Edad cumplida según fecha de nacimiento	Cuantitativa continua	Años
Lugar de residencia	Residencia hasta antes de hospitalización	Nominal	Númerica
Fecha de diagnóstico	Fecha en la que se reportó el hemocultivo positivo	Catógorica	Continua
Diabetes Mellitus	Según criterios del National Diabetes Data Group of the National Institutes of Health de 1979	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Cáncer sólido	Neoplasia sólida con o sin tratamiento	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Cáncer hematológico	Neoplasia hematológica como leucemias agudas, leucemias crónicas Linfomas con o sin tratamiento	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
SIDA	Infección por VIH más una infección definitiva	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
LEG	Diagnóstico establecido por datos clínicos y exámenes inmunológicos	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Transplante de órgano sólido	Historia de transplante renal de donador vivo relacionado o cadavérico y transplante hepático se consignará la fecha del transplante	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Carga viral	Cantidad de partículas virales reportadas mediante el método de	Cuantitativa continua	Númerica log
Conteo de CD4	Cantidad de células CD4 positivas	Cuantitativa continua	Númerica Cel/mm ³
Esplenectomía	Historia de esplenectomía independientemente de la causa	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Cirrosis hepática	Definida por biopsia o por análisis de laboratorio y cuadro clínico	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Transplante de células hematopoyéticas	Historia de transplante de células hematopoyéticas por cualquier razón. Se consignará la fecha del transplante	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Insuficiencia renal crónica	Deterioro de la función renal con Cr >2 mg/dL ó Dep Cr < 50ml/min	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Uso de esteroides	Uso de prednisona o cualquier otro esteroide a dosis equivalentes, con dosis mínima de 10mg al día durante mínimo 2 semanas máximo 30 días previos a la bacteremia	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Uso de inmunosupresores	Uso de cualquier agente inmunosupresor independientemente de la causa máximo 30 días previos a la bacteremia	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Neutropenia grave	Cuenta de neutrófilos totales < 500 cel/mm ³	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)
Procedimiento invasivo asociado en tiempo a la bacteremia	Haber sido sometido a procedimientos invasivos como y que se haya desarrollado la bacteremia hasta máximo 1 hr después	Nominal	Númerica Cirugía = 1 Cistoscopia = 2 Nefrostomía = 3 Sonda Foley = 4 vía endovenosa central = 5 nutrición parent total = 6 panendoscopia = 7 colonoscopia = 8 colangio Retróg endos = 9 nefrostomía = 10
Bacteremia múltiple	Presencia en el mismo hemocultivo de una o más bacterias diferentes a cualquier especie de enterococo	Nominal	Númerica Si No (1, 2)
Bacterias asociadas	Presencia de cualquier otra bacteria desarrollada en el hemocultivo	Catógorica	
Uso previo de antibióticos	Uso de antibióticos dentro de los 30 días previos de la bacteremia por lo menos durante 2 días	Nominal	Númerica Si, No (1, 2)

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 1. Definición de variables.

Variable	Definición	Escala de medición	Categoría
Días transcurridos entre el ingreso y la bacteremia	Días transcurridos entre la admisión hospitalaria y la bacteremia	Cuantitativa continua	Días
Sitio de origen de la bacteremia	Documentada por cultivo del mismo germen del hemocultivo o con datos clínicos sugerentes del sitio de infección	Nominal	Númérica Henda quirúrg = 1 Celulitis = 2 IVU= 3 Endocarditis = 4 neumonía = 5 osteomielitis = 6 Gepi= 7 Meningitis =8 Colangitis =9 sépsis abdominal=10 Pentonitis Tenckhoff =11
Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica	Por lo menos 2 de las siguientes condiciones 1 Temperatura oral >38°C, o < 36°C 2 Frecuencia respiratoria > 20/min ó PaCO ₂ <32 mmHg 3 Frecuencia cardiaca >90 latidos/min 4 Leucocitos >12 000/mm ³ ó < 4 000 ó > 10% bandas	Nominal	Númérica Si, No (1 2)
Días de estancia intrahospitalaria	Días de hospitalización desde su ingreso al hospital hasta su egreso independientemente del servicio que recibió al paciente	Cuantitativa continua	Días
Estancia en la Unidad de Terapia Intensiva	Estancia en cualquier momento de la hospitalización en la Unidad de Terapia Intensiva	Cuantitativa continua	Días
Clasificación de severidad de la enfermedad APACHE II	Puntaje más alto según la clasificación de APACHE II durante la hospitalización	Cuantitativa continua	Númérica 1= >15 2=<15
Complicaciones relacionadas a la bacteremia	Insuficiencia renal aguda elevación >0.5 el valor basal de Cr Insuficiencia hepática elevación de bilirrubina total al doble de su valor basal y/o duplicación del valor basal de las transaminasas, prolongación por más de 3 segundos del TP Síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto pO ₂ /F _i O ₂ <200 infiltrados pulmonares bilaterales en Rx de tórax PCP <18 o ausencia de datos clínico de insuficiencia cardiaca Choque séptico gasto cardiaco >5L/min e índices de resistencias < 1900 dinas/seg/m ² /cm ² asociado a sepsis Coagulación intravascular diseminada Fibrinógeno < 200 Dimero D >2 <4 tiempos de coagulación prolongados y trombocitopenia	Nominal	Númérica Si, No (1 2)
Tratamiento adecuado	Tratamiento antimicrobiano recomendado para el año de aislamiento según guías de tratamiento Sanford 1993 Penicilina G o ampicilina +gentam 1994 o Vancomicina + gentamicina 1995 1996 1997 Penicilina G o ampicilina 1998 o Vancomicina o Amoxi/Sulbactam 1999 para <i>E. Faecalis</i> 2000 o Quinupristin/dalfopristin (Synercid) 2001 para <i>E. faecium</i>	Nominal	Númérica Si, No (1 2)
Muerte	Defunción a relacionada a la bacteremia	Nominal	Númérica Si, No (1 2)
Causa de muerte Relacionada a la bacteremia	Causa asentada en la nota de defunción del expediente clínico o del certificado de defunción expresada como choque séptico	Categorónica	Númérica Si, No (1,2)
Vivo a 3 meses		Nominal	Númérica Si, No (1,2)
Vivo a 6 meses		Nominal	Númérica Si No (1 2)
Fecha de la última consulta	Fecha en que fue revisado por última vez en el Instituto	Cuantitativa	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 2. Características basales de los 72 pacientes con bacteremia

Característica	Frecuencia
Sexo	
Masculino no (%)	39 (54.2%)
Femenino	33 (46.0%)
Edad	
(x, DE)	47.8 (± 19.6)
>60 años no (%)	27 (37.5%)
Días de estancia intrahospitalaria	
(x, DE)	29 ± 40.9
Pacientes con estancia en UTI	
No (%)	29 (40)
Pacientes con desarrollo de bacteremia en UTI	
No (%)	16 (22.2%)
Enfermedades subyacentes* (no)	
Cáncer hematológico	15
Cáncer sólido	12
Diabetes Mellitus	9
IRCT	6
LEG	5
Enfermedad inflamatoria intestinal	4
Cirrosis hepática	3
Transplante de órgano sólido	3
SIDA	2
Desnutrición	2
Anemia Aplásica	1
Insuficiencia suprarrenal	1
Ninguna	20
Inmunosupresión* (no)	
Esteroides	23
Inmunosupresores	6
Neutropenia grave	2
Esplenectomizados	1
Ninguna	40
Procedimientos invasivos con desarrollo de la bacteremia en los siguientes 60 min* (no)	
Cirugía abdominal	18 (25%)
CPRE	10 (14%)
Catéter venoso central	5 (7.0%)
Sonda Foley	4 (5.5%)
Cistoscopia	2 (3.0%)
Nefrostomía	2 (3.0%)
Ninguno	31 (43%)
Procedimientos invasivos con desarrollo de la bacteremia > 60 min. después* (No)	
Sonda Foley	31 (43%)
Catéter venoso central	8 (11.1%)
Nutrición parenteral total	2 (2.8%)
Ninguno	31 (43%)
Días entre procedimiento invasivo y bacteremia	
(x, DE)	6.8 ± 10.3
Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)	
No. (%)	57 (79.2%)
Apache II	
(x, DE)	13 ± 7
>15 puntos (no %)	28 (38%)
Características laboratoriales	
Cuenta de leucocitos (cel/mm ³)	11 351 ± 8 800
Hematocrito totales (cel/mm ³)	8 529 ± 7 900
Hemoglobina (g/dL)	11 ± 3.8
Hematocrito (%)	32.7 ± 8.9
Tratamiento antibiótico previo	
No (%)	21 (29.1%)
Tratamiento antibiótico adecuado	
No (%)	53 (73.6%)

* Un paciente puede tener una o más condiciones

Tabla 2. Características basales de los 72 pacientes con bacteremia (continuación)

Característica	Frecuencia
<i>Complicaciones*</i> (no)	
Choque séptico	36
IRA	31
Insuficiencia hepática	12
SIRPA	11
CID	8
HTDA	3
EVC	3
Choque cardiogénico	2
Ninguna	20
<i>Mortalidad</i>	
No (%)	29 (40.2%)
<i>Sobrevivida en meses</i>	
(x, DE)	1 + 24.1

* Un paciente puede tener una o más condiciones

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3. Características de las 93 cepas de enterococos aisladas.

Característica	No. (%)
Especie (No %)	
<i>E faecalis</i>	52 (55.9)
<i>E faecium</i>	36 (38.7)
<i>E avium</i>	2 (2.2)
<i>E durans</i>	1 (1.1)
<i>E casseliflavus</i>	1 (1.1)
<i>E gallinarum</i>	1 (1.1)
Frecuencia de bacteremia por año (No %)	
1993	13 (14)
1994	6 (6.5)
1995	6 (6.5)
1996	6 (6.5)
1997	1 (1.1)
1998	8 (8.6)
1999	18 (19.4)
2000	10 (10.8)
2001	18 (19.4)
2002	7 (7.5)
Bacteremia múltiple	21 (22.5)
Bacterias acompañantes de la bacteremia (No)	
<i>E coli</i>	5 (23.8)
<i>S epidermidis</i>	3 (14.2)
<i>P mirabilis</i>	3 (14.2)
<i>K pneumoniae</i>	3 (14.2)
<i>P aeruginosa</i>	2 (9.5)
<i>E cloacae</i>	1 (4.8)
<i>P aeruginosa - E cloacae</i>	1 (4.8)
<i>K pneumoniae - P mirabilis</i>	1 (4.8)
<i>K pneumoniae - S epidermidis</i>	1 (4.8)
<i>S epidermidis - Streptococcus</i>	1 (4.8)
Bacteremia primaria*	
No (%)	3 (4)
Bacteremia secundaria*	
No (%)	69 (96)
Origen de la bacteremia secundaria* No (%)	
Colangitis	18 (25)
Infección de vías urinarias	15 (20.8)
Sepsis abdominal	11 (15.3)
Neumonía	6 (8.3)
Herida quirúrgica	5 (6.9)
Celulitis	5 (6.9)
Endocarditis	3 (4.2)
Gastroenteritis	3 (4.2)
Osteomielitis	1 (1.4)
Meningitis	1 (1.4)
Pneumonitis asoc Tenckhoff	1 (1.4)
Bacteremia nosocomial*	
No (%)	43 (59)

* de los 72 pacientes con bacteremia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4. Características de los 72 pacientes con bacteremia asociadas a mortalidad

Característica	Muertos		Vivos		Riesgo Relativo (Intervalo de confiianza al 95%)	p
	n (29)	%	n (43)	%		
Sexo						
M/F	15/14	52	24/19	56	0.9 (0.5 - 1.5)	0.7
Edad						
>60 años	10	7.2	17	24	0.8 (0.3 - 2.1)	0.6
>70 años	6	21	8	19	1.1 (0.3 - 3.7)	0.8
Estancia en UTI	20	27.7	9	12.5	8.4 (2.9-24.6)	0.0001
Bacteremia en UTI	13	18	3	4.1	10.8 (2.7-43.1)	0.0001
Enfermedades subyacentes¹						
Cualquier enfermedad	21	72	31	72	1 (0.3 - 2.9)	0.9
Cáncer hematológico	8	27	7	16	1.3 (0.6 - 2.7)	0.4
LEG	4	13	1	2.3	2 (1 - 3.9)	0.1
DM	4	13	5	11	1.1 (0.4 - 2.7)	0.8
Cáncer sólido	3	10	9	21	0.6 (0.2 - 1.9)	0.3
IRCT	3	10	3	7	1.2 (0.4 - 3.2)	0.6
Sin enfermedad	8	27	12	28		1
Inmunosupresión¹						
Cualquier inmunosupresión	13	45	19	44	1 (0.3 - 2.6)	0.9
Esteroides	10	34	13	30	1.1 (0.5 - 1.9)	0.7
Inmunosupresores	8	27	9	21	1.1 (0.6 - 2.1)	0.6
Neutropenia Grave	3	10	5	11	0.9 (0.3 - 2.4)	0.8
Sin inmunosupresión	16	55	24	56		1
Proc. Inv. con desarrollo de la bacteremia dentro de las 3 hr siguientes						
Cirugía abdominal	10	34	8	19	1.3 (0.7 - 2.3)	0.3
CPRE	3	10	7	16	0.7 (0.2 - 2)	0.5
Sin procedimiento invasivos	13	45	18	42		1
Bacteremia primaria	2	6	1	2	3.1 (0.2-36)	0.3
Origen de la bacteremia secundaria						
Sepsis abdominal	8	27	3	7	1.1 (0.4 - 1.1)	0.8
Colangitis	4	14	14	32	0.3 (0.1 - 1.1)	0.1
Herida quirúrgica	2	7	3	7	0.6 (0.1 - 2.2)	0.4
Ivu	2	7	13	30	0.2 (0.04 - 0.9)	0.04
Endocarditis	2	7	1	2.3	1 (0.3 - 3)	0.3
Celulitis	1	3	4	9	0.3 (0.04 - 2.1)	0.1
Apache II						
>15 puntos	18	62	10	23	5.4 (1.9-15.1)	0.001
Cuenta de leucocitos (cel/mm ³) (media, DE)	10 683	8 904	9 233	7 434	NA	0.43
Neutrófilos totales (cel/mm ³) (media DE)	9 223	7 434	8 059	8 341	NA	0.53
Hemoglobina (g/dL) (media, DE)	10.4	3	11.6	2.9	NA	0.09
Hematocrito (%) (media, DE)	30.6	9.3	34	8.4	NA	0.11
Tratamiento antibiótico previo	7	24	14	32	0.7 (0.3 - 1.5)	0.4
Tratamiento inadecuado	9	31	10	23	1.4 (0.5-4.2)	0.4
Complicaciones¹						
Choque séptico	25	86	11	25	20.1 (2.9-139.9)	0.0
IRA	19	65	12	28	17.8 (2.5-124.4)	0.0
SIRPA	8	27	3	7	21.1 (2.9-149.6)	0.0
CID	7	24	1	2.3	25.4 (3.6-177.2)	0.0
Insuficiencia hepática	6	20	6	14	14.5 (1.9-107.9)	0.0003
Sin complicaciones	0	0	29	100	NA	1.0
Bacteremia nosocomial²	17	59	26	60	0.9 (0.3-2.4)	0.9
Especie*						
<i>E. faecalis</i>	14	46	17	39	1.2 (0.7 - 2.1)	0.4
<i>E. faecium</i>	12	41	23	53	0.7 (0.4 - 1.3)	0.3
Bacteremia múltiple*	11	38	10	23	2.0 (0.7-5.6)	0.1

¹ Categoría de referencia: no tener la condición
DE: desviación estándar
NA: No aplica

² De las 93 cepas responsables de la bacteremia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 5. Porcentaje de resistencia, CMI₅₀ y CMI₉₀ general por antibiótico de los 93 aislados de enterococo.

Antibiótico	Resistente (%) n=93	CMI ₅₀	CMI ₉₀ [†]
Penicilina	27 (29)	4	8
Ciprofloxacino	40 (43)	1	4
Gatifloxacino	40 (43)	2	8
Levofloxacino	31 (33)	1	8
Tetraciclina	0 (0)	0.031	0.062
Vancomicina	1 (1.1)	1	4
Gentamicina	63 (67.7)		
Estreptomina	49 (52.6)		

[†]CMI₅₀ = concentración mínima inhibidora en el 50% de los casos

^{††}CMI₉₀ = concentración mínima inhibidora en el 90% de los casos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Susceptibilidad general por especie

Antibiótico		Especie					Total
		E. faecium	E. faecalis	E. durans	E. casseliflavus	E. gallinarum	
penicilina	Sensible	14	43				2
	Resistente	22	4				27
	Total	36	52				93
ciprofloxacino	Sensible	10	39				2
	Resistente	26	13				40
	Total	36	52				93
gatifloxacino	Sensible	10	39				2
	Resistente	26	13				40
	Total	36	52				93
levofloxacino	Sensible	15	42				2
	Resistente	21	10				31
	Total	36	52				93
teicoplanina	Sensible	36	52				2
	Total	36	52				93
	Sensible	35	52				2
vancomicina	Sensible	1	52				2
	Resistente	35					92
	Total	36	52				93
gentamicina	Sensible	19	9				2
	Resistente	17	43				63
	Total	36	52				93
estreptomicina	Sensible	25	17				2
	Resistente	11	35				44
	Total	36	52				93

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 7. Resistencia a los diferentes antimicrobianos por especie

Antibiótico	<i>E. faecium</i> n=38 (%)	<i>E. faecalis</i> n=52 (%)
Penicilina	22 (51)	4 (7.6)
Ciprofloxacino	26 (72.2)	13 (25)
Gatifloxacino	26 (72.2)	13 (25)
Lerofloxacino	21 (58.3)	10 (19)
Teicoplanina	0 (0)	0 (0)
Vancomicina	1 (2.7)	0 (0)
Gentamicina	17 (47.2)	43 (82.6)
Estreptomicina	11 (30.5)	35 (67.3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 7a Valores de concentraciones minimas inhibitorias por antibiótico para las 36 cepas de *E faecium*.

Antibiótico	0.031	0.062	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	CMi ₅₀	CMi ₉₀
	µg/mL												
Penicilina		1			4	2	2	2	2	2	22	16	16
Ciprofloxacino				1	1	8	8	4	14			2	8
Gatifloxacino		1		2	4	6	6	2	10	5		2	16
Levofloxacino				1	1	5	8	6	10	5		4	16
Vancomicina					5	22	6	2				1	32
Tetracoplanina	22	4	6	2								0.031	0.25

Las zonas sombreadas corresponden a las CMi de resistencia
 *CMi₅₀ = Concentración mínima inhibidora en el 50% de las cepas
 **CMi₉₀ = Concentración mínima inhibidora en el 90% de las cepas

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 7b. Valores de concentraciones mínimas inhibitorias por antibiótico para las 52 cepas de *E faecalis*.

Antibiótico	0.031 µg/mL	0.062 µg/mL	0.125 µg/mL	0.25 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL	4 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	CM ₅₀	CM ₉₀ **
Penicilina	1			1	4	4	10	14	14	4	4	16
Ciprofloxacino		2		3	16	18	4	3	6		1	8
Gatifloxacino	1			11	26	5	1		6	2	0.5	16
Levofloxacino		1		3	3	26	9		6	2	1	16
Vancomicina					3	13	23	13		2	2	4
Tecoplanina	40	6	4	2							0.031	0.25

Las zonas sombreadas corresponden a las CMI de resistencia

*CM₅₀ = Concentración mínima inhibidora en el 50% de las cepas

**CM₉₀ = Concentración mínima inhibidora en el 90% de las cepas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 8. Tendencia de resistencia para quinolonas

año	n bacteremias	Ciprofloxacino n de cepas resistentes	Gatifloxacino n de cepas resistentes	Levofloxacino n de cepas resistentes
1993	13	4	4	2
1994	6	2	2	1
1995	6	2	2	2
1996	6	2	2	0
1997	1	0	0	0
1998	8	2	2	1
1999	18	7	7	5
2000	10	5	5	4
2001	18	12	12	12
2002	7	4	4	4
		p=0.23	p=0.23	p=0.018

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 9. Asociación de resistencia a los diferentes antimicrobianos con mortalidad

Característica	Muertos		Vivos		Riesgo relativo (Intervalo de confianza al 95%)	p
	n (29)	%	n (43)	%		
Penicilina	14	48	25	11	2.7 (1-7.3)	0.5
Ciprofloxacino	17	58	41	18	1.9 (0.7-5.1)	0.1
Gatifloxacino	17	53	41	18	1.9 (0.7-5.1)	0.1
Levofloxacino	14	48	30	13	2.1 (0.9-5.7)	0.1
Gentamicina	14	48	70	30	0.4 (0.1-1.1)	0.07
Estreptomicina	15	51	46	20	1.2 (0.4-3.1)	0.6
Penicilina y gentamicina*	12	41	14	6	4.3 (1.4-13.5)	0.008
Penicilina o gentamicina*	17	58	41	18	1.9 (0.7-5.1)	0.1

* Categoría de referencia: sensible a penicilina y gentamicina

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 10. Análisis multivariado de regresión logística de Cox para mortalidad.

Variable	Riesgo relativo	Intervalo de confianza al 95%	P
Estancia en UTI	5.2	1.5 - 17.8	0.009
Apache II mayor de 15 puntos	4.4	1.2 - 16.2	0.024
Resistencia a penicilina y gentamicina	6.2	1.4 - 25.9	0.013

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

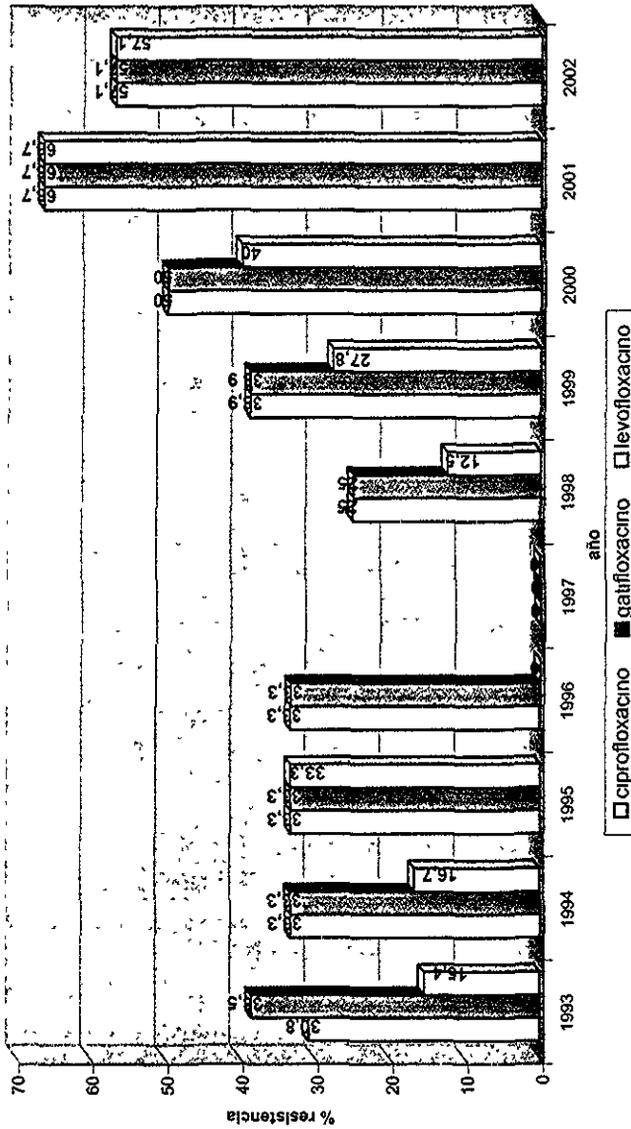
Tabla 11. Descripción del dendograma general.

Familia	n	Coefficiente de similitud	Grupo	n	Coefficiente de similitud
I	33	65%	Ia	9	71%
			Ib	5	76%
			Ic	4	77%
			Id	4	70%
			Ie	6	73%
			IIf	4	75%
II	15	65%	IIa	4	75%
			IIb	5	75%
			IIc	3	74%
			IId	3	72%
			IIIf	2	67%
III	10	65%	IIIa	4	75%
			IIIb	4	71%
			IIIc	2	67%
IV	3	90%	IVa	3	90%
			IVb	0	0%
Cepas sin parentesco	31	<60 %			

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Grafica 1.

TENDENCIA DE RESISTENCIA A QUINOLONAS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIGURAS.



Fig. 1 Electrotresis de campo pulsado
Carril 1 y 15= Marcador peso molecular lambda
Carril 2 a 7= Casos
Carril 8= Control de la prueba.
Carril 9 a 14= Casos

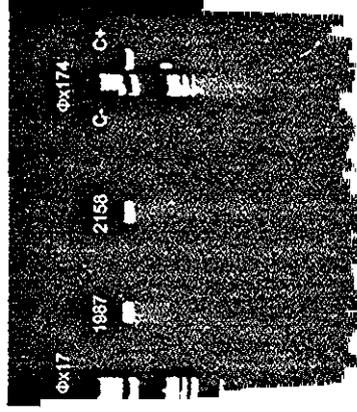
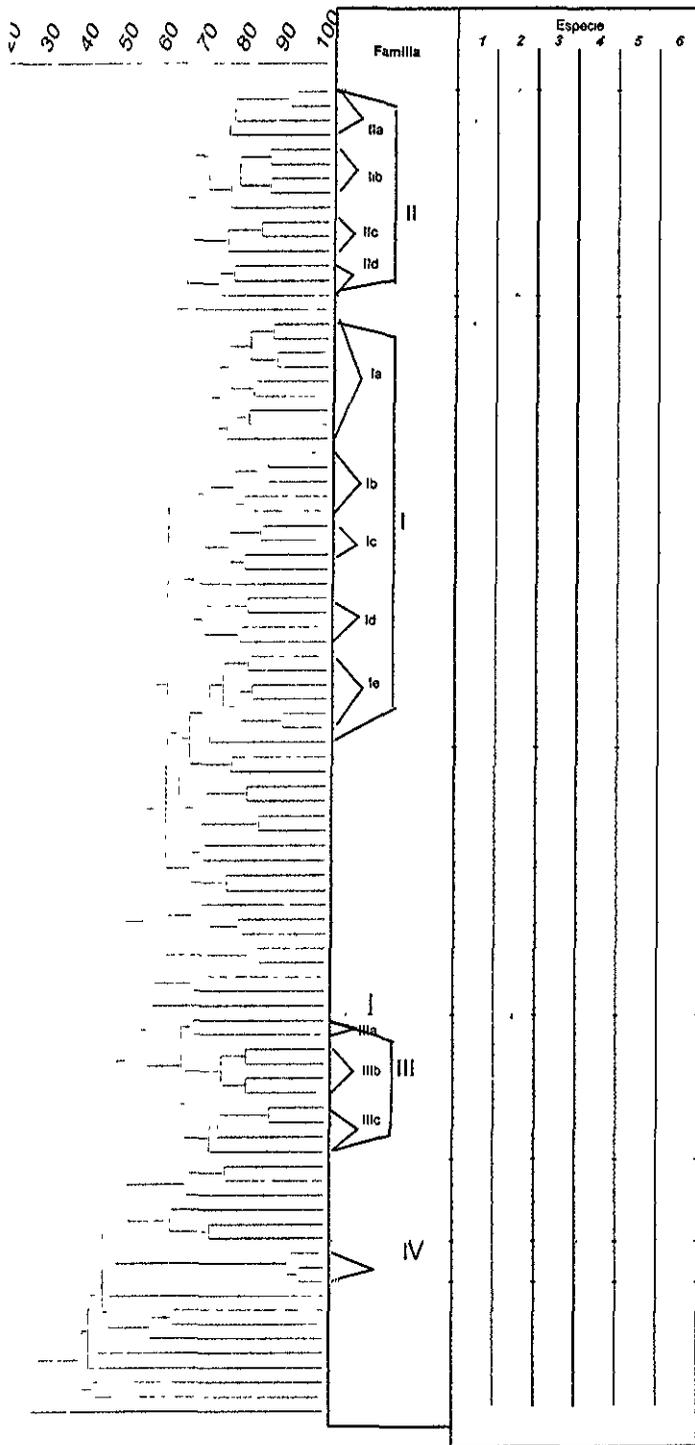


Fig. 2 PCR para búsqueda de gen varB

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

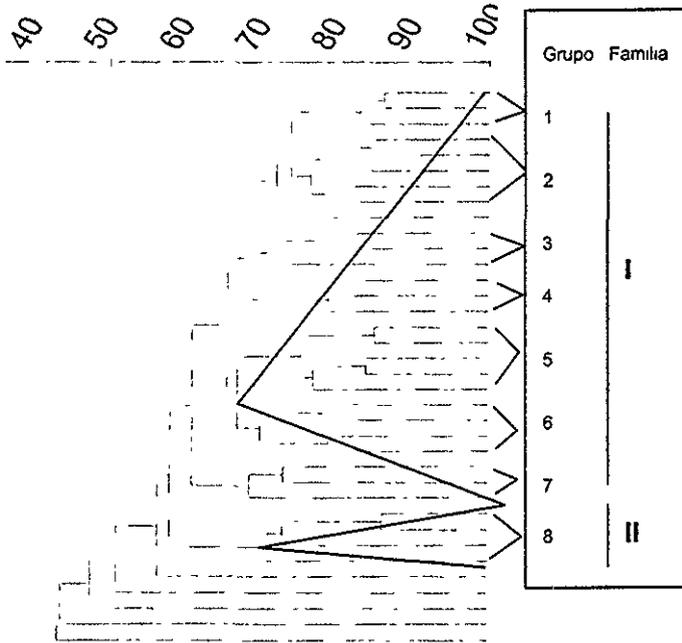


**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Fig. 3 Dendograma
 Los puntos representan la especie de cada una de las muestras

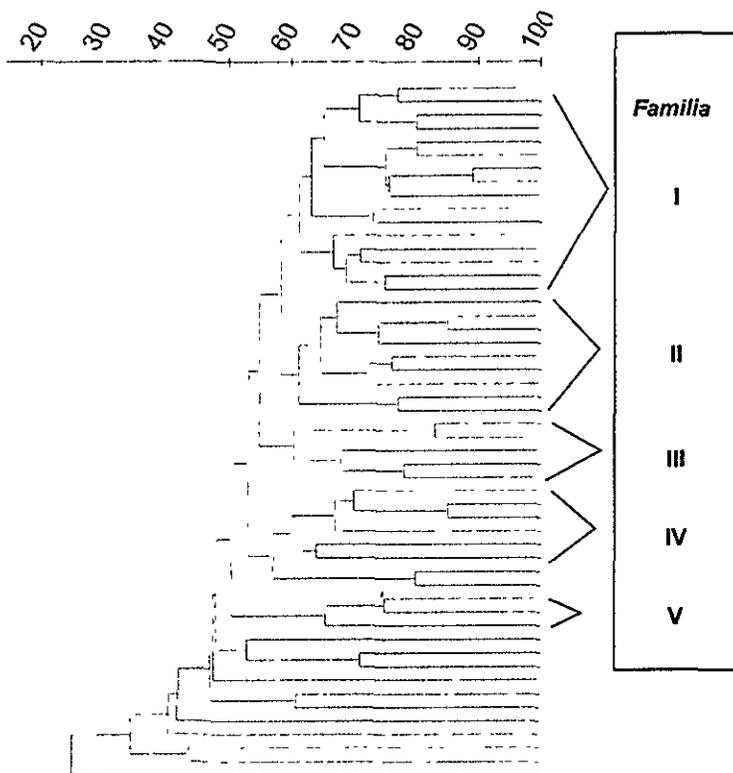
- 1 *E. faecium*
- 2 *E. faecalis*
- 3 *E. durans*
- 4 *E. casseliflavus*
- 5 *E. gallinarum*
- 6 *E. avium*

Figura 4. Análisis genético de cepas de *E. faecium*.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 5 Análisis genético de cepas de *E. faecalis*.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

No _____ 1 REGISTRO _____ 2 FECHA DX DE LA BACTEREMIA ____/____/____ 3 EDAD _____

4 SEXO _____ 5 DEIH _____ 6 LUGAR RESIDENCIA _____ 7 RURAL

9 URBANO FECHA DE INGRESO _____

ENFERMEDAD BUYACENTE:

8 DM <input type="checkbox"/>	13 SIDA(CD4/CV) <input type="checkbox"/>	16 TRANSPLANTE DE CEL HEMATOPOYETICAS <input type="checkbox"/>
9 ESPLENECTOMIA <input type="checkbox"/>	_____ / _____	17 OTRA _____
10 CHAN <input type="checkbox"/>	14 CANCER <input type="checkbox"/>	
11 IRCT <input type="checkbox"/>	15 TRANSPLANTE DE <input type="checkbox"/>	
12 LEG <input type="checkbox"/>	ORGANO SÓLIDO	

CONDICION INMUNOSUPRESORA:

18 ESTEROIDES 20 NTG _____

19 INMUNOSUPRESORES

SITIO ORIGEN INFECCIÓN:

18 PIEL <input type="checkbox"/>	24 OSTEOMILEITIS <input type="checkbox"/>	29 ABSCESO <input type="checkbox"/>
19 CELULITIS <input type="checkbox"/>	25 GEPI <input type="checkbox"/>	30 OTRO <input type="checkbox"/>
20 IVU <input type="checkbox"/>	26 MENINGITIS <input type="checkbox"/>	_____
21 ENDOCARDITIS <input type="checkbox"/>	27 VIA BILIAR <input type="checkbox"/>	31 CIRUGÍA PREVIA <input type="checkbox"/>
22 NEUMONÍA <input type="checkbox"/>	28 SEPSIS ABDOMIN <input type="checkbox"/>	

32 PROCEDIMIENTO INVASIVO

1 SONDA FOLEY <input type="checkbox"/>	4 PANENDOSCOPIA <input type="checkbox"/>	7 NEFROSTOMIAS <input type="checkbox"/>
2 CATETER VEN CENTRAL <input type="checkbox"/>	5 COLONOSCOPIA <input type="checkbox"/>	8 NPT <input type="checkbox"/>
3 NPT <input type="checkbox"/>	6 CPRE <input type="checkbox"/>	

33 DIAS DE ANTECEDIERON A LA BACTEREMIA

CULTIVOS

32 No CULTIVOS POSITIVOS <input type="checkbox"/>	35 E FAECALIS <input type="checkbox"/>
33 ENTEROCOCCO SP <input type="checkbox"/>	36 VANCORESISTENTE <input type="checkbox"/>
34 E FAECIUM <input type="checkbox"/>	

37 OTRAS BACTERIAS EN LA BACTEREMIA A) _____
B) _____ C) _____

MANIFESTACIONES:

42 SRIS

43 LEUCOCITOS TOTALES /NT _____ / _____ 44 Hb/HtO _____ / _____

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

45 TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICO PREVIO A LA BACTEREMIA

ANTIBIÓ 1 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

ANTIBIÓ 2 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

ANTIBIO 3 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

45 TX ESPECIFICO

ANTIBIÓ 1 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

ANTIBIÓ 2 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

ANTIBIO 3 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

46 TX AMBULATORIO

ANTIBIÓ 1 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

ANTIBIÓ 2 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

ANTIBIO 3 _____ DOSIS _____ DURACIÓN _____

COMPLICACIONES

49 IRA

50 SIRPA

51 INSUF HEPÁTICA

52 CHOQUE SÉPTICO

53 CID

DESENLACE

59 MUERTE

60 CAUSA DIRECTA DE MUERTE

1 _____

61 EGRESO

62 VIVO A 3 MESES

63 VIVO A 6 MESES

64 FECHA DE LA ULTIMA CONSULTA

55 OTRO

56 FECHA DE INGRESO A UTI

57 ESTANCIA EN UTI

58 BACTEREMIA EN UTI

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFIA

- 1 Centers for Disease Control and Prevention Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States, 1989-1993: National Nosocomial Infection Surveillance MMWR Morb Mortal Wkly Rep 193, 42 597-9
- 2 Moellering R Emergence of Enterococcus as a significant pathogen Clin Infect Dis 1992;14:1173-8
- 3 Rice L Emergence of vancomycin-resistant enterococci Emerg Infect Dis 2001;7:183-7
- 4 Jones RN, Marshall SA, Pfaller MA, et al. Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE program: Antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results and laboratory testing accuracy SCOPE Hospital Study Group Diagn Microbiol Infect Dis 1997;29:95-102
- 5 Pfaller MA, Jones RN, et al Survey of blood stream infections attributable to gram-positive cocci: frequency of occurrence and Antimicrobial susceptibility of isolates collected in 1997 in the United States, Canada and Latin America form SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Diagn Microbiol Infect Dis 1999;33:283-297
- 6 Low D, Keller N, et al Clinical Prevalence, Antimicrobial Susceptibility, and Geographic Resistance Patterns of Enterococci: Results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999 Clin Infect Dis 2001;32(Suppl 2):S133-145
- 7 Garrison N, Fry D, et al Enterococcal Bacteremia Clinical implications and determinants of death Ann Surg 1982;196:43-47
- 8 Murray P. Manual of Clinical Microbiology American Society for Microbiology Washington, E U A 1997 7a ed
- 9 Murray B Diversity among multidrug-resistant enterococci Emerg Infect Dis 1998;4:37-47
- 10 Murray B Vancomycin-resistant enterococcal infections N Engl J Med 2000; 342: 710-721
- 11 Livornese L, Dias S, et al Hospital acquired infection with vancomycin-resistant Enterococcus faecium transmitted by electronic thermometers Ann Intern Med 1992;117 112-6
- 12 Graninger W, Ragette R Nosocomial bacteremia due to Enterococcus faecalis without endocarditis Clin Infect Dis 1992;15:49-57
- 13 Edmon M, Ober J, et al. Vancomycin-resistant Enterococcus faecium Bacteremia: risk factors for infection Clin Infect Dis 1995;20:1126-33
- 14 Huycke M, Sahm D, et al Multiple-drug resistant enterococci: The nature of the problem and an agenda for the future Emerg Infect Dis 1998;4:239-49
- 15 Ray A, Hoyer C, et al Nosocomial Transmission of Vancomycin-Resistant Enterococci from Surfaces JAMA 2002;287:1400-1401

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 16 Murray B Vancomycin-Resistant Enterococcal Infections NEJM 2000;342:710-21
- 17 Edmon M, Ober J et al Vancomycin-resistant enterococcal Bacteremia: Natural history and attributable mortality Clin Infect Dis 1996;23:1234-9
- 18 Shankar N, Baghdayan A, et al Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant Enterococcus faecalis Nature 2002.417:746-750
- 19 Bhavnani SM, Drake JA, et al A nationwide, multicenter, case control study comparing risk factors, treatments, outcome for vancomycin-resistant and -susceptible enterococcal bacteremia Diagn Microbiol Infect Dis 2000,3.145-58
- 20 Gay K, Joyce K, Stevenson J, Angulo F, Barrett T, and the NARMS Working Group Quinupristin/Dalfopristin - Resistant Enterococcus faecium isolated from Human Stools, Retail Chicken, and Retail Pork: EIP Enterococci Project Conference on Emerging Infectious Diseases Atlanta, GA, March 2002
- 21 Clifford L, Shannon R, et al Quinupristin/Dalfopristin-resistant Enterococcus faecium on chicken and in human stool specimens NEJM 2001;345:1155-60
- 22 Sader HS, Jones RN, et al Antimicrobial susceptibility of quinupristin/dalfopristin tested against gram-positive cocci from Latin America: results from the global SMART (GSMART) surveillance study Braz J Infect Dis 2001,5 21-31
- 23 Patterson JE, Sweeney AH, et al An analysis of 110 serious enterococcal infections Epidemiology, antibiotics susceptibility, and outcome Medicine (Baltimore) 1995, 4:191-200
- 24 Valles J, León C, et al Nosocomial bacteremia in critically ill patients a multicenter study evaluating epidemiology and prognosis Clin Infect Dis 1997;24,387-95
- 25 Tornieporth N, Roberts R, et al Risk factors associated with vancomycin-resistant Enterococcus faecium infection or colonization in 145 matched case patients and control patients Clin Infect Dis 1996;23.767-72
- 26 Angulo F, Marano N, et al EIP Enterococci Study Monitoring for the Seeds of Antimicrobial Resistance in the Food Supply 2nd International Conference on Emerging Infectious Diseases Atlanta, GA July 2000
- 27 Lucas G, Lechtzin N, et al Vancomycin-resistant and vancomycin susceptible enterococcal bacteremia: Comparison of clinical features and outcomes Clin Infect Dis 1998; 26.1127-33
- 28 Garbutt J, Ventrapraganda M, et al Association between resistance to vancomycin and death in cases of Enterococcus faecium bacteremia Clin Infect Dis 2000, 30:466-72
- 29 Noskin G, Peterson L, et al Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis bacteremia: Acquisition and outcome Clin Infect Dis 1995;20:296-301
- 30 McDonald C, Kuehnert M, et al Vancomycin-resistant enterococci outside the health care setting: prevalence, sources, and public health implications Emerg Infect Dis 1997;3:311-17

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

- 31 Krmerly V, Bilíková E, et al Is vancomycin resistance in enterococci predictive of inferior outcome of enterococcal bacteremia? *Clin Infect Dis* 2001;32 1110-12
- 32 Lodise TP, McKinnon PS, et al Clinical outcome for patients with bacteremia caused by vancomycin-resistant enterococcus in a level 1 trauma center *Clin Infect Dis* 2002;7:922-9
- 33 Vergis E, Hayden M, et al Determinants of vancomycin and mortality rates in enterococcal bacteremia A prospective multicenter study *Ann Intern Med* 2001;135 484-92
- 34 Linden P, Pasculle A, et al Differences in outcomes for patients with bacteremia due to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* or vancomycin-susceptible *E. faecium* *Clin Infect Dis* 1996; 22:663-70
- 35 Marin ME, Mera JR, et al First Report of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* isolated in Argentina *Clin Infect Dis* 1998;26 235-6
- 36 Dalla C, Souza DC, et al Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil *Braz J Infect Dis* 1998;2:160-3
- 37 Panesso D, Ospina S, et al First characterization of a Cluster of VanA-type Glycopeptide-Resistant *Enterococcus faecium*, Colombia *Emerg Infect Dis* 2002;8:961-65
- 38 Miranda G, Lee L, et al Antimicrobial resistance from enterococci in a pediatric hospital Plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin resistance *Arch Med Res* 2001 32:159-63
- 39 Sifuentes J Antimicrobial susceptibility patterns and high-level gentamicin resistance among enterococci isolated in a Mexican tertiary care center *Rev Invest Clin* 1996;48:91-6
- 40 MacGregor R.R Evaluation of positive blood cultures: guidelines for early differentiation of contaminated from valid positive cultures *Arch Intern Med*, 1972;130 84-7
- 41 Stosor V, Peterson L, et al *Enterococcus faecium* bacteremia Does vancomycin resistance make a difference? *Arch Intern Med* 1998,158:522-28
- 42 Patel, R, Keating, R, et al Bacteremia due to *Enterococcus avium* *Clin Infect Dis* 1993; 17:1006-11
- 43 Antalek M, Mylotte J, et al Clinical and molecular Epidemiology of *Enterococcus faecalis* bacteremia, with special reference to strains with high-level resistance to gentamicina *Clin Infect Dis* 1995;29 103-9
- 44 Pouèdras P, Leclercq R, et al Bacteremia due to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* of Van B phenotype during prophylaxis with vancomycin *Clin Infect Dis* 1992;15:753-4
- 45 Linden P, Pasculle A, et al Effect of quinupristin/dalfopristin on the outcome of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: comparison with a control cohort *J Antimicrob Chemoth* 1997. 39 Suppl A: 145-51
- 46 Edmon MB, Wallace SE Wenzel RP, et al Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals a three-year analysis *Clin Infect Dis* 2000 6:986

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 47 Garbut JM, Ventrapragada M, et al Association between resistance to vancomycin and death in cases of *Enterococcus faecium* bacteremia *Clin Infect Dis* 2000;3 466-72
- 48 Jean SS, Fang CT, Wang HK et al Invasive infections due to vancomycin-resistant enterococci in adult patients *J Microbiol Immunol Infect* 2001; 4. 281-6
- 49 NCCLS Antimicrobial susceptibility testing standards DOC M100-S12, Vol 22 No 1 January 2002
- 50 Bruinsma N, Willems R, E van den Bogaard A, et al Different levels of genetic homogeneity in vancomycin-resistant and – susceptible *Enterococcus faecium* isolates from different human and animal sources analyzed by amplified-fragment length polymorphism *Antimicrob Agents Chemother* 2002, 42:502-508
- 51 Nei M, Tajima F DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases *Genetics* 1981, 97 145-163
- 52 Wade, J J, Uttley, A. H. C Resistant enterococci-mechanisms, laboratory detection and control in hospitals *J Clin Pathol*1996, 49:700-703
- 53 Sifuentes–Osornio, Guerrero-Almeida MC, Ponce-de-León A, Guerrero Almeida ML Tendencia de las bacteremias y factores de riesgo de muerte en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México. 1981 a 1992 *Gac Med Mex* 200; 137:191-202

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN