

UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

ESTUDIOS DE BIOTIPIA Y
SUSCEPTIBILIDAD A LOS
ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE
ENTEROCOCOS AISLADOS EN EL
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE
GRANADA.

ADELA HOYOS LOPEZ

GRANADA 1994



CATEDRA DE
MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA
DE LA
FACULTAD DE MEDICINA

—
PROF. G. PIEDROLA

AVENIDA DE MADRID, 11
TFNO. 988 / 24 88 47
18012 - GRANADA

D. GONZALO PIEDROLA ANGULO, CATEDRATICO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE GRANADA Y D. JOSE GUTIERREZ FERNANDEZ, PROFESOR ASOCIADO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE GRANADA.

CERTIFICAN:

Que Da ADELA HOYOS LOPEZ, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado el trabajo de Tesis Doctoral bajo nuestra dirección, sobre el tema: "Estudios de biotipia y susceptibilidad a los antimicrobianos de cepas de enterococos aislados en el Hospital Universitario de Granada", el cual ha finalizado con aprovechamiento, para optar al Título de Doctor, siempre que así lo considere el superior juicio del Tribunal nombrado al efecto.

Granada, 6 de Abril de 1994.

Fdo: D. Gonzalo Piédrola

Fdo: D. José Gutiérrez

Antes de iniciar el desarrollo del presente trabajo, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que con su ayuda lo han hecho posible.

Al Dr. D. Gonzalo Piédrola de Angulo, por la colaboración e interés constante, que me ha prestado a lo largo de la realización de esta Tesis Doctoral.

A la Dra. D^a. M. Carmen Maroto Vela, por el apoyo y estímulo a lo largo de estos años.

Al Dr. D. José Gutiérrez Fernandez, por su cooperación y ayuda en la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Castillo por su asesoramiento, buenos consejos e inestimable colaboración.

Al Dr. Liébana, por la información, ayuda material y por los consejos recibidos.

A los Doctores Peco, Perez-López, Román y a las Doctoras Bernal y Escobar, por la formación que me han ofrecido durante estos años y por su ayuda en la recogida de muestras.

A las Doctoras Pilar Baca y Eugenia Quirós por la aportación de sus conocimientos informáticos en la elaboración estadística.

A todo el Departamento de Microbiología, Compañeros y Personal Auxiliar, por la colaboración prestada durante la realización de este trabajo.

A mis padres
y hermanos

INDICE

1. INTRODUCCION	Pg.
1.1. Definición	6
1.2. Aportaciones taxonómicas	8
1.3. Clasificación	10
1.4. Constitución antigénica	12
1.5. Factores de patogenicidad	16
1.6. Hábitat	18
1.7. Patología asociada	20
1.8. Características epidemiológicas de las infecciones	27
1.8.1. Reservorio	27
1.8.2. Mecanismo de transmisión	28
1.8.3. Huésped susceptible	29
1.9. Diagnóstico Microbiológico	29
1.9.1. Diagnóstico clásico	29
1.9.1.1. Diagnóstico clásico directo	29
1.9.1.2. Diagnóstico clásico indirecto	39
1.9.2. Diagnóstico molecular	39
1.10. Actividad de los antimicrobianos frente a los enterococos. Mecanismos de resistencia	42
1.11. Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos	70
1.12. Tratamiento de las infecciones producidas por enterococos. Implicaciones clínicas	77

	Pg.
2. OBJETIVOS	84
3. MATERIAL Y METODOS	87
4. RESULTADOS	116
5. DISCUSION	194
6. CONCLUSIONES	207
7. BIBLIOGRAFIA	211

1. INTRODUCCION

1.1. DEFINICION

El género *Enterococcus* incluye cocos Gram positivos de forma ovoidal que se dividen en un sólo plano, dispuestos en parejas o en cadenas cortas.

Son aerobios, anaerobios facultativos. Su Temperatura óptima de crecimiento es de 35°C aunque las cepas pueden crecer a 10°C y 45°C.

Hidrolizan L-Pirrolidonil-β-naftilamida (PYR). Son quimioorgano-trofos, de metabolismo fermentativo. El producto final predominante de la fermentación de la glucosa es el ácido láctico.

Reaccionan con antisuero grupo D de la clasificación de Lancefield y algunas cepas con antisuero grupo Q.

Algunas cepas poseen quinonas respiratorias (menaquinonas o dimetilmenaquinonas); los tipos de ácido graso de cadena larga son predominantemente los de cadena recta saturados o monoinsaturados. Existen cepas capaces de producir ácido cíclico ciclopropano.

La subunidad peptídica del peptidoglucano consiste: L-alanina, D-glutámico, L-lisina y D-alanina.

Estudios de hibridación de ácido nucleico, demuestran que las bacterias del género *Enterococcus* se encuentran muy relacionadas unas con otras, pero no con las del género *Streptococcus*. Además, los enterococos se pueden diferenciar fácilmente de los estreptococos por su capacidad de hidrolizar la esculina en presencia de 40% de bilis, de crecer en 6,5% de ClNa, a 10°C de Tª y a pH de 9,6.

Introducción

Dentro del género *enterococcus* se conocen 18 especies, de las cuales las que tienen mayor relevancia clínica son *Enterococcus faecalis* (85-90%) y *Enterococcus faecium* (5-10%). Ultimamente están aumentando los casos de infecciones debidas a otras especies de enterococos, pero son menos frecuentes.

1.2. APORTACIONES TAXONOMICAS

La historia de estos microorganismos se encuentra ligada a la del género *Streptococcus*. El término "enterocoque" fue propuesto por primera vez en 1899 en Francia por Thiercelin para describir un diplococo Gram positivo de origen intestinal.

En 1903 Thiercelin y Jouhaud proponen por primera vez el género *Enterococcus* que en 1906 pasa a denominarse *Streptococcus faecalis* por Andrewes y Horder, quienes lo aislaron de un paciente con endocarditis. En 1937, Sherman propuso una clasificación que dividía a los estreptococos en cuatro grupos: piógenos, viridans, láctico y enterococos. Kalina (1970), propone transferir el paso de *S. faecalis* y *Streptococcus faecium* al género *Enterococcus*.

Hasta la década de 1980 los enterococos estaban incluidos dentro del género *Streptococcus* perteneciente a la familia *Streptococcaceae* según la 8ª edición del Manual Bergey (Deibel y Seeley, 1974). Destacamos, que en esta edición se reconoce *S. faecium* como especie bien diferenciada de *S. faecalis*.

En 1984, Schleifer y Kilpper-Balz (1984), utilizando técnicas de hibridación de ácidos nucleicos, observaron que las especies *S. faecalis* y *S. faecium* presentaban características propias y diferenciales, proponiendo la creación de un género separado, el género *Enterococcus*.

Introducción

En la 9ª edición del Manual Bergey (Mundt, 1986), no modifica la clasificación de especies pertenecientes al género *Enterococcus*, y no reconoce la existencia de *Streptococcus faecalis* subespecie *faecalis*, *Streptococcus faecalis* subespecie *zymogenes* y *Streptococcus faecalis* subespecie *liquefaciens*, que si estaban incluidas en la anterior edición.

1.3. CLASIFICACION

La clasificación del género *Enterococcus* se ha ido realizando a lo largo de los años, así, en un principio se utilizaba la técnica de agrupación serológica de Lancefield para la clasificación de los *Streptococcus* serogrupo D. Este criterio serológico no puede ser utilizado aisladamente, ya que hay algunas especies de enterococos que no poseen antígeno específico de grupo y además, existen especies no pertenecientes a este género con el mismo serogrupo (*Streptococcus bovis* y *Streptococcus equinus*). Posteriormente, se tuvieron en cuenta también las características bioquímicas y fisiológicas. Estudios más recientes incluyen además, estudios de menaquinonas, de ácidos grasos y de ácidos nucleicos (Ruoff, 1990; Collins et al, 1984; Collins et al, 1986; Collins et al, 1989; Collins et al, 1991; Devriese et al, 1990; Rodríguez y Collins, 1990; Kusuda et al, 1991; Willians et al, 1989; Martínez-Murcia y Collins, 1991).

Antes incluido dentro del género *Streptococcus* perteneciente a la familia *Streptococcaceae* según la 8ª edición del Manual Bergey (Deibel y Seeley, 1974), se efectuó la separación del género *Enterococcus* (Schleifer y Kilpper-Balz, 1984) en razón a estudios de taxonomía genética.

La actual clasificación taxonómica del género *Enterococcus* queda así establecida:

Género: *Enterococcus*

Especies: *Enterococcus avium*

Enterococcus casseliflavus

Enterococcus cecorum

Enterococcus columbae

Enterococcus dispar

Enterococcus durans

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecium

Enterococcus gallinarum

Enterococcus hirae

Enterococcus malodoratus

Enterococcus mundtii

Enterococcus pseudoavium

Enterococcus raffinosus

Enterococcus saccharolyticus

Enterococcus solitarius

Enterococcus sulfureus

Enterococcus seriolicida

1.4. CONSTITUCION ANTIGENICA

Los antígenos más importantes se encuentran en la pared celular. Para su comprensión analizaremos la composición de la pared bacteriana:

Peptidoglucano

La principal estructura que mantiene la forma de la pared de las bacterias Gram positivas es una macromolécula llamada mureína. Esta, es un heteropolímero constituido por cadenas de glicanos unidos por péptidos cortos. Los glicanos a su vez están compuestos de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina unidos por enlaces β -1-4.

La subunidad peptídica del peptidoglucano consiste de L-alanina, D-glutámico, L-lisina y D-alanina (Mundt, 1986).

El grupo carboxilo de N-acetilmurámico es sustituido por un oligopéptido (péptido principal) que contiene alternando L y D aminoácidos: usualmente la L-alanina está unida al ácido murámico, seguida del ácido D-glutámico que está ligado por su grupo gamma-carboxilo a un L-diaminoácido, y finalmente D-alanina está unida al diaminoácido.

En la mayoría de las bacterias Gram positivas, el grupo amino distal en posición 3 del L-diaminoácido, forma un puente peptídico con el carbono terminal de D-alanina en posición 4 de una subunidad peptídica adyacente, o es sustituida por un puente interpeptídico.

Introducción

Los enterococos poseen L-lisina como ácido diamino en posición 3 del péptido principal, unidos por D-asparagina al carbono terminal de D-alanina en posición 4 del péptido adyacente (Lis-D-Asp).

N-acetilglucosamina---N-acetilmurámico---N-acetilglucosamina

L-Ala

D-Glu-NH₂ NH₂

L-Lis---- --D-Asp-- ----D-Ala

L-Lis

Una excepción dentro del género *enterococcus*, la constituye la especie *E.faecalis*, donde la unión entre L-lisina y D-alanina se efectúa a través de residuos de L-alanina (Lis-Ala 2-3).

Este tipo de mureína en *E.faecalis*, facilita su separación de las demás especies del género.

N-acetilglucosamina--N-acetilmurámico--N acetilglucosamina

L-Ala

D-Glu-NH₂

L-Lis--L-Thr--L-Ala(L-ser) -D-Ala

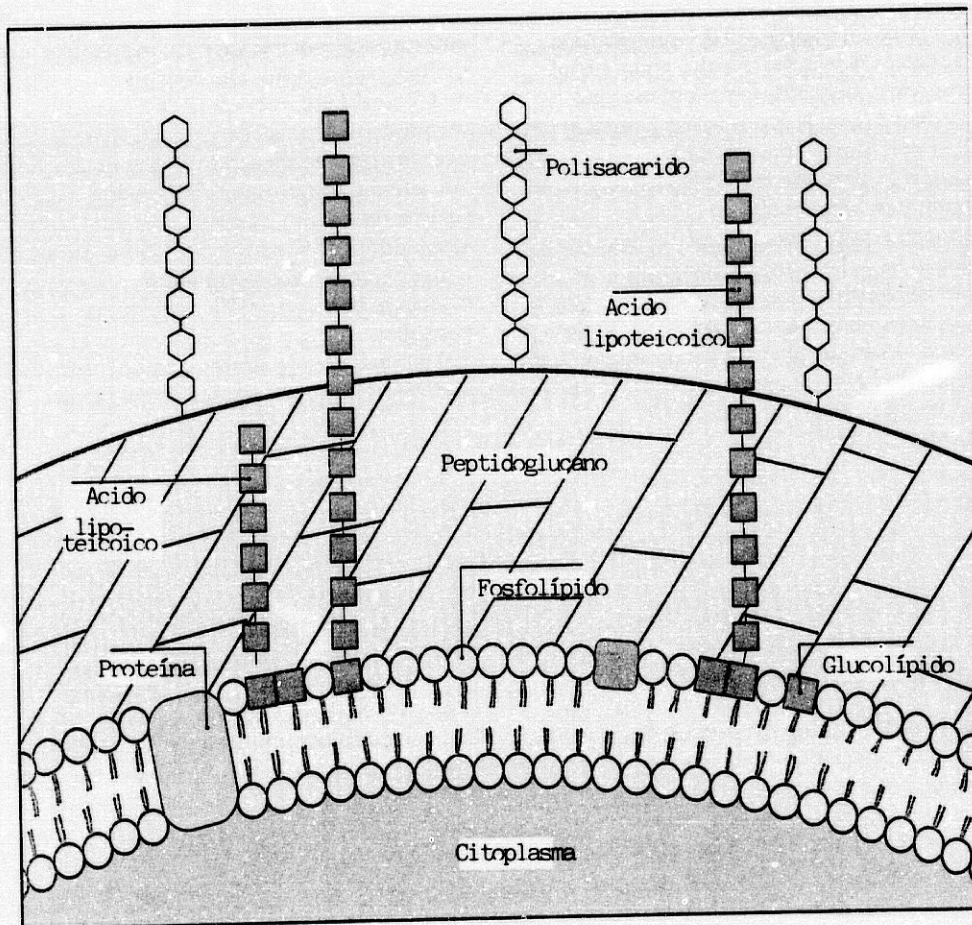
L-Lis

Polisacáridos y ácidos lipoteicoicos

Se sabe poco acerca de la detallada estructura de los polisacáridos de la pared celular de las bacterias Gram positivas. Se ha podido determinar que la ramnosa constituye el polisacárido más característico, donde reside la base del grupo serológico en la mayoría de los estreptococos. Sin embargo, en los enterococos, el grupo serológico reside en ácidos lipoteicoicos (ácidos teicoicos unidos a un glicolípido) situados entre la pared celular y la membrana citoplásmica, por lo que son llamados intracelulares (Mundt, 1986). Los ácidos lipoteicoicos constituyen largas cadenas que afloran a la superficie y pueden actuar como antígenos de superficie. Estos antígenos son de carácter grupo-específico (figura 1).

Existen once antígenos tipo-específicos, los cuales pueden ser proteínas o polisacáridos de N-acetylglucosamina; están localizados en la zona más externa de la pared celular (Pumarola, 1991).

Figura 1. ESTRUCTURA DE LA PARED.



1.5. FACTORES DE PATOGENICIDAD

Se sabe poco acerca de los factores de virulencia en los enterococos, a pesar del importante papel que poseen en patología humana. Estos microorganismos no producen exotoxinas ni verdaderas endotoxinas.

Está claro que ha de existir una interacción entre las células bacterianas y las del huésped, ya que está demostrado que la adhesión de las bacterias a las células epiteliales es un paso esencial para la patogénesis de la infección bacteriana.

Determinados aislamientos clínicos de *E. faecalis* producen una proteína citolítica que lisa los hematíes de caballo, conejo y humanos. Esta hemolisina también posee actividad de bacteriocina que inhibe un amplio rango de bacterias Gram positivas. El genotipo hemolisina/bacteriocina es codificado usualmente por un plásmido. Estos genes, generalmente se asocian a genes de resistencia a antibióticos tales como la eritromicina, tetraciclina o trimetoprim.

Huycke et al (1991), encontraron asociación entre resistencia a gentamicina, producción de hemolisina y peor evolución en pacientes con bacteriemia.

El papel de las hemolisinas como factor de patogenicidad se ha observado también en infecciones producidas por otros microorganismos tales como *Streptococcus sp*, *Listeria sp*, *Clostridium sp* y *Escherichia coli*.

Las hemolisinas pueden inhibir la función leucocitaria o proporcionar hierro para el crecimiento de los organismos en medios deficientes del mismo, tales como los tejidos y plasma humano. Parece

Introducción

que por similitud la hemolisina enterocócica es un factor de virulencia aunque esto sólo se ha demostrado *in vitro* y en modelos animales. También es posible que la presencia de hemolisina favorezca la diseminación de cepas de *E. faecalis* con alto nivel de resistencia (ANR) en virtud de su actividad como bacteriocina, ayudando a tales cepas a competir con bacterias ya establecidas.

1.6. HABITAT

Especificaremos por especies su hábitat y fuente principal de aislamiento.

E. faecalis

Ha sido aislado de heces humanas y de animales homeotermos y poiquilotermos, insectos y plantas. Es común en muchos alimentos no estériles (Mundt, 1986).

E. faecium

Aislado de heces humanas y de animales, insectos y plantas.

E. durans

La cepa tipo ha sido aislada de leche en polvo. También se ha aislado de heces humanas y en placa dental, tubo digestivo de animales, suelo, aguas residuales y vegetación, así como de leche y productos lácteos.

E. malodoratus

La cepa tipo ha sido aislada del queso gouda.

E. avium

Aislada característicamente de las heces de las aves; también en heces de hombre, perro y cerdo. Puede producir apendicitis, otitis y abscesos en cerebro (Mundt, 1986).

E. casseliflavus

Esta cepa ha sido aislada en plantas. Es móvil y produce pigmento amarillo.

E. gallinarum

La cepa tipo ha sido aislada de intestino de pollo. La fuente principal de aislamiento es el intestino de gallina doméstica.

E. cecorum

Aislada de ciego de pollo, contenido intestinal de cerdos, vacas, caballos, pato silvestre y canarios.

E. hirae

Aislada de buche de pollo e intestino de cerdo.

E. mundtii

Aislada de vacas, manos de lecheros, plantas y suelo. Produce pigmento amarillo.

E. raffinosus

Aislada de focos clínicos humanos: orina, abscesos o sangre.

E. solitarius

Aislada la cepa tipo de exudado de oído.

E. pseudoavium

Aislado a partir de mastitis en los bóvidos.

E. columbae

Su hábitat es el intestino de palomas.

E. saccharolyticus

Aislado de vacas y paja de colchones.

E. dispar

Aislados de focos humanos.

E. sulfureus

El hábitat de esta especie son las plantas.

E. seriolicida

Aislada de *Seriola quinqueradiata*, así como de agua de mar y fango en los alrededores de las piscifactorias.

1.7. PATOLOGIA ASOCIADA

A pesar de que los enterococos pertenecen a la flora microbiana intestinal normal del hombre, encontrándose en heces, orofaringe, vagina, región perianal, partes blandas, son reconocidos agentes patógenos para el hombre, en el que pueden provocar infecciones tales como las que a continuación se detallan.

Meningitis:

La meningitis enterocócica es poco frecuente. La mayor parte de los casos informados han ocurrido en niños (Lewis y Zervos, 1990). Se han descrito algunos casos en asociación con defectos del Sistema Nervioso Central, procedimientos neuroquirúrgicos, endocarditis, infecciones del tracto urinario y bacteriemia neonatal. La meningitis enterocócica ocupa el tercer lugar en frecuencia después de la causada por *E.coli* y *Streptococcus agalactiae*. Estos enterococos patógenos provienen de la flora perineal y vaginal de la madre.

En adultos es excepcional, pero puede aparecer asociada con derivación ventrículo-auricular o ventrículo-peritoneal.

Neumonía:

Muy excepcionalmente, están implicados en infecciones del tracto respiratorio bajo.

La neumonía debida a enterococos es rara. Se han descrito algunos casos en ancianos y pacientes gravemente inmunodeprimidos, con

alimentación parenteral o tratados previamente con cefalosporinas (Lewis y Zervos, 1990). Ike et al (1989), describen algunos casos de neumonías enterocócicas en pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro.

Endocarditis infecciosa:

Los enterococos son la tercera causa más frecuente de endocarditis infecciosa después de estreptococos *viridans* y *Staphylococcus aureus*. Son responsables de 10-15% de las endocarditis infecciosas y su incidencia va en aumento (Murray, 1990_a).

Como sucede en la mayoría de las infecciones enterocócicas, la especie aislada con mayor frecuencia es *E.faecalis*, además, otras especies pueden causar esta enfermedad, tales como *E.faecium*, *E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.durans*, *E.gallinarum* y *E.raffinosis* (Facklam y Collins, 1989).

La endocarditis infecciosa es más frecuente en hombres que en mujeres en una proporción de 2 a 1. En las mujeres, es más frecuente en la edad reproductora, especialmente tras procedimientos obstétricos; en los hombres es más frecuente en la quinta y sexta décadas de la vida, generalmente asociado a instrumentación genitourinaria. También se ha descrito en adictos a drogas por vía parenteral (Lewis y Zervos, 1990). La endocarditis es mucho menos frecuente en pacientes con bacteriemia polimicrobiana que incluye enterococos, que en las bacteriemias enterocócicas monomicrobianas (Moellering, 1992).

Introducción

La endocarditis infecciosa suele tener una evolución subaguda. Más del 40% de los pacientes no presentan cardiopatía subyacente, aunque la mayor parte desarrollan un soplo cardíaco durante la evolución de la enfermedad (Scheld y Sande, 1991). *E. faecalis* se adhiere al tejido valvular cardíaco con mayor facilidad que estreptococos *viridans*, *S. aureus* y los bacilos Gram negativos. A diferencia de lo que ocurre en la endocarditis por *S. aureus*, la endocarditis debida a *E. faecalis* en adictos a drogas por vía parenteral, no suele afectar la válvula tricúspide y no se asocia con embolias pulmonares sépticas (Musher, 1991).

La mortalidad es elevada debido a las dificultades en el tratamiento y la tendencia a recaer (Scheld y Sande, 1991).

Infección intraabdominal:

A pesar de su presencia casi constante en las heces humanas, se aíslan enterococos sólo en un 10-25% de los abscesos intraabdominales, complicándose con sepsis con una frecuencia mucho menor que *E. coli* o *Bacteroides fragilis* en los casos de peritonitis o abscesos intraabdominales (Musher, 1991). Los enterococos se hallan implicados en infecciones postoperatorias, infecciones del tracto biliar, peritonitis, abscesos intraabdominales, pélvicos y pancreáticos (Lewis y Zervos, 1990).

Infección de tejidos blandos:

E. faecalis es causa frecuente de infección en tejidos blandos previamente lesionados como úlceras de pie diabético, úlceras por decúbito o insuficiencia vascular, quemaduras o heridas (Musher, 1991).

Lewis y Zervos (1990), encontraron que la infección de tejidos blandos es uno de los orígenes más frecuentes de bacteriemia enterocócica, lo que se justifica por la patogenicidad de los enterococos a pesar de que frecuentemente se encuentren asociados con otros patógenos.

Infección del tracto urinario:

Las infecciones del tracto urinario son sin duda alguna las enfermedades más frecuentemente causadas por estos microorganismos.

E. faecalis causa entre un 2-3% de los casos de infección del tracto urinario en mujeres sin anomalías estructurales. Este porcentaje puede aumentar ligeramente durante el embarazo (Musher, 1991). En la población ambulatoria geriátrica con bacteriuria asintomática, la frecuencia de aislamiento de enterococo es mucho más alta que en el resto de la población, con una mayor frecuencia en hombres (4%) que en mujeres (1%) (Boscia et al, 1986). Cuando los pacientes tienen una sonda urinaria permanente, los enterococos figuran entre las tres especies bacterianas más frecuentemente aisladas, siendo la duración media de los episodios inferior a los causados por bacilos Gram negativos (Warren et al, 1982).

La mortalidad por infección del tracto urinario es escasa en ausencia de bacteriemia.

Prostatitis:

Los enterococos se hallan entre las causas más frecuentes de prostatitis bacteriana crónica después de *E.coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* y *Proteus mirabilis* (Martinez et al, 1989).

Sepsis neonatal:

Los organismos más frecuentemente hallados como causa de sepsis neonatal son *S.agalactiae* y *E.coli*. Los enterococos también se encuentran entre los agentes etiológicos de esta enfermedad produciendo una sintomatología de distress respiratorio, nutrición deficiente, letargia, ictericia, irritabilidad, fiebre y disminución del tono muscular (Lewis y Zervos, 1990).

Bacteriemia:

La incidencia de bacteriemia por *E.faecalis* oscila entre el 5 y el 7% (Moellering, 1990).

Los focos primarios más frecuentemente hallados como causa de bacteriemia son por este orden: infecciones del tracto urinario, tejidos blandos y sepsis intraabdominales (Garrison et al, 1982).

Las sepsis cuyo origen es un foco urinario suelen ser monomicrobianas; mientras que son polimicrobianas las derivadas de

Introducción

infecciones intraabdominales y de tejidos blandos (Moellering, 1990).

La bacteriemia enterocócica monobacteriana se caracteriza por tener una evolución más benigna que la bacteriemia enterocócica polimicrobiana, la cual suele ser de peor evolución, especialmente si están presentes bacilos Gram negativos (Lewis y Zervos, 1990).

En la mayoría de casos, la bacteriemia enterocócica es adquirida en el hospital. Se suele asociar con hospitalización prolongada, enfermedad grave, presencia de sonda uretral, catéter intravascular, cirugía reciente, grandes quemaduras, traumatismo múltiple o tratamiento antibiótico previo (Lewis y Zervos, 1990).

Los estudios de Garrison et al (1982) informan una mortalidad del 54%, con una mayor supervivencia en pacientes cuyo foco primario se localiza en el tracto urinario y tejidos blandos.

Los estudios recientes en España de Gómez et al (1991) señalan una incidencia de bacteriemia por *E. faecalis* del 5,9% de las cuales el 78% fueron nosocomiales. En este estudio las bacteriemias presentan una mortalidad del 26%, inferior a la informada por otros autores, destacando entre los factores asociados que empeoran el pronóstico: enfermedad de base rápidamente fatal, situación clínica inicial comprometida, uso previo de antibióticos de amplio espectro (cefalosporinas y quinolonas), bacteriemia polimicrobiana y la presentación de complicaciones.

Introducción

La bacteriemia enterocócica puede afectar a niños de todas las edades. Frecuentemente es nosocomial (82%) y la mayoría de los pacientes tenían antecedentes de cirugía previa y/o tratamiento antibiótico. En los niños, la bacteriemia enterocócica adquirida en la comunidad, en ausencia de un foco local es rara, según este estudio de Boulanger et al (1991).

El incremento, descrito recientemente, en la incidencia y mortalidad de las bacteriemias enterocócicas nosocomiales se puede deber en parte al aumento de la presencia de *E.faecium* (Uttley et al, 1991).

1.8. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS INFECCIONES

El enterococo es el tercer patógeno más frecuentemente implicado en la etiología de las infecciones hospitalarias después de *E.coli* y *S.aureus*, (Lewis y Zervos, 1990), causando un 10% de las infecciones nosocomiales en EE.UU. Moellering (1992), lo sitúa en el segundo lugar entre los agentes causales más frecuentes de infecciones nosocomiales.

1.8.1. Reservorio:

E.faecalis se encuentra en las heces de casi todos los adultos sanos, mientras que *E.faecium* esta presente en aproximadamente 25%, generalmente en pequeño número (Murray et al, 1990_b).

Los enterococos son raramente aislados en muestras de orofaringe; ocasionalmente se pueden aislar de la flora vaginal, aunque el lugar más frecuente de localización es el tracto gastrointestinal. Al formar parte de la flora intestinal humana, se eliminan con las heces, pudiendo contaminar las aguas y alimentos. Por ello, la adquisición de la infección por enterococo suele ser endógena, así, desde el hábitat del enterococo: tracto gastrointestinal, vagina y porción anterior de la uretra, pueden diseminarse causando infecciones urinarias, bacteriemia, infecciones de heridas etc.

Zervos et al (1986), señalan que puede ocurrir adquisición exógena por transmisión nosocomial al observar cepas idénticas en pacientes de la misma sala del Hospital, pertenecientes a unidades de quemados y plantas quirúrgicas, mediante estudios de antígenos por

electroforesis en gel-agarosa, perfil de plásmidos y análisis de enzimas de restricción del ADN plasmídico.

1.8.2. Mecanismo de transmisión:

La vía más probable de propagación de las bacterias adquiridas exógenamente entre pacientes hospitalizados es a través de portadores transitorios y las manos del personal sanitario (Patterson y Zervos, 1990). También se ha descrito la transmisión directa de cepas vía paciente-paciente y la propagación interhospitalaria (Zervos et al, 1986). Sin embargo, Hall et al (1992), mediante estudios de enzimas de restricción del ADN en cepas procedentes de infecciones del tracto urinario de pacientes hospitalizados sugieren que la diseminación directa paciente-paciente no es frecuente.

La transmisión de los enterococos en la comunidad ha sido demostrada mediante estudios plasmídicos, por Nachamkin et al (1988), en cepas resistentes, demostrando también la presencia del fenómeno de resistencia en el medio extrahospitalario. Más recientemente (Murray et al, 1990_a) se ha documentado la transmisión paciente a paciente de cepas de *E. faecalis* con ANR a gentamicina y de cepas de *E. faecalis* productoras de betalactamasas. En un estudio, aplicando métodos de tipificación molecular a aislamientos clínicos de *E. faecium* resistentes a ampicilina y no productores de betalactamasas, para investigación epidemiológica, hallaron que mientras la propagación entre pacientes del mismo Hospital no es frecuente, la posible diseminación de cepas entre Hospitales de distintas áreas geográficas es rara (Donabedian et al, 1992).

1.8.3. Huésped susceptible:

Las infecciones por enterococos tienen una distribución generalizada, en pacientes ambulatorios y hospitalizados.

Entre los factores de riesgo que se han asociado con la infección destacan los procedimientos quirúrgicos, hospitalización prolongada, sondajes urinarios, dispositivos intravasculares y antibioterapia previa, especialmente con cefalosporinas y aminoglucósidos, solos o en combinación (Zervos et al, 1986; Moellering, 1981) y también con otros antibióticos como aztreonam, ciprofloxacino, cotrimoxazol. A destacar también el papel patogénico de los enterococos en las infecciones quirúrgicas (Barie et al, 1990).

1.9. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

1.9.1. Diagnóstico clásico

1.9.1.1. Diagnóstico clásico directo

Producto:

Los enterococos se pueden aislar de muy diferentes muestras que llegan al laboratorio de Microbiología, figurando entre las más frecuentes: orina, exudados de heridas, abscesos intraabdominales, exudados vaginales, catéteres, sondas, sangre, cultivos periféricos de recién nacidos y líquidos. Las muestras no requieren acondicionamientos especiales para su transporte al laboratorio por tratarse de microorganismos resistentes; así son capaces de crecer a

Introducción

10 y 45°C, pudiendo sobrevivir a 60°C durante 30 minutos o a un pH de 9.6. No obstante las muestras procedentes de exudados se deben acompañar de un medio de transporte para mantener viables sobre todo a otros patógenos asociados, aunque este microorganismo resiste bien el pH ácido.

Visualización:

En el examen en fresco se observan formas ovoidales agrupadas en parejas o en cadenas cortas y frecuentemente elongadas en la dirección de la cadena. En la tinción de Gram se ven formando cocos Gram positivos dispuestos en cadenas cortas de dos a cuatro elementos. También los podemos visualizar mediante colorantes (fluorocromos, auramina, rodamina). La misma tinción de Gram informa de la presencia de leucocitos los cuales indican que la toma ha sido realizada desde un foco infeccioso-inflamatorio en actividad. La mayor parte de los enterococos son inmóviles, aunque algunas cepas de *E.casseliflavus* y *E.gallinarum* pueden ser móviles.

Cultivo:

Los enterococos no son microorganismos exigentes. Sus requerimientos nutricionales incluyen aminoácidos, péptidos, purinas, pirimidinas y vitaminas. Estos requerimientos varían según las especies, así, *E.avium* precisa ácido folínico (ácido fólico más tiamina) para su crecimiento; *E.durans* requiere aminoácidos y vitamina B para su crecimiento en medios sintéticos.

Se cultivan bien en agar sangre de carnero, con distintos tipos de bases, y es el medio ideal para su crecimiento. Tras 18 a 24 horas

Introducción

de incubación a 37°C de temperatura se observan colonias de 0.5 a 1 mm de diámetro en la superficie de agar sangre; son colonias lisas, enteras, de color gris o blanquecinas. Son aerobios y anaerobios facultativos y su crecimiento se ve favorecido por una atmósfera ligeramente rica en CO₂. Pueden mostrar α-hemólisis, β-hemólisis o ausencia de hemólisis sobre los glóbulos rojos. Los medios sólidos selectivos más utilizados para su aislamiento son: medio KF, agar-citrato-acetato de talio y agar-bilis-esculina. Son capaces de desarrollarse en medios de cultivo con glucosa ázida, azul de metileno al 0.1% y en agar Mac Conkey sin inhibidores. Crecen en cualquiera de los medios líquidos habituales.

Identificación:

*Pruebas clásicas:

Utilización de hidratos de carbono:

Son quimioorganotrofos con metabolismo de tipo fermentativo. El producto final predominante de la fermentación de la glucosa es el ácido láctico y el pH es usualmente de 4,2 a 4,6.

Crecimiento en medio con bilis esculina:

Es la prueba más utilizada para identificar los enterococos. El fundamento de esta prueba se basa en investigar la facultad de un microorganismo de hidrolizar el glucósido esculina en esculetina y glucosa en presencia de bilis al 40%. La esculetina reacciona con la sal de hierro dando un compuesto coloreado.

Se ha observado una prueba de bilis esculina positiva en:

1. Estreptococos del grupo D de Lancefield no enterococcus, *S.bovis* y *S.equinus*, los cuales sin embargo, no crecen en C1Na al 6.5%.
2. Estreptococos *viridans*, pero estos no crecen en C1Na al 6.5%.
3. Aerococos: los cuales son también capaces de crecer en C1Na al 6,5%.

Tolerancia al C1Na al 6.5%:

El 80% de las cepas de *S.agalactiae* también crecen en C1Na al 6.5%. Se les diferencia entre otras pruebas por su incapacidad para crecer en bilis esculina. Los aerococos, además de dar a veces positiva la prueba de la bilis esculina, también crecen en C1Na al 6.5% y se les diferencia al observar la disposición celular en tétradas en la tinción de Gram, por la negatividad de la prueba de hidrólisis de arginina, así como por la ausencia de crecimiento a 10 y 45°C.

Producción de pirrolidonasa:

El PYR (L-pirrolidonil- β -naftilamida): es un sustrato hidrolizado por el 100% de las cepas de enterococos por la enzima pirrolidonasa que da lugar a β -naftilamida, la cual en presencia de cinamaldehido da lugar a un color rojo. Es una prueba altamente específica y sensible. Se puede realizar en agar o en caldo. Se inoculan 3 a 4 colonias y se incuban a 35°C en atmósfera normal, se añade el reactivo (N,N-dimetilaminocinamaldehido) y se advierte un color rojo en presencia de

Introducción

enterococos; el color amarillo o la ausencia de color en un minuto indica una reacción negativa. Las cepas de *Streptococcus piógenes* también hidrolizan el PYR. Una prueba positiva en cuatro horas puede ser diagnóstica si las cepas han sido agrupadas serológicamente dentro del grupo D o si la reacción de bilis esculina es positiva.

Producción de leucina aminopeptidasa (LAP).

Todos los *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Pediococcus* son LAP positivos, mientras que *Aerococcus* y *Leuconostoc* son LAP negativos.

Producción de la enzima catalasa:

Aunque los enterococos no muestran actividad catalasa, Whittenbury (1964), demostró que los *E. faecalis* eran capaces de desarrollar una actividad similar a catalasa, denominada "pseudocatalasa", si se incuban aeróbicamente y se añade hemina al medio.

Prueba de solubilidad en la bilis:

Todos los estreptococos (salvo neumococo) y enterococos son típicamente lisados por las sales biliares.

Prueba de susceptibilidad a bacitracina:

Los enterococos son resistentes a la bacitracina.

Prueba de susceptibilidad a optoquina:

Los enterococos son resistentes a la optoquina. Esta prueba se utiliza para diferenciar presuntivamente a los neumococos del resto de los estreptococos.

Prueba de reducción de los nitratos:

Esta prueba se realiza de acuerdo con la modificación propuesta por Pérez López et al (1976). Es típicamente negativa.

Las distintas especies de enterococos patógenas para el hombre más frecuentes se pueden identificar en base a las pruebas bioquímicas reflejadas en la tabla 1.

De forma simple reflejamos en la tabla 2 las pruebas de uso más frecuente para diferenciar a los enterococos de estreptococos y aerococos.

TABLA 1. DIFERENCIACION POR HEMOLISIS Y PRUEBAS FISIOLÓGICAS DE LAS ESPECIES MAS FRECUENTES DE ENTEROCOCOS.

E. faecalis *E. faecium* *E. avium* *E. durans*

Hemólisis α	+	+	+	+
Hemólisis β	+	-	-	+
No Hemólisis	+	+	+	+
Bilis esculina	+	+	+	+
Crecimiento en ClNa 6.5 %	+	+	+	+
Crecimiento a 10°C	+	+	-	+
Piruvato	+	-	+	-
Arginina	+*	+	-	+
Esculina	+	+	+	+
Hipurato	V	V	-	V
Sacarosa	+*	+	+	-*
Lactosa	+*	+	+	+
Manitol	+	+	+	-
Sorbitol	+*	-	+	-

* excepcionalmente

TABLA 2. CARACTERISTICAS PARA DIFERENCIAR ENTEROCOCOS, ESTREPTOCOCOS Y AEROCOCOS

Categoría	Disposición	Hemólisis	Ag de grupo	Hidrólisis de bilis esculina	Crecimiento en C1Na al 6,5%	Solubilidad en la bilis
St. beta-	celular		estreptocóci- co		6,5%	
hemolíticos	cadena	β	A, B, C, F y G	-	-	-
St. D:						
Enterococ.	" cortas	α, β, γ	D	+	+	-
No enteroc.	" cortas	α, γ	D	+	-	-
S. viridans	cadena	α, γ	No	-	-	-
Neumococo	" cortas	α	No	-	-	+
Aerococo	tétradas	α, γ	No	V	+	+

* enterococales

* Pruebas modernas:

Los sistemas automatizados o semiautomatizados para la identificación de especies de enterococos utilizan inóculos elevados de subcultivos puros de una cepa desarrollada en 16 a 18 horas.

Manuales: entre ellos, de los más utilizados es el sistema API (API SIREPT) (laboratorios bioMerioux, Francia).

Automatizadas: destacan los sistemas ATB (laboratorios bioMerioux), MicroScan (laboratorios Baxter, USA) y AutoMicrobic System (laboratorios Vitek, USA).

.Sistema ATB:

Se trata de una galería de plástico con sustratos azucarados o proteicos sobre los que actúan enzimas presentes en el microorganismo. La actividad enzimática es puesta de manifiesto por un cambio de color del indicador o tras la adición de cinamaldehído sobre el hidrolizado protéico. La lectura se realiza al cabo de cuatro horas de incubación de forma automática.

.Sistema MicroScan:

Se trata de paneles en forma de placas de microtiter con distintos tipos de sustratos, azucarados o no, que son leídos automáticamente o de forma manual. Permite la identificación de hasta cuatro especies de enterococos (*E.faecalis*, *E.faecium*, *E.avium* y *E.durans*).

.AutoMicrobic System:

Utiliza tarjetas (GPI) para la identificación de microorganismos Gram positivos y requiere un inóculo de 0.5 U de McFarland. Se basa en la realización de 29 pruebas y un control de crecimiento. Las pruebas son: crecimiento en peptona básica, bacitracina, optoquina, hemicelulosa, ClNa al 6%, bilis al 10%, bilis al 40%, novobiocina, hidrólisis de esculina, arginina, urea, rojo de tetrazolio, dextrosa, lactosa, manitol, rafinosa, salicina, sorbitol, sacarosa, trehalosa, arabinosa, piruvato, pululano, inulina, melibiosa, melicitosa, celobiosa, ribosa, y xilosa. Debido a que los enterococos tienen una rápida tasa de crecimiento, las especies enterocócicas se pueden identificar en un plazo de cuatro horas. Permite identificar las especies: *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.avium* y *E.durans*. El resto de especies de enterococos los identifica como *Enterococcus sp.*

* Otros métodos diagnósticos:

Una vez aislados en cultivo puro, los cocos Gram positivos y catalasa negativos se pueden probar para la reacción serológica con antisuero grupo D. En algunos casos estas técnicas pueden ser aplicadas sobre muestra (LCR y hemocultivos positivos), previa extracción del antígeno enterocócico.

Los enterococos poseen Ag de grupo estreptocócico D. Este antígeno se puede detectar con diversas técnicas comerciales estandarizadas (Facklam y Washington, 1991), entre las que se incluyen las pruebas de aglutinación en portaobjetos. Estas emplean partículas (látex, hematíes, proteína A) portadoras de los anticuerpos grupo-

específicos. En estas pruebas, las partículas portadoras son tan grandes que permiten visualizar la aglutinación sin la ayuda de aumento.

Estos métodos se deben combinar con técnicas de extracción de antígenos para facilitar la detección. Estas técnicas incluyen el uso de formamida, autoclave o la enzima lisozima de *Staphylococcus albus*; ésta última tiene el inconveniente de que los reactivos son más caros que los del resto de técnicas mencionadas.

A.9.1.2. Diagnóstico clásico indirecto

No existen métodos comercializados que nos permitan investigar la presencia de anticuerpos antienterococos.

A.9.2. Diagnóstico Molecular

El diagnóstico molecular constituye un nuevo avance en microbiología clínica al aplicar el ADN como reactivo de diagnóstico para la detección o identificación de microorganismos. El uso del ADN clonado como reactivo se basa en la tendencia del ADN de cadena simple a unirse con la cadena complementaria, constituyendo un ADN híbrido de doble cadena. De esta manera, una secuencia de cadena simple extraída de un microorganismo es utilizada para localizar otros que contienen el mismo gen. La reacción de hibridación puede aplicarse a preparaciones purificadas de ADN, a colonias e incluso a materiales clínicos como tejidos, suero, pus, y, generalmente, se lleva a cabo en una matriz sólida, como un filtro de nitrocelulosa.

Introducción

La especificidad inherente del ADN es la base para su empleo como reactivo de diagnóstico. Tras seleccionar y clonar una secuencia que se encuentra en una sola cepa, especie o género, este ADN debe hibridarse sólo con el ADN extraído de microorganismos específicos y no de otros (Tenover, 1991).

De forma específica esta metodología ha sido usada en estudios epidemiológicos y de resistencia a los antimicrobianos (Bingen et al, 1991_a).

A.9.2.1. Composición de bases de ADN

El conocimiento de la composición de bases de ADN, ofrece importante información para la clasificación bacteriana, ya que es un material prácticamente estable. La composición de bases de ADN se da en forma porcentual de guanina más citosina (% G+C), que en el caso de género enterococcus oscila entre 37-45 mol % para las distintas especies.

A.9.2.2. Hibridación de ADN-ADN

Esta técnica estudia las relaciones genéticas de las bacterias, y se expresa como la cantidad de nucleótidos complementarios en los cromosomas, lo que se determina por la reasociación de dos fragmentos de ADN bajo condiciones estandarizadas. Estas dos cadenas pertenecientes a dos organismos distintos sólo serían capaces de reasociarse si existe una suficiente homogeneidad en sus secuencias.

A.9.2.3. Hibridación ADN-ARN

El método de hibridación ADN-ARNr, permite observar la complementariedad de las cadenas de ADN de un organismo y los cistrones del ARN ribosómico del otro, la parte más conservada del genoma.

A.9.3. Genética

En los enterococos se han podido identificar numerosos plásmidos conjugativos y no conjugativos en varios grados, determinando cada uno de ellos una característica concreta a la bacteria que lo alberga. Así, Courvalin et al (1972), demostraron la existencia en cepas de *E. faecalis* (BM 6201) de unos plásmidos designados por pIP613 y pIP614 que codifican la resistencia a eritromicina y tetraciclina respectivamente.

1.10. ACTIVIDAD DE LOS ANTIMICROBIANOS FRENTE A LOS ENTEROCOCOS. MECANISMOS DE RESISTENCIA

PENICILINAS

Son antibióticos naturales o semisintéticos de estructura betalactámica cuya acción se realiza específicamente sobre la pared celular. Así, interfieren el paso metabólico final de la síntesis de la pared celular bacteriana, y en concreto del peptidoglucano, estructura fundamental para mantener la morfología y funcionalidad del microorganismo, dando lugar a una pared deficiente. Como consecuencia de esto, la bacteria queda expuesta a la acción osmótica del medio, pasando agua hacia el interior de la célula bacteriana que progresivamente va aumentando de tamaño y adquiriendo formas anómalas, hasta que finalmente, el microorganismo estalla y muere.

La pared, y en concreto el peptidoglucano es por tanto el objetivo de acción de los betalactámicos. Su síntesis está gobernada, entre otras, por unas proteínas específicas situadas en el espacio periplásmico pero adosadas a la membrana citoplásmica, las proteínas fijadoras de penicilina (PBP_s), que son el lugar donde se fijan estos antibióticos.

La penicilina fue aislada del *Penicillium* por Fleming en 1929. El grupo de las penicilinas incluye: amoxicilina, ampicilina, bacampicilina, penicilina G, penicilina V, azlocilina, mezlocilina, piperacilina, ticarcilina, cloxacilina, dicloxacilina, meticilina, nafcilina y oxacilina entre otras. La estructura básica de la mayoría de las penicilinas comerciales consiste en un núcleo formado por tres

Introducción

componentes: un anillo de tiazolidina, el anillo β -lactámico y una cadena lateral. Esta cadena lateral es el principal determinante del espectro antibacteriano, así como de las propiedades farmacológicas de cada penicilina en particular, tales como capacidad de absorción oral, ácido-resistencia y sensibilidad o resistencia a las penicilinasas. La absorción por vía oral varía ampliamente según el tipo de penicilina, así la penicilina G no es estable frente a los ácidos y su vida media a pH 2 es inferior a 20 minutos, en cambio a pH 4, es de una hora. La ampicilina sólo es absorbida parcialmente, entre un 30% y un 60%, mientras que la amoxicilina es absorbida casi totalmente. Las penicilinas se fijan a las proteínas en grado variable, siendo éste un proceso reversible lo cual hace posible la liberación de penicilina en tejidos o sangre donde puede ejercer su actividad. Difunden fácilmente, alcanzando niveles terapéuticos en los líquidos extracelulares y en la mayor parte de los tejidos corporales. En ausencia de inflamación, la distribución de las penicilinas en ojo, cerebro, LCR y próstata es nula. Sin embargo, en presencia de inflamación se alteran las barreras naturales permitiendo la entrada de las penicilinas. Las concentraciones en orina son elevadas, ya que se eliminan a través de las células tubulares renales. Así, son rápidamente excretadas por la orina, por lo que tienen una vida media corta que varía desde menos de 30 minutos para penicilina a 72 minutos para carbenicilina. También se eliminan por la bilis donde alcanzan niveles 10 veces superiores a los séricos. Entre los efectos secundarios destacan trastornos digestivos, alteraciones hematológicas, hepáticas, renales y neurológicas. El efecto adverso más importante son las reacciones de hipersensibilidad.

Introducción

Las penicilinas más activas frente a *E. faecalis* son ampicilina, mezlocilina, penicilina, azlocilina y piperacilina; cuyas CMI de 1-4 µg/ml inhiben el 90% de las cepas (Alonso et al, 1992).

Penicilina y ampicilina son bacteriostáticos frente a los enterococos inhibiendo el crecimiento de estos microorganismos sin llegar a destruirlos, por lo cual carecen de efecto bactericida. Se dice que los enterococos son moderadamente sensibles a estos antibióticos cuando su CMI es menor o igual a 8 µg/ml. Ampicilina es, generalmente, el betalactámico preferido para el tratamiento de las infecciones enterocócicas, aunque sólo hay dos unidades de diferencia en los valores de su CMI comparados con los de penicilina.

Resistencia a Penicilinas:

PRODUCCION DE BETALACTAMASAS

El mecanismo mas importante de resistencia bacteriana a la penicilina es la hidrólisis enzimática del anillo betalactámico por las betalactamasas, con pérdida de la actividad de la molécula (Mayer et al, 1991). Los estudios genéticos han demostrado que la producción de betalactamasas por los enterococos está codificada por plásmidos de un tamaño molecular de 60-65 MD (Markowitz et al, 1991). Por estudios de hibridación genética, se ha comprobado que el gen que codifica la producción de betalactamasas en *E. faecalis* es semejante al de *S. aureus*, lo que sugiere que éste podría haber transferido el gen al enterococo. Sin embargo, en los enterococos la producción de enzima es constitutiva e intracelular, mientras que en los estafilococos es

Introducción

inducible y extracelular (Murray et al, 1986). La producción de betalactamasas en un aislamiento clínico de enterococo se informó por primera vez en 1983 (Murray y Mederski-Samoraj, 1983). La producción de betalactamasas es un mecanismo de resistencia extremadamente raro, que hasta 1992, tan sólo ha sido hallado en unas pocas cepas de *E. faecalis*. Se han notificado algunos casos en el continente americano. Hasta el momento no se han detectado en España ni en el resto de Europa. Recientemente, Coudron et al (1992), han informado de un aislamiento de *E. faecium* productor de betalactamasas. La adición de sulbactam o ácido clavulánico inhibe esta enzima. Se ha encontrado asociación entre resistencia a aminoglucósidos y producción de betalactamasas en la misma bacteria, ya que ambos mecanismos de resistencia pueden ser codificados y transferidos por plásmidos (Markowitz et al, 1991).

ALTERACION DE LAS PROTEINAS FIJADORAS DE PENICILINA (PBPs):

Los betalactámicos inhiben el crecimiento bacteriano uniéndose en forma covalente a las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs) en la membrana citoplásmica. Estas proteínas "blanco" catalizan la síntesis del peptidoglucano que forma la pared celular de la bacteria. Las alteraciones en estas proteínas pueden producir resistencia a los betalactámicos. En las cepas de *E. faecium* la resistencia a antibióticos betalactámicos está asociada con una disminución en la afinidad de sus PBPs a estos antibióticos, en especial la PBP-5 (Moellering, 1991) responsable tanto de la baja sensibilidad natural a ampicilina que caracteriza a esta especie, como de la resistencia

Introducción

elevada a dicho fármaco o con una alteración en la cantidad de estas proteínas producidas por la bacteria (fontana et al, 1985_a).

Grayson et al (1991), estudiaron las sensibilidades a determinados antibióticos de 84 cepas de *E. faecium* recogidas durante un período de 22 años desde 1968 observando un incremento de cepas resistentes a penicilina y ampicilina. No hubo cepas productoras de betalactamasas utilizando el disco de Nitrocefina lo que sugiere la alteración de las PBPs como mecanismo implicado en el aumento de resistencia a penicilina. En otro estudio (Bush et al, 1989) encontraron que un 14% del total de aislamientos clínicos enterocócicos son *E. faecium*, un tercio de los cuales fueron resistentes a altas concentraciones de penicilina G (> a 2000 ug/ml) lo que dio lugar a una falta de actividad bactericida cuando se combinó un aminoglucósido con penicilina. Estos aislamientos de *E. faecium* no produjeron betalactamasas. El mecanismo por el que tienen una mayor resistencia antimicrobiana las cepas de *E. faecium* comparado con la de *E. faecalis* se explica por una mayor modificación de las PBPs, lo cual hace a estas cepas menos sensibles a la inhibición por la penicilina (Fontana, 1985_b). Los aislamientos de *E. faecium* resistentes a ampicilina y penicilina son también resistentes a imipenem, quedando vancomicina y teicoplanina como únicos agentes lesivos de la pared celular con actividad frente a estas cepas (Murray, 1991). Aunque, infrecuentemente aislado en muestras clínicas, las cepas de *E. raffinosus* son frecuentemente resistentes a penicilina, con concentraciones mínimas inhibitorias entre 4-64 µg/ml. Entre las ureidopenicilinas, la piperacilina es una acilureidopenicilina que tiene aproximadamente la misma actividad frente a los enterococos que

Introducción

la penicilina o ampicilina; no son activas contra bacterias resistentes por producción de penicilinasas o que poseen una menor afinidad de sus PBPs tales como en *E. faecium* (Herman y Gerding, 1991_a).

Cercenado (1990), ha informado de la resistencia a ampicilina en *E. faecalis* no productor de betalactamasas.

Estos cambios en los patrones de resistencia a antibióticos de *E. faecium* enfatizan la necesidad de identificar enterococos a nivel de especies en pacientes con infecciones enterocócicas graves así como estudiar la susceptibilidad a betalactámicos.

IMIPENEM

De los carbapenemas, el imipenem (N-formil-imidoil-tienamicina) es un derivado químicamente estable de la tienamicina, uno de los metabolitos producidos por *Streptomyces cattleya*. Es un antibiótico betalactámico que presenta una gran resistencia a la acción de las betalactamasas y una elevada afinidad por las PBPs. Para *E. faecalis* las CMIs de imipenem se sitúan entre 0.5 y 2 µg/ml, similares a las de ampicilina y penicilina, sin embargo, estas CMIs son más elevadas para *E. faecium* y la resistencia al imipenem en esta especie bacteriana podría relacionarse con transpeptidasas poco sensibles (Baquero et al, 1989). En estudios *in vitro*, imipenem no ofreció ninguna ventaja respecto a penicilina G contra enterococos betalactamasas negativos (Eliopoulos y Moellering, 1982). Teóricamente, imipenem podría sustituir a penicilina o ampicilina en el tratamiento de la infección debida a cepas productoras de betalactamasas, pero la experiencia clínica con este antibiótico es limitada (Herman y Gerding, 1991_a).

CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas son antibióticos semisintéticos de estructura betalactámica que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular.

Presentan una escasa actividad *in vitro* frente a los enterococos, con CMI entre 8 y >128 µg/ml, lo que explica las sobreinfecciones enterocócicas en pacientes tratados con cefalosporinas (Alonso y Liñares, 1992). Recientemente, ha surgido una nueva cefalosporina de cuarta generación (Cefpiroma), la cual muestra actividad límite contra *E. faecalis* con CMIs entre 8 y 32 µg/ml. En un estudio realizado sobre 417 cepas de enterococos, *E. faecium* mostró un 78% de resistencias, mientras que *E. faecalis* presentó resistencia en el 22% de las cepas (Jones et al, 1991).

GLUCOPEPTIDOS

VANCOMICINA

La vancomicina es un glucopolipéptido soluble, con un peso molecular de unos 1.450 daltons, que se obtiene del *Streptomyces orientalis*. Su espectro de actividad es pequeño. Actúa en la segunda etapa de síntesis del peptidoglucano de la pared celular mediante la formación de un complejo con el precursor D-alanil-D-alanina. Además daña a los protoplastos alterando la permeabilidad de su membrana citoplásmica y altera la síntesis de ARN. Sus múltiples mecanismos de acción contribuyen a la baja frecuencia de desarrollo de resistencia. La vancomicina inhibe los enterococos, mostrándose estos moderadamente sensibles a una CMI igual o inferior a 4 µg/ml. Los aislamientos de

Introducción

E. faecalis son inhibidos por las concentraciones que se alcanzan en suero, pero casi ningún aislamiento de *Enterococcus* es destruido por concentraciones menores de 100 µg/ml. Así, si bien es cierto que la mayoría de los enterococos son sensibles a glucopéptidos, estos antibióticos generalmente, no son bactericidas frente a enterococos a concentraciones alcanzables en suero.

Las cepas *E. gallinarum* y *E. casseliflavus* presentan CMIs de vancomicina más altas (8 a 32 µg/ml) que las obtenidas normalmente para las demás especies de enterococos, y puede ser una propiedad característica de estas especies (Vincent et al, 1991).

Cuando se combina vancomicina con estreptomina se observa un efecto bactericida sinérgico entre un 40-70% de los aislamientos enterocócicos y la combinación de vancomicina más gentamicina es casi siempre bactericida en las concentraciones que pueden alcanzarse a menos que estén implicados aislamientos con alto nivel de resistencia a la gentamicina (Mayer et al, 1991).

La vancomicina es eliminada del organismo casi exclusivamente por filtración glomerular. En las primeras 24 horas se encuentra en orina entre un 80 y un 90% de la dosis administrada. Una pequeña cantidad puede ser eliminada a través del hígado y del tracto biliar con las heces. La vancomicina no se encuentra en el LCR de personas sin meningitis, pero se han observado niveles terapéuticos en el LCR de la mayoría de los pacientes con meningitis (Mayer et al, 1991). Una de las reacciones adversas a la vancomicina se debe a la neurotoxicidad por lesión del nervio acústico y pérdida de audición. Si bien la vancomicina no presenta una apreciable toxicidad renal, las dosis elevadas administradas por vía parenteral aumentan el riesgo,

especialmente cuando se administra en unión con aminoglucósidos. Así, en un estudio de cinco pacientes con endocarditis causada por *Enterococcus sp.* que fueron tratados con la combinación vancomicina-aminoglucósido, la toxicidad renal fue el principal efecto secundario; sin embargo, no fue necesario interrumpir el tratamiento al reajustar las dosis (Besnier et al, 1990).

B. TEICOPLANINA:

La teicoplanina es un nuevo antibiótico del grupo de los glucopéptidos derivados de los productos de fermentación del *Actinoplanes teichomyceticus*. La teicoplanina es un complejo de seis análogos que poseen la misma base lineal de heptapéptido y una aglicona que contiene aminoácidos aromáticos con D-manosa y N-acetil-D-glucosamina como azúcares. Al igual que vancomicina, inhibe la polimerización del peptidoglucano. Químicamente es similar a la vancomicina, pero se diferencia en que es más lipofílica, lo cual le facilita una mayor penetración tisular. Destaca su prolongada vida media, lenta liberación a partir de los tejidos y solubilidad en agua a pH fisiológico. Su mecanismo de acción se basa en alterar la síntesis de la pared celular inhibiendo la polimerización del peptidoglucano en localizaciones diferentes a las utilizadas por los betalactámicos (Santos et al, 1990). Esta inhibición se debe a la formación de un complejo con el precursor terminal D-alanil-D-alanina, que se ajusta a un "bolsillo" de la molécula de teicoplanina.

La teicoplanina posee una excelente actividad frente a *E. faecalis*, pero al igual que la vancomicina, no suele ser bactericida contra esta especie. Presenta buena tolerancia tras inyección IV o IM.

baja toxicidad y larga vida media. La asociación con aminoglucósidos puede presentar un efecto sinérgico; siendo esta combinación menos ototóxica y menos nefrotóxica que cuando se asocia vancomicina con aminoglucósidos (Calain y Waldvogel, 1990).

Resistencia a glucopeptidos:

Recientemente, ha aparecido resistencia a la vancomicina, pero hasta la presente es infrecuente (Courvalin, 1990; López et al, 1993). Desde que fueron informados por primera vez enterococos con resistencia a vancomicina (Leclercq et al, 1988), la mayoría de aislamientos de enterococos resistentes a la misma, hasta la fecha han sido *E.faecium*, aunque también se ha descrito en *E.faecalis* y *E.gallinarum* (Moellering, 1991). La mayoría de aislamientos corresponde a países europeos. La generalidad de enterococos resistentes a glucopeptidos en Europa, son cepas de *E.faecium* que frecuentemente son también resistentes a betalactámicos (Dutka-Malen y Courvalin, 1990). Concretamente en España (Alonso et al, 1992), se han informado aislamientos de *E.faecalis* resistentes a vancomicina en Barcelona y en Madrid. En un estudio sobre la colonización fecal por cepas de enterococos resistentes a vancomicina en trasplantados hepáticos pediátricos, se recuperaron las siguientes especies: *E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.mundtii* y *E.durans*; entre las enfermedades desarrolladas, tales como infección del tracto urinario y peritonitis, se encontró a *E.faecium* como el agente causal (Green et al, 1991). En un estudio epidemiológico sobre cepas de *E.faecium* resistentes a vancomicina en un hospital pediátrico

Introducción

utilizando un análisis de enzimas de restricción de ADN total y ADN ribosómico, las cepas presentaron patrones diferentes, demostrando por lo tanto, la falta de relación genética entre las cepas nosocomiales estudiadas y excluyendo la transmisión de estas cepas paciente-paciente en las mismas salas del hospital o entre estas (Bingen et al, 1991_a).

Se ha informado también dos casos de sepsis enterocócica nosocomial causadas por *E. faecalis* resistentes a vancomicina (Ortega et al, 1991).

La resistencia a vancomicina puede ser mediada por plásmidos y por lo tanto transferible a otras cepas y especies (Peetermans et al, 1991).

En un trabajo realizado por Willey et al (1992), destacan que todas las cepas que fueron resistentes a vancomicina mostraron también resistencia a ampicilina.

Los organismos resistentes a glucopéptidos se podrían encuadrar en uno de los siguientes fenotipos (tabla 3):

Resistencia clase A:

Es la más frecuente, principalmente en *E. faecium*, aunque también ha sido descrita en *E. faecalis*, puede ser determinada cromosómicamente o por plásmidos, los cuales codifican una proteína de membrana citoplásmica de 39 a 40 KD. Recientemente se ha clonado un gen (Van A) de 290 pares de bases, que codifica aquella proteína (Courvalin, 1990). Este gen conferiría altos niveles de resistencia a vancomicina (>128 µg/ml) y teicoplanina (≥16 µg/ml). Los genes de resistencia a vancomicina pueden ser transferidos entre enterococos y a otras

bacterias Gram positivas incluyendo *S.pyogenes*, *S.sanguis* y *Listeria monocytogenes*.

Resistencia clase B:

Su incidencia va en aumento. Las cepas que presentan este tipo de resistencia muestran niveles moderados de resistencia sólo a vancomicina (32 a 128 µg/ml) y permanecen sensibles a teicoplanina. El gen que codifica este tipo de resistencia se denomina van B. Esta resistencia se codifica cromosómicamente; por lo que no es transferible y se asocia a la producción de una proteína de membrana de 39,5 KD. Se ha descrito en *E.faecalis* y *E.faecium*.

Resistencia clase C:

Las cepas van C son resistentes constitutivamente a bajos niveles de vancomicina y permanecen sensibles a teicoplanina y otros glucopeptidos. Se ha observado en cepas de *E.gallinarum* (Vincent, 1990).

La aparición de las cepas de enterococos con alto nivel de resistencia a glucopeptidos excluye la combinación con aminoglucósidos debido a la ausencia de actividad sinérgica inhibitoria. En cepas de *E.faecium* resistentes a bajos niveles de vancomicina, tampoco hay sinergia con la combinación glucopeptidos más aminoglucósidos. Se ha descrito una marcada sinergia entre penicilinas o imipenem y glucopeptidos frente a cepas de enterococos con alto nivel de resistencia a glucopeptidos pero no sobre cepas sensibles a glucopeptidos (Leclercq et al, 1991).

TABLA 3. CARACTERISTICAS FENOTIPICAS DE LA RESISTENCIA A VANCOMICINA

Clase	Especificidad	Expresión
A	de alto nivel a vancomicina y teicoplanina	inducible
B	moderada a vancomicina	inducible
C	moderada a vancomicina	constitutiva

MACROLIDOS

La estructura fundamental de los macrólidos se compone de un anillo lactona macrocíclico, del cual deriva su nombre, unido por un enlace glucosídico a un azúcar aminado. Se pueden clasificar:

-Con anillo lactónico de 14 átomos: eritromicina, oleandomicina, roxitromicina, claritromicina, diritromicina, fluritromicina.

-Con anillo lactónico de 15 átomos: azitromicina.

-Con anillo lactónico de 16 átomos: espiramicina, josamicina, midecamicina, miocamicina, rokitamicina, rosaramicina, kitasamicina o leucomicina y carbomicina o magnomicina.

La eritromicina fue obtenida en 1952 a partir de una cepa de *Streptomyces erythreus*. Su estructura consiste en un anillo lactona macrocíclico de 14 miembros unido a dos azúcares. La eritromicina inhibe la síntesis protéica dependiente del ARN en la etapa de elongación de la cadena, uniéndose en forma reversible (bacteriostática) a la subunidad 50S bloqueando las reacciones de transpeptidación y/o traslocación. Se elimina en su mayor parte por vía hepática a la bilis y un 25% por vía renal. La claritromicina es un 6-O-metil derivado de la eritromicina. La roxitromicina es un éster oxima derivada de la eritromicina. Otros nuevos macrólidos se han introducido recientemente. Todos ellos, en general, no mejoran el espectro de eritromicina, aunque sí sus propiedades farmacocinéticas. Así, los nuevos agentes desarrollados en el grupo se caracterizan por

Introducción

ser más estables en medio ácido, tener una vida media más larga y por no interferir con el citocromo P-450. En un estudio de Gómez-Lus y Gómez-Lus (1992), cepas de *E. faecalis* resistentes a estreptomina y/o gentamicina, presentaron un porcentaje de sensibilidad a claritromicina superior al 50% y destacan que la claritromicina fue más activa que la eritromicina. Según Loza et al (1992) todos los aislamientos de *E. faecalis* sensibles a eritromicina son inhibidos por 2 µg/ml de claritromicina. Frente a *E. faecalis* sensibles a eritromicina, claritromicina es el macrólido más activo, seguido de eritromicina y después roxitromicina. Las cepas de *E. faecalis* resistentes a eritromicina, lo son también al resto de los macrólidos y ninguno de estos fue eficaz frente a *E. faecium*.

La resistencia puede ser debida a alteraciones del órgano diana o a inactivación enzimática. La resistencia a macrólidos codificada por plásmidos contenidos en los enterococos fue informada por primera vez por Courvalin et al (1972) en una cepa de *E. faecalis*. Este informe demostró que la resistencia a eritromicina y tetraciclina fue codificada por dos plásmidos diferentes.

QUINOLONAS

Las quinolonas poseen una estructura común: la unidad 4-oxo-1,4-dihidroquinoleina; de ella derivan las quinolonas fluoradas y no fluoradas. Actúan inhibiendo la replicación del ADN bacteriano. La diana, a nivel molecular, de estos compuestos es la topoisomerasa II o girasa del ADN bacteriano, por ello se les denomina "inhibidores de la girasa". Esta es una enzima esencial en la biología de la bacteria

Introducción

pues es la responsable del enrollamiento de las bandas de ADN con objeto de fijarlas a la superficie interna de la célula.

El ciprofloxacino por vía oral se absorbe de forma rápida en un 80% de la dosis administrada. También se puede administrar por vía intravenosa. La eliminación se realiza preferentemente por vía renal.

Ciprofloxacino inhibe a los enterococos a concentraciones próximas a los máximos niveles serológicos alcanzables para este fármaco (Eliopoulos et al, 1984).

Resistencia a quinolonas:

En líneas generales, las quinolonas no son los antibióticos de elección dado los altos niveles de CMI que son requeridos, próximos a los niveles séricos máximos, salvo en infecciones del tracto urinario donde alcanzan altas concentraciones.

Barry y Fuchs (1991) notificaron frecuentes resistencias de enterococos a enoxacin, lomefloxacina y fleroxacin.

Recientemente han surgido una nueva serie de fluoroquinolonas con mejor actividad *in vitro* contra enterococos, incluyendo: win 57273, sparfloxacino, tosufloxacino y temafloxacino (Furet y Pechère, 1991).

TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

Las sulfonamidas y la trimetoprima son quimioterápicos sintéticos de estructura sulfanilamídica y bencilpirimidica, respectivamente, con actividad bacteriostática frente a los enterococos. Actúan inhibiendo metabolitos esenciales de la síntesis de los ácidos nucleicos. La metabolización ocurre a nivel hepático y su excreción es renal.

Los estudios de Grayson et al (1990), valoraron la potencial eficacia de trimetoprim-sulfametoxazol frente a infecciones enterocócicas graves utilizando un modelo de endocarditis enterocócica experimental en rata y comparando los resultados obtenidos utilizando ampicilina. A pesar de que trimetoprim-sulfametoxazol alcanzó niveles serológicos por encima de la CMI y CMB, los títulos bacterianos en las vegetaciones fueron similares a los obtenidos en controles no tratados, y significativamente más altos que los obtenidos en el grupo tratado con ampicilina. Estos resultados muestran discordancia entre la actividad *in vitro* y eficacia *in vivo* de trimetoprim-sulfametoxazol en infecciones enterocócicas graves. No obstante, localizaciones de infección tales como la orina, sí serían susceptibles de ser tratadas con el mismo dados los altos niveles alcanzados.

RIFAMPICINA

La rifampicina es un derivado semisintético de la rifamicina B, un antibiótico macrocíclico producido por *Streptomyces mediterraneus*. Inhibe la síntesis de ADN al impedir el inicio de la transcripción por interferir específicamente la función de la enzima ARN-polimerasa de los microorganismos.

La rifampicina inhibe la mayoría de enterococos a concentraciones inferiores o iguales a 8 µg/ml, pero es primariamente bacteriostático e induce resistencias rápidamente. La combinación de rifampicina con penicilina, ampicilina o vancomicina suprime la aparición de colonias resistentes, pero el efecto sigue siendo bacteriostático (Moellering y Wennersten, 1983).

LIPOPEPTIDOS

El antibiótico lipopéptido daptomicina (Wanger y Murray, 1988) inhibe la mayoría de cepas de *E. faecalis* a concentraciones menores o iguales a 2 µg/ml. Los aislamientos de *E. faecium* son generalmente más resistentes. Aunque la daptomicina parece ser bactericida frente a los enterococos por las determinaciones de CMB₅, estudios control indican que el grado bactericida de este antibiótico al igual que los otros agentes lesivos de la pared celular aumenta en combinación con un aminoglucósido al que la cepa no muestre ANR. Daptomicina es un lipopéptido bactericida (Bingen et al, 1991_b) contra enterococos con altos o bajos niveles de resistencia a vancomicina, con CMI₅ para cepas resistentes a vancomicina similares a las de cepas sensibles a la

Introducción

misma, observando que aunque bajas dosis de daptomicina fueron rápidamente bactericidas en caldo Mueller-Hinton suplementado con cationes, fue marcadamente menos efectiva en presencia de albúmina, lo que demuestra un efecto negativo de las proteínas del suero sobre la actividad de la daptomicina. Se ha demostrado (Rice et al, 1989) actividad sinérgica bactericida cuando daptomicina se combina con fosfomicina. Estos dos agentes inhiben diferentes etapas en la síntesis del peptidoglucano. La sinergia bactericida de la combinación de daptomicina y fosfomicina contra cepas de *E. faecalis* con ANR a gentamicina puede ser el resultado de la inhibición secuencial de primeras etapas en la síntesis del peptidoglucano.

La daptomicina, no se ha llegado a comercializar debido a su toxicidad.

AMINOGLUCOSIDOS

La familia de antibióticos aminoglucósidos está definida por la presencia de dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol. Este último formado por seis miembros, es la estreptidina (en la estreptomina) o 2-desoxiestreptamina (en la neomicina, kanamicina, gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina). La estreptomina, neomicina, kanamicina y tobramicina se han aislado a partir de diferentes especies de *Streptomyces*, mientras que la gentamicina y netilmicina se han aislado de especies de *Micromonospora*. Las relaciones entre la estructura y la actividad de los aminoglucósidos no son totalmente conocidas, pero la importancia de los grupos hidroxilo y amino unidos a los distintos

anillos ha sido establecida por la pérdida de actividad antibacteriana cuando dichos grupos son modificados, ya sea por métodos de síntesis química o por diversas enzimas bacterianas. Los grupos de aminoglucósidos difieren entre sí por la naturaleza de los aminoazúcares unidos al anillo aminociclitol central.

Los aminoglucósidos actúan a nivel ribosómico impidiendo la síntesis de proteínas bacterianas, así como produciendo una falta de reproductibilidad en la lectura del código genético. Los aminoglucósidos pueden presentar sinergia con penicilina o vancomicina sobre los enterococos. El mecanismo de esta sinergia implica un aumento de la captación de aminoglucósidos por las bacterias cuyas paredes han sido dañadas por el inhibidor de la pared celular.

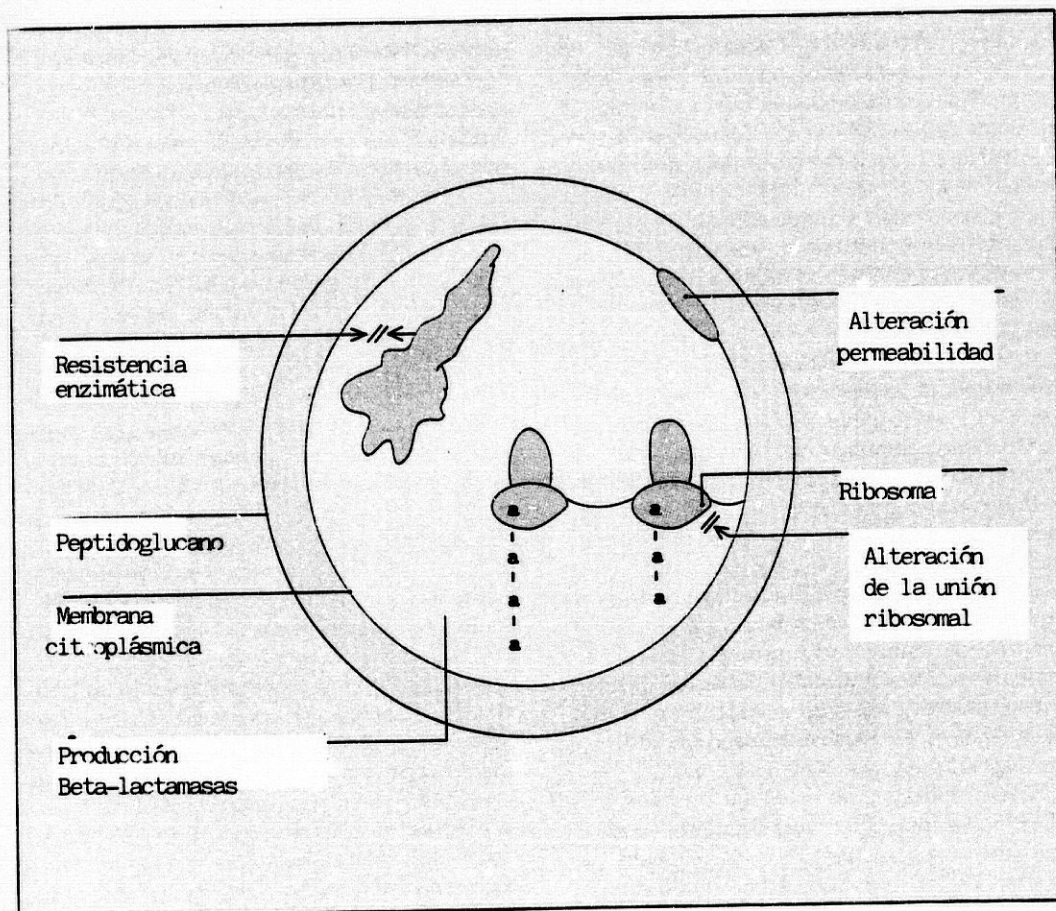
Resistencia a aminoglucósidos:

Los enterococos presentan de forma natural un cierto grado de resistencia intrínseca a los aminoglucósidos (Figura 2). Esta resistencia es de bajo nivel con CMIs entre 8 y 256 µg/ml y está relacionada con una disminución de la permeabilidad o del transporte activo a través de la membrana interna. Además, los enterococos adquieren resistencia extrínseca relacionada la mayoría de las veces con la producción de enzimas inactivadoras de aminoglucósidos, estas cepas presentan CMIs ≥ 500 µg/ml. En raras ocasiones esta resistencia elevada es debida a mutaciones del ribosoma (sólo estreptomicina), debido a una alteración en una única proteína, S12, de la subunidad 30S del ribosoma, en cuyo caso las cepas presentan CMIs que oscilan entre 32.000 y 128.000 µg/ml.

TABLA 4. RESISTENCIA *IN VITRO* DE LOS ENTEROCOCOS A LOS AMINOGLUCOSIDOS

Tipo	Mecanismo	CMI
intrínseca (moderada)	impermeabilidad de la barrera	8 a 256 $\mu\text{g/ml}$
adquirida (alto nivel)	inactivación enzimática	> 500 $\mu\text{g/ml}$
	mutación ribosómica	32.000 a 128.000 $\mu\text{g/ml}$

Figura 2. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LA SINERGIA PENICILINA-AMINOGLUCOSIDO FRENTE A ENTEROCOCCO.



Introducción

La combinación de aminoglucósidos con un agente lesivo de la pared celular produce un efecto bactericida, probablemente debido a que la alteración de la pared celular en presencia del betalactámico facilita la penetración y concentración intracelular del aminoglucósido (Szeto et al, 1991; Hoffmann y Moellering, 1987), disminuyendo o anulando el efecto "resistencia de bajo nivel".

Se define el sinergismo como un incremento en la actividad bactericida mayor o igual a $2 \log_{10}$ al utilizar la combinación aminoglucósido-betalactámico o aminoglucósido-glucopéptido en comparación con el efecto conseguido con el agente lesivo de la pared celular sólo. La producción por el enterococo de enzimas inactivadores de aminoglucósidos, cuya expresión origina la resistencia de alto nivel, explica que no se produzca sinergia entre los aminoglucósidos y la penicilina. Los aislamientos de *E. faecalis* que son refractarios a la sinergia penicilina-aminoglucósidos se pueden detectar por su capacidad de crecer en presencia de altas concentraciones de aminoglucósidos (2.000 $\mu\text{g/ml}$) (Sahm y Torres, 1988_a). Cuando la cepa muestra ANR al aminoglucósido, desaparece este efecto sinérgico (Nachamkin et al, 1988).

En los últimos años han surgido cepas de enterococos patógenos humanos con ANR a gentamicina y otros aminoglucósidos. Su frecuencia va en aumento desde que se informó por primera vez (Horodniceanu et al, 1979). Actualmente la incidencia de cepas de enterococos con ANR a gentamicina varía según los distintos autores (Zervos et al, 1986; Valle et al, 1989; Spiegel y Huycke, 1989; Smyth et al, 1989) situándose en la actualidad entre el 4.5 y el 55% y habiéndose extendido las mismas por todo el mundo. Así pues, está aumentando la

prevalencia de ANR a gentamicina en *E. faecalis*, y recientemente, se ha descrito también en *E. faecium* (Patterson y Zervos, 1990).

El mecanismo de resistencia extrínseca está mediado por plásmidos transferibles que codifican la producción de enzimas inactivadoras de los aminoglucósidos por acetilación, adenilación o fosforilación (Gómez-Lus, 1989). La superposición de especificidad con respecto al sustrato de cada una de estas enzimas inactivadoras conlleva la posibilidad de resistencia cruzada a varios aminoglucósidos.

Estudio de enzimas:

Pasamos a estudiar las diferentes enzimas:

6'-acetiltransferasa (6'-AAC)

Esta enzima es codificada cromosómicamente por *E. faecium* y confiere resistencia a kanamicina, amikacina, tobramicina, netilmicina y sisomicina (Moellering et al, 1979).

3'-fosfotransferasa (3'-APH)

Esta enzima está determinada por plásmidos, y es capaz de causar pérdida de sinergia con kanamicina (Krogstad et al, 1987_a). Las cepas productoras de esta enzima son también resistentes a la combinación de penicilina más amikacina. La amikacina tiene un grupo 3'-hidroxyl el cual es fosforilado por la 3'-APH. Aunque esta enzima es menos activa

Introducción

frente a amikacina que frente a kanamicina, es lo suficiente para conferir resistencia a la combinación de penicilina más amikacina. Este tipo de resistencia debido a 3'-APH se detectó en ambas especies de *E. faecalis* y *E. faecium*.

6''-adeniltransferasa (6''-AAD)

La presencia de esta enzima confiere ANR a estreptomocina (Krogstad et al, 1987_a) en ambas especies de enterococos.

2''-fosfotransferasa-6'-acetiltransferasa (2''-APH-6'-AAC)

El ANR a gentamicina es determinado por un enzima bifuncional codificado por plásmidos, 2''-APH-6'-AAC. Esta enzima confiere resistencia a kanamicina, amikacina, tobramicina y netilmicina además de gentamicina (Patterson y Zervos, 1990; Eliopoulos y Eliopoulos, 1990). Se ha descrito en *E. faecalis* y en *E. faecium* (Eliopoulos et al, 1988).

4-adeniltransferasa (4'-AAD)

Recientemente se han descrito cepas de enterococos (sólo en *E. faecium*) productoras de 4-adeniltransferasa, las cuales presentan resistencia a kanamicina, amikacina, neomicina, tobramicina, ¿netilmicina? y dibekacina (Carlier y Courvalin, 1990).

Introducción

Las cepas con ANR suelen adquirirse en el Hospital y se asocian con antibioterapia previa prolongada y procedimientos quirúrgicos. Así, la proporción de enterococos con ANR suele ser mayor en áreas quirúrgicas (Zervos y Terpenning, 1987_b; Fuller et al, 1990).

En caso de infecciones enterocócicas graves, es necesario el estudio de ANR a aminoglucósidos. Sólo es preciso estudiar gentamicina, estreptomina y kanamicina (Leclercq et al, 1992_a). Así:

- Cuando se da ANR a estreptomina, no se puede utilizar esta en combinación con un betalactámico.
- En caso de ANR a kanamicina, no se pueden utilizar ni kanamicina ni amikacina.
- Si presenta ANR a gentamicina, no se puede utilizar gentamicina, netilmicina, kanamicina, tobramicina o amikacina en combinación con un agente betalactámico.

A continuación exponemos la evolución de la aparición en el tiempo de ANR a aminoglucósidos debido a enzimas inactivadores en ambas especies de enterococos (Gutiérrez et al, 1992).

TABLA 5. EVOLUCION EN EL TIEMPO DE LOS ANR A LOS AMINOGLUCOSIDOS
DEBIDO A LA PRESENCIA DE ENZIMAS INACTIVADORES.

Año	Organismo	Tipo de resistencia
1970	<i>E. faecium</i>	6'-AAC codificada cromosómicamente (kanamicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, sisomicina)
1970	<i>E. faecalis</i> y <i>E. faecium</i>	3'-APH codificada por plásmidos (kanamicina, amikacina)
1970	<i>E. faecalis</i> y <i>E. faecium</i>	6''-AAD codificada por plásmidos (estreptomina)
1979	<i>E. faecalis</i>	2''-APH-6'-AAC bifuncional codificada por plásmidos (kanamicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, gentamicina)
1988	<i>E. faecium</i>	2''-APH-6'-AAC codificada por plásmidos (kanamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, gentamicina)
1990	<i>E. faecium</i>	4'-AAD (tobramicina, kanamicina, amikacina ¿netilmicina? y dibekacina)

TETRACICLINAS

Las tetraciclinas no se suelen utilizar en el tratamiento de las infecciones enterocócicas, ya que la resistencia a estos están descritas entre un 50 y 70% de aislamientos de *E. faecalis* y *E. faecium*, respectivamente (Horodniceanu y Delbos, 1980). La resistencia es frecuentemente mediada por plásmidos (Patterson y Zervos, 1990) que transmiten el gen tet M.

A modo de resumen, la resistencia actual de los enterococos observada frente a los antibióticos de más amplio uso clínico, se refleja de la siguiente forma (Moellering, 1991):

1) Resistencia intrínseca:

- Beta-lactámicos (CMI's relativamente altas)
- Aminoglucósidos (bajo nivel)
- Lincosamidas (bajo nivel)
- Trimetoprim-Sulfametoxazol (*in vivo*)

2) Resistencia adquirida:

- Tetraciclinas
- Macrólidos
- Lincosamidas (alto nivel)
- Cloranfenicol
- Aminoglucósidos (alto nivel)
- Vancomicina
- Penicilinas (betalactamasas)
- Quinolonas

1.11. ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

1.11.1. Penicilinas

El principal problema de los enterococos productores de betalactamasas es que no siempre se detecta esta resistencia por los métodos de antibiograma de rutina tales como estudios de sensibilidad por el método de disco-placa o CMIs con microtiter, así, las CMIs realizadas con un inóculo de 10^5 UFC/ml pueden dar valores sensibles a ampicilina en estas cepas, pero si el inóculo se incrementa a 10^7 UFC/ml se convierten en resistentes. Además, el panel del sistema MicroScan puede carecer de sensibilidad para detectar resistencia a ampicilina y de igual manera las tarjetas del sistema AMS-Vitek, carecen de especificidad para detectar resistencia a ampicilina (Louie et al, 1992).

Para detectar la producción de betalactamasas se dispone de diversas técnicas. La más sensible es el método acidométrico el cual utiliza un indicador de pH para detectar el incremento de acidez resultante de la ruptura del anillo β -lactámico de una penicilina con producción de ácido peniciloico. El método iodométrico detecta la decoloración de una mezcla de almidón iodado como resultado de la capacidad del ácido peniciloico de reducir el yodo. El test de hidrólisis de Nitrocefina (Herman y Gerding, 1991_a) utilizando un disco con cefalosporina cromogénica (Cefinase^R, BBL, Beckton Dickinson, EE.UU., MD 21030) se basa en el cambio de color que se produce tras la ruptura del anillo beta-lactámico de la cefalosporina. En la actualidad es la prueba mas utilizada de laboratorio por la facilidad

y sensibilidad del ensayo (Murray, 1991).

La resistencia a betalactámicos mediada por alteraciones en las PBPs puede ser investigada fácilmente por los métodos clásicos de dilución en medio sólido o líquido o difusión con disco con una carga de 10 µg. Sistemas automatizados como el MicroScan, ATB o Vitek han sido útiles.

La sinergia entre penicilina o vancomicina y un aminoglucósido se puede predecir con fiabilidad con estudios de sensibilidad *in vitro*. Aunque el tipo de medio no suele afectar los resultados (Sahm y Torres, 1988_a), la utilización de agar Mueller-Hinton suplementado con 5% de sangre bovina ha ofrecido los resultados más fiables y reproducibles.

1.11.2. Aminoglucósidos

Es posible predecir en algunos casos el comportamiento frente a algunos aminoglucósidos a través de otros. Así, gentamicina predice el comportamiento frente a netilmicina y tobramicina. Kanamicina es mejor predictor del comportamiento frente a amikacina que esta misma (Eliopoulos y Eliopoulos, 1990; Torres, 1989).

La capacidad de predecir *in vivo* la sinergia penicilina-aminoglucósido, basada en la ausencia de ANR *in vitro*, es aplicable sólo a estudios con *E. faecalis*.

En la rutina de laboratorio, sólo es necesario hacer estudios para gentamicina y estreptomina. Si hallamos ANR a gentamicina, esto implica la presencia del enzima 2''-APH-6'-AAC, la cual impide la utilización de todos los aminoglucósidos clínicamente útiles excepto

Introducción

estreptomina. Si no hallamos ANR a estreptomina, esta se puede utilizar en combinación con penicilina, ampicilina, piperacilina o vancomicina. Por eso, algunos sistemas automatizados sólo han incorporado el estudio de los ANR a estreptomina y gentamicina (Vitek).

Se han utilizado diversos métodos para detectar ANR a aminoglucósidos.

Para detectar el ANR a un aminoglucósido por los enterococos, podemos investigar la presencia del gen que codifica el enzima o el propio enzima que impide la acción del aminoglucósido mediante dot-blot o inmunoanálisis (radioinmunoanálisis o enzimoimmunoanálisis) (Gómez-Lus, 1989). En general, se recomienda que, como método de selección, se utilice una prueba de dilución en medio sólido o líquido con 2.000 µg/ml de aminoglucósido (Spiegel y Huicke, 1989). Estas mismas concentraciones pueden utilizarse con el sistema de microdilución en caldo (Weissmann et al, 1991).

La composición del medio de cultivo utilizado, no influye sustancialmente en los resultados. Así, se puede emplear agar Mueller-Hinton suplementado o no con sangre. También pueden ser empleados los medios dextrosa-fosfato, triptona-soja y cerebro-corazón (Sahm y Torres, 1988_a). Es muy importante utilizar un inóculo de 10^5 UFC/ml para estudios en caldo y de 10^6 UFC/ml para estudios en agar, ya que si bien la dosis de inóculo no influye en la sensibilidad, si afecta sustancialmente la especificidad de los estudios. En todos ellos, el pH del medio es una variable importante a tener en cuenta ya que éste debe oscilar entre 7.3 y 7.5 para que la actividad del aminoglucósido no se modifique. Un pH ácido dará lugar a una CMI falsamente elevada

y viceversa. También debemos estandarizar el valor de Ca^{++} en 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y Mg en 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Lietman, 1991).

1.11.2.1. METODOS DE DILUCION

Patterson y Zervos (1990), recomiendan el sistema de microdilución para estudios de rutina de ANR a gentamicina, como el método más práctico, seguro y reproducible de los sistemas actualmente disponibles. Zervos et al (1987_c), recomiendan el método de microdilución en caldo conteniendo una sola concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de gentamicina para predecir ANR a gentamicina.

La microdilución mediante sistemas comercializados o caseros, tiene una correlación variable con la dilución en medio sólido. Diversos sistemas automatizados incluyen, mediante microdilución, la detección de ANR a aminoglucósidos. Cuando se empleen estos sistemas se recomienda, en general, precaución con los datos en ellos obtenidos. Los resultados están influenciados por la dosis de inóculo y el tiempo de incubación. Así, para las pruebas de tres horas, el inóculo debe ser de 10^7 UFC/ml y para los test de más larga duración de 10^5 UFC/ml (Thornsberry, 1991).

El sistema MicroScan mediante los paneles Combo tipo 2 y tipo 5, empleando pocillos con 2.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de estreptomina y gentamicina, no es capaz de predecir los ANR a estos aminoglucósidos (Fuller et al, 1990). Una modificación del panel tipo 5 sustituyendo el caldo Mueller-Hinton por caldo dextrosa-fosfato ha aumentado de forma manifiesta la sensibilidad y especificidad de este sistema para detectar los ANR (Weissmann et al, 1991). La tarjeta GPS-TA (AMS-

Introducción

VITEK), empleando pocillos de 2.000 µg/ml de estreptomina y 500 µg/ml de gentamicina, tiene una buena correlación con la macrodilución en tubo, discos de alta carga antibiótica y dilución en medio sólido (Spiegel, 1988). En un estudio comparativo de la tarjeta GPS-TA (AMS-Vitek) con una única concentración en microdilución en caldo, con el método de difusión utilizando discos con alto contenido para la detección de ANR a gentamicina y estreptomina en aislamientos de *E.faecalis* y *E.faecium* observaron (Metchock y Gowan, 1991) que la tarjeta GPS-TA detectó con exactitud ANR a gentamicina pero no a estreptomina en aislamientos de *E.faecalis*.

El sistema ATB (Api System, BioMerieux) aún no ha sido evaluado, por lo que no se puede asegurar la fiabilidad de sus resultados.

1.11.2.2. METODO DE DIFUSION

El método de difusión en medio sólido con disco (Sahm, 1988_b; Torres, 1989) emplea discos de 6 mm con 300 µg de estreptomina y 120 µg de gentamicina, tobramicina y kanamicina; agar Mueller-Hinton, suplementado o no con sangre de carnero, y un inóculo de 0.5 U de Mac Farland. El halo de inhibición debe ser superior a 10 mm, tendiendo a ser mas grande cuando se emplea sangre en el medio. Este método muestra buena correlación con el de dilución en agar o en caldo (Shlaes y Levy, 1981; Spiegel, 1988).

Sahm y Torres (1988_b), prepararon discos con 2.000 µg de aminoglucósido observando solapamiento entre cepas sensibles y resistentes a la sinergia penicilina-aminoglucósido, lo cual demuestra que la prueba con 120 µg es mucho mas específica que los discos con

VITEK), empleando pocillos de 2.000 µg/ml de estreptomina y 500 µg/ml de gentamicina, tiene una buena correlación con la macrodilución en tubo, discos de alta carga antibiótica y dilución en medio sólido (Spiegel, 1988). En un estudio comparativo de la tarjeta GPS-TA (AMS-Vitek) con una única concentración en microdilución en caldo, con el método de difusión utilizando discos con alto contenido para la detección de ANR a gentamicina y estreptomina en aislamientos de *E.faecalis* y *E.faecium* observaron (Metchock y Gowan, 1991) que la tarjeta GPS-TA detectó con exactitud ANR a gentamicina pero no a estreptomina en aislamientos de *E.faecalis*.

El sistema ATB (Api System, BioMerieux) aún no ha sido evaluado, por lo que no se puede asegurar la fiabilidad de sus resultados.

1.11.2.2. METODO DE DIFUSION

El método de difusión en medio sólido con disco (Sahm, 1988_b; Torres, 1989) emplea discos de 6 mm con 300 µg de estreptomina y 120 µg de gentamicina, tobramicina y kanamicina; agar Mueller-Hinton, suplementado o no con sangre de carnero, y un inóculo de 0.5 U de Mac Farland. El halo de inhibición debe ser superior a 10 mm, tendiendo a ser mas grande cuando se emplea sangre en el medio. Este método muestra buena correlación con el de dilución en agar o en caldo (Shlaes y Levy, 1981; Spiegel, 1988).

Sahm y Torres (1988_b), prepararon discos con 2.000 µg de aminoglucósido observando solapamiento entre cepas sensibles y resistentes a la sinergia penicilina-aminoglucósido, lo cual demuestra que la prueba con 120 µg es mucho mas específica que los discos con

2.000 µg en la diferenciación de cepas sensibles y resistentes a la sinergia. Sin embargo, Pfaller et al (1984), llegaron a la conclusión de que los ANR no se pueden predecir con exactitud con el test de difusión, debido a que aunque la completa ausencia de zona de inhibición alrededor del disco corresponde a ANR, sin embargo, la presencia de halo de inhibición alrededor del disco, no excluye la presencia de ANR.

En un estudio realizado con discos impregnados con 500, 1000 y 500 µg de estreptomicina, karamicina y gentamicina, respectivamente, se pudo discernir con exactitud entre bajo nivel de resistencia y alto nivel de resistencia (Leclercq et al, 1992_b).

1.11.3. Glucopéptidos

En la detección de cepas con alto nivel de resistencia a vancomicina, son adecuados tanto el test de disco-difusión, como dilución en agar o caldo, así como métodos automatizados. Sin embargo, tanto el test de disco-difusión como los sistemas automatizados, ofrecen resultados variables en su capacidad para detectar bajos o moderados niveles de resistencia a vancomicina (Hindler y Sahm, 1992).

Willey et al (1992), observaron que tanto el sistema Vitek como el sistema MicroScan son incapaces de detectar adecuadamente resistencia a vancomicina en enterococos, señalando el método de disco difusión y el estudio en placas de agar dilución como los más confiables de los métodos disponibles actualmente para la detección de resistencia a vancomicina. Sin embargo, otros autores (Swenson et al,

Introducción

1989) opinan que el método de disco-difusión en agar no identifica con exactitud los enterococos con bajo nivel de resistencia a vancomicina, ya que sólo detectan cepas con CMI ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$, por lo que se despistarían las cepas con 8 $\mu\text{g/ml}$. En estos casos se hace necesaria la determinación de la CMI por dilución.

Recientemente el NCCLS (Swenson et al, 1992) ha definido la sensibilidad a vancomicina como un halo igual o superior a 17 mm, sensibilidad intermedia a los halos entre 15 y 16 mm, debiéndose estudiar estas cepas mediante CMI, y resistentes las cepas con halos de inhibición igual o inferiores a 14 mm.

Con el resto de los antimicrobianos los estudios de susceptibilidad no muestran grandes diferencias en los métodos de difusión y dilución en medios sólidos o líquidos.

1.12. TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES PRODUCIDAS POR
ENTEROCOCOS. IMPLICACIONES CLINICAS.

In vivo, para el tratamiento de las infecciones enterocócicas, son activos penicilina, ampicilina o vancomicina, los cuales inhiben pero no destruyen a *E. faecalis*. En líneas generales, en infecciones no complicadas suelen ser eficaces y suficientes los betalactámicos, así penicilina o ampicilina inhiben los enterococos, siendo estos moderadamente sensibles a una CMI inferior o igual a 8 µg/ml. En infecciones graves, no deben administrarse estos agentes de forma aislada. La adición de un aminoglucósido, al que la cepa tenga susceptibilidad demostrable a concentraciones que no pueden alcanzarse clínicamente, produce una curación clínica (Fuller et al, 1990; Szeto et al, 1991). Para ello, debe hacerse un estudio de susceptibilidad a los aminoglucósidos (Sahm y Torres, 1988_b). En caso de resistencia o alergia a betalactámicos, la alternativa terapéutica es vancomicina o teicoplanina en combinación con gentamicina (Herman y Gerding, 1991_a).

El tratamiento de la endocarditis infecciosa, al igual que la bacteriemia y meningitis precisan una acción bactericida, por lo cual penicilina, ampicilina y vancomicina no se deben administrar solos, requiriendo además de estos antibióticos que lesionan la pared celular, la adición de un aminoglucósido al que la cepa haya demostrado ser sensible a altas concentraciones, con lo que se consigue un efecto sinérgico bactericida, durante un tiempo mínimo de 4 a 6 semanas. Hunter (1947), fue el primero en señalar la interacción sinérgica de penicilina y estreptomina sugiriendo su uso como el tratamiento ideal de la endocarditis enterocócica.

Introducción

Un estudio de Herzstein et al (1984), revisan la presentación, curso clínico, tratamiento y resultados de 42 episodios separados de endocarditis enterocócica en 37 pacientes de cuatro Hospitales. En pacientes tratados con la combinación penicilina mas aminoglucósido o vancomicina mas aminoglucósido se obtienen resultados significativamente mejores que en aquellos que no recibieron aminoglucósidos. La duración del tratamiento con aminoglucósidos superior a cuatro semanas no mejora de forma significativa los resultados, por lo que, salvo en presencia de factores de riesgo, se aconseja un tratamiento de cuatro semanas de aminoglucósido y betalactámico o aminoglucósido y vancomicina con lo que se consigue una buena tasa de recuperación y se evita de esta manera la potencial toxicidad renal y vestibular.

Rice et al (1991), obtuvieron una alta tasa de curación (69%) en endocarditis enterocócica con prótesis valvular, tras cinco semanas de tratamiento con penicilina o vancomicina en asociación con gentamicina sin necesidad de intervención quirúrgica. Estos resultados sugieren que la endocarditis enterocócica sobre prótesis valvular puede ser tratada satisfactoriamente sólo con antibióticos sin necesidad de recurrir a la intervención quirúrgica, confirmando la eficacia de la combinación de un agente lesivo de la pared celular con gentamicina en endocarditis debida a enterococos con ausencia de ANR a esta última.

Spiegel y Huycke (1989), describen un paciente con endocarditis adquirida en la comunidad causada por *E. faecalis* con ANR a gentamicina y sin embargo fue susceptible a estreptomina. Estos autores informan de una acción sinérgica bactericida cuando estreptomina se combinó con penicilina o vancomicina, pero no cuando estos dos últimos medicamentos se combinaron con gentamicina, tobramicina o amikacina.

Introducción

Las combinaciones de aminoglucósidos más ampicilina son generalmente necesarias para el adecuado tratamiento de sepsis graves por *E. faecalis*. El aminoglucósido de elección es generalmente gentamicina (Eliopoulos y Eliopoulos, 1990).

Las cepas de *E. faecium* son más resistentes a ambos, penicilina y aminoglucósidos que las cepas de *E. faecalis*, por lo que se requerirían concentraciones más altas de aminoglucósidos para producir sinergia en las cepas de *E. faecium* (Herman y Gerding, 1991_b). La capacidad de predecir sinergia a la combinación penicilina-aminoglucósidos *in vivo* basada en la ausencia de resistencia a altos niveles de aminoglucósidos es aplicable sólo a cepas de *E. faecalis*, debido a que *E. faecium* puede producir las enzimas 6'-acetiltransferasa y 4'-adeniltransferasa, activas frente a amikacina, kanamicina, tobramicina y netilmicina. Por lo tanto, cuando no es posible la identificación en especies de los aislamientos enterocócicos, gentamicina o estreptomina es el aminoglucósido de elección si se necesita una combinación antimicrobiana sinérgica (Herman y Gerding, 1991_b).

El régimen recomendado (Scheld y Sande, 1991), cuando se requiere sinergia bactericida es el siguiente: penicilina G acuosa, 20 millones de unidades IV por día combinada con gentamicina 1 mg/kg IM o IV cada 8 h. O estreptomina 0,5 gr. IM cada 12 h. durante 4-6 semanas. Cuando los enterococos presentan ANR a aminoglucósidos se recomienda un tratamiento prolongado (8 a 12 semanas) con dosis elevadas de penicilina (20 a 40 millones de unidades IV diarias divididas) o ampicilina (2 a 3 gr. IV cada 4 h). En aquellos casos en los cuales no se pueden utilizar los betalactámicos debido a

Introducción

intolerancia o resistencia, vancomicina en una dosis de 1 gr. IV cada 12 h en combinación con un aminoglucósido es el régimen recomendado (Courvalin, 1990; Willey et al, 1992). Dado que se ha demostrado *in vivo*, la existencia de un sinergismo bactericida entre gentamicina y vancomicina para la mayoría de los enterococos, se prefiere la gentamicina a la estreptomina, ya que esta última, no produce sinergia frente a un 40% de estos microorganismos.

En casos de insuficiencia renal, los pacientes deben ser vigilados estrechamente para detectar signos de ototoxicidad o nefrotoxicidad ajustando cuidadosamente las dosificaciones.

En el caso de cepas con ANR a aminoglucósidos no se ha establecido el tratamiento óptimo, pudiendo ser necesario el reemplazo valvular para obtener la curación (Moellering, 1992). Así, no está claro como guiar al clínico en el tratamiento de infecciones enterocócicas graves debidas a cepas que muestran ANR. Cuando los estudios *in vitro* demuestran que los enterococos presentan ANR a gentamicina y estreptomina, ampicilina más ciprofloxacino (Smith et al, 1989) parece ofrecer otra combinación alternativa disponible; o bien, la utilización de altas dosis de ampicilina. Así, Sacher et al (1991) presentan un caso de recaída de endocarditis enterocócica tras adecuado tratamiento con la combinación betalactámicos y gentamicina, el cual se curó utilizando ciprofloxacino en la combinación terapéutica. Hindes et al (1989) evaluaron diversos regímenes antibióticos en el tratamiento de endocarditis experimental debida a *E. faecalis* productores de betalactamasas y con ANR a gentamicina. ampicilina sólo a altas dosis resolvió la bacteriemia en la mayoría de las ratas y redujo los títulos de bacterias dentro de las

Introducción

vegetaciones, pero no esterilizó las válvulas. En un trabajo de Eliopoulos et al (1992), demuestran que la infusión continua de ampicilina es más efectiva que su administración intermitente para reducir el número de enterococos en las vegetaciones valvulares de ratas con endocarditis inducida y tratada durante cinco días. También encontraron que ampicilina más sulbactam fue más efectiva que penicilina sola frente a cepas de enterococos productores de betalactamasas con ANR a gentamicina. Indrelie et al (1984) estudiaron la actividad sinérgica de imipenem o penicilina combinado con un aminoglucósido *in vitro*, observando un menor efecto sinérgico frente a enterococos cuando se utilizó imipenem en lugar de penicilina.

En un estudio (Schedl y Keeley, 1983) de endocarditis experimental inducida por *E. faecalis* en conejos, compararon los resultados del tratamiento con imipenem frente a la combinación penicilina más gentamicina; tras 7 días de tratamiento hubo curación en el 80% de los conejos que recibieron penicilina más gentamicina y sólo en el 20% de aquellos que recibieron imipenem. Ya que la CMI_{90} de imipenem frente a *E. faecalis* oscila ampliamente desde 0.8 a 128 mg/l. por el momento, no es aconsejable la monoterapia con imipenem en endocarditis enterocócica. Sin embargo, imipenem muestra efecto sinérgico frente a enterococo cuando se combina con aminoglucósidos *in vitro*; éste podría ser un régimen alternativo a la combinación vancomicina-aminoglucósido en casos de una significativa nefrotoxicidad. Recientemente, la introducción de teicoplanina ha abierto las posibilidades en las opciones terapéuticas de forma aislada o en asociación. Así, Lepout et al (1989) informaron de un caso de endocarditis bacteriana causada por *E. faecalis* tratada con teicoplanina en combinación con netilmicina

Introducción

cuya evolución fue hacia la curación y erradicación bacteriológica. Davey y Willians (1991), obtuvieron tasas de curación en 3 de 5 pacientes con enfermedades graves (endocarditis o bacteriemia) causadas por *E.faecalis* tratados con monoterapia de teicoplanina. Estudios *in vitro* (Debbia et al, 1986), por el método del tablero de ajedrez, obtienen que la combinación de teicoplanina con rifampicina resultó en indiferencia y la combinación de teicoplanina con netilmicina o amikacina es sinérgica frente a casi la mitad de las cepas de enterococos. La combinación de teicoplanina con fosfomicina da lugar a sinergismo en más de la mitad de los casos, con excepción de las cepas de *E.faecium*, en las cuales predominó el efecto de adición. La combinación de teicoplanina con imipenem mostró un efecto sinérgico como respuesta en la mayoría de los casos.

La ausencia de alternativas terapéuticas eficaces frente a enterococos con ANR a estreptomycin y gentamicina, así como el aumento en la prevalencia de resistencia a penicilinas y glucopéptidos, hacen que la solución a este problema tenga que esperar una nueva generación de antimicrobianos (Eliopoulos, 1993).

En la tabla 6 se resumen las posibilidades actuales de tratamiento.

TABLA 6. POSIBILIDADES DE TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR ENTEROCOCCO

<u>Clinica</u>	<u>Tratamiento</u>
Infección leve -----	Penicilina G o Ampicilina o Piperacilina
Infección grave -----	Ampicilina + AG
" + alergia a β -lactámicos -----	Vancomicina + AG o Teicoplanina + AG
" + insuficiencia renal -----	Teicoplanina o Ampicilina + Ciprofloxacino
" + ANR AG -----	Ampicilina \pm Ciprofloxacino
" + " + alergia a β -lactámicos -----	Vancomicina o Teicoplanina
" + " + " + insuficiencia renal -----	Teicoplanina

AG=Aminoglicósidos

ANR A G=alto nivel de resistencia a aminoglicósidos

2. OBJETIVOS

Objetivos

Hasta hace pocos años, se consideraba a los enterococos comensales inócuos integrantes de la flora intestinal del hombre.

En los últimos años, se ha desarrollado un interés creciente por este género, debido a la mayor incidencia de infecciones hospitalarias graves de esta etiología, y a la dificultad terapéutica que suponen debido a las resistencias adquiridas por este microorganismo a la mayoría de los agentes antimicrobianos empleados en su tratamiento.

Surge, por tanto, la necesidad de buscar vías alternativas a la terapéutica clásica, ya sea a través de la obtención de antimicrobianos de mayor potencia y más resistentes a la acción enzimática del microorganismo, o bien, intentando establecer asociaciones de antibióticos con la finalidad de aumentar la eficacia de los mismos.

Estos interrogantes nos motivaron a realizar un estudio de la biotipia y sensibilidad de *Enterococcus sp.* procedentes de enfermos de consulta y encamados en el Hospital Universitario de Granada, frente a diversos antimicrobianos, así, como a diferentes asociaciones entre ellos.

Los objetivos de este estudio han sido:

1. Estudio de un esquema de biotipia para caracterización de las cepas de enterococos, aisladas en nuestro medio.
2. Estudio del patrón de sensibilidad a antimicrobianos aislados incluyendo CMI de eritromicina, roxitromicina, claritromicina, ciprofloxacino, ampicilina, penicilina, amoxicilina-clavulánico, piperacilina, cefpiroma, imipenem, teicoplanina, vancomicina, gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina.

3. Estudio de la CMI de las asociaciones de teicoplanina y cefpiroma con cuatro aminoglucósidos: gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina, para definir sinergia, adicción, indiferencia o antagonismo de estas combinaciones.
4. Detección de cepas con altos niveles de resistencia a aminoglucósidos.
5. Relación entre la biotipia y la patogenicidad de los enterococos analizando distintas variables: biotipo, producto, especie, procedencia de la muestra intrahospitalaria o extrahospitalaria, sensibilidad antibiótica, alto nivel de resistencia a aminoglucósidos y respuesta a la combinación teicoplanina-gentamicina.

3. MATERIAL Y METODOS

Material y métodos

Durante el año 1991 se estudiaron un total de 150 cepas de enterococos a partir de pacientes, cuyas muestras clínicas fueron enviadas al Departamento de Microbiología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada.

Todos los microorganismos se conservaron mediante congelación a -20°C en caldo tripsinizado de soja con glicerol al 30%.

Tras la identificación del microorganismo como enterococo, todas las cepas se sometieron al siguiente protocolo de estudio:

- Se realizó estudio enzimático utilizando la galería API-ZYM (laboratorio bioMérieux,), la tarjeta GPI (laboratorios Vitek) y el test de nitrocefina (Cefinase, laboratorios BBL, EE.UU.).

- Se estudió la CMI de penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulánico, piperacilina, cefpiroma, imipenem, eritromicina, roxitromicina, claritromicina, ciprofloxacino, teicoplanina, vancomicina, gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina, por el método de dilución en agar.

- Se analizó la asociación de teicoplanina y cefpiroma con los aminoglucósidos gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina, y se determinó el Índice de la Concentración Fraccionada Inhibitoria, para cada una de estas combinaciones.

- Se determinaron los altos niveles de resistencia a los aminoglucósidos gentamicina, tobramicina, kanamicina y netilmicina.

Materia] y métodos

- Se realizó un esquema de biotipia para la caracterización de las cepas de enterococos.
- Se relacionó la biotipia con el producto, la especie, procedencia intra o extrahospitalaria, sensibilidad a antimicrobianos, ANR a gentamicina y con la respuesta a la combinación teicoplanina-gentamicina.

3.1. AISLAMIENTOS CLINICOS

Se recogieron al azar un total de 150 cepas procedentes de 130 pacientes de los cuales 44% eran varones y 56% mujeres, cuyas edades oscilaron entre 0 días y 82 años. La procedencia de los aislamientos obtenidos fue: orina, 55 (36,6%), exudados abdominales y de tejidos blandos, 35 (23,3%), exudados genitales, 30 (20%), catéteres, 15 (10%), LCR, 1 (0,6%), sangre, 2 (1,3%), bilis colédoco, 2 (1,3%), líquido ascítico, 2 (1,3%), jugo gástrico y frotis periféricos, 6 (4%), otros no reseñados, 2 (1,3%).

De los aislamientos obtenidos a partir de exudados abdominales y de tejidos blandos el 26% fueron monomicrobianos, mientras que de orina lo fueron el 41%.

La procedencia de las muestras incluyó consulta externa 60, sala de hospitalización 90, de los cuales, 22 procedían de la UVI. Los múltiples aislamientos de un paciente se numeraron separadamente cuando los cultivos se obtuvieron con diez días o más de diferencia, los resultados de sensibilidad a antimicrobianos fueron distintos, o las cepas fueron de especies diferentes. Como cepa control de nuestro estudio se usó *E. faecalis* ATCC 29212.

En la tabla 7 se recogen los números de referencia de los microorganismos con los datos referentes a edad, sexo, procedencia, producto patológico, tipo de aislamiento según sea polimicrobiano o monomicrobiano, especie y valoración clínica final.

3.2. ESTUDIOS DE IDENTIFICACION

Los estudios de identificación bacteriana se realizaron mediante cultivo y aislamiento en agar sangre, aspecto de las colonias, visualización en la tinción de Gram, prueba de catalasa, hidrólisis de bilis esculina, crecimiento en ClNa al 6,5%, a 10°C y 45°C, sensibilidad a vancomicina, presencia del serogrupo D, así como el estudio de la movilidad para diferenciar *E.gallinarum* de *E.faecium*.

3.2.1. MORFOLOGIA DE LAS COLONIAS:

Se utilizó agar sangre de carnero desfibrinada. Sobre la superficie del medio se pudieron observar las características de las colonias: tamaño, consistencia, color y tipo de hemólisis.

La morfología de los enterococos se observó mediante la tinción de Gram.

3.2.2. PRUEBA DE CATALASA

La prueba se realizó sobre medio de agar brucela. Se inoculó e incubó a 35°C durante 24 horas, al cabo de las cuales se adicionó unas gotas de H₂O₂ al 30%.

Fundamento: detectar la presencia de la enzima catalasa que desdobla el agua oxigenada en agua y oxígeno que se desprende en forma de burbujas.

La prueba se leyó como negativa cuando no hubo formación de burbujas en dos minutos.

3.2.3. HIDROLISIS DE BILIS ESCULINA

Se utilizó medio sólido de agar bilis esculina, inicialmente incoloro y dejado enfriar tras el autoclavado en posición inclinada para que quede una lengüeta. Tras la inoculación en zig-zag sobre el pico de flauta, se incubó a 35°C durante 24 horas, en ausencia de CO₂.

Fundamento: investigar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar el glucósido esculina, en esculetina y glucosa en presencia de bilis al 40%. La esculetina reacciona con la sal de hierro dando un compuesto coloreado negro.

Composición:

Agar nutritivo _____ 23 g
Bilis vacuna _____ 40 g
Citrato férrico _____ 0.5 g
Agua destilada _____ 1 litro

La prueba se consideró positiva cuando más de la mitad de la superficie se ennegreció en 24 horas.

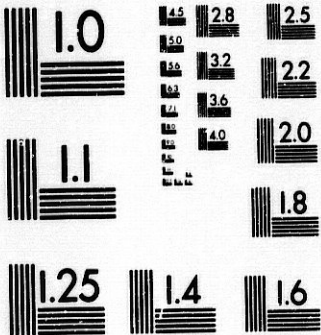
3.2.4. CRECIMIENTO EN ClNa AL 6,5 %

El medio utilizado se preparó de la siguiente manera:

Infusión de corazón _____ 25 g
ClNa _____ 60 g
Indicador _____ 1 ml*
Agua destilada _____ 1 l

* 1.6 gramos de púrpura de bromocresol en 100 ml de etanol al 95 %.

Se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART
 NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
 STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a
 (ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

3.2.3. HIDROLISIS DE BILIS ESCULINA

Se utilizó medio sólido de agar bilis esculina, inicialmente incoloro y dejado enfriar tras el autoclavado en posición inclinada para que quede una lengüeta. Tras la inoculación en zig-zag sobre el pico de flauta, se incubó a 35°C durante 24 horas, en ausencia de CO₂.

Fundamento: investigar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar el glucósido esculina, en esculetina y glucosa en presencia de bilis al 40%. La esculetina reacciona con la sal de hierro dando un compuesto coloreado negro.

Composición:

Agar nutritivo _____ 23 g
Bilis vacuna _____ 40 g
Citrato férrico _____ 0.5 g
Agua destilada _____ 1 litro

La prueba se consideró positiva cuando más de la mitad de la superficie se ennegreció en 24 horas.

3.2.4. CRECIMIENTO EN ClNa AL 6,5 %

El medio utilizado se preparó de la siguiente manera:

Infusión de corazón _____ 25 g
ClNa _____ 60 g
Indicador _____ 1 ml*
Agua destilada _____ 1 l

* 1.6 gramos de púrpura de bromocresol en 100 ml de etanol al 95 %.

Se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Se consideró la reacción positiva cuando el indicador cambió de color púrpura al amarillo o cuando el crecimiento fue obvio, aún cuando el indicador no cambiase de color.

3.2.5. PRUEBA DE MOVILIDAD

Se realizó en medio semisólido, con 3 ml. colocado en tubos. Para ello, se tomó una colonia con asa de alambre recto y se inoculó en el centro, cuidando de no desplazarla al introducirla o al sacar y se incubó a 35°C durante 24 horas.

Prueba positiva: crecimiento en la zona de inoculación y alrededor de esta.

Prueba negativa: crecimiento sólo en la zona de inoculación

Fundamento: Las bacterias móviles migran de la zona de siembra y se difunden alrededor originando turbidez, al contrario de las bacterias inmóviles que sólo crecen a lo largo de la picadura, permaneciendo el resto del medio claro. Esta prueba es de gran utilidad para diferenciar *E.faecium* (no móvil) de *E.gallinarum* (móvil).

3.2.6. DETECCION DE GRUPO SEROLOGICO

Para la determinación del grupo serológico de Lancefield, se utilizó la prueba "Streptococcal Grouping Kit" "Diagnostic Reagents" (laboratorios Oxoid, Reino Unido). Esta prueba utiliza partículas de látex cubiertas por anticuerpos específicos de grupo, las cuales aglutinan en presencia de antígenos homólogos.

Material y métodos

Para la realización de la prueba, se partió de un cultivo puro en agar sangre a 35°C durante 24 horas. En un tubo se dispensó, 4 ml de enzimas de extracción. Se seleccionaron 2 a 4 colonias y tras emulsión en la preparación enzimática se incubó durante 10 minutos a 35°C. Dispensamos una gota del reactivo látex y una gota de la extracción anterior. Se mezclaron y consideramos la reacción positiva cuando la aglutinación ocurrió a los 30 segundos de forma evidente.

3.3. DETECCION DE BETALACTAMASAS

A todas las cepas se les realizó la determinación de producción de betalactamasa por el método cromogénico mediante discos que contenían nitrocefina (Cefinase). Se basa en el cambio de color que se produce tras la ruptura del anillo betalactámico de la cefalosporina. Para la realización de la prueba, cada aislamiento fue cultivado en agar Columbia con 5% de sangre de carnero a 35°C durante 24 horas en aire, al cabo de las cuales, se depositaron 4 a 5 colonias en el disco previamente humedecido con agua estéril. Se consideró positivo, el viraje al color rojo ocre.

3.4. ESTUDIOS ENZIMATICOS CON LA GALERIA API-ZYM

Este micrométodo semicuantitativo se ha utilizado para la búsqueda de diecinueve actividades enzimáticas. Se presenta en formato de galería con 20 cúpulas, en el fondo de las cuales se encuentra el sustrato enzimático cromógeno con un tampón. En la fase sólida contiene una trama inerte fibrosa que favorece el contacto entre el

enzima y el sustrato generalmente insoluble. Esta técnica pone de manifiesto enzimas constitutivas y/o inducibles.

Composición de reactivos:

- . ZYM A: trihidroximetilaminometano25 g
- ácido clorhídrico al 37%11 ml
- lauril sulfato10 g
- agua destilada csp100 ml
- . ZYM B: Azul rápido BB0,35 g
- 2-metoxietanol csp100 ml

Las enzimas investigadas fueron las que a continuación se detallan: fosfatasa alcalina, esterasa, esterasa lipasa, lipasa, leucina arilamidasa, valina arilamidasa, cistina arilamidasa, tripsina, α -quimotripsina, fosfatasa ácida, naftol-A-S-BI-fosfohidrolasa, α -galactosidasa, β -galactosidasa, β -glucoronidasa, α -glucosidasa, β -glucosidasa, N-acetil- β -glucosaminidasa, α -manosidasa y α -fucosidasa.

Para la realización de la prueba se preparó una suspensión a partir de un cultivo puro de cada cepa a estudiar en 2 ml. de suero salino con una densidad óptica de 5-6 en la escala de Mac Farland. A continuación, se repartieron 65 μ l en cada cúpula de la galería, para proceder después a la incubación durante 4 horas a 35°C.

La lectura se realizó tras la adición de una gota de reactivo ZYM A y una gota de reactivo ZYM B en cada cúpula. El hecho de poner un agente tensoactivo (reactivo ZYM A) facilita la solubilización del reactivo ZYM B en el medio. Al cabo de 5 minutos, estos reactivos

Material y métodos

provocarán tras exponer la galería unos segundos a una luz (1000 W) colocada a una distancia de diez centímetros, un cambio de color, que dependiendo de su intensidad pondrán de manifiesto una mayor o menor actividad enzimática. Nosotros expresamos los resultados sólo de forma cualitativa, ante la subjetividad en la interpretación, para un resultado semicuantitativo.

3.5. ESTUDIOS ENZIMATICOS CON LA TARJETA GPI

Permite la identificación entre otros microorganismos de *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium* y *E. durans*.

Este método automático presenta un total treinta pruebas de las cuales nosotros seleccionamos 21, para nuestro esquema de biotipia. Para la realización de la técnica, se preparó una suspensión a partir de un cultivo puro de enterococos tras 24 horas de incubación en agar sangre a 35°C y se estandarizó a una concentración de 0,5 Mac Farland. Los sustratos empleados para el esquema de biotipia fueron los siguientes: arginina, urea, rojo de tetrazolio, novobiocina, dextrosa, lactosa, manitol, rafinosa, salicina, sorbitol, sacarosa, trehalosa, arabinosa, piruvato, pululano, inulina, melibiosa, melicitosa, celobiosa, ribosa y xilosa.

3.6. ESTUDIO DE BIOTIPIA

3.6.1. Selección de las pruebas para realizar el esquema de tipificación.

Con los datos obtenidos de la acción de las 41 pruebas, iniciamos la selección de aquellas más adecuadas para el esquema de tipificación. La numeración de las pruebas estudiadas se indica a continuación: 1. β -lactamasa, 2. fosfatasa alcalina, 3. esterasa, 4. esterasa lipasa, 5. lipasa, 6. leucina arilamidasa, 7. valina arilamidasa, 8. cistina arilamidasa, 9. tripsina, 10. α -quimotripsina, 11. fosfatasa ácida, 12. naftol-A-S-BI-fosfohidrolasa, 13. α -galactosidasa, 14. β -galactosidasa, 15. β -glucoronidasa, 16. α -glucosidasa, 17. β -glucosidasa, 18. N-acetil- β -glucosaminidasa, 19. α -manosidasa, 20. α -fucosidasa, 21. arginina, 22. urea, 23. rojo de tetrazolio, 24. novobiocina, 25. dextrosa, 26. lactosa, 27. manitol, 28. rafinosa, 29. salicina, 30. sorbitol, 31. sacarosa, 32. trehalosa, 33. arabinosa, 34. piruvato, 35. pululano, 36. inulina, 37. melibiosa, 38. melicitosa, 39. celobiosa, 40. ribosa y 41. xilosa.

En primer lugar, separamos dos bloques, el primero comprendía aquellas con un porcentaje de positividad comprendido entre el 10% y el 90%. En el segundo bloque se agruparon aquellas con un porcentaje de positividad inferior al 10% o superior al 90%. A partir de las pruebas pertenecientes al primer grupo, seleccionamos las que irían a formar parte de nuestro esquema.

Material y métodos

Para evitar que dos de las pruebas elegidas tuvieran un comportamiento similar, fue necesario establecer el siguiente procedimiento estadístico de diferenciación:

1º) Se agruparon en tres grupos, formado cada uno de ellos por aquellas pruebas con un porcentaje de positividad similar.

CUADRO Nº 1

AGRUPACION DE LAS PRUEBAS SEGUN SU PORCENTAJE DE POSITIVIDAD

GRUPO I

<u>Nº de prueba</u>	<u>Porcentaje de positividad</u>
10	29%
8	31%
17	32%
14	46%

GRUPO II

<u>Nº de prueba</u>	<u>Porcentaje de positividad</u>
31	53%
12	62%
18	62%
26	73%
38	74%

GRUPO III

<u>Nº de prueba</u>	<u>Porcentaje de positividad</u>
21	80%
11	88%
30	88%
34	88%
6	89%

20) Dentro de cada grupo, el criterio de diferenciación consistió en calcular, para cada par de pruebas, la media aritmética de las diferencias en valor absoluto, entre el número de coincidencias de ambas frente a las restantes del grupo. Hemos denominado "coincidencia entre dos pruebas" el número de veces que simultáneamente dan positividad o negatividad.

CUADRO Nº 2

PORCENTAJE DE COINCIDENCIAS ENTRE PARES DE PRUEBAS EN LOS TRES GRUPOS DESCRITOS

GRUPO I:	17	8	10
14	40	50	46
17		66	72
8			77

Material y métodos

GRUPO II:

26

18

12

31

38	55	63	65	48
26		53	56	44
18			64	48
12				48

GRUPO III:

34

30

16

11

21

6	90	88	90	90	70
34		95	95	95	70
30			94	96	68
16				96	68
11					69

Cuando dicha media era superior al 10% consideramos que las dos pruebas eran distintas, en caso contrario, antes de afirmar que eran iguales, realizamos un test estadístico para contrastar la igualdad de los valores medios de las coincidencias de ambas frente a las restantes del grupo. Para ello, fue necesario evaluar el estadístico t_{exp} que posteriormente definiremos y compararlo con el correspondiente valor de la tabla de la distribución t de Student.

Esquemáticamente el proceso es el siguiente:

<u>prueba A</u>	<u>prueba B</u>	<u>diferencias absolutas</u>
X_{1A}	X_{1B}	$d_1 = [X_{1A} - X_{1B}]$
X_{2A}	X_{2B}	$d_2 = [X_{2A} - X_{2B}]$
.	.	.
X_{nA}	X_{nB}	$d_n = [X_{nA} - X_{nB}]$

Media de las diferencias absolutas:

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^n d_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n [X_{iA} - X_{iB}]}{n}$$

Si $\bar{d} > 10\%$ —————> prueba A ≠ prueba B

Si $\bar{d} \leq 10\%$ —————> se evalúa $t_{exp} = \frac{[\bar{X}_A - \bar{X}_B]}{(S_A^2 + S_B^2)^{1/2}} \sqrt{n}$

donde: $\bar{X}_A = \frac{\sum_{i=1}^n X_{iA}}{n}$, $\bar{X}_B = \frac{\sum_{i=1}^n X_{iB}}{n}$ (medias aritméticas)

$$S_A^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{iA} - \bar{X}_A)^2}{n-1} , S_B^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{iB} - \bar{X}_B)^2}{n-1} \text{ (cuasivarianzas)}$$

Material y métodos

Se busca en las tablas el valor $t_{\alpha; 2n-2}$, correspondiente a la distribución "t" de Student con $2n-2$ grados de libertad y el nivel de significación α .

Si $t_{\text{exp}} \leq t_{\alpha; 2n-2}$ ————— enzima A = enzima B

Si $t_{\text{exp}} > t_{\alpha; 2n-2}$ ————— enzima A \neq enzima B

Consideramos que para $\alpha=0,05$ (lo que equivale a un nivel de confianza del 95%) los resultados son significativos, por lo que fijaremos este nivel como base, y así buscaremos en las tablas el valor $t_{0,05; 2n-2}$.

Como primer ejemplo comparemos las pruebas 12 y 31 frente a las restantes de su grupo: 38, 26 y 18.

	<u>prueba 12</u>	<u>prueba 31</u>	<u>diferencias absolutas</u>
38	65	48	17
26	56	44	12
18	64	48	16

$$\bar{d} = \frac{17+12+16}{3} = 13,3 > 10: \text{pruebas diferentes}$$

Como segundo ejemplo comparemos las pruebas 6 y 34 frente a las restantes de su grupo: 30, 16, 11 y 21.

	<u>prueba 6</u>	<u>prueba 34</u>	<u>diferencias absolutas</u>
30	88	95	7
16	90	95	5
11	90	95	5
21	70	70	0

$$\bar{d} = \frac{7+5+5+0}{4} = 4,25 < 10: \text{ posibles pruebas idénticas}$$

$$\bar{X}_6 = 84,5 \quad , \quad \bar{X}_{34} = 88,75$$

$$S^2_6 = 94,29 \quad , \quad S^2_{34} = 156,25$$

$$t_{\text{exp}} = \frac{[84,5 - 88,75]}{15,83} \sqrt{2} = 0,536$$

Como $t_{0,05;6} = 2,447$, ambas pruebas se considerarán significativamente iguales, ya que $t_{\text{exp}} < 2,447$.

Aplicando este procedimiento a los tres grupos del cuadro nº 1 se obtuvieron los resultados que figuran en los cuadros nº 3, 4 y 5.

CUADRO Nº 3

ESTUDIO DE DIFERENCIACION ENTRE LAS PRUEBAS DEL GRUPO I

	17	8	10
14	d=21 desigualdad	d=28,5 desigualdad	d=29,5 desigualdad
17		d=7,5($t_{\text{exp}}=0,357$) igualdad	d=8,5($t_{\text{exp}}=0,419$) igualdad
8			d=5($t_{\text{exp}}=0,065$) igualdad

$$n = 2 \quad , \quad t_{0,05;2} = 4,303$$

CUADRO Nº 4

ESTUDIO DE DIFERENCIACION ENTRE LAS PRUEBAS DEL GRUPO II

	26	18	12	31
38	d=7,7 ($t_{exp}=1,185$) igualdad	d=1 ($t_{exp}=0,146$) igualdad	d=0,7 ($t_{exp}=0,105$) igualdad	d=14,3 desigualdad
26		d=6,7 ($t_{exp}=1,032$) igualdad	d=8,3 ($t_{exp}=1,288$) igualdad	d=6,7 ($t_{exp}=7,541$) desigualdad
18			d=1,7 ($t_{exp}=0,251$) igualdad	d=13,3 desigualdad
12				d=15 desigualdad

$n=3,$ $t_{0.05; 4} = 2.776$

CUADRO Nº 5

ESTUDIO DE DIFERENCIACION ENTRE LAS PRUEBAS DEL GRUPO III

	34	30	16	11	21
6	d=4,25 $t_{exp}=0,536$ igualdad	d=4,25 $t_{exp}=0,386$ igualdad	d=4,75 $t_{exp}=0,450$ igualdad	d=5 $t_{exp}=0,545$ igualdad	d=20,75 desigualdad
34		d=1,5 $t_{exp}=0,114$ igualdad	d=1 $t_{exp}=0,057$ igualdad	d=0,75 $t_{exp}=0,028$ igualdad	d=25 desigualdad
30			d=0,5 $t_{exp}=0,054$ igualdad	d=1,25 $t_{exp}=0,140$ igualdad	d=24 desigualdad
16				d=0,75 $t_{exp}=0,083$ igualdad	d=24,5 desigualdad
11					d=25,25 desigualdad

$n = 4$, $t_{0,05; 6} = 2,447$

3.6.2. Esquema de tipificación descrito para este trabajo

El esquema de tipificación se realizó con las nueve pruebas seleccionadas según los criterios antes descritos. Con estas nueve pruebas, hicimos tres grupos, cada uno compuesto por 3 de ellas

Grupo I: cistina arilamidasa, fosfatasa ácida, naftol-A-S-BI-fosfohidrolasa.

Grupo II: α -quimotripsina, α -glucosidasa, N-acetil- β -glucosaminidasa.

Grupo III: β -glucosidasa, sorbitol, melicitosa.

3.6.3. Clasificación numérica

Empleamos una clasificación numérica desde el 1 al 8, así:

1 = - - -	5 = - + +
2 = + + +	6 = - - +
3 = + - -	7 = - + -
4 = + + -	8 = + - +

Como empleamos 3 grupos, la clasificación final estaría constituida por un número de 3 cifras, por ejemplo 163, 755, etc., según la positividad o negatividad de cada cepa de enterococo a estas pruebas.

3.7. ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

El estudio se realizó calculando la CMI mediante el método de dilución en agar, siguiendo las normas propuestas por el "National Conmitte for Clinical Laboratory Standarts" (N.C.C.L.S. 1990).

Los antimicrobianos se estudiaron aisladamente y en asociación,

estableciéndose dentro de esta última el valor de la Concentración Fraccionada Inhibitoria (CFI) para cada una de las combinaciones de teicoplanina y cefpiroma con los aminoglucósidos: gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina.

Antibióticos ensayados:

A continuación se incluye una relación de los antimicrobianos que, a partir de sustancia valorada pura, se emplearon para el estudio, indicándose la casa comercial por la que nos fueron suministrados:

1. Ampicilina (Antibióticos) (potencia: 88%)
2. Amoxicilina-clavulánico (Antibióticos) (potencia: 71,5%)
3. Penicilina (Antibióticos) (potencia: 100%)
4. Piperacilina (Lederle) (potencia: 100%)
5. Imipenem (MSD, Merck) (potencia: 100%)
6. Cefpiroma (Roussel) (potencia: 82%)
7. Eritromicina (Abbot) (potencia: 66,6%)
8. Claritromicina (Roussel) (potencia: 97,9%)
9. Roxitromicina (Abbot) (potencia: 100%)
10. Teicoplanina (Marion Merrel) (potencia: 100%)
11. Vancomicina (Lilly) (potencia: 100%)
12. Ciprofloxacino (Bayer) (potencia: 86,3%)
13. Amikacina (Squibb) (potencia: 65,5%)
14. Kanamicina (Sigma) (potencia: 78,3%)
15. Netilmicina (Schering Plough) (potencia: 66,1%)
16. Gentamicina (Antibióticos) (potencia: 63,6%)
17. Tobramicina (Dista) (potencia: 70,5%)

Preparación del antimicrobiano:

Se procedió a la preparación de una solución patrón de cada uno de los antibióticos ensayados, para lo cual se diluyeron 12.8 mg. de la sustancia valorada del antibiótico en 10 ml. de diluyente. Para los antimicrobianos que no tenían un 100% de pureza, se calculó para que la cantidad de sustancia activa pesada fuese de 12.8 mg. Así, teniendo en cuenta las concentraciones de los antibióticos utilizados, se emplearon de teicoplanina: 12.8 mg., ampicilina: 14.5 mg., roxitromicina: 12.8 mg., claritromicina: 12.8 mg., ciprofloxacino: 14.8 mg., cefpiroma: 15.6 mg., piperacilina: 12.8 mg., eritromicina: 19.2 mg., imipenem: 12.8 mg., amoxicilina-clavulánico: 16.8 mg., penicilina: 12.8 mg., vancomicina: 12.8 mg., gentamicina: 20.1 mg., tobramicina: 18.1 mg., amikacina: 19.5 mg., netilmicina: 19.4 mg.,

Las cantidades anteriores se obtienen tras multiplicar la concentración final deseada de antibiótico por 10 ml. de disolvente y por 20 ml. que es la cantidad de agar Mueller Hinton para cada placa.

La sustancia valorada se diluyó en 10 ml. de agua destilada. En el caso de eritromicina, claritromicina, roxitromicina y ciprofoxacino, se empleó como diluyente una solución de 3 ml. de alcohol metílico al 96% en 7 ml. de agua destilada. Para imipenem se utilizó un tampón fosfato de 0,01 M a pH de 7,2.

Una vez preparada la solución patrón se procedió a la realización de las diluciones seriadas de cada antibiótico, once diluciones en total por cada antimicrobiano ensayado, lo que equivale a un rango entre 64 y 0,06 µg/ml.

Preparación del inóculo:

Con el asa previamente flameada y fría se arrastraron 4 o 5 colonias aisladas, en cultivo puro, de cada una de las cepas, y se inocularon en un tubo con 5 ml. de caldo Mueller-Hinton.

Esta suspensión bacteriana se incubó a 37°C hasta que la turbidez fue visible. Se ajustó entonces la turbidez equivalente al valor 0,5 de la escala de Mc Farland mediante la adición de suero salino.

Para la preparación de la solución 0,5 de Mc Farland se añadieron 0,5 ml. de 0,048 M de Cl_2Ba (1,175% $\text{Cl}_2\text{Ba} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ peso/volumen) a 99,5 ml. de 0,18 M de SO_4H_2 , se mezcló con un agitador y se distribuyó en cantidad de 5 ml. (equivalente a la usada en la preparación del inóculo) y en los mismos tubos usados para dicha preparación. Para su conservación se guardó en frasco oscuro a temperatura ambiente.

El inóculo final obtenido con esta turbidez fue aproximadamente de 10^6 UFC/ml.

Preparación de las placas:

Se utilizaron placas de Petri estériles de 145 mm. de diámetro, en cada una de las cuales se ensayaron 20 cepas diferentes de enterococos, indicando en el fondo de la placa con rotulador el número de la cepa a estudiar.

Material y métodos

El medio utilizado fue agar Mueller-Hinton (laboratorios Oxoid, Reino Unido) y cuya composición es:

.Peptona de caseína ácida.....	17.5 g.
.Almidón.....	1.5 g.
.Agar.....	17.0 g.
.Infusión de carne.....	300.0 g.

Para su preparación se suspendieron 38 g. del medio deshidratado en 100 ml. de agua destilada. Se mezcló bien, agitándose con frecuencia. Se ajustó el pH a 7,2-7,4 añadiéndole 1 M de ClH. Se hirvió durante un minuto y se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. Posteriormente, se dejó enfriar en un baño maría, hasta llegar a los 48°C o 50°C, antes de añadirlos a las placas en las que se hallan los antimicrobianos en disolución, para evitar su inactivación por efecto de la temperatura.

Para la prueba y por cada antimicrobiano se utilizaron series de placas numeradas del 1 al 11, siendo la primera la que contiene la máxima concentración del antibiótico.

Con una pipeta de dispensación automática, se tomaron 1000 µl de cada uno de los tubos en los que previamente, se realizaron diluciones seriadas, y se depositaron en la placa correspondiente a cada dilución. A continuación se añadió a cada placa 20 ml. de agar Mueller-Hinton previamente fundido y conservado a una temperatura de 45°C en baño maría, mezclándose bien para que el antimicrobiano se repartiera uniformemente por el medio. De esta manera, se obtuvieron las siguientes concentraciones finales de antimicrobiano: 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06.

Material y métodos

Cuando las placas estuvieron secas, se procedió a la siembra en superficie con asa calibrada de 10 µl de cada una de las cepas que se fueron a estudiar.

Una vez inoculadas, las placas se dejaron reposar, antes de la incubación, hasta que el inóculo estuvo completamente adsorbido. La incubación se realizó a 35°C durante 24 horas.

Como control de crecimiento se cultivaron las distintas cepas ensayadas en placas de Mueller-Hinton sin antimicrobianos.

Interpretación de los resultados:

A las 24 horas de la incubación se procedió a la lectura de las placas, definiéndose la CMI como la mínima concentración de antibiótico que impidió un desarrollo bacteriano objetivable a simple vista. Se consideraron resistentes a un antimicrobiano determinado las cepas que mostraron una CMI mayor o igual a los límites de resistencia establecidos por la NCCLS (1990) (tabla 8).

Estudio de la CMI en medio sólido para las asociaciones de antimicrobianos.

Para el estudio de la sensibilidad de los enterococos frente a las asociaciones de teicoplanina y cefpiroma con los aminoglucósidos: gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina, se siguió el mismo procedimiento que el descrito anteriormente, excepto en lo que se refiere a la preparación de la solución patrón.

La proporción de los dos antimicrobianos en la solución madre empleada fue de 1:1. Para su preparación se diluyeron el total de sustancia valorada para 10 ml de cada uno de los dos antimicrobianos

Material y métodos

en 5 ml de agua destilada. Una vez disueltos, se mezclaron y se obtuvo la solución patrón, a partir de la cual se procedió a la realización de las diluciones seriadas tal y como hemos descrito anteriormente.

Para el cálculo de la CFI nos basamos en la técnica del "tablero" simplificada (Krogstad y Moellering, 1987_b), en la que ambos antimicrobianos se diluyeron a lo largo de los ejes de coordenadas, pero con una sustancial reducción del número de diluciones, utilizando solamente aquellas que conformaron la diagonal del tablero, manteniéndose la discriminación suficiente para definir el comportamiento de la asociación.

Las concentraciones utilizadas en las asociaciones entre los distintos antimicrobianos las realizamos en base a la CMI₉₀ del antibiótico aislado, así como al punto de ruptura o "breakpoint", definido por la NCCLS (1990).

Así, se fue seleccionando para cada antibiótico, aquella concentración que se aproximaba más al "breakpoint" y a su CMI₉₀; a partir de ella y, siguiendo una escala logarítmica en base 2, se obtuvieron las distintas concentraciones para cada una de las drogas de forma aislada.

Cálculo de la Concentración Fraccionada Inhibitoria

Este concepto se obtuvo de comparar la CMI obtenida en la asociación antimicrobiana, con la CMI de las mismas drogas obtenida de forma simple. Teniendo en cuenta su valor se establecieron los conceptos de sinergia, adición, indiferencia y antagonismo.

Sinergia: cuando la acción combinada es significativamente mayor que la suma de ambos efectos.

Material y métodos

Adición: la acción combinada es equivalente a la suma de las acciones de cada antibiótico por separado.

Indiferencia: la acción combinada de ambos fármacos no es más potente que la del agente más efectivo.

Antagonismo: cuando la acción combinada es menor que la del agente más efectivo, si éste se emplea sólo.

La forma de cuantificar estos conceptos es mediante la determinación del Índice de la CFI.

La CFI de cada droga se obtuvo dividiendo las CMI del antibiótico obtenida en la asociación por la CMI de ese mismo antibiótico aislado. Esto se corresponde gráficamente con el punto de máxima inflexión del isoblograma. El Índice de la CFI resulta de la suma de los valores obtenidos para cada uno de los antibióticos presentes en la asociación según la fórmula:

$$\text{Índice CFI} = \text{CFI A} + \text{CFI B}$$

Los resultados se expresaron como:

- . Índice CFI ≤ 0.5 -> Sinergismo total
- . Índice CFI > 0.5 a < 0.75 -> Sinergismo parcial
- . Índice CFI ≥ 0.75 a < 1 -> Adición
- . Índice CFI ≥ 1 a ≤ 2 -> Indiferencia
- . Índice CFI > 2 = Antagonismo

Estudio de los altos niveles de resistencia a aminoglucósidos

Se utilizó la técnica de dilución en agar tal como la hemos descrito anteriormente a excepción de las concentraciones de los antibióticos ensayados. Así, se estudiaron tres diluciones para cada antibiótico que corresponden a las concentraciones de 2.000, 1.000 y 500 µg/ml.

A partir de la suspensión 0.5 de Mc Farland se inocularon las placas de agar Mueller-Hinton sin sangre, con 10 µl de la suspensión para obtener un inóculo final de aproximadamente 10^8 UFC. Se eligió esta concentración por ser la más aceptada para valorar el ANR a aminoglucósidos (Moellering et al, 1970). Se inocularon simultáneamente placas testigo sin antibiótico como control de crecimiento. Las placas fueron incubadas 24 horas a 35°C en aire. El crecimiento de cualquier número de colonias fue considerado como ANR al aminoglucósido de la cepa correspondiente.

Se estudiaron los aminoglucósidos: gentamicina, tobramicina, kanamicina y netilmicina. Se empleó kanamicina por ser mejor predictor de ANR a amikacina que la propia amikacina. Se procedió a la preparación de una solución patrón de cada uno de los antibióticos ensayados para lo cual se diluyeron, respectivamente, 629 mg, 567 mg, 511 mg y 605 mg del antibiótico en 10 ml. de agua destilada. Se realizó de forma similar a lo ya descrito.

3.8. METODOS ESTADISTICOS PARA EL TRATAMIENTO DE LOS RESULTADOS

3.8.1. Test de interdependencia entre dos variables cualitativas

El estudio de la interdependencia entre los biotipos seleccionados y caracteres cualitativos como el producto, la procedencia intra o extrahospitalaria, sensibilidad o ausencia de esta a antimicrobianos, ANR a gentamicina y especie, se realizó mediante el estadístico chi-cuadrado, que se obtiene a partir de la diferencia entre las frecuencias observadas y las teóricas tras agrupar en una tabla de contingencia 2x2 la presencia o ausencia del biotipo y el otro carácter considerado.

Tabla de contingencia 2x2 y estadístico X^2

Denominamos n_{ij} a las frecuencias conjuntas observadas,

	V2 si	V2 no	Total
V1 si	n_{11}	n_{12}	n_{1*}
V1 no	n_{21}	n_{22}	n_{2*}
Total	n_{*1}	n_{*2}	n

$$n_{1*} = n_{11} + n_{12}$$

$$n_{2*} = n_{21} + n_{22}$$

$$n_{*1} = n_{11} + n_{21}$$

$$n_{*2} = n_{12} + n_{22}$$

$$n = n_{1*} + n_{2*} = n_{*1} + n_{*2}$$

Se define el estadístico X^2 de Pearson como:

$$X^2_{\text{exp}} = \frac{n (n_{11} \cdot n_{22} - n_{12} \cdot n_{21})^2}{n_{*1} \cdot n_{*2} \cdot n_{1*} \cdot n_{2*}} \quad \text{con } X^2_{\alpha} \text{ (g.l.=1)}$$

El contraste de dependencia formula la hipótesis H_0 : el biotipo es estadísticamente independiente del otro carácter considerado frente a la alternativa H_1 . Así, cuando H_0 es cierta, el estadístico X^2_{exp} sigue una distribución chi-cuadrado de Pearson con un grado de libertad. Así, si para un nivel de significación α , resulta $X^2_{\text{exp}} \leq X^2_{\alpha}$, se acepta la hipótesis H_0 , y se supone que el biotipo es independiente del otro carácter. En caso contrario, la interdependencia es significativa ($p < \alpha$).

Factor de corrección de Yates

Cuando la muestra considerada es pequeña, o el número de grados de libertad de la distribución X^2 se reduce a 1, se obtiene mejor ajuste de los datos a dicha distribución aplicando una corrección de continuidad, denominada "Factor de corrección de Yates". Concretamente, para una tabla de contingencia 2x2 el estadístico corregido viene expresado de la forma:

$$X^2_{\text{(corregido)}} = \frac{n ([n_{11} \cdot n_{22} - n_{12} \cdot n_{21}] - n/2)^2}{n_{*1} \cdot n_{*2} \cdot n_{1*} \cdot n_{2*}}$$

Cuando es $[n_{11} \cdot n_{22} - n_{12} \cdot n_{21}] \leq n/2$, no procede efectuar la corrección de Yates.

Los resultados se consideraron significativos cuando $P < 0.05$

4. RESULTADOS

Resultados

De las 150 cepas de enterococos estudiadas, 136 pertenecieron a la especie *E. faecalis* (90.7%) y 14 cepas pertenecen a la especie *E. faecium* (9.3%).

Tras realizar el estudio de sensibilidad con los 16 antimicrobianos y sus asociaciones, hemos obtenido los resultados que quedan reflejados en las siguientes tablas:

En la tabla 9 se detallan los resultados de la actividad de cada uno de los antibióticos ensayados: eritromicina, roxitromicina, claritromicina, ciprofloxacino, penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulánico, imipenem, piperacilina, cefpiroma, teicoplanina, vancomicina.

En la tabla 10 se indican los rangos, CMI₅₀, CMI₉₀, y sensibilidad media de los antimicrobianos estudiados. Por otra parte, en la tabla 11 se indican estos mismos parámetros calculados por especies, siendo teicoplanina, el más activo tanto para *E. faecalis* como para *E. faecium*.

En la tabla 12 mostramos los porcentajes de sensibilidad y resistencia a los antibióticos según los criterios de la NCCLS (1990). También según estos criterios, hemos calculado los porcentajes de resistencia a estos antibióticos por especies de enterococos, reflejados en la tabla 13.

Los porcentajes de ANR a gentamicina, tobramicina, netilmicina y kanamicina se reflejan en la tabla 14.

Por especies, el porcentaje de ANR a gentamicina en *E. faecalis* fue de 24,3%, mientras que ninguno de los aislamientos de *E. faecium* lo presentó. Se observó un mayor porcentaje (68,2%) de ANR a algún aminoglucósido en cepas procedentes de UVI y UCI pediátrica.

Resultados

Para teicoplanina, en las tablas 15, 16, 17 y 18 se detallan los resultados indicando la CMI obtenida por cada cepa frente a los antimicrobianos solos y en asociación con aminoglucósidos; en una columna adjunta se señala la CFI obtenida, así como el efecto de la asociación. Igualmente, para cefpiroma se reflejan los resultados en las tablas 19, 20, 21 y 22.

Los porcentajes de sinergia, sinergia parcial, adición, indiferencia y antagonismo en las asociaciones de teicoplanina y cefpiroma con gentamicina, tobramicina, amikacina y netilmicina se reflejan en la tabla 23.

No se detectó producción de betalactamasas por el método cromogénico mediante discos con nitrocefina.

Resultado de la aplicación a cada cepa de enterococo del esquema de tipificación, obtuvimos 58 biotipos, de los cuales seleccionamos 7, que engloban al 45.5% de las cepas, así, el biotipo 555 lo presentaron el 13% de las cepas, le sigue el biotipo 575 con 9%, el biotipo 255 con 7%, el biotipo 755 con 7%, el biotipo 111 con 5%, el biotipo 113 con 3% y el biotipo 163 con 1,5%.

En la tabla 24 se reflejan los biotipos obtenidos por cada cepa de enterococo.

TABLA 7. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CEPAS DE
ENTEROCOCOS ESTUDIADAS

CEPA	EDAD	SEXO	PRODUCTO	PROCEDENCIA	AISLAMIENTO	ESPECIE	VALORACION
1	76	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
2	73	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
3	73	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
4	80	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
5	RN	M	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
6	RN	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
7	78	M	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
8	7	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
9	72	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
10	78	M	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
11	54	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecium</i>	negativa
12	32	M	semen	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
13	48	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
14	54	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
15	26	M	exudado	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
16	33	M	exudado	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
17	62	M	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
18	67	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
19	1	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
20	78	F	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
21	42	M	semen	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
22	1	F	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
23	-	M	semen	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
24	42	F	exudado	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
25	63	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva

PM = polimicrobiano
MM = monomicrobiano

TABLA 7. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CEPAS DE
ENTEROCOCOS ESTUDIADAS

CEPA	EDAD	SEXO	PRODUCTO	PROCEDENCIA	AISLAMIENTO	ESPECIE	VALORACION
26	45	M	semen	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
27	72	F	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
28	RN	-	FP	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
29	85	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
30	69	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
31	RN	-	catéter	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
32	27	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
33	69	F	sonda	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
34	31	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
35	62	M	ascítico	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
36	48	F	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
37	26	M	exudado	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
38	74	F	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
39	84	M	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
40	62	M	ascítico	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
41	81	M	semen	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
42	RN	-	catéter	uci	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
43	73	M	exudado	uvi	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
44	65	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
45	80	F	exudado	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
46	34	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
47	70	F	exudado	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
48	68	M	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
49	1	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
50	62	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa

PM = polimicrobiano

MM = monomicrobiano

TABLA 7. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CEPAS DE
ENTEROCOCOS ESTUDIADAS

CEPA	EDAD	SEXO	PRODUCTO	PROCEDENCIA	AISLAMIENTO	ESPECIE	VALORACION
51	54	M	exudado	uvi	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
52	50	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
53	31	F	loquios	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
54	75	M	catéter	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
55	56	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
56	80	F	exudado	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
57	70	F	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
58	19	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
59	56	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
60	40	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
61	50	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
62	50	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
63	RN	M	FP	uci	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
64	67	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
65	78	F	catéter	sala	PM	<i>E. faecium</i>	negativa
66	21	F	PN	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
67	24	F	PN	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
68	RN	-	catéter	uci	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
69	54	M	orina	uvi	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
70	71	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
71	1	F	PN	sala	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
72	RN	M	catéter	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
73	32	F	exudado	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
74	54	M	exudado	uvi	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
75	61	F	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva

PM = polimicrobiano

MM = monomicrobiano

TABLA 7. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CEPAS DE
ENTEROCOCOS ESTUDIADAS

CEPA	EDAD	SEXO	PRODUCTO	PROCEDENCIA	AISLAMIENTO	ESPECIE	VALORACION
76	44	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecium</i>	negativa
77	RN	-	FP	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
78	62	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
79	72	F	exudado	uvi	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
80	21	F	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
81	61	M	bilis	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
82	RN	-	sangre	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
83	24	F	loquios	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
84	68	M	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
85	55	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
86	33	M	exudado	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
87	29	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
88	27	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
89	39	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
90	60	F	exudado	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
91	66	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
92	1	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
93	31	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
94	1	M	PN	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
95	73	M	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
96	23	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
97	65	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
98	62	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
99	65	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
100	54	M	exudado	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva

PM = polimicrobiano

MM = monomicrobiano

TABLA 7. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CEPAS DE
ENTEROCOCOS ESTUDIADAS

CEPA	EDAD	SEXO	PRODUCTO	PROCEDECENCIA	AISLAMIENTO	ESPECIE	VALORACION
101	53	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
102	82	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
103	1	F	PN	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
104	16	F	LCR	sala	MM	<i>E. faecium</i>	positiva
105	30	F	PN	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
106	72	M	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
107	77	F	catéter	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
108	1	F	PN	sala	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
109	RN	-	catéter	uci	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
110	RN	-	catéter	uci	MM	<i>E. faecium</i>	positiva
111	62	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
112	1	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
113	42	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
114	1	M	catéter	uci	PM	<i>E. faecium</i>	positiva
115	41	F	exudado	consulta	PM	<i>E. faecium</i>	negativa
116	RN	-	FP	sala	PM	<i>E. faecium</i>	negativa
117	42	F	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
118	69	M	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
119	71	M	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
120	1	M	catéter	uci	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
121	72	F	exudado	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
122	69	M	exudado	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
123	1	M	PN	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
124	31	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
125	32	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa

PM = polimicrobiano
MM = monomicrobiano

TABLA 7. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CEPAS DE
ENTEROCOCOS ESTUDIADAS

CEPA	EDAD	SEXO	PRODUCTO	PROCEDENCIA	AISLAMIENTO	ESPECIE	VALORACION
126	19	F	médula	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
127	1	F	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
128	21	F	PN	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
129	82	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
130	1	M	catéter	uci	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
131	35	M	sonda	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
132	25	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
133	70	M	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
134	-	F	orina	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
135	42	F	PN	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
136	RN	-	sangre	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
137	61	M	sonda	uvi	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
138	78	F	bilis	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
139	RN	-	FP	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
140	RN	-	FP	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	negativa
141	6	F	PN	consulta	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
142	1	M	catéter	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
143	55	F	orina	consulta	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
144	30	F	loquios	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
145	RN	-	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
146	75	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
147	RN	F	orina	sala	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
148	RN	F	PN	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva
149	35	F	orina	sala	MM	<i>E. faecalis</i>	positiva
150	RN	-	catéter	uci	PM	<i>E. faecalis</i>	positiva

PM = polimicrobiano

MM = monomicrobiano

TABLA 8. VALORES DEL NCCLS. PARA EL ESTUDIO DE LA CMI POR EL METODO DE DILUCION PARA LOS ENTEROCOCOS

ANTIMICROBIANO	S	MS	I	R
PENICILINA		≤8		≥16
AMPICILINA		≤8		≥16
AMOX-CLAVULANICIO		≤8		≥16
PIPERACILINA		≤8		≥16
IMIPENEM		≤8		≥16
VANCOMICINA		≤4	8-16	≥32
TEICOPLANINA		≤8	8-16	≥32
ERITROMICINA	≤0,5		1-4	≥8
CIPROFLOXACINO	≤1		2	≥4
CEFPIROMA	<12,5			≥12,5
GENTAMICINA	≤4		8	≥16
TOBRAMICINA	≤4		8	≥16
NETILMICINA	≤8		16	≥32
AMIKACINA	≤16		32	≥64

* Expresados en µg/ml.

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ERITROMICINA	2	4	1	2	64	64	1	1	64	2
ROXITROMICINA	4	4	2	4	0.5	64	4	2	64	4
CLARITROMICINA	1	1	1	1	0.5	64	2	1	64	4
CIPROFLOXACINO	64	64	64	2	2	2	1	16	2	8
PENICILINA	4	4	1	2	1	2	2	4	4	4
AMPICILINA	4	2	1	1	0.5	1	1	1	2	1
AMOX-CLAVULANICO	2	1	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5	0.25	1	0.25
IMIPENEM	1	2	1	1	0.5	0.5	1	1	1	0.5
PIPERACILINA	2	4	1	2	2	2	2	2	4	2
CEFFIROMA	64	64	8	8	4	16	16	8	64	4
TEICOPLANINA	1	1	0.25	0.5	0.5	1	1	1	1	0.25
VANCOMICINA	4	1	2	1	2	1	4	4	2	1

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ERITROMICINA	2	4	1	4	64	64	4	0.5	64	64
ROXITROMICINA	4	2	4	4	16	64	2	1	8	64
CLARITROMICINA	1	1	2	2	8	64	2	0.25	8	64
CIPROFLOXACINO	8	2	2	1	2	2	1	1	1	1
PENICILINA	4	1	2	1	2	2	1	0.5	4	2
AMPICILINA	2	0.5	1	0.5	2	2	0.5	1	2	1
AMOX-CLAVULANICO	0.25	0.25	0.5	0.25	2	1	0.5	0.5	1	1
IMIPENEM	2	0.5	0.5	0.25	2	0.5	0.25	0.25	0.5	1
PIPERACILINA	2	2	2	1	4	2	2	2	2	2
CEFPIROMA	16	16	8	4	64	16	16	8	16	32
TEICOPLANINA	1	1	1	1	1	0.5	0.25	0.25	0.5	1
VANCOMICINA	2	2	1	2	4	2	2	1	1	1

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ERITROMICINA	64	1	1	4	1	64	64	64	64	1
ROXITROMICINA	64	2	0.5	2	1	64	64	64	64	4
CLARITROMICINA	64	1	0.5	0.5	0.25	64	64	64	8	4
CIPROFLOXACINO	2	0.5	2	1	1	1	64	64	1	64
PENICILINA	0.5	1	1	2	2	2	2	1	4	4
AMPICILINA	1	2	1	1	1	1	1	1	4	1
AMOX-CLAVULANICO	0.25	1	1	0.5	0.5	1	0.5	0.5	1	1
IMIPENEM	0.25	0.5	0.5	1	1	1	0.25	0.5	1	0.5
PIPERACILINA	2	2	2	2	2	4	2	2	2	2
CEFPIROMA	8	16	8	32	32	16	64	32	8	8
TEICOPLANINA	0.25	0.25	1	1	0.5	1	1	0.25	1	1
VANCOMICINA	4	4	1	4	1	1	0.5	1	4	2

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
ERITROMICINA	64	2	4	64	64	64	64	1	64	0.25
ROXITROMICINA	1	4	0.5	64	16	64	64	2	64	0.5
CLARITROMICINA	1	0.25	0.25	64	1	64	16	0.5	64	0.25
CIPROFLOXACINO	64	2	64	1	1	1	1	1	64	64
PENICILINA	2	4	2	4	2	2	4	2	0.5	4
AMPICILINA	1	2	2	1	1	0.5	4	2	0.5	1
AMOX-CLAVULANICO	1	1	0.5	1	1	1	2	1	0.5	1
IMIPENEM	0.5	1	0.5	0.5	1	1	2	0.25	0.5	2
PIPERACILINA	1	2	1	4	2	2	4	2	1	4
CEFPIROMA	4	32	4	8	64	8	32	8	4	64
TEICOPLANINA	0.25	0.25	1	1	1	1	1	0.25	0.25	1
VANCOMICINA	1	2	1	1	4	4	2	1	4	1

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS

	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
ERITROMICINA	2	2	64	64	0.25	64	64	4	1	0.5
ROXITROMICINA	4	2	64	64	0.5	64	64	2	1	1
CLARITROMICINA	0.5	0.5	64	64	0.25	64	64	0.25	0.25	0.25
CIPROFLOXACINO	1	2	64	64	64	64	2	64	2	64
PENICILINA	2	1	2	4	2	4	4	4	4	4
AMPICILINA	1	1	1	4	2	2	2	2	1	2
AMOX-CLAVULANICO	1	0.5	1	2	2	1	2	1	0.5	0.5
IMIPENEM	0.5	0.5	0.5	0.5	2	1	2	2	0.5	1
PIPERACILINA	2	1	2	8	4	4	4	4	2	4
CEFPIROMA	16	4	16	64	64	64	64	64	8	64
TEICOPLANINA	0.25	0.25	1	0.5	1	1	1	0.5	0.5	0.5
VANCOMICINA	4	4	4	2	2	2	2	2	1	1

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
ERITROMICINA	0.25	2	0.5	2	64	0.25	64	2	0.25	64
ROXITROMICINA	1	4	4	4	64	0.5	64	4	1	64
CLARITROMICINA	0.25	2	0.5	2	64	0.25	64	2	0.25	64
CIPROFLOXACINO	64	2	2	8	64	64	1	2	8	2
PENICILINA	8	4	2	2	4	4	4	1	2	1
AMPICILINA	4	2	1	2	4	4	4	1	0.5	1
AMOX-CLAVULANICO	2	1	0.5	1	2	2	2	1	0.5	0.5
IMIPENEM	2	1	1	1	4	4	4	1	1	1
PIPERACILINA	4	2	2	2	4	4	4	2	2	2
CEFPIROMA	64	16	8	8	64	64	64	8	4	4
TEICOPLANINA	1	1	0.25	0.5	0.5	1	1	0.5	1	0.25
VANCOMICINA	2	4	1	4	2	2	2	4	1	1

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
ERITROMICINA	2	2	1	2	64	1	1	0.5	0.25	0.5
ROXITROMICINA	4	4	2	4	64	4	4	4	1	2
CLARITROMICINA	1	2	1	1	64	1	1	0.5	0.5	1
CIPROFLOXACINO	2	2	1	1	1	1	2	1	64	2
PENICILINA	1	0.5	2	1	0.5	1	2	2	2	2
AMPICILINA	2	0.5	1	1	0.5	1	2	2	1	2
AMOX-CLAVULANICO	1	0.5	1	0.5	0.25	0.5	1	1	0.25	1
IMIPENEM	1	1	1	1	0.5	1	1	1	1	1
PIPERACILINA	2	2	1	1	0.5	2	2	2	2	2
CEFPIROMA	8	32	16	4	4	8	32	16	32	8
TEICOPLANINA	1	1	0.25	0.25	1	0.25	1	0.5	0.25	1
VANCOMICINA	4	4	1	1	0.5	4	4	1	2	2

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRETE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
ERITROMICINA	64	0.5	0.5	0.5	1	64	0.5	64	16	0.5
ROXITROMICINA	64	0.5	1	1	2	64	2	4	64	0.5
CLARITROMICINA	64	0.5	0.5	4	1	64	0.25	1	64	0.5
CIPROFLOXACINO	8		2	64	2	16	8	2	0.5	2
PENICILINA	64	2	2	1	4	8	2	0.5	8	2
AMPICILINA	64	2	1	1	2	4	2	1	8	2
AMOX-CLAVULANICO	64	1	0.5	0.5	0.5	1	1	0.25	2	0.5
IMIPENEM	16	1	1	1	1	4	1	0.25	4	0.5
PIPERACILINA	64	2	2	1	2	4	2	1	4	1
CEFPIROMA	64	8	4	64	8	8	8	4	32	8
TEICOPLANINA	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	1	1	1	0.25
VANCOMICINA	1	2	4	1	2	1	4	0.5	2	1

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
ERITROMICINA	0.5	0.5	1	0.25	1	2	2	1	64	64
ROXITROMICINA	4	1	2	2	4	4	4	4	64	64
CLARITROMICINA	0.5	0.5	1	0.25	2	2	2	1	64	64
CIPROFLOXACINO	2	2	2	64	1	2	1	16	2	2
PENICILINA	1	1	0.5	4	1	0.5	2	2	2	2
AMPICILINA	1	2	2	8	2	4	4	4	2	2
AMOX-CLAVULANICO	0.5	1	1	2	0.5	1	1	2	1	1
IMIPENEM	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1
PIPERACILINA	1	2	1	4	1	1	1	2	2	2
CEFPIROMA	4	16	4	64	64	16	32	8	8	16
TEICOPLANINA	0.25	1	0.25	1	0.25	0.25	0.5	1	0.5	1
VANCOMICINA	2	4	1	2	0.5	2	2	1	1	4

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
ERITROMICINA	2	64	2	2	0.25	64	64	1	2	0.25
ROXITROMICINA	4	64	4	2	2	64	64	2	4	2
CLARITROMICINA	2	64	1	1	0.25	64	64	0.5	1	0.25
CIPROFLOXACINO	1	1	1	1	64	1	2	64	2	64
PENICILINA	1	1	1	2	8	2	2	4	4	4
AMPICILINA	2	2	2	4	4	2	2	4	8	4
AMOX-CLAVULANICO	0.5	0.5	0.5	1	1	0.5	1	1	1	1
IMIPENEM	0.5	0.5	0.5	0.5	1	0.5	1	1	0.5	1
PIPERACILINA	2	2	2	2	2	1	2	4	4	4
CEFPIROMA	4	16	8	8	64	32	16	64	32	32
TEICOPLANINA	0.25	1	0.5	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
VANCOMICINA	2	4	4	2	1	2	2	2	4	2

Resultados

TABLA 9. CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCCOS.

	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
ERITROMICINA	64	64	8	1	64	64	0.25	64	2	4
ROXITROMICINA	64	64	8	4	64	64	0.5	64	4	4
CLARITROMICINA	64	64	8	1	64	64	0.5	64	1	1
CIPROFLOXACINO	2	4	0.5	2	2	2	4	4	2	4
PENICILINA	4	2	1	1	1	2	2	64	0.5	1
AMPICILINA	4	2	0.5	0.5	0.5	0.5	1	64	0.25	1
AMOX-CLAVULANICO	2	1	0.5	0.25	0.5	0.5	0.25	64	0.25	0.5
IMIPENEM	2	1	0.5	0.5	1	1	0.25	64	0.5	0.25
PIPERACILINA	2	1	4	2	1	2	4	64	1	2
CEFPIROMA	16	8	4	32	8	16	64	64	4	4
TEICOPLANINA	0.5	0.25	0.5	1	0.25	0.25	0.5	1	1	1
VANCOMICINA	2	1	2	0.5	1	4	2	1	1	0.5

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

111 112 113 114 115 116 117 118 119 120

ERITROMICINA	64	64	64	64	4	1	0.25	2	0.25	64
ROXITROMICINA	64	64	64	64	4	2	0.5	4	0.5	64
CLARITROMICINA	64	64	64	64	1	1	0.25	1	0.25	64
CIPROFLOXACINO	64	64	64	2	2	2	16	2	64	2
PENICILINA	1	2	2	1	1	1	2	4	4	2
AMPICILINA	1	1	1	0.5	0.5	0.25	1	1	2	0.5
AMOX-CLAVULANICO	1	1	0.5	0.5	0.5	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5
IMIPENEM	1	1	1	0.5	0.5	0.25	0.5	1	0.5	1
PIPERACILINA	2	2	2	1	4	1	2	1	2	1
CEFPIROMA	8	16	8	8	32	8	4	64	16	8
TEICOPLANINA	0.25	0.25	0.25	0.5	1	1	0.5	0.5	0.5	0.25
VANCOMICINA	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
ERITROMICINA	64	2	1	2	2	2	2	64	2	64
ROXITROMICINA	64	4	2	4	4	2	4	64	4	64
CLARITROMICINA	64	1	1	1	1	1	1	64	1	64
CIPROFLOXACINO	1	1	0.5	1	4	2	2	2	4	2
PENICILINA	1	1	1	2	2	1	1	4	1	2
AMPICILINA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1
AMOX-CLAVULANICO	0.5	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	2
IMIPENEM	1	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	1	0.5	1
PIPERACILINA	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
CEFPIROMA	8	4	4	4	8	4	4	4	4	8
TEICOPLANINA	0.25	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	1	0.5	0.5	0.5
VANCOMICINA	2	2	2	1	4	1	1	4	2	1

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

131 132 133 134 135 136 137 138 139 140

ERITROMICINA	1	1	2	2	4	1	64	1	64	4
ROXITROMICINA	4	2	4	2	2	2	64	4	64	4
CLARITROMICINA	1	1	1	1	1	1	64	1	64	1
CIPROFLOXACINO	64	2	1	2	2	1	2	2	0.5	0.5
PENICILINA	1	0.5	1	0.5	2	2	4	2	1	4
AMPICILINA	2	0.5	2	0.5	2	2	2	0.5	0.5	4
AMOX-CLAVULANICO	1	0.25	1	0.5	1	0.5	2	0.5	0.5	1
IMIPENEM	1	0.5	1	1	2	1	2	1	0.5	2
PIPERACILINA	8	2	1	2	2	1	2	1	4	2
CEFPIROMA	64	8	4	8	4	4	8	4	8	4
TEICOPLANINA	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	1	0.5
VANCOMICINA	1	4	4	2	4	4	2	1	2	1

TABLA 9. CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE 12 ANTIMICROBIANOS
FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCOS.

141 142 143 144 145 146 147 148 149 150

ERITROMICINA	1	64	64	64	64	1	64	0.25	1	64
ROXITROMICINA	2	64	64	64	64	4	64	0.5	1	64
CLARITROMICINA	1	64	64	64	64	1	64	0.25	1	64
CIPROFLOXACINO	0.5	2	2	2	2	64	2	0.5	2	2
PENICILINA	1	1	1	1	4	4	4	2	4	2
AMPICILINA	0.5	0.5	0.5	0.5	4	4	4	2	4	2
AMOX-CLAVULANICO	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	1	2	1
IMIPENEM	0.5	1	1	1	1	1	2	1	1	4
PIPERACILINA	2	1	1	2	4	4	4	2	4	4
CEFPIROMA	4	8	4	4	8	16	4	8	4	8
TEICOPLANINA	0.5	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5
VANCOMICINA	1	1	2	4	4	1	4	2	2	2

TABLA 10.- SENSIBILIDAD DE *ENTEROCOCCUS* sp. FRENTE A LOS
ANTIMICROBIANOS ENSAYADOS

ANTIBIOTICOS	RANGO	CMI ₅₀	CMI ₉₀	\bar{X}
ERITROMICINA	0.25-64	2	64	24.55
ROXITROMICINA	0.5-64	4	64	23.33
CLARITROMICINA	0.25-64	1	64	21.43
CIPROFLOXACINO	0.5-64	2	64	15.2
PENICILINA	0.5-64	2	4	3.10
AMPICILINA	0.25-64	1	4	2.59
AMOXICILINA-CLAVULANICO	0.25-64	0.5	2	1.66
PIPERACILINA	0.5-64	2	4	3.07
CEFPIROMA	4-64	8	64	20.93
IMIPENEM	0.25-64	1	2	1.55
TEICOPLANINA	0.25-1	0.5	1	0.62
VANCOMICINA	0.5-4	2	4	2.1

*Expresados en $\mu\text{g}/\text{ml}$.

TABLA 11. SENSIBILIDAD DE LAS ESPECIES DE ENTEROCOCOS ESTUDIADAS
FRENTE A LOS ANTIMICROBIANOS ENSAYADOS.

ANTIBIOTICOS	<u>E. faecalis</u>			<u>E. faecium</u>		
	CMI ₅₀	CMI ₉₀	\bar{X}	CMI ₅₀	CMI ₉₀	\bar{X}
ERITROMICINA	2	64	23.66	64	64	33.29
ROXITROMICINA	4	64	22.25	64	64	33.86
CLARITROMICINA	1	64	20.29	64	64	32.57
CIPROFLOXACINO	2	64	15.88	4	16	8.57
PENICILINA	2	4	2.3	1	64	10.93
AMPICILINA	1	4	1.8	1	64	10.29
AMOX-CLAVULANICO	1	2	0.85	0.5	64	9.64
PIPERACTLINA	2	4	2.25	2	64	11.11
CEFPIROMA	8	64	20.73	8	64	22.86
IMIPENEM	1	2	1.05	0.5	16	6.48
TEICOPLANINA	0.5	1	0.59	1	1	0.84
VANCOMICINA	2	4	2.2	1	2	1.18

TABLA 12. PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE LOS ENTEROCOCOS
A DIVERSOS ANTIBIOTICOS.

	SENSIBLE	MODERADAMENTE SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
ERITROMICINA	16.7	-	45.3	38
CIPROFLOXACINO	28	-	40.7	31.3
PENICILINA	-	98.7	-	1.3
AMPICILINA	-	98.7	-	1.3
AMOX-CLAVULANICO	-	98.7	-	1.3
PIPERACILINA	-	98.7	-	1.3
CEFPIROMA	-	56	-	44
IMIPENEM	-	98.7	-	1.3
TEICOPLANINA	-	100	-	-
VANCOMICINA	-	100	-	-

TABLA 13. PORCENTAJE DE RESISTENCIA DE LAS ESPECIES DE ENTEROCOCOS ESTUDIADAS A DIVERSOS ANTIBIOTICOS

	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
ERITROMICINA	36.8	50
CIPROFLOXACINO	29.4	50
PENICILINA	0	14.3
AMPICILINA	0	14.3
AMOX-CLAVULANICO	0	14.3
PIPERACILINA	0	14.3
CEFPIROMA	44.9	42.9
IMIPENEM	0	14.3
TEICOPLANINA	0	0
VANCOMICINA	0	0

TABLA 14. PORCENTAJE DE ANR A CUATRO AMINOGLUCOSIDOS.

ANTIBIOTICO	total	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
GENTAMICINA	22	24.3	0
TOBRAMICINA	22.7	24.3	7.1
NETILMICINA	22.7	24.3	7.1
KANAMICINA	52	52.9	42.8

TABLA 15. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	TEICO	GENTA+TEICO		
1	16	1	1+0.25	0.31	S
2	ANR	1	4+1	1	I
3	64	0.25	0.5+0.12	0.5	S
4	32	0.5	1+0.25	0.53	Sp
5	4	0.5	1+0.25	0.75	A
6	8	1	1+0.25	0.37	S
7	8	1	1+0.25	0.37	S
8	16	1	1+0.25	0.31	S
9	8	1	1+0.25	0.37	S
10	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
11	8	1	2+0.5	0.75	A
12	4	1	1+0.25	0.5	S
13	4	1	1+0.25	0.5	S
14	4	1	2+0.5	1	I
15	ANR	1	8+2	2.01	Ant
16	4	0.5	2+0.5	1.5	I
17	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
18	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
19	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
20	8	1	1+0.25	0.37	S
21	4	0.25	1+0.25	1.25	I
22	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
23	4	1	1+0.25	0.5	S
24	4	1	1+0.25	0.5	S
25	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
26	ANR	1	8+2	2.01	Ant
27	ANR	1	4+1	1	I
28	8	0.5	2+0.5	1.25	I
29	8	1	2+0.5	0.75	A
30	ANR	1	4+1	1	I

TABLA 15. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	TEICO	GENTA+TEICO		
31	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
32	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
33	64	1	2+0.5	0.53	Sp
34	8	1	1+0.25	0.37	S
35	8	1	1+0.25	0.37	S
36	8	1	1+0.25	0.37	S
37	ANR	1	4+1	1	I
38	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
39	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
40	ANR	1	4+1	1	I
41	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
42	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
43	8	1	1+0.25	0.37	S
44	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
45	ANR	1	4+1	1	I
46	ANR	1	4+1	1	I
47	ANR	1	4+1	1	I
48	ANR	0.5	4+1	2.01	Ant
49	ANR	0.5	4+1	2.01	Ant
50	ANR	0.5	4+1	2.01	Ant
51	ANR	1	8+2	2.01	Ant
52	4	1	1+0.25	0.5	S
53	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
54	8	0.5	0.5+0.12	0.31	Sp
55	ANR	0.5	4+1	2.01	Ant
56	ANR	1	4+1	1	I
57	ANR	1	4+1	1	I
58	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
59	4	1	2+0.5	1	I
60	4	0.25	1+0.25	1.25	I

TABLA 15. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	TEICO	GENTA+TEICO		
61	4	1	1+0.25	0.5	S
62	4	1	1+0.25	0.5	S
63	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
64	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
65	8	1	1+0.25	0.37	S
66	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
67	4	1	1+0.25	0.5	S
68	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
69	ANR	0.25	2+0.25	2	S
70	8	1	1+0.25	0.37	S
71	32	1	2+1	1	I
72	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
73	8	0.25	1+0.25	1.12	I
74	ANR	0.25	2+0.25	2.01	Ant
75	8	0.25	1+0.25	1.12	I
76	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
77	4	1	1+0.25	0.5	S
78	4	1	0.5+0.12	0.25	S
79	ANR	1	8+2	2.01	Ant
80	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
81	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
82	4	1	1+0.25	0.5	S
83	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
84	ANR	1	4+1	1	I
85	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
86	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
87	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
88	8	1	1+0.25	0.37	S
89	4	0.5	1+0.25	0.75	A
90	4	1	1+0.25	0.5	S

TABLA 15. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	TEICO	GENTA+TEICO		
91	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
92	4	1	1+0.25	0.5	S
93	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
94	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
95	ANR	0.25	0.5+0.25	1	I
96	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
97	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
98	ANR	0.5	2+0.5	1	I
99	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
100	ANR	0.5	2+0.5	1	I
101	ANR	0.5	2+0.5	1	I
102	32	0.25	0.5+0.12	0.5	S
103	4	0.5	0.5+0.12	0.36	S
104	8	1	1+0.25	0.37	S
105	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
106	ANR	0.25	1+0.25	1	I
107	ANR	0.5	2+0.5	1	I
108	8	1	1+0.25	0.37	S
109	8	1	1+0.25	0.37	S
110	8	1	1+0.25	0.37	S
111	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
112	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
113	ANR	0.25	1+0.25	1	I
114	4	0.5	0.5+0.12	0.36	S
115	8	1	1+0.25	0.37	S
116	8	1	0.5+0.12	0.18	S
117	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
118	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
119	ANR	0.5	2+0.5	1	I
120	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp

TABLA 15. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	TEICO	GENTA+TEICO		
121	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
122	8	0.5	0.5+0.12	0.56	Sp
123	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
124	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
125	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
126	8	0.25	1+0.25	1.12	I
127	8	1	0.5+0.12	0.18	S
128	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
129	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
130	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
131	ANR	1	4+1	1	I
132	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
133	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
134	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
135	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
136	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
137	ANR	0.5	2+0.5	1	I
138	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
139	8	1	0.5+0.12	0.18	S
140	ANR	0.5	1+0.5	1	I
141	16	0.5	1+0.25	0.56	Sp
142	8	1	1+0.25	0.37	S
143	16	1	1+0.25	0.31	S
144	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
145	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
146	ANR	0.5	2+0.5	1	I
147	16	0.5	1+0.25	0.56	Sp
148	4	0.5	0.5+0.12	0.36	S
149	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
150	16	0.5	1+0.25	0.56	Sp

TABLA 16. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	TEICO	TOBRA+TEICO		
1	32	1	1+0.25	0.28	S
2	ANR	1	4+1	1	I
3	64	0.25	0.5+0.12	0.5	S
4	32	0.5	1+0.25	0.53	Sp
5	16	0.5	1+0.25	0.56	Sp
6	16	1	1+0.25	0.31	S
7	16	1	1+0.25	0.31	S
8	32	1	1+0.25	0.28	S
9	16	1	1+0.25	0.31	S
10	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
11	64	1	4+1	1	I
12	4	1	1+0.25	0.5	S
13	8	1	1+0.25	0.37	S
14	ANR	1	4+1	1	I
15	ANR	1	4+1	1	I
16	8	0.5	2+0.5	1.25	I
17	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
18	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
19	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
20	16	1	1+0.25	0.31	S
21	8	0.25	1+0.25	1.12	I
22	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
23	4	1	1+0.25	0.5	S
24	8	1	1+0.25	0.37	S
25	16	0.5	1+0.25	0.56	Sp
26	ANR	1	4+1	1	I
27	ANR	1	4+1	1	I
28	32	0.25	1+0.25	1	I
29	8	1	1+0.25	0.37	S
30	ANR	1	4+1	1	I

TABLA 16. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	TEICO	TOBRA+TEICO		
31	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
32	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
33	64	1	1+0.25	0.26	S
34	32	1	1+0.25	0.28	S
35	16	1	1+0.25	0.31	S
36	16	1	1+0.25	0.31	S
37	ANR	1	4+1	1	I
38	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
39	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
40	ANR	1	4+1	1	I
41	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
42	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
43	32	1	1+0.25	0.28	S
44	64	0.5	1+0.25	0.51	Sp
45	ANR	1	4+1	1	I
46	ANR	1	4+1	1	I
47	ANR	1	4+1	1	I
48	ANR	0.5	2+0.5	1	I
49	ANR	0.5	2+0.5	1	I
50	ANR	0.5	2+0.5	1	I
51	ANR	1	4+1	1	I
52	8	1	1+0.25	0.37	S
53	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
54	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
55	ANR	0.5	4+1	2.01	Ant
56	ANR	1	4+1	1	I
57	ANR	1	4+1	1	I
58	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
59	16	1	2+0.5	0.62	Sp
60	8	0.25	1+0.25	1.12	I

TABLA 16. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	TEICO	TOBRA+TEICO		
61	4	1	0.5+0.12	0.25	S
62	4	1	1+0.25	0.5	S
63	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
64	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
65	16	1	0.5+0.12	0.15	S
66	4	0.25	0.5+0.12	0.37	S
67	4	1	1+0.25	0.5	S
68	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
69	ANR	0.25	2+0.5	2.01	Ant
70	8	1	1+0.25	0.37	S
71	64	1	4+1	1	I
72	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
73	16	0.25	1+0.25	1	I
74	ANR	0.25	1+0.25	1	I
75	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
76	64	0.5	1+0.25	0.51	Sp
77	16	1	1+0.25	0.31	S
78	8	1	0.5+0.12	0.18	S
79	ANR	1	4+1	1	I
80	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
81	8	0.25	1+0.25	1.12	I
82	16	1	1+0.25	0.31	S
83	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
84	ANR	1	4+1	1	I
85	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
86	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
87	16	0.5	1+0.25	0.51	Sp
88	32	1	1+0.25	0.28	S
89	16	0.5	1+0.25	0.51	Sp
90	16	1	0.5+0.12	0.15	S

TABLA 16. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	TEICO	TOBRA+TEICO		
91	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
92	16	1	1+0.25	0.31	S
93	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
94	16	0.25	0.5+0.12	0.53	Sp
95	ANR	0.25	1+0.25	1	A
96	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
97	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
98	ANR	0.5	2+0.5	1	A
99	32	0.5	1+0.25	0.53	Sp
100	ANR	0.5	2+0.5	1	A
101	ANR	0.5	2+0.5	1	A
102	32	0.25	0.5+0.12	0.5	S
103	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
104	16	1	0.5+0.12	0.15	S
105	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
106	ANR	0.25	1+0.25	1	A
107	ANR	0.5	2+0.5	1	A
108	16	1	2+0.5	0.62	Sp
109	16	1	2+0.5	0.62	Sp
110	16	1	2+0.5	0.62	Sp
111	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
112	8	0.25	1+0.25	1.12	A
113	ANR	0.25	0.5+0.25	1	A
114	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
115	16	1	2+0.5	0.62	Sp
116	16	1	2+0.5	0.62	Sp
117	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
118	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
119	ANR	0.5	2+0.5	1	A
120	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp

TABLA 16. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	TEICO	TOBRA+TEICO		
121	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
122	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
123	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
124	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
125	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
126	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
127	8	1	0.5+0.12	0.18	S
128	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
129	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
130	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
131	ANR	1	4+1	1	A
132	4	0.5	1+0.25	0.75	A
133	4	0.5	1+0.25	0.75	A
134	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
135	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
136	16	0.5	0.5+0.12	0.28	S
137	ANR	0.5	2+0.5	1	A
138	4	0.25	0.5+0.12	0.62	Sp
139	4	1	1+0.25	0.5	S
140	ANR	0.5	1+0.5	1	A
141	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
142	8	1	1+0.25	0.37	S
143	8	1	1+0.25	0.37	S
144	8	0.5	1+0.25	0.62	Sp
145	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
146	ANR	0.5	2+0.5	1	A
147	8	0.5	0.5+0.12	0.31	S
148	4	0.5	0.5+0.12	0.37	S
149	8	0.25	0.5+0.12	0.56	Sp
150	16	0.5	1+0.25	0.56	Sp

TABLA 17. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	AMIKA	TEICO	AMIKA+TEICO		
1	64	1	8+0.25	0.37	S
2	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.75	A
3	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1.1	I
4	64	0.5	8+0.25	0.62	Sp
5	64	0.5	8+0.25	0.62	Sp
6	64	1	8+0.25	0.37	S
7	64	1	8+0.25	0.37	S
8	64	1	8+0.25	0.37	S
9	64	1	8+0.25	0.37	S
10	64	0.25	8+0.25	1.12	I
11	16	1	8+0.25	0.75	A
12	16	1	8+0.25	0.75	A
13	64	1	8+0.25	0.37	S
14	ANR ₁₆	1	16+0.5	1.5	I
15	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
16	ANR ₁₆	0.5	16+0.5	1	I
17	16	0.25	4+0.12	0.75	A
18	16	0.25	4+0.12	0.75	A
19	32	0.5	4+0.12	0.37	S
20	32	1	4+0.12	0.25	S
21	ANR ₁₆	0.25	8+0.25	1.5	I
22	32	0.25	4+0.12	0.62	Sp
23	16	1	8+0.25	0.75	A
24	16	1	8+0.25	0.75	A
25	64	0.5	8+0.25	0.62	A
26	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
27	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.75	A
28	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1.1	I
29	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.75	A
30	ANR ₃₂	1	16+0.5	1	I

TABLA 17. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	AMIKA	TEICO	AMIKA+TEICO		
31	ANR ₃₂	0.25	8+0.25	1.2	I
32	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
33	ANR ₃₂	1	16+0.5	1	I
34	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
35	16	1	4+0.12	0.37	S
36	64	1	4+0.12	0.18	S
37	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
38	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
39	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
40	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
41	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
42	16	0.25	4+0.12	0.75	A
43	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
44	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
45	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
46	ANR ₃₂	1	32+1	2.01	Ant
47	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
48	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
49	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
50	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
51	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
52	8	1	4+0.12	0.62	Sp
53	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
54	64	0.5	4+0.12	0.31	S
55	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
56	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.75	A
57	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
58	ANR ₃₂	0.5	16+0.5	1.5	I
59	64	1	16+0.5	0.5	S
60	64	0.25	8+0.25	1.12	I

TABLA 17. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	AMIKA	TEICO	AMIKA+TEICO		
61	16	1	8+0.25	0.75	A
62	16	1	4+0.12	0.37	S
63	32	0.25	4+0.12	0.62	Sp
64	32	0.25	4+0.12	0.62	Sp
65	16	1	4+0.12	0.37	S
66	16	0.25	4+0.12	0.75	A
67	16	1	8+0.25	0.75	A
68	16	0.5	4+0.12	0.5	S
69	ANR	0.25	8+0.25	1.1	I
70	64	1	4+0.12	0.18	S
71	ANR	1	32+1	1.5	I
72	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
73	64	0.25	8+0.25	1	I
74	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
75	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
76	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
77	32	1	8+0.25	0.5	S
78	16	1	4+0.12	0.37	S
79	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
80	32	0.25	8+0.25	1.25	I
81	ANR ₃₂	0.25	8+0.25	1.25	I
82	32	1	8+0.25	0.5	S
83	32	0.25	4+0.12	0.62	Sp
84	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
85	32	0.25	8+0.25	1.25	I
86	16	0.25	4+0.12	0.75	A
87	64	0.5	4+0.12	0.31	S
88	ANR ₆₄	1	32+1	1.5	I
89	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.25	I
90	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.75	A

TABLA 17. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	AMIKA	TEICO	AMIKA+TEICO		
91	ANR ₃₂	0.25	8+0.25	1.25	I
92	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.5	S
93	64	0.5	8+0.25	0.62	Sp
94	64	0.25	8+0.25	1.12	I
95	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
96	ANR ₁₆	0.5	16+0.5	1	I
97	ANR ₃₂	0.5	16+0.5	1.5	I
98	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
99	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
100	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
101	ANR ₆₄	0.5	8+0.25	0.62	Sp
102	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
103	64	0.5	4+0.12	0.31	S
104	64	1	8+0.25	0.37	S
105	32	0.25	4+0.12	0.62	Sp
106	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
107	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1	I
108	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1	I
109	32	1	4+0.12	0.25	S
110	16	1	8+0.25	0.75	A
111	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
112	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
113	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
114	ANR ₁₆	0.5	8+0.25	1	I
115	16	1	8+0.25	0.75	A
116	16	1	8+0.25	0.75	A
117	64	0.5	4+0.12	0.31	S
118	ANR ₆₄	0.5	8+0.25	0.62	Sp
119	ANR ₆₄	0.5	8+0.25	0.62	Sp
120	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I

TABLA 17. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	AMIKA	TEICO	AMIKA+TEICO		
121	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
122	ANR ₆₄	0.25	8+0.25	1	I
123	64	0.5	4+0.12	0.31	S
124	64	0.25	4+0.12	0.56	Sp
125	64	0.5	4+0.12	0.31	S
126	ANR ₃₂	0.25	8+0.25	1.2	I
127	32	1	4+0.12	0.25	S
128	ANR ₃₂	0.5	8+0.25	0.75	A
129	32	0.5	4+0.12	0.37	S
130	ANR ₃₂	0.5	8+0.25	0.75	A
131	ANR ₆₄	1	16+1	1.2	I
132	32	0.5	8+0.25	0.75	A
133	32	0.5	8+0.25	0.75	A
134	32	0.5	8+0.25	0.75	A
135	ANR ₃₂	0.5	16+0.5	1	I
136	ANR ₃₂	0.5	8+0.25	0.75	A
137	ANR ₆₄	0.5	8+0.5	1	I
138	32	0.25	4+0.12	0.62	Sp
139	ANR ₃₂	1	16+0.5	1	I
140	ANR ₃₂	0.5	8+0.25	0.75	A
141	64	0.5	8+0.25	0.62	Sp
142	ANR ₃₂	1	16+0.5	1	I
143	ANR ₆₄	1	16+0.5	0.75	A
144	ANR ₃₂	1	16+0.5	1	I
145	ANR ₃₂	0.5	8+0.25	0.75	A
146	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1.2	I
147	ANR ₆₄	0.5	16+0.5	1	I
148	ANR ₁₆	0.5	8+0.25	1	I
149	ANR ₃₂	0.25	8+0.25	1.2	I
150	ANR ₃₂	0.5	16+0.5	0.56	Sp

TABLA 18. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	NETIL	TEICO	NETIL+TEICO		
1	16	1	0.5+0.25	0.28	S
2	ANR	1	2+1	1	I
3	32	0.25	0.25+0.12	0.5	S
4	16	0.5	0.25+0.12	0.26	S
5	16	1	0.5+0.25	0.56	Sp
6	16	1	0.25+0.12	0.13	S
7	16	1	0.25+0.12	0.13	S
8	16	1	0.5+0.25	0.28	S
9	16	1	0.25+0.12	0.13	S
10	16	0.25	0.25+0.12	0.51	Sp
11	32	1	1+0.5	0.53	Sp
12	4	1	0.5+0.25	0.37	S
13	4	1	0.5+0.25	0.37	S
14	ANR	1	2+1	1	I
15	ANR	1	2+1	1	I
16	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
17	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
18	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
19	4	0.5	0.5+0.25	0.75	A
20	4	1	0.25+0.12	0.25	S
21	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
22	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
23	4	1	8+0.25	0.75	A
24	4	1	0.5+0.25	0.37	S
25	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
26	ANR	1	2+1	1	I
27	ANR	1	2+1	1	I
28	4	0.25	1+0.5	0.75	A
29	4	1	2+1	1.5	I
30	ANR	1	2+1	1	I

TABLA 18. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	NETIL	TEICO	NETIL+TEICO		
31	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
32	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
33	16	1	2+1	1.12	I
34	4	1	1+0.5	0.75	A
35	4	1	0.25+0.12	0.18	S
36	4	1	0.5+0.25	0.37	S
37	ANR	1	2+1	1	I
38	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
39	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
40	ANR	1	2+1	1	I
41	8	0.25	0.25+0.12	0.53	I
42	4	0.25	0.25+0.12	0.56	I
43	8	1	1+0.5	0.62	Sp
44	64	0.5	1+0.4	1	I
45	ANR	1	2+1	1	I
46	ANR	1	2+1	1	I
47	ANR	1	2+1	1	I
48	ANR	0.5	1+0.5	1	I
49	ANR	0.5	1+0.5	1	I
50	ANR	0.5	1+0.5	1	I
51	ANR	1	2+1	1	I
52	4	1	0.5+0.25	0.37	S
53	8	0.25	0.5+0.25	1	I
54	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp
55	ANR	0.5	1+0.5	1	I
56	ANR	1	2+1	1	I
57	ANR	1	2+1	1	I
58	4	0.5	0.12+0.006	0.15	S
59	4	1	0.25+0.12	0.18	S
60	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp

TABLA 18. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	NETIL	TEICO	NETIL+TEICO		
61	8	1	0.5+0.25	0.31	S
62	4	1	0.5+0.25	0.37	S
63	8	0.25	0.5+0.25	1	I
64	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
65	32	1	1+0.5	0.53	Sp
66	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
67	4	1	0.5+0.25	0.37	S
68	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
69	ANR	0.25	1+0.5	2.01	Ant
70	8	1	0.5+0.25	0.31	S
71	64	1	2+1	1	I
72	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
73	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
74	ANR	0.25	0.5+0.25	1	I
75	8	0.25	0.12+0.06	0.25	S
76	64	0.5	1+0.5	1	I
77	4	1	0.5+0.25	0.37	S
78	4	1	0.5+0.25	0.37	S
79	ANR	1	2+1	1	I
80	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
81	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
82	4	1	0.5+0.25	0.37	S
83	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
84	ANR	1	2+1	1	I
85	32	0.25	0.5+0.25	1	I
86	4	0.25	0.5+0.25	1.12	I
87	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
88	8	1	1+0.5	0.62	Sp
89	4	0.5	1+0.5	1.25	I
90	4	1	0.5+0.25	0.37	S

TABLA 18. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	NETIL	TEICO	NETIL+TEICO		
91	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
92	4	1	0.5+0.25	0.37	S
93	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
94	32	0.25	0.5+0.25	1	I
95	ANR	0.25	1+0.5	2.01	Ant
96	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
97	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
98	ANR	0.5	1+0.5	1	I
99	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp
100	ANR	0.5	1+0.5	1	I
101	ANR	0.5	1+0.5	1	I
102	32	0.25	0.5+0.25	1	I
103	16	0.5	0.25+0.12	0.26	S
104	16	1	0.5+0.25	0.28	S
105	2	0.25	0.25+0.12	0.62	Sp
106	ANR	0.25	0.5+0.25	1	I
107	ANR	0.5	1+0.5	1	I
108	16	1	1+0.5	0.56	Sp
109	16	1	1+0.5	0.56	Sp
110	16	1	1+0.5	0.56	Sp
111	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
112	4	0.25	1+0.5	0.75	A
113	ANR	0.25	0.5+0.25	1	I
114	16	0.5	0.5+0.25	0.53	Sp
115	16	1	1+0.5	0.56	Sp
116	16	1	1+0.5	0.56	Sp
117	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
118	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
119	ANR	0.5	1+0.5	1	I
120	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp

TABLA 18. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
TEICOPLANINA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	NETIL	TEICO	NETIL+TEICO		
121	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
122	8	0.25	0.25+0.12	0.53	Sp
123	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
124	4	0.25	0.25+0.12	0.56	Sp
125	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
126	16	0.25	0.25+0.12	0.51	Sp
127	8	1	0.5+0.25	0.31	S
128	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp
129	8	0.5	0.25+0.12	0.28	S
130	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp
131	ANR	1	2+1	1	I
132	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
133	4	0.5	0.5+0.25	0.62	Sp
134	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp
135	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp
136	16	0.5	0.25+0.12	0.26	S
137	ANR	0.5	1+0.5	1	I
138	2	0.25	0.25+0.12	0.62	Sp
139	4	1	0.5+0.25	0.37	S
140	ANR	0.5	1+0.5	1	I
141	8	0.5	0.5+0.25	0.56	I
142	4	1	0.5+0.25	0.37	S
143	8	1	0.5+0.25	0.31	S
144	4	0.5	0.25+0.12	0.31	S
145	8	0.5	0.25+0.12	0.28	S
146	ANR	0.5	1+0.5	1	I
147	16	0.5	0.25+0.12	0.26	S
148	2	0.5	0.25+0.12	0.37	S
149	8	0.25	0.25+0.12	0.53	Sp
150	8	0.5	0.5+0.25	0.56	Sp

TABLA 19. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	CEFPI	GENTA+CEFPI		
1	16	64	8+8	0.62	Sp
2	ANR	64	64+64	1	I
3	16	8	4+4	0.75	A
4	32	8	4+4	0.62	Sp
5	4	4	2+2	1	I
6	8	16	4+4	0.75	A
7	8	16	4+4	0.75	A
8	16	8	4+4	0.75	A
9	8	64	8+8	1.1	I
10	8	4	4+4	1.5	I
11	8	16	4+4	0.75	A
12	4	16	4+4	1.2	I
13	4	8	4+4	1.5	I
14	4	4	2+2	1	I
15	ANR	64	64+64	1	I
16	4	16	4+4	1.2	I
17	4	16	2+2	0.62	Sp
18	4	8	2+2	0.75	A
19	8	16	4+4	0.75	A
20	8	32	4+4	0.62	Sp
21	4	8	2+2	0.75	A
22	4	16	4+4	1.2	I
23	4	8	2+2	0.75	A
24	4	32	2+2	0.56	Sp
25	8	32	4+4	0.62	Sp
26	ANR	16	16+16	1	I
27	ANR	64	64+64	1	I
28	8	32	4+4	0.62	I
29	8	8	4+4	1	I
30	ANR	8	8+8	1	I

TABLA 19. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	CEFPI	GENTA+CEFPI		
31	8	4	4+4	1.5	I
32	8	32	2+2	0.31	S
33	64	4	2+2	0.53	Sp
34	8	8	4+4	1	I
35	8	64	2+2	0.28	S
36	8	8	8+8	2.01	Ant
37	ANR	32	32+32	1	I
38	8	8	2+2	0.5	S
39	8	4	2+2	0.75	A
40	ANR	64	64+64	1	I
41	8	16	2+2	0.37	S
42	8	4	2+2	0.75	A
43	8	16	2+2	0.37	S
44	8	64	8+8	1.1	I
45	ANR	64	64+64	1	I
46	ANR	64	64+64	1	I
47	ANR	64	64+64	1	I
48	ANR	64	64+64	1	I
49	ANR	8	8+8	1	I
50	ANR	64	64+64	1	I
51	ANR	64	64+64	1	I
52	4	16	4+4	1.2	I
53	8	8	4+4	1	I
54	8	8	4+4	1	I
55	ANR	64	64+64	1	I
56	ANR	64	64+64	1	I
57	ANR	64	64+64	1	I
58	4	8	2+2	0.75	A
59	4	4	2+2	1	I
60	4	4	2+2	1	I

TABLA 19. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	CEFPI	GENTA+CEFPI		
61	4	8	2+2	0.75	A
62	4	32	2+2	0.56	Sp
63	8	16	4+4	0.75	A
64	8	4	2+2	0.75	A
65	8	4	1+1	0.37	S
66	4	8	2+2	0.75	A
67	4	32	4+4	1.1	I
68	4	16	2+2	0.51	Sp
69	ANR	32	32+32	1	I
70	8	8	4+4	1	I
71	32	64	16+16	0.75	A
72	4	8	2+2	0.75	A
73	8	4	2+2	0.75	A
74	ANR	64	64+64	1	A
75	8	8	4+4	1	I
76	16	8	8+8	1.5	I
77	4	8	4+4	1.5	I
78	4	4	2+2	1	I
79	ANR	32	32+32	1	I
80	4	8	2+2	0.75	A
81	4	4	1+1	0.5	S
82	4	16	4+4	1.2	I
83	4	4	1+1	0.5	S
84	ANR	64	64+64	1	I
85	8	64	4+4	0.56	Sp
86	4	16	4+4	1.2	I
87	4	32	4+4	1.1	I
88	8	8	4+4	1	I
89	4	8	2+2	0.75	A
90	4	16	4+4	1.2	I

TABLA 19. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	CEFPI	GENTA+CEFPI		
91	4	4	2+2	1	I
92	4	16	4+4	1.2	I
93	4	8	2+2	0.75	A
94	16	8	8+8	1.5	I
95	ANR	64	64+64	1	I
96	4	32	4+4	1.1	I
97	4	16	4+4	1.2	I
98	ANR	64	64+64	1	I
99	16	32	16+16	1.5	I
100	ANR	32	32+32	1	I
101	ANR	16	16+16	1	I
102	32	8	2+2	0.31	S
103	4	4	2+2	1	I
104	8	32	4+4	0.62	Sp
105	4	8	2+2	0.75	A
106	ANR	16	16+16	1	I
107	ANR	64	64+64	1	I
108	8	64	8+8	1.1	I
109	8	64	1+1	0.37	S
110	8	4	4+4	1.5	I
111	8	8	4+4	1	I
112	8	16	4+4	0.75	A
113	ANR	8	8+8	1	I
114	4	8	1+1	0.37	S
115	8	32	1+1	0.15	S
116	8	8	1+1	0.25	S
117	8	4	2+2	0.75	A
118	8	64	2+2	0.28	S
119	ANR	16	16+16	1	I
120	8	8	4+4	1	I

TABLA 19. DETALLE DE LA CMI DE GENTAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	GENTA	CEFPI	GENTA+CEFPI		
121	8	4	2+2	0.75	A
122	8	4	2+2	0.75	A
123	8	4	4+4	1.5	I
124	8	4	2+2	0.75	A
125	8	8	4+4	1	I
126	8	4	2+2	0.75	A
127	8	4	2+2	0.75	A
128	8	4	2+2	0.75	A
129	8	4	2+2	0.75	A
130	8	8	4+4	1	I
131	ANR	64	64+64	1	I
132	8	8	2+2	0.5	S
133	8	4	2+2	0.75	A
134	16	8	2+2	0.37	S
135	16	4	2+2	0.62	Sp
136	16	4	2+2	0.62	Sp
137	ANR	8	8+8	1	I
138	4	4	2+2	1	I
139	8	8	2+2	0.5	S
140	ANR	4	4+4	1	I
141	16	4	2+2	0.62	Sp
142	8	8	4+4	1	I
143	16	4	4+4	1.2	I
144	8	4	2+2	0.75	A
145	8	8	2+2	0.5	S
146	ANR	16	16+16	1	I
147	16	4	2+2	0.62	Sp
148	4	8	1+1	0.37	S
149	8	4	2+2	0.75	A
150	16	8	1+1	0.18	S

TABLA 20. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	CEFPI	TOBRA+CEFPI		
1	32	64	16+16	0.75	A
2	ANR	64	64+64	1	I
3	64	8	8+8	1.1	I
4	32	8	4+4	0.62	Sp
5	16	4	4+4	1.2	I
6	16	16	8+8	1	I
7	16	16	8+8	1	I
8	32	8	4+4	0.62	Sp
9	16	64	8+8	0.62	Sp
10	16	4	4+4	1.2	I
11	64	16	8+8	0.62	Sp
12	4	16	4+4	1.2	I
13	8	8	4+4	1	I
14	ANR	4	4+4	1	I
15	ANR	64	64+64	1	I
16	8	16	4+4	0.75	A
17	8	16	4+4	0.75	A
18	8	8	4+4	1	I
19	16	16	8+8	1	I
20	16	32	8+8	0.75	A
21	8	8	4+4	1	I
22	4	16	4+4	1.2	I
23	4	8	4+4	1.5	I
24	8	32	4+4	0.62	Sp
25	16	32	8+8	0.75	A
26	ANR	16	16+16	1	I
27	ANR	64	64+64	1	I
28	32	32	16+16	1	I
29	8	8	4+4	1	I
30	ANR	8	8+8	1	I

TABLA 20. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	CEFPI	TOBRA+CEFPI		
31	16	4	2+2	0.62	Sp
32	16	32	8+8	0.75	A
33	64	4	4+4	1	I
34	32	8	4+4	0.62	Sp
35	8	64	2+2	0.28	S
36	16	8	4+4	0.75	A
37	ANR	32	32+32	1	I
38	8	8	2+2	0.5	S
39	8	4	2+2	0.75	A
40	ANR	64	64+64	1	I
41	16	16	4+4	0.5	S
42	16	16	2+2	0.25	S
43	32	16	4+4	0.37	S
44	64	64	32+32	1	I
45	ANR	64	64+64	1	I
46	ANR	64	64+64	1	I
47	ANR	64	64+64	1	I
48	ANR	64	64+64	1	I
49	ANR	8	8+8	1	I
50	ANR	64	64+64	1	I
51	ANR	64	64+64	1	I
52	8	16	4+4	0.75	A
53	16	8	8+8	1.5	I
54	16	8	4+4	0.75	A
55	ANR	64	64+64	1	I
56	ANR	64	64+64	1	I
57	ANR	64	64+64	1	I
58	8	8	4+4	1	I
59	16	4	4+4	1.2	I
60	8	4	2+2	0.75	A

TABLA 20. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	CEFPI	TOBRA+CEFPI		
61	4	8	4+4	1.5	I
62	4	32	4+4	1.1	I
63	8	16	4+4	0.75	A
64	8	4	2+2	0.75	A
65	16	4	2+2	0.62	Sp
66	4	8	2+2	0.75	A
67	4	32	4+4	1.1	I
68	8	16	4+4	0.75	A
69	ANR	32	32+32	1	I
70	8	8	4+4	1	I
71	64	64	32+32	1	I
72	8	8	4+4	1	I
73	16	4	2+2	0.62	Sp
74	ANR	64	64+64	1	I
75	16	8	4+4	0.75	A
76	64	8	8+8	1.1	I
77	16	8	4+4	0.75	A
78	8	4	2+2	0.75	A
79	ANR	32	32+32	1	I
80	8	8	4+4	1	I
81	8	4	2+2	0.75	A
82	16	16	2+2	0.25	S
83	16	4	1+1	0.31	S
84	ANR	64	64+64	1	I
85	16	64	8+8	0.62	Sp
86	8	16	4+4	0.75	A
87	16	32	8+8	0.75	A
88	32	8	4+4	0.62	Sp
89	16	8	2+2	0.75	A
90	16	16	8+8	1	I

TABLA 20. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	CEFPI	TOBRA+CEFPI		
91	16	4	2+2	0.62	Sp
92	16	16	4+4	0.5	S
93	8	8	4+4	1	I
94	16	8	4+4	0.75	A
95	ANR	64	64+64	1	I
96	8	32	4+4	0.62	Sp
97	8	16	4+4	0.75	A
98	ANR	64	64+64	1	I
99	32	32	16+16	1	I
100	ANR	32	32+32	1	I
101	ANR	16	16+16	1	I
102	32	8	2+2	0.31	S
103	16	4	2+2	0.62	Sp
104	16	32	8+8	0.75	A
105	4	8	2+2	0.75	A
106	ANR	16	16+16	1	I
107	ANR	64	64+64	1	I
108	16	64	16+16	1.25	I
109	16	4	1+1	0.31	S
110	16	4	4+4	1.2	I
111	8	8	4+4	1	I
112	8	16	4+4	0.75	A
113	ANR	8	8+8	1	I
114	16	8	1+1	0.18	S
115	16	32	2+2	0.18	S
116	16	8	2+2	0.37	S
117	8	4	2+2	0.75	A
118	8	64	2+2	0.28	S
119	ANR	16	16+16	1	I
120	8	8	4+4	1	I

TABLA 20. DETALLE DE LA CMI DE TOBRAMICINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CFI	EFECTO
	TOBRA	CEFPI	TOBRA+CEFPI		
121	8	8	4+4	1	I
122	8	4	2+2	0.75	A
123	8	4	4+4	1.5	I
124	8	4	2+2	0.75	A
125	8	8	4+4	1	I
126	8	4	2+2	0.75	A
127	8	4	2+2	0.75	A
128	8	4	2+2	0.75	A
129	8	4	2+2	0.75	A
130	8	8	4+4	1	I
131	ANR	64	64+64	1	I
132	4	8	2+2	0.75	A
133	4	4	2+2	1	I
134	8	8	2+2	0.5	S
135	8	4	2+2	0.75	A
136	16	4	2+2	0.62	Sp
137	ANR	8	8+8	1	I
138	4	4	2+2	1	I
139	4	8	2+2	1	I
140	ANR	4	4+4	1	I
141	8	4	2+2	0.75	A
142	8	8	4+4	1	I
143	8	4	2+2	0.75	A
144	8	4	2+2	0.75	A
145	8	8	2+2	0.5	S
146	ANR	16	16+16	1	I
147	8	4	2+2	0.75	A
148	4	8	1+1	0.37	S
149	8	4	2+2	0.75	A
150	16	8	2+2	0.37	S

TABLA 21. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	AMIKA	CEFPI	AMIKA+CEFPI		
1	64	64	32+8	0.62	Sp
2	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
3	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
4	64	8	16+4	0.75	A
5	64	4	8+2	0.62	Sp
6	64	16	32+8	1	I
7	64	16	32+8	1	I
8	64	8	16+4	0.75	A
9	64	64	32+8	0.62	Sp
10	64	4	8+2	0.62	Sp
11	16	16	8+2	0.62	Sp
12	16	16	8+2	0.62	Sp
13	64	8	16+4	0.75	A
14	ANR ₁₆	4	8+2	1	I
15	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
16	ANR ₁₆	16	16+4	1.25	I
17	16	16	8+2	0.62	Sp
18	16	8	8+2	0.75	A
19	32	16	16+4	0.75	A
20	32	32	16+4	0.62	Sp
21	ANR ₁₆	8	8+2	0.75	A
22	32	16	16+4	0.75	A
23	16	8	8+2	0.75	A
24	16	32	8+2	0.56	Sp
25	64	32	16+4	0.37	S
26	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
27	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
28	AMR ₆₄	32	32+8	0.75	A
29	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
30	ANR ₃₂	8	16+4	1	I

TABLA 21. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	AMIKA	CEFPI	AMIKA+CEFPI		
31	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
32	64	32	32+8	0.75	A
33	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
34	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
35	16	64	16+4	1	I
36	64	8	16+4	0.75	A
37	ANR ₃₂	32	64+16	1.5	I
38	64	8	8+2	0.37	S
39	64	4	8+2	0.62	Sp
40	64	64	64+16	1.25	I
41	64	16	16+4	0.5	S
42	16	16	4+2	0.62	Sp
43	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
44	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
45	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
46	ANR ₃₂	64	32+8	1.12	I
47	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
48	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
49	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
50	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
51	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
52	8	16	4+1	0.56	Sp
53	64	8	16+4	0.75	A
54	64	8	16+4	0.75	A
55	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
56	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
57	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
58	ANR ₃₂	8	16+4	1	I
59	64	4	8+2	0.62	Sp
60	64	4	8+2	0.62	Sp

TABLA 21. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	AMIKA	CEFPI	AMIKA+CEFPI		
61	16	8	8+2	0.75	A
62	16	32	8+2	0.56	Sp
63	32	16	16+4	0.75	A
64	32	4	8+2	0.75	A
65	16	4	4+1	0.5	S
66	16	8	8+2	0.75	A
67	16	32	16+4	1.1	I
68	16	16	8+2	0.62	Sp
69	ANR ₆₄	32	32+8	0.75	A
70	64	8	16+4	0.75	A
71	ANR	64	64+16	1.25	I
72	64	8	16+4	0.75	A
73	64	4	16+4	1.25	I
74	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
75	64	8	16+4	0.75	A
76	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
77	32	8	16+4	1	I
78	16	4	8+2	1	I
79	ANR ₆₄	32	32+8	0.75	A
80	32	8	16+4	1	I
81	ANR ₃₁	4	8+2	0.75	A
82	32	16	16+4	0.75	A
83	32	4	4+1	0.37	S
84	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
85	32	64	8+2	0.28	S
86	16	16	16+4	1.25	I
87	64	32	32+8	0.75	A
88	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
89	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
90	ANR ₆₄	16	32+8	1	I

TABLA 21. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI		CIF	EFECTO	
	AMIKA	CEFPI			AMIKA+CEFPI
91	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
92	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
93	64	8	16+4	0.75	A
94	64	8	16+4	0.75	A
95	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
96	ANR ₁₆	32	32+8	0.75	A
97	ANR ₃₂	16	16+4	0.75	A
98	ANR ₆₄	32	64+16	1.5	I
99	ANR ₆₄	32	64+16	1.5	I
100	ANR ₆₄	32	32+8	0.75	A
101	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
102	64	8	4+1	0.18	S
103	64	4	8+2	0.62	S
104	64	32	32+8	0.75	A
105	32	8	16+4	1	I
106	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
107	ANR ₆₄	64	64+64	2.01	Ant
108	ANR ₆₄	64	64+64	2.01	Ant
109	32	4	4+1	0.37	S
110	16	4	8+2	1	I
111	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
112	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
113	ANR ₆₄	8	64+4	0.75	A
114	ANR ₁₆	8	8+2	0.75	A
115	16	32	4+1	0.28	S
116	16	8	4+1	0.37	S
117	64	4	8+2	0.62	Sp
118	ANR ₆₄	64	64+16	1.25	I
119	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
120	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A

TABLA 21. DETALLE DE LA CMI DE AMIKACINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	AMIKA	CEFPI	AMIKA+CEFPI		
121	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
122	ANR ₆₄	4	16+4	1.2	I
123	64	4	16+4	1.2	I
124	64	4	8+2	0.62	Sp
125	64	8	16+4	0.75	A
126	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
127	32	4	8+2	0.75	A
128	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
129	32	4	8+2	0.75	A
130	ANR ₃₂	8	16+4	1	I
131	ANR ₆₄	64	64+16	1.2	I
132	32	8	16+4	1	I
133	32	4	8+2	0.75	A
134	32	8	8+2	0.5	S
135	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
136	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
137	ANR ₆₄	8	16+4	0.75	A
138	32	4	8+2	0.75	A
139	ANR ₃₂	8	16+4	1	I
140	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
141	64	4	8+2	0.62	Sp
142	ANR ₃₂	8	16+4	1	I
143	ANR ₆₄	4	8+2	0.62	Sp
144	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
145	ANR ₃₂	8	16+4	1	I
146	ANR ₆₄	16	32+8	1	I
147	ANR ₆₄	4	16+4	1.2	I
148	ANR ₁₆	8	8+2	0.75	A
149	ANR ₃₂	4	8+2	0.75	A
150	ANR ₃₂	8	16+4	1	I

TABLA 22. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	NETIL	CEFPI	NETIL+CEFPI		
1	16	64	8+16	0.75	A
2	ANR	64	32+64	1	I
3	32	8	4+8	1.1	I
4	16	8	2+4	0.62	Sp
5	8	4	2+4	1.2	I
6	16	16	4+8	0.75	A
7	16	16	4+8	0.75	A
8	16	8	2+4	0.62	Sp
9	16	64	8+16	0.75	A
10	16	4	2+4	1.1	I
11	32	16	4+8	0.62	Sp
12	4	16	2+4	0.75	A
13	4	8	2+4	1	I
14	ANR	4	2+4	1	I
15	ANR	64	32+64	1	I
16	4	16	2+4	0.75	A
17	4	16	2+4	0.75	A
18	4	8	2+4	1	I
19	4	16	2+4	0.75	A
20	4	32	2+4	0.62	Sp
21	4	8	2+4	1	I
22	4	16	2+4	0.75	A
23	4	8	2+4	1	I
24	4	32	2+4	0.62	Sp
25	4	32	2+4	0.62	Sp
26	ANR	16	8+16	1	I
27	ANR	64	32+64	1	I
28	4	32	4+8	1.1	I
29	4	8	2+4	1	I
30	ANR	8	4+8	1	I

TABLA 22. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	NETIL	CEFPI	NETIL+CEFPI		
31	4	4	1+2	0.75	A
32	4	32	4+8	1.1	I
33	16	4	2+4	1.1	I
34	4	8	2+4	1	I
35	4	64	2+4	0.56	Sp
36	4	8	4+8	2.01	Ant
37	ANR	32	16+32	1	I
38	4	8	1+2	0.5	S
39	4	4	1+2	0.75	A
40	ANR	64	32+64	1	I
41	8	16	2+4	0.5	S
42	4	4	1+2	0.5	S
43	8	16	4+8	1	I
44	64	64	32+64	1.5	I
45	ANR	64	32+64	1	I
46	ANR	64	32+64	1	I
47	ANR	64	32+64	1	I
48	ANR	64	32+64	1	I
49	ANR	8	4+8	1	I
50	ANR	64	32+64	1	I
51	ANR	64	32+64	1	I
52	4	16	2+4	0.75	A
53	8	8	4+8	1.5	I
54	8	8	2+4	0.75	A
55	ANR	64	32+64	1	I
56	ANR	64	32+64	1	I
57	ANR	64	32+64	1	I
58	4	8	2+4	1	I
59	4	4	1+2	0.75	A
60	4	8	2+4	1	I

TABLA 22. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	NETIL	CEFPI	NETIL+CEFPI		
61	8	8	2+4	0.75	A
62	4	32	2+4	0.62	Sp
63	8	16	4+8	1	I
64	4	4	1+2	0.75	A
65	32	4	1+2	0.53	Sp
66	4	8	2+4	1	I
67	4	32	2+4	0.62	Sp
68	4	16	2+4	0.75	A
69	ANR	32	16+32	1	I
70	8	8	2+4	0.75	A
71	64	64	32+64	1.5	I
72	4	8	2+4	1	I
73	4	4	1+2	0.75	A
74	ANR	64	32+64	1	I
75	8	8	2+4	0.75	A
76	64	8	4+8	1	I
77	4	8	2+4	1	I
78	4	4	1+2	0.75	A
79	ANR	32	16+32	1	I
80	4	8	2+4	1	I
81	4	4	2+4	0.75	A
82	4	16	2+4	0.75	A
83	4	4	0.5+1	0.62	Sp
84	ANR	64	32+64	1	I
85	32	64	4+8	0.25	S
86	4	16	2+4	0.75	A
87	4	32	4+8	1.25	I
88	8	8	2+4	0.75	A
89	4	8	2+4	1	I
90	4	16	2+4	0.75	A

TABLA 22. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	NETIL	CEFPI	NETIL+CEFPI		
91	4	4	1+2	0.75	A
92	4	16	2+4	0.75	A
93	4	8	2+4	1	I
94	32	8	4+8	1.1	I
95	ANR	64	32+64	1	I
96	4	32	4+8	1.2	I
97	4	16	2+4	0.75	A
98	ANR	64	32+64	1	I
99	8	32	4+8	0.75	A
100	ANR	32	16+32	1	I
101	ANR	16	8+16	1	I
102	32	8	1+2	0.28	S
103	16	4	1+2	0.56	Sp
104	16	32	8+16	1	I
105	2	8	1+2	0.75	A
106	ANR	16	8+16	1	I
107	ANR	64	32+64	1	I
108	16	64	8+16	0.75	A
109	16	4	1+2	0.56	Sp
110	16	4	2+4	1.1	I
111	4	8	2+4	1	I
112	4	16	2+4	0.75	A
113	ANR	8	4+8	1	I
114	16	8	2+4	0.62	Sp
115	16	32	4+8	0.5	S
116	16	8	2+4	0.62	Sp
117	4	4	1+2	0.75	A
118	4	64	1+2	0.28	S
119	ANR	16	8+16	1	I
120	4	8	2+4	1	I

TABLA 22. DETALLE DE LA CMI DE NETILMICINA,
 CEFPIROMA Y SU ASOCIACION

CEPA	CMI			CIF	EFECTO
	NETIL	CEFPI	NETIL+CEFPI		
121	4	8	2+4	1	I
122	8	4	2+4	1.25	I
123	4	4	2+4	1.5	I
124	4	4	1+2	0.75	A
125	4	8	2+4	1	I
126	16	4	1+2	0.56	Sp
127	8	4	2+4	1.25	I
128	8	4	2+4	1.25	I
129	8	4	1+2	0.62	Sp
130	8	8	2+4	0.75	A
131	ANR	64	32+64	1	I
132	4	8	1+2	0.5	S
133	4	4	1+2	0.75	A
134	8	8	2+4	0.75	A
135	8	4	1+2	0.62	Sp
136	16	4	2+4	1.1	I
137	ANR	8	4+8	1	I
138	2	4	1+2	1	I
139	4	8	2+4	1	I
140	ANR	4	2+4	1	I
141	4	8	2+4	1	I
142	4	8	2+4	1	I
143	8	4	2+4	1.25	I
144	4	4	2+4	1.5	I
145	8	8	1+2	0.37	S
146	ANR	16	8+16	1	I
147	16	4	2+4	1.1	I
148	2	8	0.5+1	0.37	S
149	8	4	1+2	0.62	Sp
150	8	8	1+2	0.37	S

Resultados

TABLA 23. PORCENTAJES DE SINERGIA TOTAL, SINERGIA PARCIAL, ADICION, INDIFERENCIA Y ANTAGONISMO EN LAS ASOCIACIONES DE TEICOPLANINA Y CEFPIROMA CON GENTAMICINA, TOBRAMICINA, AMIKACINA Y NETILMICINA.

	S.TOTAL	S.PARCIAL	ADICION	INDIFERENCIA	ANTAGONISMO
TEICO-GENTA	40	29	3	22	6
TEICO-TOBRA	37	33	10	19	1
TEICO-AMIKA	19	16	19	45	1
TEICO-NETIL	29	29	3	37	1
CEFPI-GENTA	13	10	24	52	1
CEFPI-TOBRA	12	10	27	51	0
CEFPI-AMIKA	8	13	40	37	1
CEFPI-NETIL	7	13	25	54	1

TABLA 24.- BIOTIPO CORRESPONDIENTE A CADA CEPA DE ENTEROCOCO

Cepa	Biotipo	Cepa	Biotipo	Cepa	Biotipo
1	555	51	575	101	255
2	224	52	555	102	113
3	656	53	527	103	257
4	555	54	575	104	111
5	555	55	525	105	576
6	226	56	475	106	555
7	555	57	775	107	754
8	555	58	775	108	111
9	255	59	575	109	111
10	755	60	747	110	111
11	113	61	575	111	755
12	725	62	755	112	255
13	525	63	725	113	255
14	163	64	575	114	111
15	255	65	113	115	113
16	555	66	775	116	111
17	755	67	775	117	575
18	755	68	725	118	255
19	757	69	445	119	235
20	555	70	555	120	555
21	755	71	613	121	574
22	555	72	575	122	555
23	752	73	455	123	255
24	555	74	475	124	557
25	522	75	572	125	455
26	222	76	163	126	525
27	558	77	552	127	757
28	555	78	524	128	555
29	222	79	552	129	554
30	552	80	755	130	775
31	555	81	777	131	224
32	252	82	252	132	555
33	255	83	754	133	227
34	242	84	222	134	225
35	255	85	442	135	255
36	227	86	222	136	225
37	255	87	222	137	244
38	225	88	222	138	554
39	225	89	775	139	755
40	522	90	755	140	755
41	575	91	555	141	424
42	575	92	575	142	442
43	575	93	577	143	722
44	111	94	517	144	545
45	575	95	544	145	222
46	112	96	515	146	224
47	755	97	575	147	422
48	734	98	772	148	172
49	177	99	275	149	425
50	522	100	242	150	742

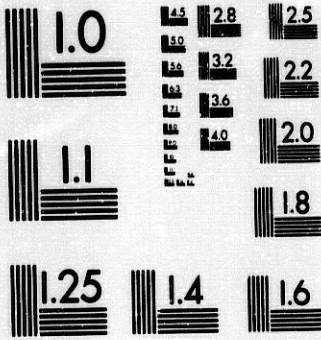
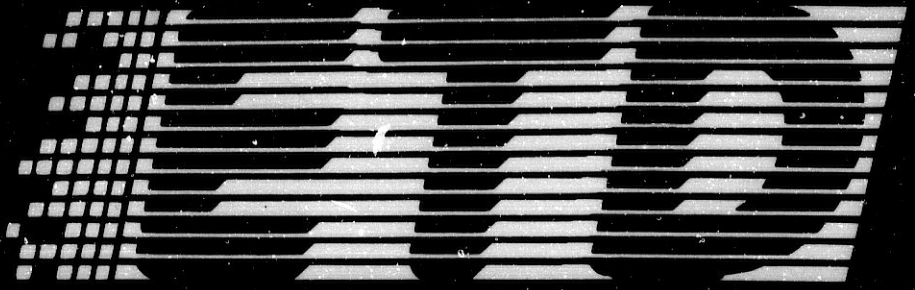
Resultados

El estudio estadístico se realizó aplicando la prueba χ^2 comentado en el apartado 3.8. de Material y Métodos.

Tratamos de relacionar estos biotipos con el producto aplicando el test mencionado y no obtuvimos resultados significativos:

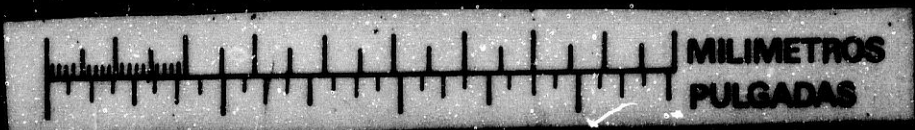
		<u>Exudado</u>		
		S	N	
biotipo 555	S	6	13	$\chi^2 = 0.3833$, (p=0.53584)
	N	29	102	
biotipo 255	S	3	8	$\chi^2 = 0.0024$, (p=0.96062)
	N	32	107	
biotipo 755	S	3	8	$\chi^2 = 0.0024$, (p=0.96062)
	N	32	107	
biotipo 575	S	6	7	$\chi^2 = 2.8646$, (p<0.1)
	N	29	108	

		<u>Orina</u>		
		S	N	
biotipo 555	S	9	10	$\chi^2 = 0.6101$, (p=0.43473)
	N	46	85	
biotipo 255	S	2	9	$\chi^2 = 0.9932$, (p=0.31895)
	N	53	86	
biotipo 755	S	5	6	$\chi^2 = 0.0920$, (p=0.76165)
	N	50	89	
biotipo 575	S	3	10	$\chi^2 = 0.1025$, (p=0.74881)
	N	32	105	



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

1:24



Resultados

El estudio estadístico se realizó aplicando la prueba χ^2 comentado en el apartado 3.8. de Material y Métodos.

Tratamos de relacionar estos biotipos con el producto aplicando el test mencionado y no obtuvimos resultados significativos:

		<u>Exudado</u>		
		S	N	
biotipo 555	S	6	13	$\chi^2 = 0.3833$, (p=0.53584)
	N	29	102	
biotipo 255	S	3	8	$\chi^2 = 0.0024$, (p=0.96062)
	N	32	107	
biotipo 755	S	3	8	$\chi^2 = 0.0024$, (p=0.96062)
	N	32	107	
biotipo 575	S	6	7	$\chi^2 = 2.8646$, (p<0.1)
	N	29	108	

		<u>Orina</u>		
		S	N	
biotipo 555	S	9	10	$\chi^2 = 0.6101$, (p=0.43473)
	N	46	85	
biotipo 255	S	2	9	$\chi^2 = 0.9932$, (p=0.31895)
	N	53	86	
biotipo 755	S	5	6	$\chi^2 = 0.0920$, (p=0.76165)
	N	50	89	
biotipo 575	S	3	10	$\chi^2 = 0.1025$, (p=0.74881)
	N	32	105	

Resultados

Tampoco se obtuvieron resultados significativos al intentar relacionar estos biotipos con la procedencia de la muestra.

		<u>intra</u>	<u>extrahospitalaria</u>	
biotipo 555	S	9	10	$\chi^2 = 0.9064$, (p=0.34105)
	N	81	50	
biotipo 255	S	7	4	$\chi^2 = 0.0040$, (p=0.94902)
	N	83	56	
biotipo 755	S	4	7	$\chi^2 = 1.8026$, (p=0.17939)
	N	86	53	
biotipo 575	S	10	3	$\chi^2 = 1.0142$, (p=0.3139)
	N	80	57	

Intentamos relacionar los biotipos con la sensibilidad o ausencia de ésta a diversos antimicrobianos:

		<u>eritromicina</u>		
		S	NS	
biotipo 555	S	1	18	$\chi^2 = 1.2053$, (p=0.27226)
	N	24	107	
biotipo 255	S	0	11	$\chi^2 = 0.2036$, (p=0.65181)
	N	25	114	
biotipo 755	S	2	9	$\chi^2 = 3.3015$, (p<0.1)
	N	20	117	
biotipo 111	S	0	7	$\chi^2 = 0.0139$, (p=0.90615)
	N	25	118	
biotipo 113	S	0	4	$\chi^2 = 0.1890$, (p=0.66371)
	N	25	121	
biotipo 163	S	0	2	$\chi^2 = 0.0006$, (p=0.9796)
	N	41	107	

ciprofloxacino

	S	NS	
biotipo 555	S 6	13	$\chi^2 = 0.0096$, (p=0.9216)
	N 36	95	
biotipo 255	S 3	8	$\chi^2 = 0.08584$, (p=0.7695)
	N 39	100	
biotipo 755	S 4	7	$\chi^2 = 0.08584$, (p=0.7695)
	N 38	101	
biotipo 575	S 3	10	$\chi^2 = 0.00818$, (p=0.9279)
	N 39	98	
biotipo 111	S 0	7	$\chi^2 = 0.3924$, (p=0.5310)
	N 42	101	
biotipo 113	S 1	3	$\chi^2 = 0.18397$, (p=0.6679)
	N 41	105	
biotipo 163	S 1	1	$\chi^2 = 0.00904$, (p=0.9242)
	N 41	107	

Resultados

Estudiamos la posible relación entre ANR a gentamicina y los biotipos.

		<u>ANR a gentamicina</u>		
		S	N	
biotipo 555	S	1	18	$\chi^2 = 2.5224$, (p=0.1122)
	N	32	99	
biotipo 255	S	3	8	$\chi^2 = 0.0036$, (p=0.9517)
	N	30	109	
biotipo 755	S	2	9	$\chi^2 = 0.0036$, (p=0.9517)
	N	31	108	
biotipo 575	S	2	11	$\chi^2 = 0.0636$, (p=0.8008)
	N	31	106	
biotipo 111	S	0	7	$\chi^2 = 0.0686$, (p=0.7932)
	N	33	110	
biotipo 113	S	0	4	$\chi^2 = 0.16599$, (p=0.6837)
	N	33	113	
biotipo 163	S	0	2	$\chi^2 = 0.0600$, (p=0.8064)
	N	33	115	

Destacamos la relación estadísticamente significativa entre los biotipos 111 y 113 (p<0.001) y 163 (p<0.005) con la especie *E. faecium*.

		<u><i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i></u>		
biotipo 111	S	7	0	$\chi^2 = 60.5326$, (p<0.001)
	N	7	136	
biotipo 113	S	4	0	$\chi^2 = 29.6727$, (p<0.001)
	N	10	136	
biotipo 163	S	2	0	$\chi^2 = 10.3291$, (p<0.005)
	N	12	136	

Sinergia teicoplanina-gentamicina

		S	N	
biotipo 555	S	15	4	$\chi^2 = 0.49886$, (p=0.48)
	N	89	42	
biotipo 255	S	7	4	$\chi^2 = 0.00740$, (p=0.9314)
	N	97	42	
biotipo 755	S	8	3	$\chi^2 = 0.00740$, (p=0.9314)
	N	96	43	
biotipo 575	S	10	3	$\chi^2 = 0.09381$, (p=0.7593)
	N	94	43	
biotipo 113	S	3	1	$\chi^2 = 0.09025$, (p=0.76386)
	N	101	45	
biotipo 163	S	1	1	$\chi^2 = 0.03061$, (p=0.8611)
	N	103	45	
biotipo 111	S	7	0	$\chi^2 = 0.60353$, (p=0.43723)
	N	97	46	

Tratamos de relacionar la sinergia a la combinación teicoplanina-gentamicina con la especie.

Sinergia

	S	N		
<i>faecium</i>	S	11	3	$\chi^2 = 0.2332$, (p=0.62916)
<i>faecalis</i>	N	93	43	

Resultados

Al intentar relacionar la presencia de ANR a gentamicina en cepas de *E. faecalis* con la procedencia intrahospitalaria o extrahospitalaria, obtuvimos el siguiente resultado.

ANRG en *E. faecalis*

	S	N	
intrahospitalaria	25	53	$\chi^2 = 5.0816$, (p<0.05)
extrahospitalaria	8	50	

5. DISCUSSION

Discusión

El interés creciente suscitado por la infección debida a enterococos se debe principalmente, al incremento en la incidencia de infección nosocomial, al descubrimiento de su potencial diseminación intrahospitalaria, y a que los enterococos han adquirido resistencia a diversos agentes antimicrobianos (Hoffmann y Moellering, 1987). Así, en los últimos años se está observando un aumento de la incidencia de enterococos resistentes a ampicilina, lo que unido a la aparición de cepas con alto nivel de resistencia a aminoglucósidos (ANR), nos ha motivado a estudiar el comportamiento de cepas aisladas en nuestro medio frente a antibióticos de uso común en el tratamiento de las infecciones por enterococos, así como al estudio de nuevas alternativas terapéuticas.

Resultado de los estudios de identificación, obtuvimos 90.7% de *E. faecalis* y 9.3% de *E. faecium*, porcentajes similares a los informados por Moellering (1992), con *E. faecalis* 85-90% y *E. faecium* 5-10%.

El 73.3% de las cepas tuvieron una valoración clínica positiva, el 26.7% restante se considera parte de la flora contaminante.

Ya es conocido que *E. faecium* es más resistente que *E. faecalis* a los antimicrobianos (Moellering, 1981; Kim et al, 1987). También en nuestro estudio *E. faecium* presentó mayor porcentaje de resistencia a eritromicina, roxitromicina, claritromicina, ciprofloxacino, penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulánico, piperacilina e imipenem. Ningún aislamiento fue resistente a los glucopéptidos vancomicina y teicoplanina, por lo que consecuentemente no hubo diferencias en los porcentajes de resistencia en ambas especies. Curiosamente, *E. faecalis* presentó un porcentaje de resistencia frente a cefpiroma ligeramente superior que *E. faecium* (44.9% y 42.9%

respectivamente). Este resultado difiere ostensiblemente del informado por Jones et al (1991), que obtienen un porcentaje de resistencia a cefpiroma de 22.1% en *E. faecalis* y de 77.8% en *E. faecium*.

El estudio de la susceptibilidad "in vitro" de los doce antimicrobianos ensayados aisladamente, se refleja en la tabla 10, detallando su rango, CMI₅₀, CMI₉₀, media. Entendiendo por:

Rango: valores máximos y mínimos a los que se obtiene una inhibición del crecimiento.

CMI₅₀: concentración que inhibe al 50% de las cepas ensayadas.

CMI₉₀: concentración que inhibe al 90% de las cepas.

Media: la media ponderada que se obtiene de multiplicar cada concentración por el número de cepas inhibida por ella dividido por el total de cepas.

Con respecto al estudio de la actividad de los macrólidos, nuestros resultados coinciden con Loza et al (1992), al señalar a claritromicina como el macrólido más efectivo frente a *E. faecalis*, seguido de eritromicina y en último lugar roxitromicina. El 50% de nuestros aislamientos de *E. faecalis* fueron inhibidos por 2 µg/ml de eritromicina, y el 90% por cifras iguales o superiores a 64 µg/ml coincidiendo asimismo, con los resultados obtenidos por Gray et al (1991). Los estudios con *E. faecium* aportaron valores de CMI₅₀ y CMI₉₀, de 64 µg/ml, mientras que estos autores obtuvieron valores de 4 y 64 µg/ml para estos mismos parámetros. El bajo porcentaje de sensibilidad (16.7%) de los enterococos a macrólidos, los convierte, en nuestro medio en alternativas poco válidas para el tratamiento.

Entre las fluoroquinolonas disponibles, estudiamos una de referencia, ciprofloxacino, que obtuvo un porcentaje de actividad de un 28%, CMI₅₀ de 2 µg/ml y CMI₉₀ de 64 µg/ml, este último valor contrasta con el obtenido por Hooper y Wolfson (1991), CMI₉₀ 4 µg/ml. Estas cifras son próximas a los valores séricos máximos, por lo que no se recomienda su empleo, en infecciones graves o no, salvo en infecciones no complicadas del tracto urinario, donde alcanzan altas concentraciones y, por supuesto, previo estudio de sensibilidad.

En nuestro trabajo, ninguna de las 136 cepas de *E. faecalis* presentaron resistencia a ampicilina, mientras que dos cepas de *E. faecium*, de un total de 14 (14.3%), presentaron una CMI superior a 8 µg/ml. Alonso et al (1992), obtuvieron un porcentaje de resistencia a ampicilina en *E. faecium* de 33.3%. y Louie et al (1992), encontraron un 22% de *E. faecium* resistentes a ampicilina y sin ser productor de betalactamasas, por lo que se observan discretas diferencias de estos resultados con los obtenidos por nosotros. El porcentaje de resistencia a ampicilina del total de enterococos, incluidas ambas especies, fue de 1.3%, lo que se aproxima a los resultados de Sapico y Canawati (1989), que obtuvieron menos de 1% de enterococos resistentes a ampicilina.

La detección de cepas productoras de betalactamasas, puede pasar desapercibida en los estudios rutinarios de sensibilidad, debido al efecto inóculo. Así, cuando se utiliza un inóculo bajo, aparece como sensible, y resistente si se utiliza un inóculo alto, probablemente, debido a que el escaso número de bacterias no produce suficientes betalactamasas para causar resistencia (Murray, 1990_a). En ninguna de las cepas estudiadas se detectó producción de betaactamasas,

Discusión

utilizando el disco de nitrocefina, lo que sugiere una alteración de las PBP₂ como mecanismo implicado en la resistencia a ampicilina. Los aislamientos de *E.faecium* resistentes a ampicilina y penicilina, fueron también resistentes a piperacilina e imipenem, quedando vancomicina y teicoplanina como únicos agentes lesivos de la pared celular con actividad frente a estas cepas.

Piperacilina tiene, aproximadamente, la misma actividad frente a los enterococos, que penicilina o ampicilina.

Para imipenem, la CMI₉₀ de *E.faecalis* fue de 2 µg/ml, cifras similares a las observadas en ampicilina y penicilina. Sin embargo, en *E.faecium*, la CMI₉₀ es más elevada, situándose en 16 µg/ml. Estos resultados fueron comparables a los descritos por Liñares et al (1992), que obtuvieron CMI inferiores o iguales a 2 µg/ml, con la excepción de *E.faecium* frente al cual este antimicrobiano fue poco activo, presentando CMI₉₀ de 64 µg/ml. Podemos por lo tanto concluir que imipenem no ofrece ventajas sobre penicilina G frente a enterococos betalactamasa negativos.

Las cepas de enterococos estudiadas presentaron un alto porcentaje de resistencia, próximo al 50%, frente a cefpiroma, con CMI₅₀ y CMI₉₀ de 8 y 64 µg/ml. respectivamente, valores similares a los obtenidos por Piacentini et al (1992), CMI₅₀: 8 µg/ml y CMI₉₀: 64 µg/ml para *E.faecalis*, por lo que es esta una cefalosporina de uso no recomendable en el tratamiento de las infecciones por enterococos, tal como citan la mayoría de autores consultados (Jones et al, 1991) aunque en un estudio realizado en Valencia (Alcaraz et al, 1991), obtuvieron mejores resultados, CMI₅₀ 4 µg/ml y CMI₉₀ 64 µg/ml.

Discusión

Los aislamientos estudiados no presentaron resistencia a glucopéptidos, así, tanto para vancomicina, como para teicoplanina tuvieron una sensibilidad del 100%. Estos resultados concuerdan con un estudio multicéntrico realizado en Italia (Pesce et al, 1992), donde los glucopéptidos se confirmaron como los más potentes antimicrobianos frente a enterococos. Al analizar los resultados de las CMI observamos que teicoplanina fue más activa que vancomicina frente a ambas especies de enterococos, con una CMI₉₀ de 1 µg/ml en *E.faecalis* y en *E.faecium*, frente a una CMI₉₀ de 4 µg/ml en *E.faecalis* y 2 µg/ml en *E.faecium* para vancomicina. En la tabla 11, observamos que si bien para teicoplanina, la CMI₅₀ es ligeramente superior en *E.faecium* respecto a *E.faecalis*, no ocurre lo mismo para vancomicina, donde la CMI₅₀ es ligeramente superior en *E.faecalis*. Nuestros resultados coinciden con el trabajo de Gonzalez et al (1993), donde también la teicoplanina se mostró más activa que vancomicina frente a los enterococos.

Es conocido que en el tratamiento de las infecciones graves producidas por enterococos, no es eficaz la utilización de penicilina, ampicilina o vancomicina, por no ser bactericida en la mayoría de las cepas (Moellering, 1981). La adición de un aminoglucósido al que la cepa no presente alto nivel de resistencia, produce un efecto sinérgico bactericida (Hoffmann y Moellering, 1987). El método más fiable para la determinación de este efecto sinérgico es la realización de la curva de tiempo de muerte, pero debido a su complejidad, elegimos detectar la presencia de cepas con ANR con la finalidad de conocer la incidencia de estas cepas en nuestro medio.

Discusión

Estudiamos kanamicina para predecir la sinergia a amikacina, por ser mejor predictor que la propia amikacina. En todas las cepas que presentaron ANR a gentamicina, tobramicina y kanamicina hubo crecimiento evidente en las tres diluciones estudiadas (2000, 1000 y 500 $\mu\text{g/ml}$), mientras que en el estudio de ANR a netilmicina, sólo hubo crecimiento evidente a la concentración de 250 $\mu\text{g/ml}$, por lo que quizás sea necesario usar esta concentración para detectar aquellas cepas con ANR a netilmicina, que utilizando concentraciones superiores, pasarían desapercibidas. La explicación de la discrepancia en la concentración de netilmicina con respecto a los otros aminoglucósidos, puede ser debida a que la enzima bifuncional fosforilasa APH (2'') acetilasa AAC (6'), confiere resistencia a gentamicina, tobramicina, kanamicina y en menor grado a netilmicina y amikacina (Alonso et al, 1992).

Comentando los datos obtenidos por nosotros y los de otros autores españoles con respecto a ANR a gentamicina, destacamos que de forma global, para las 150 cepas obtuvimos un 22%, cifras aproximadas a las obtenidas por Vargas et al (1993), de 21,7% y discretamente inferiores a las informadas por Valle et al (1989), que obtienen un 32.6%. Reina et al (1991), informan un 8.4% de alto nivel de resistencia a gentamicina en enterococos. Para tobramicina y kanamicina obtuvimos cifras de ANR de 22.7% y 52% respectivamente, valores muy similares a los informados por Vaile et al (1989), que obtuvieron 26.6% y 52.9% de ANR a tobramicina y kanamicina respectivamente.

Discusión

Nos ha llamado la atención, por su rareza, la cepa nº 14, perteneciente a la especie *E. faecium*, que presentó ANR a tobramicina, netilmicina y kanamicina y no a gentamicina, por lo que deducimos que esta cepa es productora bien de la enzima 4-adeniltransferasa (4'-AAD), o de la enzima 6-acetiltransferasa (6'-AAC).

En el caso de las cepas con ANR a kanamicina, se puede predecir que no habrá efecto sinérgico en la combinación de kanamicina o amikacina con un betalactámico. En aquellas cepas con ANR a gentamicina, podemos predecir que no habrá efecto sinérgico para gentamicina, tobramicina, netilmicina, kanamicina y amikacina y que no se deberán utilizar en combinación con un betalactámico.

Por especies, en *E. faecium* no se detectó ANR a gentamicina, y en *E. faecalis* se obtuvo un 24.3% de cepas con ANR a gentamicina. Estos resultados son similares a los obtenidos por Guiney y Urwin (1993), ANR a gentamicina en *E. faecalis*, de 15.2% y ninguno en *E. faecium*. También hay casos descritos de ANR a gentamicina en *E. faecium* (Moellering, 1991; Eliopoulos et al, 1988). Nuestros resultados, en este sentido contrastan con los obtenidos por Ruoff (1990), que encontró que un 50% de las cepas de *E. faecium* estudiadas, fueron resistentes a 2000 µg/ml de gentamicina. Consideramos, por tanto, que la reciente detección de ANR a gentamicina en aislamientos clínicos de *E. faecium*, debe alertar la vigilancia de este patrón de resistencia en este microorganismo.

En principio, podríamos pensar, que no se hubiesen incluido algunas cepas con ANR, debido a la composición del medio de cultivo utilizado para su estudio (agar Mueller-Hinton), ya que según Weissmann et al (1991), otros medios de cultivo diferentes al

utilizado por nosotros como el agar infusión de cerebro y corazón, o el agar dextrosa y fosfato, serían más adecuados al permitir el mejor crecimiento de las cepas de enterococos. Sin embargo, Sahm y Torres (1988_a), en su estudio sobre el posible efecto de los medios de cultivo en la detección de ANR a aminoglucósidos, concluyen que la composición del medio, no afecta los resultados, y que la utilización del agar Mueller-Hinton suplementado o no con 5% de sangre bovina, ofrece resultados fiables. En nuestro estudio, hemos obviado suplementar el medio con sangre, por considerar que sin ésta, los resultados son más fácilmente interpretables por la mejor visualización del crecimiento de colonias.

Las cepas de enterococos con ANR son fundamentalmente de transmisión nosocomial (Zervos et al, 1987_a), así, nosotros obtuvimos un 32.05% de cepas de *E. faecalis* con ANR a gentamicina de procedencia intrahospitalaria, frente a 13.8% de procedencia extrahospitalaria, y aplicando el test de χ^2 , obtuvimos una relación estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Nuestros resultados fueron comparables a los obtenidos por Huycke et al (1991), 35.8% de cepas de *E. faecalis* de procedencia hospitalaria con ANR a gentamicina. Patterson y Zervos (1990), informan unas tasas de ANR a gentamicina en USA. de 55%.

El alto porcentaje de cepas de enterococos con alto nivel de resistencia a gentamicina, hace necesaria la determinación rutinaria de este parámetro, al menos en aislamientos implicados en infecciones graves.

La mayoría de los estudios de sinergismo están basados en observaciones "in vitro". La curva de muerte bacteriana, determinando el efecto letal, y el método del tablero de ajedrez, que aporta

resultados de actividad bacteriostática, son las dos técnicas básicas para el estudio en el laboratorio de las asociaciones de antimicrobianos. De ellas elegimos para nuestro trabajo, la técnica del tablero simplificada por su fácil realización, la simplicidad de sus cálculos, por la variedad de combinaciones y concentraciones que se pueden ensayar y, sobre todo, por la buena correlación con el método clásico, no simplificado.

Respecto a los resultados obtenidos por nosotros con las asociaciones de antimicrobianos, no hay en el momento actual una amplia bibliografía al respecto, por lo que difícilmente podremos establecer comentarios entre nuestros resultados y los de otros investigadores, máxime cuando las pocas que han sido estudiadas de forma experimental *in vitro* no suelen utilizar las concentraciones ensayadas por nosotros. Pensamos que el principal problema a la hora de comparar nuestros resultados con los aportados en la bibliografía es la variedad de técnicas utilizadas, así, como la multiplicidad de criterios empleados para definir el sinergismo. En nuestro trabajo, hacemos la discusión uniendo los conceptos de sinergismo total y sinergismo parcial para referirnos al efecto sinérgico.

Al intentar relacionar la presencia de sinergia a la combinación teicoplanina-gentamicina con la especie, no obtuvimos resultados significativos.

A partir de los datos aportados en la tabla 23, y teniendo en cuenta que hemos englobado los conceptos de sinergia total y sinergia parcial, la combinación con mayor porcentaje de sinergia fue teicoplanina + tobramicina (70%), seguida de teicoplanina + gentamicina (69%), de teicoplanina + netilmicina (58%) y de

Discusión

teicoplanina + amikacina (35%). El resultado de la combinación sinérgica de cefpiroma con los cuatro aminoglucósidos, fue muy inferior a la obtenida con teicoplanina, haciendo de él, incluso en asociación, un antibiótico poco útil para tratar las infecciones por enterococo.

Los resultados obtenidos por Debbia et al (1986), de la combinación de teicoplanina con netilmicina y amikacina resultaron en efecto sinérgico en el 35% de las cepas de enterococos, estudiadas por el método del tablero, considerando efecto sinérgico el Índice de CFI ≤ 0.5 . Si nosotros consideramos los resultados con Índice de CFI ≤ 0.5 , los porcentajes obtenidos son ligeramente inferiores, así, 19% para la combinación teicoplanina-amikacina y 29% para la combinación teicoplanina-netilmicina.

A la vista de la utilidad de la biotipia como técnica de tipado especialmente sensible, y de la escasa bibliografía recogida al respecto, esta ha sido elegida para completar nuestro trabajo. Hemos creado un nuevo esquema de biotipia y lo hemos aplicado a 150 cepas de enterococos de origen hospitalario y extrahospitalario, al objeto de efectuar un pequeño estudio epidemiológico en nuestra población.

La selección de las nueve pruebas que componen nuestro esquema se realizó entre aquellas que tenían un porcentaje de positividad comprendido entre el 10% y el 90%, seleccionándolas de forma que su actividad fuera lo más diferente posible unas de otras. Para ello establecimos el procedimiento estadístico de diferenciación expuesto en el apartado 3.6.1. de Material y métodos. De esta forma se seleccionaron las pruebas: cistina arilamidasa, fosfatasa ácida, naftol-A-S-BI-fosfohidrolasa, α -quimotripsina, α -glucosidasa, N-

acetil- β -glucosaminidasa, β -glucosidasa, sorbitol y melicitosa.

A partir de estas nueve pruebas hicimos tres grupos, cada uno compuesto por tres de ellas, como se observa en el apartado 3.6.2. de Material y métodos.

Utilizamos una clasificación numérica desde el 1 al 8, de tal forma que una cepa se clasificaría como 3 si presentara positiva la primera prueba, pero no las dos siguientes, como 4 si presentara las dos primeras pruebas de un grupo pero no la tercera Como empleamos tres grupos, la clasificación final estaría constituida por un número de tres cifras, según que presentaran positivas o no las pruebas de cada grupo, siempre en el orden citado en el apartado 3.6.3. de Material y métodos.

Las 150 cepas ensayadas se clasificaron en 58 biotipos, siendo el biotipo 555 el más frecuente (13%), seguido del 575 (9%). Seleccionamos siete biotipos que engloban al 45.5% de las cepas estudiadas, y los intentamos relacionar con el producto, la procedencia intrahospitalaria o extrahospitalaria, la sensibilidad o ausencia de esta a diversos antimicrobianos y la presencia de ANR a gentamicina. No obtuvimos resultados significativos mediante el test χ^2 .

Destacamos la relación, estadísticamente significativa, entre los biotipos 111 y 113 ($p < 0.001$) y 163 ($p < 0.005$) con la especie *E. faecium*. Hipotéticamente, el encontrar estos biotipos podría ser un marcador específicamente útil, para detectar cepas de *E. faecium* de forma rápida, con las connotaciones de diferente tratamiento.

Discusión

No encontramos ninguna relación entre el biotipo y la presencia de sinergia a la combinación teicoplanina-gentamicina. Tampoco existió ninguna correlación entre la especie y la presencia de sinergia a la combinación teicoplanina-gentamicina.

En este trabajo y del análisis de los resultados que hemos realizado a lo largo de la discusión, hemos tratado de aportar nuevas alternativas terapéuticas y revisar las ya clásicas en el tratamiento de las infecciones por enterococos.

6. CONCLUSIONES

Conclusiones

1. En nuestro medio, las especies *E. faecalis* y *E. faecium* estudiadas presentan diferente susceptibilidad a los diversos antimicrobianos, siendo *E. faecium* más resistente que *E. faecalis* a eritromicina, roxitromicina, claritromicina, ciprofloxacino, penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulánico, piperacilina e imipenem. El patrón de mayor resistencia a antibióticos de *E. faecium*, enfatiza la necesidad de identificar enterococos a nivel de especies en pacientes con infecciones graves, así, como a realizar estudios de susceptibilidad antimicrobiana.
2. Comparando la actividad de los macrólidos, eritromicina, roxitromicina y claritromicina, este último es el macrólido más activo, seguido de eritromicina y roxitromicina.
3. Los resultados obtenidos del estudio de la actividad de ciprofloxacino, hacen de este antimicrobiano una alternativa poco válida, salvo en infecciones no complicadas del tracto urinario, donde alcanza altas concentraciones.

Conclusiones

4. En las cepas de *E. faecalis* y *E. faecium* estudiadas, no se observaron resistencia a vancomicina y teicoplanina. De los antibióticos con posible actividad frente a enterococos, se demuestra que teicoplanina presenta la mayor actividad "in vitro" frente a las cepas de enterococos estudiadas, mostrando en todos los parámetros (rango, CMI₅₀, CMI₉₀ y media) los valores más bajos, lo que hace de ésta una alternativa válida para el tratamiento de infecciones serias.

5. La incidencia de cepas de enterococos productores de betalactamasas es nula en nuestro medio, lo que apunta a la alteración de las PBP₅, como mecanismo implicado en la resistencia a penicilinas. Cefpiroma, no mostró buena actividad frente a enterococos, ya sea de forma aislada, o en asociación con aminoglucósidos.

6. El alto porcentaje de cepas de enterococos con alto nivel de resistencia a aminoglucósidos, hace necesaria la determinación rutinaria de este parámetro, para gentamicina, en infecciones graves producidas por enterococos. Las cepas de *E. faecalis* con alto nivel de resistencia a gentamicina son fundamentalmente de transmisión nosocomial.

Conclusiones

7. *E. faecium* se asocia en nuestro medio, a los biotipos característicos 111, 113 y 163, lo que tiene interés para detectar su presencia.

8. Del estudio de la actividad *in vitro* sobre enterococos, de teicoplanina y cefpiroma asociados a gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina, se deduce que los mejores resultados, los presentó la asociación de teicoplanina-tobramicina y teicoplanina-gentamicina.

7. BIBLIOGRAFIA

Bibliografía

Alcaraz MJ, Ferreruela R, Farga MA, Ocete MD, Bosch MA, Navarro MR, Gimeno G, Garcia de Lomas J. Susceptibility to cefpirome of *Enterococcus spp.* highly resistant to streptomycin and/or gentamicin. *17 th Inter Cong Chemoth* 1991, Abstract 260.

Alonso T, Perez JL, Liñares J. Enterococos: resistencia adquirida a los antibióticos. *Enf Inf Microbiol Clin* 1992, 10: 489-496.

Baquero F, Requera JA, Martinez-Ferrer M. Mecanismos de resistencia bacteriana al imipenem. *Drugs Today* 1989, 25: 15-23.

Barie PS, Christou NV, Dellinger PE, Rout RW, Stone HH, Waymack PJ. Pathogenicity of the *Enterococcus* in surgical infections. *Ann Surg* 1990, 212: 155-159.

Barry AL, Fuchs PC. Cross-resistance and cross-susceptibility between fluoroquinolone agents. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1991, 10: 1013-1018.

Besnier JM, Leport C, Buré A, Vildé JL. Vancomycin-aminoglycoside combinations in therapy of endocarditis caused by *Enterococcus* species and *Streptococcus bovis*. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1990, 9: 130-133.

Bibliografia

Bingen EH, Denamur E, Lambert NY, Elion J. Evidence for the genetic unrelatedness of nosocomial vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strains in a pediatrics Hospital. *J Clin Microbiol* 1991_a, 29: 1888-1892.

Bingen EH, Doit C, Lambert-Zechovsky M, Petitjean O, Bourgeois F, Mariani-korkdjian P. Bactericidal activity of Daptomycin against Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in an *in vitro* pharmacokinetic model. *Eur J Clin Inf Dis* 1991_b, 10: 1062.

Boscia JA, Kobasa WD, Knight RA, Abrutyn E, Levyson ME, Kaye D. Epidemiology of bacteriuria in an elderly ambulatory population. *American J Med* 1986, 80: 208-214.

Boulanger JM, Ford-Jones EL, Matlow AG. Enterococcal bacteremia in a pediatric institution: a four-year review. *Rev Inf Dis* 1991, 13: 847-856.

Bush LM, Calmon J, Cherney CL, Wendeler M, Pitsakes P, Poupard J, Levison M, Johnson C. High-level penicillin resistance among isolates of *Enterococci*. Implications for treatment of enterococcal infections. *Ann Int Med* 1989, 110: 515-520.

Calain P, Waldvogel F. Clinical efficacy of teicoplanin. *Eur J Clin Microbiol Dis* 1990, 9: 127-129.

Bibliografía

Carlier C, Courvalin P. Emergence of 4', 4''-aminoglycoside nucleotidyl-transferase on *enterococci*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1990, 34: 1565-1569.

Cercenado E, García-Leoni ME, Rodeño P, Rodríguez-Créixems M. Ampicillin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1990, 28: 829.

Collins Md, Jones D, Farrow JAE, Kilpper-Balz R, Schleifer KH. *Enterococcus avium* nom. rev.; comb.nov.; *E.casseliflavus* nom. rev., comb. nov.; *E.durans* nom. rev., comb. nov.; *E.gallinarum* comb. nov.; and *E.malodoratus* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1984, 34: 220-223.

Collins MD, Farrow JAE, Jones D. *Enterococcus mundtii* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1986, 36: 8-12.

Collins MD, Facklam RR, Farrow JAE, Willianson R. *Enterococcus raffinosus* sp. nov., *Enterococcus solitarius* sp. nov. *FEMS Microbiology Letters*. 1989, 57: 283-288.

Collins MD, Rodrigues UM, Pigott NE, Facklam RR. *Enterococcus dispar* sp. nov. a new *Enterococcus* species from human sources. *Letters in applied Microbiology* 1992, 12: 95-98.

Coudron PE, Markowitz SM, Wong ES. Isolation of a β -lactamase-producing, aminoglycoside-resistant strain of *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1992, 36: 1125-1126.

Bibliografía

Courvalin PM, Carlier C, Chabbert YA. Plasmid linked tetracycline and erythromycin resistance in group D *Streptococcus*. *Ann Inst Pasteur* 1972, 123: 755-759.

Courvalin P. Resistance of *Enterococci* to glycopeptides. *Antimicrob Agents Chemoth* 1990, 34: 2291-2296.

Davey PG, Williams AH. Teicoplanin monotherapy of serious infections caused by Gram-positive bacteria: a re-evaluation of patients with endocarditis or *Staphylococcus aureus* bacteremia from a European open trial. *J Antimicrob Chemoth* 1991, 27: 43-50.

Debbia E, Pesce A, Schito GC. *In vitro* interactions between teicoplanin and other antibiotic against enterococci and Staphylococci. *J Hosp Inf* 1986, 7: 73-77.

Deibel RH, Seeley HW. Streptococcus. En *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8ª edición. Buchanan RE, Gibbson NE. Willians & Wilkins. 1974, 490-509.

Devriese LA, Ceysens K, Rodríguez UM, Collins MD. *Enterococcus columbae*, a species from pigeon intestines. *FEMS Microbiology Letters* 1990, 71: 247-252.

Bibliografia

Donabedian SM, Chow JW, Boyce JM, McCabe RE, Markowitz SM, Coudron PE, Kuritza A, Pierson CL, Zervos MJ. Molecular typing of ampicillin-resistant, non- β -lactamase producing *Enterococcus faecium* isolates from diverse geographic areas. *J Clin Microbiol* 1992, 30: 2757-2761.

Dutka-Malen S, Courvalin P. Update on glycopeptide resistance in enterococci. *ANMLDO*. 1990, 7: 81-88.

Eliopoulos GM, Moellering RC. Susceptibility of enterococci and *Listeria monocytogenes* to N-formimidoyl thienamycin alone and in combination with an aminoglycoside. *Antimicrob Agents Chemoth* 1982, 22: 488-452.

Eliopoulos GM, Gardella A, Moellering RC. *In vitro* activity of ciprofloxacin, a new carboxi-quinolone antimicrobial agent. *Antimicrobial Agents Chemoth* 1984, 25: 331-335.

Eliopoulos GM, Wennersten C, Zigelboim-Daum S, Reisner E, Goldmann D, Moellering RC Jr. High-level resistance to gentamicin in clinical isolates of *Streptococcus (Enterococcus) faecium*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1988, 32: 1528-1532.

Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. Therapy of enterococcal infections. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1990, 9: 118-126.

Bibliografía

Eliopoulos GM, Eliopoulos CT, Moellering RC Jr. Contribution of animal models in the search for effective therapy for endocarditis due to *Enterococci* with high-level resistance to gentamicin. *J Inf Dis* 1992, 15: 58-62.

Eliopoulos GM. Increasing problems in the therapy of enterococcal infections. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1993, 12: 409-412.

Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from humans infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989, 27: 731-734.

Facklam RR, Washington JA. *Streptococcus* and related catalase-negative Gram-Positive cocci. En *Manual of Clinical Microbiology*. 5ª edición. Balows A, Hausler W Jr, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. ASM. 1991, 238-257.

Fontana R, Grossato A, Rossi L. Transition from resistance to hypersusceptibility to beta-lactam antibiotics associated with loss of low-affinity penicillin-binding protein in a *Streptococcus faecium* mutant highly resistant to penicillin. *Antimicrob Agents Chemoth* 1985_a, 28: 678-683.

Fontana R. Penicillin-binding proteins and the intrinsic resistance to beta-lactams in gram positive cocci. *J Antimicrob Chemoth* 1985_b, 16: 412-416.

Bibliografía

Fuller SA, Low DE, Simor AE. Evaluation of a commercial Microtiter System (MicroScan) using both frozen and freeze-dried panels for detection of high-level aminoglycoside resistance in *Enterococcus* spp. *J Clin Microbiol* 1990, 28: 1051-1053.

Furet YX, Pechère JC. Newly documented antimicrobial activity of quinolones. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1991, 10: 249-254.

Garrison NR, Fry D, Berberich S, Polk H. Enterococcal bacteremia. *Ann Surg* 1982, 196: 43-47.

Gómez J, Baños V, Sempere M, Ruiz J, Cano A, Canteras M, Apellániz G, Valdés M. Bacteriemias por *Enterococcus faecalis*. *Med Clin* 1991, 97: 133-136.

Gómez-Lus R. Detección por antibiograma de los mecanismos de resistencia a aminoglucósidos. *Rev Esp Quimioterap* 1989, 2: 23-25.

Gómez-Lus R, Gómez-Lus S. Actividad de claritromicina frente a cepas resistentes. *Rev Esp Quimioterap* 1992, 5: 21-26.

González M, Tejedor MT, Torres MM, Santana F, González Z. Sensibilidad de especies de estafilicocos y enterococos a la vancomicina y a la teicoplanina. *Rev Esp Quimioterap* 1993, 6: 204-207.

Bibliografía

Gray JW, Stewart D, Pedler SJ. Species Identification and antibiotic susceptibility testing of enterococci isolated from hospitalized patients. *Antimicrob Agents Chemoth* 1991, 35: 1943-1945.

Grayson ML, Thauvin C, Eliopoulos CT, Eliopoulos GM, Yao JD, De Angelis DV, Walton L, Woolley JL, Moellering RC Jr. Failure of trimethoprim-sulfamethoxazole therapy in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemoth* 1990, 34: 1792-1794.

Grayson LM, Eliopoulos GM, Wennersten CB, Ruoff K, Ferraro MJ, Moellering RC Jr. Increasing resistance to β -lactam antibiotics among clinical isolates of *Enterococcus faecium*: a 22-year review at one institution. *Antimicrobial Agents Chemoth* 1991, 35: 2180-2184.

Green M, Barbadora K, Michaels M. Recovery of vancomycin-resistant gram-positive cocci from pediatric liver transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1991, 29: 2503-2506.

Guiney M, Urwin G. Frequency and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of enterococci. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1993, 12: 362-366.

Gutiérrez J, Hoyos A, Piédrola G. High-level aminoglycoside resistance in enterococci. *Ann Biol Clin* 1992, 50: 671-674.

Bibliografia

Hall LMC, Duke B, Urwin G, Guiney M. Epidemiology of *Enterococcus faecalis* urinary tract infection in a teaching Hospital in London, United Kingdom. *J Clin Microbiol* 1992, 30: 1953-1957.

Herman DJ, Gerding DN. Screening and treatment of infections caused by resistant *Enterococci*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1991_a, 35: 215-219.

Herman DJ, Gerding DN. Antimicrobial resistance among *Enterococci*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1991_b, 35: 1-4.

Herzstein J, Ryan JL, Mangi RJ, Greco TP, Andride VT. Optimal therapy for enterococcal endocarditis. *Am J Med* 1984, 76: 186.

Hindes RG, Willey SH, Eliopoulos GM. Treatment of experimental endocarditis caused by a beta-lactamase-producing strain of *Enterococcus faecalis* with high-level resistance to gentamicin. *Antimicrob Agents Chemoth* 1989, 33: 1019-1022.

Hindler JA, Sahm DF. Controversies and confusion regarding antimicrobial susceptibility testing of *enterococci*. *ANNLDO. The Antimicrobial Newsletter* 1992, 8: 65-74.

Hoffmann SA, Moellering RC. The *Enterococcus*: "Putting the bug in our ears". *Ann Intern Med* 1987, 106: 757-761.

Hooper DC, Wolfson JS. Fluoroquinolone antimicrobial agents. *The New England J Med* 1991, 324: 384-394.

Bibliografia

Horodniceanu T, Bougueleret L, EI-Solh N, Bieth G, Delbos F. High-level, plasmid-borne resistance to gentamicin in *Streptococcus faecalis* subspecies zymogenes, *Antimicrob Agents Chemoth* 1979, 16: 686-689.

Horodniceanu T, Delbos F. Group D Streptococci in humans infections: identification and sensitivity to antibiotics. *Ann Microbiol* 1980, 131B: 131-144.

Hunter TH. Use of streptomycin in treatment of bacterial endocarditis. *Am J Med* 1947, 2: 436-442.

Huycke MM, Spiegel CA, Gilmore MS. Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1991, 35: 1626-1634.

Ike Y, Hashimoto H, Clewell DB. High incidence of hemolysin production by *Enterococcus* (*Streptococcus*) *faecalis* strains associated with human parenteral infections. *J Clin Microbiol* 1989, 25: 1524-1528.

Indrelie JA, Wilson WR, Matsumoto JY, Geraci JE, Washington JA. Synergy of imipenem or penicillin G and aminoglycosides against *enterococci* isolated from patients with infective endocarditis. *Antimicrob Agents Chemoth* 1984, 26: 909-912.

Bibliografia

Jones RN, Pfaller MA, Allen SD, Gerlach EH, Fuchs PC, Aldridge KE. Antimicrobial activity of cefpirome. An update compared to five third-generation cephalosporins against nearly 6000 recent clinical isolates from five medical centers. *Diagn Microbiol Inf Dis* 1991, 14: 361-364.

Kalina AP. The taxonomy and nomenclature of *enterococci*. *Int J Syst Bacteriol* 1970, 20: 185-189.

Kim JM, Weiser M, Gottschall S, Randall E. Identification of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* and susceptibility studies with newly developed antimicrobial agent. *J Clin Microbiol* 1987, 25: 787-790.

Krogstad DJ, Korfhagen TR, Moellering RC Jr. Aminoglycoside-inactivating enzymes in clinical isolates of *Streptococcus faecalis*. An explanation for resistance to antibiotic synergism. *J Clin Invest* 1987_a, 62: 480-486.

Krogstad DJ, Moellering RC Jr. Antimicrobial Combinations. En *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams and Wilkins. 1987_b, 537-554.

Kusuda R, Kawai K, Salati F, Banner CR, Fryer JL. *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a Fish Pathogen. *Int J Syst Bacteriol* 1991, 41: 406-409.

Bibliografía

Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988, 319: 157-161.

Leclercq R, Bingen E, Qi Hua Su, Lambert-Zechouski N, Courvalin P, Duval J. Effects of combinations of β -Lactams, Daptomycin, and Glycopeptides against Glycopeptide-resistant *Enterococci*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1991, 35: 92-98.

Leclercq R, Dutka-Malen S, Brisson-Noel A, Molinas C, Derlot E, Arthur M, Duval J, Courvalin P. Resistance of *enterococci* to aminoglycosides and glycopeptides. *Clin Inf Dis* 1992_a, 15: 495-501.

Leclercq R, Bismuth R, Duval J. New high-content disk for determination of high-level aminoglycoside resistance in clinical isolates of *Enterococcus faecalis*. *Eur J Microbiol Inf Dis* 1992_b, 11: 356-360.

Leport C, Perronne C, Massip P, Canton P, Leclercq P, Bernard E, Lutun P, Garaud JJ, Vilde JL. Evaluation of teicoplanin for treatment of endocarditis caused by Gram-positive cocci in 20 patients. *Antimicrob Agents Chemoth* 1989, 33: 871-876.

Lewis CM, Zervos MJ. Clinical manifestations of enterococcal infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990, 9: 111-117.

Bibliografía

Lietman PS. Aminoglucósidos y Espectinomicina: Aminociclitoles. En *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. 3ª edición. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. Panamericana. 1991, 281-295.

Liñares J, García D, Escribano E, López P, Martín R. Imipenem: actividad *in vitro* frente a bacterias grampositivas aerobias. *Enf Inf Microbiol Clin* 1992, 10: 1-5.

López P, Salas R, Vinuesa T, Gómez H. Resistencia a vancomicina en *E. faecalis* aislados de muestras clínicas. *Rev Esp Quimioterap* 1993, 6: 82-83.

Louie M, Simor AE, Szeto S, Patel M, Kreiswirth B, Low DE. Susceptibility testing of clinical isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol* 1992, 30: 41-45.

Loza E, León A, Cantón R, Elia M, Rodenas E, Baquero F, Martínez J. Actividad comparativa *in vitro* de claritromicina frente a microorganismos grampositivos. *Rev Inf Microbiol Clin* 1992, 5: 27-32.

Markowitz SM, Wells VD, Williams DS, Stuart CG, Coudron PE, Wong ES. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of β -lactamase-producing, aminoglycoside-resistant isolates of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1991, 35: 1075-1080.

Bibliografía

Martinez JL, Gutiérrez J, Maroto MC, Zuluaga A, Piédrola G. Aproximaciones al estudio de la prostatitis crónica bacteriana. *Arch Esp Urol* 1989, 42: 515-518.

Martinez L, Torres C, Ortega MC, Suárez AI, Dominguez A. Detección de resistencia de alto grado a aminoglucósidos en *Enterococcus sp.* con el sistema MicroScan y paneles con caldo de glucosa fosfato. *Rev Esp Quimioterap* 1993, 6: 298-300.

Martinez-Murcia AJ, Collins MD. *Enterococcus sulfureus*, a new yellow-pigmented *Enterococcus* species. *FEMS Microbiology Letters* 1991, 80: 69-74.

Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. Mecanismos de resistencia a los antibióticos. En *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. 3ª edición. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. Panamericana. 1991, 227-237.

Metchock B, McGowan JE Jr. Evaluation of the Vitek GPS-TA card for laboratory detection of high-level gentamicin and streptomycin resistance in *enterococci*. *J Clin Microbiol* 1991, 29: 2870-2872.

Moellering RC, Wennersten C, Weinberg AN, Medrek T. Prevalence of high-level resistance to aminoglycosides in clinical isolates of *enterococci*. *Antimicrob Agents Chemoth* 1970, 10: 335-340.

Bibliografía

Moellering RC Jr, Korseniowski OM, Sande MA, Wennersten C. Species-specific resistance to antimicrobial synergism in *Streptococcus faecium* and *Streptococcus faecalis*. *J Inf Dis* 1979, 140: 203-208.

Moellering RC Jr. Infections due to group D enterococci. *Inf Dis Rev* 1981, 6: 1-17.

Moellering RC Jr, Wennersten C. Therapeutic potential of rifampicin in enterococcal infections. *Rev Inf Dis* 1983, 5: 528-532.

Moellering RC Jr. The *Enterococci*: An enigma and a continuing therapeutic challenge. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1990, 9: 73-74.

Moellering RC Jr. The *Enterococcus*: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. *J Antimicrob Chemoth* 1991, 28: 1-12.

Moellering RC Jr. Emergence of *enterococcus* as a significant pathogen. *Clin Inf Dis* 1992, 14: 1173-1178.

Mundt JO. *Enterococci* and lactic acid *Streptococci*. En *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9ª edición. Sneath PH, Mair NS, Sharpe ME. Williams & Wilkins. 1986, 1063-1066.

Murray BE, Mederski-Samoraj B. Transferable beta-lactamase. A new mechanism for *in vitro* penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. *J Clin Invest* 1983, 72: 1168-1171.

Bibliografía

Murray BE, Mederski-Samoraj B, Foster SK, Brunton JL, Harford P. *In vitro* Studies of plasmid-mediated penicillinase from *Streptococcus faecalis* suggest a Staphylococcal origin. *J Clin Invest* 1986, 77: 289-293.

Murray BE. The life and times of the *enterococcus*. *Clin Microbiol Rev* 1990_a, 3: 46-65.

Murray BE, Singh KV, Heath JD, Sharma BR, Weinstock GM. Comparison of genomic DNA_s of different enterococcal isolates using restriction endonucleases with infrequent recognition sites. *J Clin Microbiol* 1990_b, 28: 2059-2063.

Murray BE. New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *J Inf Dis* 1991, 163: 1185-1194.

Musher DM. Especies de *Enterococcus* y estreptococos del grupo D. En *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. 3ª edición. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. Panamericana. 1991, 1637-1641.

Nachamkin I, Axelrod P, Talbot G, Fisher SH, Wennersten CB, Moellering RC Jr, Mac Gregor RR. Multiply high-level-aminoglycoside-resistant *Enterococci* isolated from patients in a University Hospital. *J Clin Microbiol* 1988, 26: 1287-1291.

Bibliografía

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A2. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. 1990.

Ortega L, Lite J, Garau J. Bacteriemia por *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina. A propósito de dos casos. *Enf Inf Microbiol Clin* 1991, 9: 547-550.

Patterson J, Zervos MJ. High-level gentamicin resistance in *Enterococcus*: microbiology, genetic basis, and epidemiology. *Rev inf dis* 1990, 12: 644-652.

Peetermans WE, Sebens FW, Guiot H. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* in a bone-marrow transplant recipient. *J Inf Dis* 1991, 23: 105-109.

Perez JA, Fernandez J, Galvez R. "Nuevo método para la detección de nitritos en Microbiología". *Laboratorio* 1976, 60: 111-116.

Pesce A, Debbia EA, Toni M, Schito GC. Antibiotic resistance of clinical isolates of *enterococcus* in Italy. *Clin Inf Dis* 1992, 15: 490-494.

Pfaller MA, Niles AC, Murray PR. Evaluation of the Kirby-Bauer disc diffusion test as a screening test for high-level aminoglycoside resistance in *Enterococci*. *AJCP* 1984, 82: 458-460.

Bibliografía

Piacentini E, Amalfitano G, Ligozzi M, Canepari P, Fontana R. *In vitro* activity of cefpirome (HR 810) against enterococci and Staphylococci. *J Chemoth* 1992, 4: 338-341.

Pumarola A. Streptococcus. En *Microbiología y Parasitología Médica*. 2ª edición. Pumarola A, Rodríguez A, Garcia JA, Piédrola G. Masson-Salvat. 1991, 343-352.

Reina J, Llompart I, Gómez J, Borrel N, Serra A. Análisis de los patrones de sensibilidad y detección de alto grado de resistencia a los aminoglucósidos en 360 cepas pertenecientes al género *Enterococcus* sp. aisladas en muestras clínicas. *Rev Esp Quimioter* 1991. 4: 62-68.

Rice LB, Eliopoulos GM, Moellering RC Jr. *In vitro* synergism between daptomycin and fosfomicin against *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin resistance. *Antimicrob Agents Chemoth* 1989, 33: 470-473.

Rice LB, Calderwood SB, Eliopoulos GM, Farber BF, Rarchmer AW. Enterococcal endocarditis: a comparison of prosthetic and native valve disease. *Rev Inf Dis* 1991, 13: 1-7.

Rodríguez U, Collins MD. Phylogenetic analysis of *Streptococcus saccharolyticus* based on 16S rRNA sequencing. *FEMS Microbiology Letters* 1990, 71: 231-234.

Bibliografía

Ruoff KL. Recent taxonomic changes in the genus *Enterococcus*. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1990, 9: 75-79.

Sacher HL, Miller WC, Landau SW, Sacher ML, Dixon WA, Dietrich KA. Relapsin native-valve enterococcal endocarditis: a unique cure with oral ciprofloxacin combination drug therapy. *J Clin Pharmacol* 1991, 31: 719-721.

Sahm D, Torres C. Effects of medium and inoculum variations on screening for high-level aminoglycoside resistance in *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol* 1988_a, 26: 250-256.

Sahm DF, Torres C. High-content aminoglycoside disks for determining aminoglycoside-penicillin synergy against *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol* 1988_b, 26: 257-260.

Santos M, Gobernado M, Otero MC, Cervelló S, Báguena J. Teicoplanina en el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias gram positivas. *Rev Esp Quimioterap* 1990, 3: 60-64.

Sapico F, Canawati HN, Ginunas V, Gilmore DS, Montgomerie JZ, Tuddenham WJ, Facklam RR. Enterococci highly resistant to penicillin and ampicillin: an emerging clinical problem. *J Clin Microbiol* 1989, 27: 2091-2095.

Bibliografía

Scheld WM, Keeley JM. Imipenem therapy of experimental *staphylococcus aureus* and *Streptococcus faecalis* endocarditis. *J Antimicrob Chemoth* 1983, 12: 65-78.

Scheld WM, Sande MA. Endocarditis e infecciones intravasculares. En *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. 3ª edición. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. Panamericana. 1991, 705-742.

Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1984, 34: 31-34.

Shlaes DM, Levy J. Enterococcal bacteriemia without endocarditis. *Arch Intern Med* 1981, 141: 578-581.

Smyth EG, Stevens PJ, Holliman RE. Prevalence and susceptibility of highly gentamicin resistant *Enterococcus faecalis* in a south London teaching Hospital. *J Antimicrob Chemoth* 1989, 23: 633-639.

Spiegel CA. Laboratory detection the high-level aminoglycoside-aminocyclitol resistance in *Enterococcus* spp. *J Clin Microbiol* 1988, 26: 2270-2274.

Spiegel CA y Huycke M. Endocarditis due to Streptomycin-susceptible *Enterococcus faecalis* with high-level gentamicin resistance. *Arch Intern Med* 1989, 149: 1873-1875.

Bibliografía

Swenson JM, Hill BC, Thornsberry C. Problems with the disk diffusion test for detection of vancomycin resistance in *Enterococci*. *J Clin Microbiol* 1989, 27: 2140-2142.

Swenson JM, Ferraro MJ, Sahn DF. New vancomycin disk diffusion breakpoints for *enterococci*. *J Clin Microbiol* 1992, 30: 2525-2528.

Szeto S, Louie M, Low DE, Patel M, Simor AE. Comparison of the new MicroScan Pos MIC type 6 panel and AMS-Vitek Gram positive susceptibility Card (GPS-TA) for detection of high-level aminoglycoside resistance in *Enterococcus* species. *J Clin Microbiol* 1991, 29: 1258-1259.

Tenover FC. Molecular methods for the clinical microbiology laboratory. En *Manual of Clinical Microbiology*. 5ª edición. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. AMS. 1991, 119-127.

Thornsberry C. Antimicrobial susceptibility testing: general considerations. En *Manual of Clinical Microbiology*. 5ª edición. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. AMS. 1991, 1059-1064.

Torres C. Detección por antibiograma de la resistencia a la sinergia β -lactámicos-aminoglicósidos en *Enterococcus*. *Rev Esp Quimioterap* 1989, 2: 35-37.

Uttley A, Frcpath MB, George RC, MrcPath MB. Nosocomial enterococcal infection. *Current opinion Inf Dis* 1991, 4: 525-529.

Valle Ortiz del O, Gallés C, Codina, Cano A. Enterococos: alto nivel de resistencia a aminoglucósidos. *Enf Inf Microbiol Clin* 1989, 7: 535-541.

Vargas J, Lozano MC, Parras P, Martin E. Comparación de ATB-Vitek GPS-TA y difusión con discos en la detección de alto nivel de resistencia a aminoglucósidos en *Enterococcus spp.* *Enf Inf Microbiol Clin* 1993, 11: 182-186.

Vincent S, AI-Obeid S, Gutmann L, Collatz E, Schlaes DM. Characterization of a novel type of enterococcal vancomycin resistance. *ASM Annual Meeting* 1990, abstract A-118.

Vincent S, Knight RG, Green M, Sahm DF, Shlaes DM. Vancomycin susceptibility and identification of motile *enterococci*. *J Clin Microbiol* 1991, 29: 2335-2337.

Wanger AR, Murray BE. Activity of LY146032 against *enterococci* with and without high-level aminoglycoside-resistance, including two penicillinase-producing strains. *Antimicrob Agents Chemoth* 1988, 32: 81-83.

Bibliografia

Warren JW, Tenney JH, Hoopes JM, Muncie LM, Anthony WC. A prospective microbiologic study of bacteriuria in patients with chronic indwelling urethral catheters. *J Inf Dis* 1982, 146: 719-723.

Weissmann D, Spargo J, Wennersten C, Ferrero MJ. Detection of enterococcal high-level aminoglycoside resistance with MicroScan Freeze-Dried panels containing newly modified medium and Vitek Gram-positive susceptibility Cards. *J Clin Microbiol* 1991, 29: 1232-1235.

Whittenbury R. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *J Gen Microbiol* 1964, 35: 13-26.

Willey BM, Kreiswirth A, Simor E, Williams G, Scriver SR, Phillips A, Low DE. Detection of vancomycin resistance in *Enterococcus* species. *J Clin Microbiol* 1992, 30: 1621-1624.

Williams AM, Farrow JAE, Collins MD. Reverse transcriptase sequencing of 16S ribosomal RNA from *Streptococcus cecorum*. *Letters in Applied Microbiology* 1989, 8: 185-189.

Zervos MJ, Dembinski S, Mikesell T, Schaberg DR. High-level resistance to gentamicin in *Streptococcus faecalis*: risk factors and evidence for exogenous acquisition of infection. *J Inf Dis* 1986, 153: 1075-1083.

Zervos MJ, Kauffman CA, Therasse PM, Bergman AG, Mikesell TS, Schaberg DR. Nosocomial infection by gentamicin-resistant *Streptococcus faecalis*. An epidemiologic study. *Ann Int Med* 1987, 106: 687-691.

Bibliografia

Zervos MJ, Terpenning MS, Schaberg DR, Therasse PM, Medendorp SV, Kauffamn CA. High-level aminoglycoside-resistant *Enterococci* colonization of Nursin Home and acute care Hospital patients. *Arch Intern Med* 1987_b, 147: 1591-1594.

Zervos MJ, Patterson JE, Edberg S, Pierson C, Kauffman CA, Mikesell TS, Schaberg DR. Single-concentration broth microdilution test for detection of high-level aminoglycoside resistance in *Enterococci*. *J Clin Microbiol* 1987_c, 25: 2443-2444.