Resistencia a antimicrobianos en cepas de *Enterococcus* sp aisladas en hospitales del norte de Chile

Juan Silva A., Leyla Asserella R., Nury Bolados G., Nelson Herrera H. y Johanna Leyton O.

Universidad de Antofagasta.

Departamento de Tecnología
Médica-INDES. Antofagasta, Chile

Financiamiento:

Proyecto PROIM 1357, DINV de la
Universidad de Antofagasta y
Proyecto C-13955 Fundación Andes

Recibido: 24 febrero 2006

Aceptado: 5 abril 2006

Correspondencia a:

Juan Silva Avalos
jsilva@uantof.cl

Resistance to antimicrobial drugs in *Enterococcus* sp strains isolated in hospitals of Northern Chile

The prevalence of different species of *Enterococcus* and the resistance to antimicrobial drugs was studied in strains isolated in 5 hospitals of Northern Chile. A total of 249 of *Enterococcus* spp strains were included in this study. Enterococci were mostly isolated from urine and wounds. Among five species identified, *E. faecalis* and *E. faecium* were most frequently isolated in the all hospitals. High susceptibility to beta-lactam antibiotics, moderate resistance to tetracycline, ciprofloxacin and erythromycin, and high resistance to chloramphenicol was observed. Vancomycin resistance was absent. Approximately 12% of *Enterococcus* spp strains presented high level of gentamicin resistance. Multiresistance to 3 or more antimicrobial agents was detected in 30% of total *Enterococcus* strains studied.

Key words: *Enterococcus* spp, resistance, multiresistance, nosocomial infections.

Palabras claves: *Enterococcus* sp, resistencia, multiresistencia, infecciones nosocomiales.

Introducción

Enterococcus sp forma parte de la microbiota intestinal propia del hombre y los animales. También puede colonizar la piel y las mucosas del tracto respiratorio superior y genital¹. A pesar de que no era considerado como patógeno primario, hoy en día *Enterococcus* sp ha emergido como una de las principales causas de infecciones intrahospitalarias en todo el mundo. Su importancia nosocomial ha ido en aumento debido a su gran capacidad de adquirir elevados grados de resistencia a antimicrobianos, dificultando su tratamiento^{2,3}. En E.U.A., *Enterococcus* sp causa más de 12% de las infecciones nosocomiales⁴ y constituye uno de los tres patógenos más comúnmente aislados en las infecciones intrahospitalarias⁵.

La mayoría de las cepas de *Enterococcus* son naturalmente resistentes a varios grupos de antibacterianos, en los que se incluye cefalosporinas, aminoglucósidos (a concentraciones bajas) y cotrimoxazol^{6,7}. En adición a esta resistencia natural, *Enterococcus* ha adquirido cierta resistencia a otros antibacterianos a través de plásmidos y transposones, quienes transportan genes que codifican resistencia a ampicilina, penicilina, macrólidos, cloranfenicol y a concentraciones elevadas de aminoglucósidos y cotrimoxazol⁸. Debido a ello, *Enterococcus* ha llegado a ser frecuentemente resistente a la mayoría de los antibacterianos

usados en clínica, excepto vancomicina, que se considera el fármaco de elección para el tratamiento de infecciones causadas por estas bacterias. Sin embargo, hoy en día se aíslan con bastante frecuencia cepas de *Enterococcus* resistentes a vancomicina (ERV) en los hospitales de Europa⁹⁻¹² y en E.U.A.^{13,14}.

La epidemiología de las cepas resistentes de *Enterococcus* sp parece diferir en diversas partes del mundo. En E.U.A. es común la diseminación de clones de cepas endémicas de ERV al interior de un determinado hospital y entre diversas instituciones¹³⁻¹⁵. Entre 15 y 24% de los pacientes hospitalizados fueron colonizados con ERV¹⁶, pero no se ha documentado extensamente la colonización por ERV entre personas sanas. Se piensa, por ende, que ERV ha evolucionado y se ha diseminado debido al uso de antibacterianos de amplio espectro, como cefalosporinas de 3ª generación, que han contribuido a la colonización por cepas ERV en los hospitales^{9,17,18}. En cambio en Europa, la transmisión de ERV parece haber ocurrido desde los animales a los seres humanos vía cadena alimentaria¹⁹. El uso de avoparcina, antimicrobiano glicopeptídico, como promotor del crecimiento de las aves, ha contribuido a la selección de cepas resistentes a avoparcina y vancomicina en las aves; posteriormente, estas cepas de EVR pasaron al hombre y se diseminaron en la población y en los hospitales^{20,21}.

En América Latina existe escasa información sobre

aislados de ERV. Se han detectado limitaciones en algunos laboratorios para identificar ciertas especies de *Enterococcus* y en los ensayos de susceptibilidad de difusión por discos, situación descrita en Chile²²⁻²⁴ y también corroborada en Europa^{25,26} y E.U.A.²⁷. No obstante, ERV ha comenzado a aparecer en América del Sur, reportándose los primeros hallazgos de ERV en Argentina y Brasil^{28,29}. En Chile, se comunicó ya el primer aislado de *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina³⁰. De acuerdo a los reportes del Instituto de Salud Pública (ISP) existe un aumento paulatino de aislados de ERV en nuestro país, pero no en las proporciones que se describen en E.U.A. y Europa. También se ha reportado que la técnica de difusión por discos tiene algunas dificultades para interpretar correctamente las cepas ERV; debido a ello, el ISP ha recomendado el ensayo de E-test para evaluar su susceptibilidad *in vitro* en los hospitales del país.

Por otro lado, ha sido descrito en varios países el aislamiento de *Enterococcus* sp con alta resistencia a aminoglucósidos, tanto en cepas aisladas desde humanos, como también de animales y alimentos²¹. Un ejemplo de ello es la resistencia a concentraciones elevadas de gentamicina (CIM > 2.000 µg/ml), lo que constituye un serio problema terapéutico, especialmente en pacientes con endocarditis³¹.

La alta resistencia descrita en cepas de *Enterococcus* está asociada a genes de resistencia que codifican para enzimas modificadoras de aminoglucósidos^{32,33}.

En Chile existe escasa información sobre resistencia a los antibacterianos en *Enterococcus* sp; se ha descrito resistencia a estreptomycin y gentamicina a concentraciones elevadas, tanto en cepas de *E. faecalis* como *E. faecium*³⁴. Giglio y col³⁴ describieron que *E. faecalis* y *E. faecium* eran las especies que se aislaban con mayor frecuencia en el Hospital San Juan de Dios de Santiago, lo que concuerda con nuestro estudio. Ambas especies presentan una alta susceptibilidad a los β-lactámicos y una resistencia aumentada a concentraciones elevadas de aminoglucósidos.

El propósito de este trabajo es conocer la prevalencia de las especies de *Enterococcus* aisladas en hospitales del norte de Chile y su resistencia a antimicrobianos.

Material y Métodos

Obtención de cepas de *Enterococcus* sp. Se recolectó un total de 249 cepas identificadas presuntivamente como *Enterococcus* sp en hospitales públicos tipo A de las regiones norteñas de Chile (Iª a IVª) -Arica, Iquique, Antofagasta, Calama y La Serena-, durante el periodo abril a noviembre del año 2002,

correspondiendo a algunas cepas del total de las aisladas en dicho periodo. Las cepas de *Enterococcus* sp fueron recuperadas de diferentes muestras clínicas, cuya frecuencia de aislamiento y hospital de procedencia se detallan en la Tabla 1.

Aislamiento e identificación. Todas las cepas de *Enterococcus* fueron sembradas en agar bilis esculina (Oxoid) para el aislamiento y la posterior identificación de las especies. A las colonias pequeñas de color café oscuro a negro se les realizó tinción de Gram y prueba de crecimiento en NaCl 6,5%, con el objeto de caracterizar las cepas como *Enterococcus* sp. La identificación de la especie se realizó mediante el ensayo frente a diferentes sustratos en los que se incluyeron diversos carbohidratos y aminoácidos, y otras pruebas bioquímicas de acuerdo a lo descrito por Manero y Blanch³⁵.

Estudio de susceptibilidad a antimicrobianos. Se determinó la CIM mediante la técnica de dilución en placa (NCCLS, 2001)³⁶. Para ello se hicieron diluciones seriadas crecientes desde 0,25 a 1.024 sg/ml con los siguientes antimicrobianos: ampicilina (AMP), ciprofloxacina (CIP), cloranfenicol (CAF), gentamicina (G), penicilina (P), tetraciclina (T) y vancomicina (VAN). Se incluyó como control la cepa *E. faecalis* ATCC 29212. Se calcularon los porcentajes de resistencia y los resultados fueron expresados como CIM₅₀ y CIM₉₀. Además se determinaron los patrones de resistencia con el fin de establecer los antibiotipos prevalentes en las cepas de *Enterococcus*.

Resultados

Las cepas de *Enterococcus* sp provinieron de muestras de orina, secreción de herida y otras (Tabla 1). En el Hospital de Iquique se detectó presencia de *Enterococcus* sp en 4 hemocultivos (19%), constituyendo el mayor número de aislados con respecto a los demás hospitales. La tipificación de 249 cepas de *Enterococcus* documentó la existencia de 5 especies siendo *E. faecalis* la más frecuentemente aislada (85,1%), luego *E. faecium* (9,6%), *E. durans* (3,2%), *E. avium* (1,2%) y *E. raffinosus* (0,8%) (Tabla 2).

Algunas cepas presentaban elevados grados de resistencia a antimicrobianos. Los patrones de susceptibilidad *in vitro* de *Enterococcus* sp eran muy similares en todos los aislados de los distintos hospitales (Tabla 3). Se observó ausencia o muy escasa resistencia a VAN, AMP y P. Moderada resistencia se apreció a G, CIP y T, y una elevada resistencia a CAF.

Las cepas de *E. faecalis* de los cinco hospitales presentaron CIMs muy similares; la CIM₅₀ a AMP y P era entre 0,5 y 1 µg/ml y la CIM₉₀ entre 1 y 8 µg/ml.

Tabla 1. Detección de *Enterococcus* sp según muestras clínicas en los hospitales de las regiones nortenas de Chile

Hospital	Procedencia				Total (n)
	Orina (n)	Secreción de heridas (n)	Otras secreciones (n)	Sangre (n)	
Arica	10	11	9	0	30
Iquique	21	8	4	4	37
Antofagasta	12	10	6	0	28
Calama	23	26	20	1	70
La Serena	30	33	19	2	84
Total	96	88	58	7	249

Frente a CIP y G, las CIMs fueron un poco más elevadas y en algunas cepas la CIM₉₀ a G alcanzó a 1.024 µg/ml, lo que fue observado en la mayoría de los hospitales (Tabla 4). Frente a CAF, las CIM₅₀ y CIM₉₀ presentaron los mayores grados de resistencia.

Patrones de resistencia de *E. faecalis*. Se encontraron 11 antibiotipos diferentes en los distintos hospitales, observándose resistencia a 2 y hasta 6 antibacterianos en un mismo establecimiento (Tabla 5). La multi-resistencia a 3 y más antibacterianos ocurrió en 30%

de las cepas de *E. faecalis* resistentes. El patrón de resistencia T – CAF fue el más frecuentemente detectado. También se comprobó que algunos antibiotipos que presentaban resistencia a 2, 3 y 4 antibacterianos se encontraban distribuidos en todos los hospitales.

Finalmente, todas las especies de *E. faecalis*, *E. faecium* y otros *Enterococcus* presentaron un perfil de resistencia muy similar, pero las cepas de *E. faecium* presentaban una mayor resistencia a antimicrobianos (Figura 1).

Tabla 2. Especies de *Enterococcus* detectadas en hospitales de las regiones nortenas de Chile

Especie	n	%
<i>E. faecalis</i>	212	85,1
<i>E. faecium</i>	24	9,6
<i>E. durans</i>	8	3,2
<i>E. avium</i>	3	1,2
<i>E. raffinosus</i>	2	0,8
Total	249	100,0

Tabla 3. Resistencia de cepas de *Enterococcus* sp a diversos antimicrobianos según hospital

Procedencia (Hospital)	n de cepas	Antimicrobiano						
		AMP (%R)	CIP (%R)	CAF (%R)	G (%R)	P (%R)	T (%R)	VAN (%R)
Arica	30	0	46,7	86,7	13,3	3,3	23,3	0
Iquique	37	0	43,2	83,8	27,0	2,7	67,6	0
Antofagasta	28	0	25,0	92,9	21,4	3,6	67,9	0
Calama	70	2,9	25,7	91,4	5,7	4,3	81,4	0
La Serena	84	2,4	35,7	92,8	8,3	3,6	53,6	0
Total	249	1,6	30,1	90,4	12,4	3,3	61,4	0

AMP: ampicilina. CIP: ciprofloxacina. CAF: cloranfenicol. G: gentamicina.

P: penicilina. T: tetraciclina. VAN: vancomicina.

Tabla 4. Valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ de las cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas en los hospitales del norte de Chile

Antimicrobianos	Rango	Arica		Iquique		Antofagasta		Calama		La Serena	
		CIM ₅₀	CIM ₉₀	CIM ₅₀	CIM ₉₀	CIM ₅₀	CIM ₉₀	CIM ₅₀	CIM ₉₀	CIM ₅₀	CIM ₉₀
Ampicilina	0,25 – 8	1	8	1	4	1	8	1	2	0,5	4
Ciprofloxacina	0,25 – 128	1	8	2	128	0,5	8	1	8	1	64
Cloranfenicol	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128	> 128
Eritromicina	0.25 – 128	0,25	> 128	16	> 128	8	> 128	16	> 128	16	> 128
Gentamicina	4 – 1.024	4	64	4	1.024	4	1.024	4	64	4	1.024
Penicilina	0,25 – 4	1	4	1	2	0,5	4	1	4	1	2
Tetraciclina	2 – 128	2	128	16	128	32	>128	32	64	16	64
Vancomicina	0,25 – 2	0,5	2	1	2	0,5	2	0,5	2	0,5	1

Tabla 5. Patrones de resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Enterococcus faecalis* aislados en hospitales de las regiones nortenas de Chile

Patrones de resistencia a antimicrobianos	Frecuencia de cepas de <i>Enterococcus</i> sp multiresistente										Total	
	Arica		Iquique		Antofagasta		Calama		La Serena			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
G - CIP			3	(10,0)	1	(3,4)					4	(2,2)
T - CIP	4	(22,2)					3	(6,1)	3	(5,3)	10	(5,5)
C - CIP	4	(22,2)			2	(6,9)	2	(4,1)	4	(7,0)	12	(6,6)
C - G	1	(5,5)	1	(3,3)	2	(6,9)	1	(2,0)	4	(7,0)	9	(4,9)
C - T	4	(22,2)	15	(50,0)	15	(51,7)	33	(67,3)	26	(45,6)	93	(50,8)
C - T - CIP	2	(11,1)	5	(16,7)	3	(10,3)	4	(8,2)	14	(24,6)	28	(15,3)
C - T - G	1	(5,5)			2	(6,9)			1	(1,7)	4	(2,2)
C - T - AMP							1	(2,0)	3	(5,3)	4	(2,2)
C - T - CIP - G	2	(11,1)	6	(20,0)	4	(13,8)	2	(4,1)			14	(7,6)
C - T - CIP - G - P							2	(4,1)	1	(1,7)	3	(1,6)
C - T - CIP - G - P - AMP							1	(2,0)	1	(1,7)	2	(1,1)
AMP: ampicilina. CIP: ciprofloxacina. G: gentamicina. P: penicilina. T: tetraciclina.												

AMP: ampicilina. CIP: ciprofloxacina. G: gentamicina. P: penicilina. T: tetraciclina.

Figura 1. Porcentajes de resistencia de las principales especies de *Enterococcus* frente a 7 antimicrobianos.

Discusión

En este estudio se encontró una elevada prevalencia de *E. faecalis*, seguida en menor proporción por *E. faecium*, resultados concordantes con estudios realizados tanto en el extranjero como en otras ciudades de país^{6,34}. Los mayores aislados ocurrieron en muestras de orina y secreción de herida de manera similar a lo observado en Santiago; sin embargo, los aislados desde hemocultivos fueron más bajos (2,8%)³⁴.

Al analizar los resultados de susceptibilidad *in vitro*, encontramos entre 1,6 y 3,3% de cepas de *Enterococcus* sp resistentes a AMP y P (> 64 µg/ml), lo cual difiere con los resultados obtenidos por Giglio y col³⁴, quienes no describieron cepas resistentes; por el con-

trario, estos resultados concuerdan con los obtenidos por investigadores argentinos, quienes detectaron cepas de *Enterococcus* resistentes a AMP y además, presencia de β -lactamasa en cepas de *E. faecalis*³⁷. Afortunadamente ninguna de las cepas de las distintas especies de *Enterococcus* identificadas presentó resistencia a VAN. Últimamente el Laboratorio de referencia para *Enterococcus* del ISP ha recibido algunas cepas de *Enterococcus* sp con resistencia a VAN desde diversos hospitales, aumentando en el año 2001 el porcentaje de cepas de ERV en 4% con respecto al año 2000³⁸.

En los años recientes se ha informado sobre un aumento de resistencia a CIP como así también a T³⁹. En nuestro estudio se encontró una moderada resistencia a CIP (30,1%), lo que representa cierta preocupación, en particular para el tratamiento de infecciones urinarias. El principal mecanismo de acción de las quinolonas en *Enterococcus* es la inhibición de ADN-girasa y topo-isomerasa IV y la resistencia ocurriría por mutaciones en los genes que codifican para la síntesis de estas enzimas⁴⁰.

La resistencia exhibida frente a CAF es alarmante en este estudio, (90,2%), situación que también ha sido comentada por Giglio y col³⁴.

Nuestros resultados demuestran que aproximadamente 10% de las cepas de *Enterococcus* sp presentó resistencia a concentraciones de G > 1.024 μ g/ml. Esto puede relacionarse con la adquisición de genes que codifican para la síntesis de enzimas modificantes de aminoglucósidos, hecho descrito por varios investigadores^{32,33}. Estudios realizados en España demostraron que en *Enterococcus* con alto nivel de resistencia a G y estreptomina se encontraban presentes mayoritariamente las enzimas modificantes APH (3') y AAC(6')-APH(2'')⁴¹. En una evaluación preliminar estudiamos la presencia de la enzima bifuncional y ella ha sido detectada en cepas clínicas y ambientales de *E. faecalis* aisladas en Antofagasta⁴². Esto encierra una cierta gravedad, pues limita su asociación con β -lactámicos para obtener sinergia y poder tratar infecciones graves como endocarditis, bacteriemias o meningitis producidas por *Enterococcus*⁷.

Las cepas de *E. faecium* presentaron mayor resis-

tencia a los antimicrobianos que las de *E. faecalis*, concordando con lo descrito en la literatura científica. También es importante destacar la multi-resistencia observada, entre las cuales se encuentran algunas cepas con un mismo antibiotipo, prevalentes y comunes en todos los hospitales considerados en el estudio. Esto sugiere la presencia de clones de *Enterococcus* sp que se estarían diseminando por los hospitales del norte de Chile. Son necesarios mayores estudios buscando la presencia de *Enterococcus* en diferentes ambientes, mediante marcadores genéticos (genes de virulencia, genes de resistencia y otros) que nos permitan establecer la vía de transmisión de las cepas resistentes.

Estos resultados señalan que las cepas de *Enterococcus* sp aisladas en nuestro medio hospitalario están adquiriendo cada vez mayor resistencia a antimicrobianos y por lo tanto, se hace necesario mantener una vigilancia permanente sobre ellas, realizar su adecuada identificación y detectar oportunamente la resistencia, con el fin de aplicar medidas preventivas adecuadas antes de que estos microorganismos causen un mayor impacto nosocomial.

Resumen

Se estudió la prevalencia de diferentes especies de *Enterococcus* y su resistencia a antimicrobianos en cepas aisladas en 5 hospitales del norte de Chile. Un total de 249 cepas de *Enterococcus* spp fueron incluidas en el estudio. Las principales fuentes de obtención fueron muestras de orinas y heridas operatorias. Se identificaron 5 especies de *Enterococcus*, siendo *E. faecalis* y *E. faecium* las especies aisladas con mayor frecuencia en todos los hospitales. Se observó una alta susceptibilidad a los antimicrobianos β -lactámicos, resistencia moderada a tetraciclina, ciprofloxacina y eritromicina, y resistencia elevada a cloranfenicol. No se detectó resistencia a vancomicina y aproximadamente, 12% de las cepas de *Enterococcus* sp presentó resistencia a altas concentraciones de gentamicina. En 30% del total de las cepas de *Enterococcus* estudiadas se observó resistencia a 3 y más antimicrobianos.

Referencias

- 1.- Murray B E. Vancomycin-resistant enterococci. Am J Med 1997; 102: 284-93.
- 2.- Moellering R C Jr. The enterococci: an enigma and a continuing therapeutic challenge. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990; 9: 73-4.
- 3.- Spera R V, Farber B F. Multidrug-resistant *Enterococcus faecium*. An intreatable nosocomial pathogen. Drug 1994; 48: 678-88.
- 4.- Linden P K, Millar C B. Vancomycin-resistant enterococci: the clinical effect of a common nosocomial pathogen. Diagn Microbiol Infect Dis 1993; 33: 113-20.
- 5.- Shepard B D, Gilmore M S. Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. Microbes Infect 2002; 4: 215-24.
- 6.- Palavecino E. Puesta al día en enterococos-año 2001. Identificación de especies y estudio de susceptibilidad antimicrobiana. Rev Chil Infect 2001; 18: 95-100.
- 7.- Juliet C. Estudio de susceptibilidad *in vitro* de *Enterococcus* spp. Rev Chil Infect 2002; 19: 111-5.

- 8.- Murray B E. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 37-47.
- 9.- Bonten M J M, Hayden M K, Nathan C, van Voorhis J, Matushek M, Slaughter S, et al. Epidemiology of colonization of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1996; 348: 1615-9.
- 10.- Kjerulf A, Pallesen L, Westh H. Vancomycin-resistant enterococci at a large university hospital in Denmark. *APMIS* 1996; 104: 475-9.
- 11.- Håallgren A, Abednazari H, Ekdahl C, Hanberger H, Nilsson M, Samuelsson A, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci in intensive care units in Sweden evaluated by different MIC breakpoint systems. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 53-62.
- 12.- Scanelli M, Pellizer G, de Halla F, D'Emilio A, Rasso M, Bragagnolo L, et al. Epidemiological analysis of vancomycin-resistant enterococci in a large tertiary-care hospital in Northern Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 609-16.
- 13.- Pegues D A, Pegues C F, Hibberd P L, Ford D S, Hooper D C. Emergence and dissemination of a highly resistant *van A* strain of *Enterococcus faecium* at a large teaching hospital. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1565-70.
- 14.- Rice L B. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 183-7.
- 15.- Quale J, Landman D, Saurina G, Atwood E, DiTore V, Patel K. Manipulation of a hospital antimicrobial formulary to control an outbreak of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 1996; 23: 1020-5.
- 16.- Martone W J. Spread of vancomycin-resistant enterococci: why did it happen in the United States? *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19: 539-45.
- 17.- Puzniak L A, Mayfield J, Leet T, Kollef M, Mundy LM. Acquisition of vancomycin-resistant enterococci during scheduled antimicrobial rotation in an intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 151-7.
- 18.- Rice L B, Hutton-Thomas R, Lakticova V, Helfand M S, Donskey C J. β -lactam antibiotics and gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant enterococci. *J Infect Dis* 2004; 189: 1113-8.
- 19.- Kühn I, Iversen A, Burman L G, Olsson-Liljequist B, Franklin A, Finn M, et al. Epidemiology and ecology of enterococci, with special reference to antibiotic resistant strains, in animals, humans and the environment. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14: 337-42.
- 20.- Wegener H C. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Curr Opin Microbiol* 2003; 6: 439-45.
- 21.- Iversen A, Kuhn I, Franklin A y Möllby R. High prevalence of vancomycin resistant enterococci in Swedish sewage. *J Clin Microbiol* 2002; 68: 2838-42.
- 22.- Abarca J A, Donalds L C, Pinto M E, Palavecino E, González P, Cona E, et al. Proficiency in detecting vancomycin resistance in enterococci among clinical laboratories in Santiago, Chile. *Emerg Infect Dis* 2001; 5: 839-40.
- 23.- Cookson S T, Lopardo H, Marín M, Arduino R, Rial M J, Altschuler M, et al. Study to determine the ability of clinical laboratories to detect antimicrobial-resistant *Enterococcus* spp in Buenos Aires, Argentina. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 29: 107-9.
- 24.- McDonalds L C, Garza L R, Jarvis W R. Proficiency of clinical laboratories in Spain in detecting vancomycin-resistant *Enterococcus*. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 143-6.
- 25.- Alonso-Echanove J, Robles B, Jarvis W R. Proficiency of clinical laboratories in Spain in determining vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. The Spanish VRE Study Group. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2148-52.
- 26.- Jones M E, Gesu G, Ortisi G, Sahm D F, Critchley I A, Goglio A, et al. Glycopeptide susceptibility in *Enterococcus* and *Staphylococcus* spp using routine laboratory methodologies. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 101-11.
- 27.- Tenover F C, Tokar F C, Swenson J, Spitalny K, Jarvis W. Ability of clinical laboratories to detect antimicrobial resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1695-9.
- 28.- Marín M E, Mera J R, Arduino R C, Correa A P, Coque T M, Stamboulia D, et al. First report of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* isolated in Argentina. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 235-6.
- 29.- Dalla-Costa L M, Souza D C, Martins L T, Zanella R C, Brandilone M C, Bokermann S, et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil. *Braz J Infect Dis* 1998; 2: 160-3.
- 30.- Marovac J, Campos M I. *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina. *Rev Méd Chile* 2000; 128: 685-6.
- 31.- Donabedian S M, Thal L A, Hershberger R, Perri M B, Chow J W, Bartlett P, et al. Molecular characterization of gentamicin-resistant enterococci in the United States: evidence of spread from animals to humans through food. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1109-13.
- 32.- Chow J W. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis* 2000; 31: 586-9.
- 33.- Tsai S F, Zervos M J, Clewell D B, Donabedian S M, Sahm D F, Chow J W. A new-level gentamicin resistance gene, *aph(2'')-Id*, in *Enterococcus* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1229-32.
- 34.- Giglio M, Pinto M, Córdova E, Escandar P, Waman C. Identificación de especies de *Enterococcus* en muestras clínicas y susceptibilidad a agentes antimicrobianos. *Rev Méd Chile* 1996; 124: 70-6.
- 35.- Manero A, Blanch A. Identification of *Enterococcus* spp with a biochemical key. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 4425-30.
- 36.- NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eleventh Informational Supplement NCCLS Document M100-S11. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Wayne, Pa. 2001
- 37.- Murray B E, Singh K V, Markowitz S M, Lopardo H A, Patterson J E, Zervos M J, et al. Evidence for clonal spread of a single strain of beta-lactamase-producing *Enterococcus (Streptococcus) faecalis* to six hospitals in five states. *J Infect Dis* 1991; 163: 780-5.
- 38.- Vigilancia de *Enterococcus* spp 2001. www.ispch.cl. (accedido 03/10/2003)
- 39.- Iversen A, Kuhn I, Rahman M, Franklin A, Burman L G, Olsson-Liljequist B, et al. Evidence for transmission between humans and the environment of a nosocomial strain of *Enterococcus faecium*. *Environ Microbiol* 2004; 6: 55-9.
- 40.- Onodera Y, Okuda J, Tanaka M, Sato K. Inhibitory activities of quinolones against DNA gyrase and topoisomerase IV of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1800-4.
- 41.- del Campo R, Tenorio C, Rubio C, Castillo J, Torres C, Gómez-Lus R. Aminoglycoside-modifying enzymes in high-level streptomycin and gentamicin resistant *Enterococcus* spp in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 15: 221-6.
- 42.- Rodríguez Y, Silva J, Araya J, Kühn I, Colque-Navarro P, Möllby R. Caracterización de la resistencia a aminoglicósidos de cepas clínicas y ambientales de enterococos aisladas en Antofagasta. *Acta Microbiol* 2004; 10: 129.