

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Susceptibilidad antimicrobiana y factores de virulencia en especies de *Enterococcus* causantes de infecciones pediátricas en Cuba

Dianelys Quiñones Pérez,<sup>1</sup> Deisy Marrero,<sup>2</sup> Bárbara Falero,<sup>3</sup> Isis Tamargo,<sup>4</sup> Alina Llop,<sup>5</sup> Nobumichi Kobayashi<sup>6</sup> y Rosa Del Campo<sup>7</sup>

### RESUMEN

**OBJETIVOS:** conocer la prevalencia de especies de enterococos causantes de infecciones en niño, su virulencia, susceptibilidad antimicrobiana e infecciones más frecuentes. **MÉTODO:** se estudiaron 156 aislamientos de enterococos causantes de infecciones en niños ingresados en el Hospital "Octavio de la Concepción y La Pedraja", Holguín. Se llevó a cabo la identificación de especies y detección de factores de virulencia por métodos fenotípicos. Se determinó la concentración inhibitoria mínima para vancomicina, ciprofloxacina, ampicilina, gentamicina, estreptomina, cloranfenicol, nitrofurantoína, eritromicina, tetraciclina, levofloxacina y norfloxacina, según las normas del *Clinical Laboratory Standard Institute*. **RESULTADOS:** las cepas se aislaron de sangre, orina, heridas quirúrgicas, piel y tejido blando, oído medio, vulva, punta de catéter, líquido peritoneal, vagina, esperma, líquido cefalorraquídeo, y otras fuentes. La especie prevalente fue *Enterococcus faecalis*, seguido por *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus raffinosus*, *Enterococcus casseliflavus* y *Enterococcus avium*. La producción de proteasa y hemolisina se detectó solo en *E. faecalis*. *E. faecium* mostró porcentajes más altos de resistencia a ampicilina, ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina, mientras que *E. faecalis* mostró más resistencia a eritromicina, cloranfenicol y tetraciclina. De *E. faecalis* 58 aislamientos y 12 de *E. faecium* presentaron altos niveles de resistencia a gentamicina, así como 45 y 32,3 % mostraron altos niveles de resistencia a estreptomina, respectivamente. Se detectó una cepa de *E. faecium* resistente a vancomicina. **CONCLUSIONES:** la circulación de cepas de enterococos virulentas y resistentes a diferentes antibióticos indica la necesidad del control de la infección enterocócica y la importancia del monitoreo de la susceptibilidad antimicrobiana, para prevenir la selección de cepas con estos rasgos dentro de las unidades hospitalarias y su posible expansión a la comunidad.

**Palabras clave:** Susceptibilidad antimicrobiana, factores de virulencia, *Enterococcus*, niños.

### INTRODUCCIÓN

Hasta mediados de los años 70, *Enterococcus* era considerado como una causa rara de septicemia y meningitis en el recién nacido.<sup>1</sup> Sin embargo, desde finales de los años 80 y principio de los 90,

los enterococos comenzaron a emerger como causa importante de infección nosocomial e infecciones adquiridas en la comunidad, afectando a niños y adultos.<sup>2,3</sup> Entre las infecciones más frecuentes reportadas se encuentran las del tracto urinario, heridas quirúrgicas, septicemia, endocarditis,

<sup>1</sup> Especialista de II Grado en Microbiología. Máster en Bacteriología-Micología. Departamento de Bacteriología-Micología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Especialista de II Grado en Microbiología. Servicio de Microbiología. Hospital Pediátrico "Octavio de la Concepción y la Pedraja", Holguín, Cuba.

<sup>3</sup> Especialista de I Grado en Microbiología. Hospital Pediátrico "Octavio de la Concepción y la Pedraja", Holguín, Cuba.

<sup>4</sup> Doctora en Ciencias de la Salud. Departamento de Bacteriología-Micología. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>5</sup> Doctora en Ciencias Médicas. Departamento Subdirección de Microbiología. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>6</sup> Doctor en Ciencias Médicas. Universidad Médica de Sapporo, Japón.

<sup>7</sup> Doctora en Ciencias Médicas. Hospital "Ramón y Cajal", Madrid, España.

abscesos intraabdominales y pelvianos.<sup>2,3</sup> *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* son las especies mayormente aisladas al nivel mundial, mientras que otras, como *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. durans*, *E. avium*, *E. raffinosus*, se reportan en menor proporción.<sup>4</sup>

Uno de los problemas más preocupantes en el género *Enterococcus*, es su gran resistencia adquirida a una amplia y variada gama de antibióticos unido a una elevada resistencia intrínseca, con notable adaptación a la exposición antibiótica.<sup>5</sup> Por otro lado, su patogenicidad se ha incrementado con el curso de los años; se reportan varios factores de virulencia como las hemolisinas, proteasas, sustancias de agregación, entre otros.<sup>6</sup>

En Cuba, según datos de la vigilancia nacional que se ha llevado a cabo para enterococo y de investigaciones realizadas, se ha constatado la importancia de esta bacteria como patógeno nosocomial, la cual presenta altos niveles de resistencia a aminoglucósidos, una de las terapias de elección frente a la infección enterocócica, que junto a la ampicilina logran el efecto bactericida sobre este microorganismo.<sup>7</sup> Sin embargo, el conocimiento sobre las infecciones enterocócicas en niños en Cuba es muy limitado. Por tal motivo, el propósito del presente trabajo fue determinar la prevalencia de especies de enterococos causantes de infecciones pediátricas, su virulencia y susceptibilidad antimicrobiana, así como conocer las infecciones más frecuentes.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo-retrospectivo que incluyó la caracterización de 156 aislamientos de enterococo aislados durante el período de enero 2000 a noviembre 2005, procedentes de muestras clínica de neonatos y niños menores de 14 años ingresados en el Hospital "Octavio de la Concepción y la Pedraja", Holguín. Para investigar sobre las afecciones clínicas en los pacientes a quienes se les aisló los enterococos estudiados y los servicios donde estuvieron ingresados, se revisaron los cuadernos de registro del Laboratorio de Microbiología de este hospital.

*Identificación genérica y de especie:* se realizó por métodos convencionales definidos por

*Facklam y Collins.*<sup>8</sup> Se empleó el API ID 32 ESTREPTOCOCAL (Biomerieux) para confirmar la identificación de especie.

*Susceptibilidad antimicrobiana:* se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) por E-test para vancomicina, ciprofloxacina y por el método de dilución en agar para los antibióticos ampicilina, gentamicina, estreptomina, cloranfenicol, nitrofurantoína, eritromicina, tetraciclina, levofloxacina y norfloxacina, según las normas NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) actualmente denominadas CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*).<sup>9</sup> *E. faecalis* ATCC 29212 se utilizó como cepa control. En las cepas resistentes a la ampicilina se determinó la producción de betalactamasa por el método de la cefalosporina cromógena (Nitrocefin, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra), según las instrucciones del fabricante.

*Determinación de factores de virulencia:* la producción de hemolisina y proteasa se determinó en Agar Trypticase Soya y se complementó con 5 % de sangre de caballo y 1,5 % de leche descremada, respectivamente. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Aquellas cepas que produjeron una zona clara de beta-hemólisis alrededor de la colonia fueron consideradas productoras de hemolisina, mientras que un halo claro alrededor de la colonia después de la incubación se consideró una cepa con actividad de proteasa.

## RESULTADOS

Se identificaron 6 especies de enterococos causantes de infecciones en niños. *E. faecalis* fue la especie prevalente (83,3 %), seguido por *E. faecium* (12,8 %). Otras especies menos frecuentemente identificadas fueron: *E. gallinarum* (1,3 %), *E. raffinosus* (1,3 %), *E. casseliflavus* (0,6 %) y *E. avium* (0,6 %).

Las cepas se aislaron de sangre (20,5 %), orina (12,1 %), heridas quirúrgicas (13,4 %), piel y tejido blando (10,2 %), oído medio (9 %), vulva (7,7 %), punta de catéter (5,1 %), líquido peritoneal (4 %), vagina (3,2 %), esperma (2,5 %), líquido cefalorraquídeo (2 %), y otras fuentes (10,2 %).

**Tabla 1.** Distribución de CIM, CIM<sub>50</sub> y porcentajes de resistencia a diferentes antibióticos estudiados en *E. faecalis* y *E. faecium* aislados de niños

Especies (n)	Porcentajes acumulativos de inhibición (µg/mL):																	CIM <sub>50</sub>	R %		
	0,25	0,50	0,64	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	16	32	64	128	256	512			1 024	2 048
<i>E. faecalis</i> (130)																					
Gentamicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	51	53	53	54	55	56	59	100 <sup>a</sup>	16	44,6
Estreptomina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	35	51	68	68	70	100 <sup>a</sup>	64	32,3	
Ampicilina	3	18	-	21	-	85	-	98	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	2	0	
Vancomicina <sup>A</sup>	0	48	48	71	82	95	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	
Ciprofloxacina <sup>A</sup>	0	7	7	10	30	86	90	94	94	98	98	98	99	100	-	-	-	-	2	10	
Norfloxacina	-	-	-	-	-	18	-	50	50	91	96	99	99	99	100	-	-	-	4	9,2	
Levofloxacina	-	-	-	-	49 <sup>b</sup>	88	-	95	-	97	99	100	-	-	-	-	-	-	2	3	
Eritromicina	3	10	-	21	-	35	-	48	-	49	61	81	81	96	100	-	-	-	16	52,3	
Cloranfenicol	-	-	-	-	-	0	-	20	-	26	59	74	74	89	100	-	-	-	16	41,1	
Tetraciclina	-	-	-	-	-	24 <sup>c</sup>	-	29	-	33	46	62	62	78	85	100	-	-	32	66,9	
Nitrofurantoina	-	-	-	-	-	4,6	-	27,6	-	70	85,3	93	93	99,2	100	-	-	-	8	0,7	
<i>E. faecium</i> (20)																					
Gentamicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	40	40	40	40	40	40	40	45	100 <sup>a</sup>	2 048 <sup>a</sup>	60
Estreptomina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	35	55	55	55	55	65	100 <sup>a</sup>	64	45	
Ampicilina	0	0	-	0	-	10	-	10	-	10	10	15	20	20	60	90	100	-	128	90	
Vancomicina <sup>A</sup>	45	45	45	45	65	95	95	95	95	95	95	95	100	100	100	100	100	-	1,5	5	
Ciprofloxacina <sup>A</sup>	0	5	5	30	30	70	75	85	85	85	90	90	100	100	100	100	100	-	2	25	
Norfloxacina	-	-	-	-	-	10	-	55	-	85	90	90	100	100	100	100	100	-	4	15	
Levofloxacina	-	-	-	-	25 <sup>b</sup>	75	-	80	-	90	95	100	100	100	100	100	100	-	2	10	
Eritromicina	10	10	-	20	20	60	-	70	-	70	70	90	100	100	100	100	100	-	2	30	
Cloranfenicol	-	-	-	-	-	0	-	65	-	75	85	90	95	100	100	100	100	-	4	15	
Tetraciclina	-	-	-	-	-	45 <sup>c</sup>	-	55	-	70	75	85	90	95	100	100	100	-	4	30	
Nitrofurantoina	-	-	-	-	-	10	-	30	-	45	60	70	70	90	100	100	100	-	16	10	

a CIM ≥ 2 048 µg/mL; b CIM ≤ 1 µg/mL; c CIM ≤ 2 mg/mL; <sup>A</sup> CIM determinada por E-test

Acorde con estos hallazgos y teniendo en cuenta la historia clínica de cada paciente se constató al enterococo como causa de septicemia, sepsis urinaria, infecciones de heridas quirúrgicas, infecciones de piel y tejido blando, otitis media, vulvitis, infección relacionada a catéter, peritonitis y meningitis.

Un hallazgo importante en este estudio fue la detección de 14 cepas causantes de otitis media donde el cultivo microbiológico reveló solamente enterococo (13 cepas de *E. faecalis* y 1 de *E. raffinosus*). Estos aislamientos fueron resistentes a gentamicina (64,3 %), estreptomycin (50 %), eritromicina (71,4 %) y cloranfenicol (50 %).

Los servicios hospitalarios en los cuales se detectó el mayor número de infecciones enterocócicas fueron: unidad de cuidado intensivo neonatal (21 %), unidad de cuidado intensivo pediátrica (18 %), cirugía (18 %), urología (16 %), otorrinolaringología (4,5 %), así como otras unidades (22,5 %).

Con respecto al estudio de la susceptibilidad antimicrobiana, en la tabla 1 se muestran los porcentajes acumulativos ( $\mu\text{g/mL}$ ) y porcentajes de resistencia de *E. faecalis* y *E. faecium* a los diferentes antibióticos estudiados. Se detectaron altos niveles de resistencia a aminoglucósidos (CIM de gentamicina:  $\geq 500 \mu\text{g/mL}$ , CIM de estreptomycin:  $\geq 2000 \mu\text{g/mL}$ ) en 45,5 y 32,6 % de las cepas, respectivamente. *E. faecium* mostró el porcentaje más alto (60 %) de resistencia a este grupo de antimicrobianos. Se encontró una resistencia combinada frente a gentamicina (rango de CIM, 512 a  $> 1024 \text{ g/mL}$ ) y estreptomycin (CIM,  $> 1024 \text{ g/mL}$ ) en 39 cepas (55 %).

A la ampicilina resultó resistente 12 % de enterococos (18 cepas de *E. faecium* y una de *E. gallinarum*) (CIM= 64-256  $\mu\text{g/mL}$ ) pero nin-

guna de las cepas produjeron  $\beta$ -lactamasa; 13 cepas resistentes a ampicilina que causaron infecciones severas (septicemia, bacteremia relacionada a catéter, infección de herida quirúrgica e infecciones intraabdominales) fueron también resistentes frente a gentamicina.

La mayoría de las cepas de enterococo fueron susceptibles a vancomicina, solo un aislamiento de *E. faecium* fue resistente a vancomicina (CIM de 32  $\mu\text{g/mL}$ ) y una cepa de *E. gallinarum* y de *E. casseliflavus* mostraron resistencia de bajo nivel con CIM de 6 a 8  $\mu\text{g/mL}$ .

La ciprofloxacina y la norfloxacina mostraron valores de CIM inferiores frente a las cepas estudiadas comparados con los obtenidos para la levofloxacina. *E. faecium* fue más resistente a las quinolonas que *E. faecalis*.

Con respecto a los factores de virulencia estudiados, 82 aislamientos (52,6 %) expresaron actividad de proteasa y hemolisina, aunque la producción de ambos factores de virulencia se detectó solo en 5 cepas de *E. faecalis*. Se observó actividad de proteasa y producción de hemolisina en 41,3 y 12,8 % cepas de *E. faecalis*, respectivamente, no detectándose en otras especies de enterococo.

De las cepas con actividad hemolítica, 50 % resultó resistente a gentamicina, mientras que 20 % fue resistente frente a estreptomycin. Un alto porcentaje de resistencia a estos antibióticos se detectó en las cepas con actividad proteasa (gentamicina, 38,2 %; estreptomycin, 29,1 %).

La distribución de los factores de virulencia según la infección se representa en la tabla 2 donde se observa que ambos factores estudiados se detectaron mayormente en infecciones severas.

**Tabla 2.** Distribución de los factores de virulencia detectados según origen clínico de las cepas.

Origen clínico de las cepas	No.	Factores de virulencia	
		proteasa	hemolisina
Septicemia	32	7 (21,8 %)	7 (21,8 %)
Infección de herida quirúrgica	21	10 (47,6 %)	6 (28,5 %)
Infección del tracto urinario	19	10 (52,6 %)	3 (15,7 %)
Infección de piel y tejido blando	16	7 (43,7 %)	0 (0 %)
Infección de oído medio	14	5 (35,7 %)	0 (0 %)
Bacteriemia relacionada a catéter	8	5 (62,5 %)	0 (0 %)
Peritonitis	6	5 (83,3 %)	4 (66,6 %)
Vaginitis	5	3 (60 %)	0 (0 %)
Infección del SNC	3	3 (100 %)	0 (0 %)
Infección del prepucio	3	0 (0 %)	1 (33,3 %)

## DISCUSIÓN

Desde 1994, se documenta la importancia creciente de los enterococos como causa de infecciones pediátricas.<sup>3</sup> Hoy, a más de una década, esta investigación reafirma este hecho, al demostrar la circulación de diferentes especies que causan serias infecciones en un hospital pediátrico.

La distribución de especies entre las cepas en estudio es similar a la reportada al nivel mundial, pues *E. faecalis* y *E. faecium* son las más frecuentemente involucradas en infecciones humanas, mientras que *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus* y *E. avium* se aíslan en menor proporción. Aunque la importancia clínica de estas últimas especies y su potencial de virulencia todavía es incierta,<sup>2,10</sup> en esta investigación *E. gallinarum* y *E. casseliflavus* causaron septicemia e infección de herida quirúrgica, lo que evidencia el papel patogénico de estas especies. Varios autores han reportado recientemente que estas especies son causa de infecciones del torrente sanguíneo y meningitis.<sup>7,11</sup>

La identificación de especies del género *Enterococcus* en cada uno de los servicios hospitalarios es de vital importancia para lograr un mejor control terapéutico de estas infecciones, considerando las diferencias especie-específicas en cuanto a la susceptibilidad a betalactámicos y glicopéptidos, sobre todo entre *E. faecalis* y *E. faecium*.

Enterococo se ha convertido en causa importante de septicemias en los recién nacidos.<sup>1</sup> Esta observación se corroboró en la presente investigación, donde la mayoría de los aislamientos procedían de hemocultivos de niños ingresados en la unidad de cuidados intensivos neonatal, lo que podría estar dado por el esfuerzo creciente de lograr la supervivencia de los recién nacidos de bajo peso, el uso extendido de nutrición parenteral y el empleo de catéter vascular que tiene lugar en esta unidad.<sup>1</sup>

Se reporta a enterococo como una causa inusual de otitis media,<sup>12</sup> sin embargo en el presente trabajo se detectaron 14 cepas responsables de esta entidad clínica. El aislamiento de este patógeno como causa de otitis media es de vital importancia por su resistencia a los antibióticos orales, normalmente prescritos para esas infec-

ciones del oído, lo que puede causar serias complicaciones como otitis crónica supurativa e infecciones del sistema nervioso central.<sup>13,14</sup>

La unidad de cuidados intensivos neonatal, la unidad de cuidados intensivos pediátrica y la unidad de cirugía aportaron el mayor número de casos. Estos resultados son similares a los informados en otros países, porque estos constituyen servicios de alto riesgo para la infección enterocócica.<sup>1,15</sup>

La presente investigación muestra la susceptibilidad de las cepas estudiadas frente a diferentes antibióticos donde se encontraron altos niveles de resistencia a aminoglucósidos. Este resultado es similar a lo reportado por Rudy y otros en un hospital pediátrico de Polonia, quienes detectaron 53 % de resistencia a gentamicina;<sup>4</sup> mientras que en un hospital pediátrico de México solo se encontró 5 % de aislamientos resistentes.<sup>3</sup> No obstante, en una investigación desarrollada en la India se detectaron porcentajes más altos de resistencia como 66 y 42 % frente a gentamicina y la estreptomina, respectivamente.<sup>2</sup> Diferencias en los niveles de resistencia a estos aminoglucósidos también se han reportado entre las diferentes especies de enterococos.<sup>16</sup>

Con el aumento de la prevalencia de esta resistencia en el mundo, ha estado muy limitada la elección de aminoglucósidos para la terapia combinada sinérgica con betalactámicos en la infección enterocócica.<sup>17</sup> Por tanto, un uso más racional de este grupo de antimicrobianos debe llevarse a cabo en ese hospital y considerarse regímenes alternativos para el tratamiento de estas infecciones.

La ampicilina es otro de los antibióticos de primera línea en la infección enterocócica. Este estudio ha detectado la circulación de cepas resistentes a este antibiótico y, a pesar de que el porcentaje no es muy alto, esto puede implicar un uso primario de la vancomicina para tratar las infecciones por enterococos resistentes a la ampicilina, lo que pudiera predisponer a la aparición de enterococos resistentes a la vancomicina. Afortunadamente el porcentaje de resistencia frente a este glicopéptido fue muy bajo y es similar a los resultados de la Vigilancia Nacional de la Resistencia de enterococo en Cuba durante el período 2000-2004 (Resistencia: 2,7 %),<sup>18</sup> lo que contrasta con varios reportes sobre epidemias por

*Enterococcus* Vancomicina-Resistente en unidades pediátricas de otros países.<sup>15</sup>

*E. faecium* fue más resistente frente a las quinolonas que *E. faecalis*, como se ha reportado previamente.<sup>2</sup>

El cloranfenicol y la tetraciclina no son drogas ampliamente usadas para el tratamiento de la infección enterocócica y la eritromicina no es considerada como un agente terapéutico eficaz contra esta bacteria. No obstante, se han reportado altas tasas de resistencia frente a cloranfenicol (36 %), eritromicina (49 %) y tetraciclina (61,5 %) en diferentes países,<sup>2,19-21</sup> donde *E. faecalis* mostró la más alta resistencia.

La propagación de cepas de enterococos resistentes en diferentes nichos plantea un problema de contaminación ambiental, sobre todo cuando estas cepas provienen de ambientes especiales como el hospitalario, donde además de la resistencia, adquieren determinantes de virulencia que les permiten su supervivencia.<sup>3</sup>

Los factores de virulencia detectados en el género *Enterococcus* son la producción de hemolisinas, bacteriocinas, proteasas y aglutininas.<sup>12</sup> Diversos autores han encontrado asociación entre factores de virulencia y resistencia antibiótica. Estos factores se relacionan generalmente con una mayor invasividad, un mayor riesgo de muerte por septicemias y facilitan la evasión de las defensas del hospedero. Más de la mitad de las cepas incluidas en el estudio fueron virulentas y se clasificaron como *E. faecalis*, lo cual coincide con hallazgos internacionales al reportar esta especie como la más virulenta.<sup>22</sup> El porcentaje de cepas productoras de hemolisina fue bajo comparado con reportes internacionales (17-60 %). Ningún aislamiento de *E. faecium* expresó actividad proteasa, resultado similar a otros estudios internacionales, por lo que esta enzima no parece ser común en esta especie.<sup>22</sup>

El mayor porcentaje de cepas productoras de hemolisina y proteasa se observó en aquellas procedentes de infecciones severas, lo cual evidencia el papel de estos factores de virulencia en las infecciones humanas. Sin embargo, otros factores pueden ser también importantes en la patogénesis de la infección enterocócica.<sup>6</sup>

La circulación de cepas de enterococos que exhibieron virulentas y resistentes a diferentes

antibióticos en este hospital pediátrico, indica la necesidad del control de la infección enterocócica, así como el monitoreo sistemático de la susceptibilidad antimicrobiana. Estas medidas son imprescindibles en aras de prevenir la selección de cepas resistentes dentro de las unidades hospitalarias y evitar la posibilidad de su expansión a la comunidad.

### Antimicrobial susceptibility and virulence factors found in *Enterococcus* species causing pediatric infections in Cuba

#### ABSTRACT

**OBJECTIVES:** to find out the prevalence of *Enterococcus* species causing child infections, their virulence, antimicrobial susceptibility and most frequent infections. **METHOD:** One hundred and fifty six isolations from *Enterococcus* causing infections in children, admitted to "Octavio de la Concepción y La Pedraja" hospital in Holguin, were studied. The phenotypical methods allowed identifying species and detecting virulence factors. Following *Clinical Laboratory Standard Institute* requirements, minimal inhibitory concentration was determined for vancomycin, ciprofloxacin, ampicilline, gentamycin, streptomycin, chloranphenicol, nitrofurantoin, erythromycin, tetracycline, levofloxacin and norfloxacin. **RESULTS:** Strains were isolated from the blood, the urine, surgical wounds, the skin and the soft tissue, the middle ear, the vulva, catheter point, peritoneal fluid, vagina, sperm, cerebrospinal fluid, and from other sources. The prevailing species was *Enterococcus faecalis* followed by *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus raffinosus*, *Enterococcus casseliflavus* y *Enterococcus avium*. Protease and hemolysin was only detected in *E. faecalis*. *E. faecium* accounted for the highest percentage of resistance to ampicillin, ciprofloxacin, norfloxacin, levofloxacin whereas *E. faecalis* was more resistant to erythromycin, chloranphenicol and tetracycline. Fifty eight *E. faecalis* isolates and 12 *E. faecium* isolates exhibited the highest levels of resistance to gentamycin, as well as 45 % and 32.3 % of samples had high levels of resistance to streptomycin respectively. A vancomycin-resistant *E. faecium* strain was detected. **CONCLUSIONS:** The circulation of virulent and multiple resistant *Enterococcus* strains indicates that *Enterococcus* infection need to be controlled and the importance of monitoring antimicrobial susceptibility, in order to prevent the selection of strains with these characteristics in hospitals and their possible extension to the community.

**Key words:** Antimicrobial susceptibility, virulence factors, *Enterococcus*, children.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mcneeley D, Saint-Louis F, Noel G. Neonatal enterococcal bacteremia: an increasingly frequent event with potentially untreatable pathogens. *J Pediatr Infect Dis.* 1996;15(9):800-5.
2. Kapoor L, Randhawa VS, Deb M. Antimicrobial resistance of enterococcal blood isolates at a pediatric care hospital in India. *Jpn J Infect Dis.* 2005;58(2):101-3.
3. Miranda G, Lee L, Kelly C. Antimicrobial Resistance from Enterococci in a Pediatric Hospital. *Plasmids in*

- Enterococcus faecalis* isolates with high-level Gentamicin and Streptomycin resistance. Arch Med Res. 2001;32:159-63.
4. Rudy M, Zientara M, Bek T, Martirosian G. Occurrence of antibiotic resistant enterococci in clinical specimens from a pediatric hospital. Pol J Microb. 2005;54(1):77-80.
  5. Sofianou S, Pournaras M, Gios A, Polyzou A, Maniatis A, Tsakris A. Substantially increased faecal carriage of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary Greek hospital after a 4 year time interval. J Antimicrob Chemother. 2004;54(1):251-4.
  6. Elsner HA, Sobotka I, Mack D, Claussen M, Laufs R, Wirth RA. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. Eur J Clin Microb Infect Dis. 2000;19(1):39-42.
  7. Quiñones D, Goñi P, Rubio MC, Duran E, Gómez-Lus R. Enterococci spp. isolated from Cuba: Species Frequency of Occurrence and Antimicrobial Susceptibility Profile. Diagn Microb Infect Dis. 2005;51(1):63-7.
  8. Facklam RR, Collins MD. Identification of Enterococcus species isolated from human infections by a conventional test scheme. J Clin Microb. 1989;27:731-4
  9. Wayne PA. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing. Approved Standard. 7<sup>th</sup> ed., U.S.A: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2001.
  10. Low DB, Keller N, Barth A, Jones RN. Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility and geographic resistance patterns of Enterococci: Results from the SENTRY antimicrobial surveillance program. 1997–1999. Clin Infect Dis. 2001;32(Suppl. 2):133-45.
  11. Choi SH, Lee SO, Kim TH, Cheng JW, Choo EJ, Kwak YG, et al. Clinical features and outcomes of bacteremia caused by *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus gallinarum*: analysis of 56 cases. Clin Infect Dis. 2004;38(1):53-61.
  12. Quiñones PD. Enterococos. En: Llop HA, Valdés-Dapena VM, Zuazo SJ editores. Microbiología y Parasitología Médicas. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 179-92.
  13. Van Hasselt P, Van Kregten E. Treatment of chronic suppurative otitis media with ofloxacin in hydroxypropyl methylcellulose ear drops: a clinical/bacteriological study in a rural area of Malawi. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2002;63(1):49-56.
  14. Jones BL, Wilcox MH. Subdural empyema due to *Enterococcus faecalis*. Scand J Infect Dis. 1997;29(6):627-8.
  15. Borgmann S, Niklas DM, Klare I, Zabel LT, Buchenau P, Autenrieth IB, et al. Two episodes of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* outbreaks caused by two genetically different clones in a newborn intensive care unit. Int J Hyg Environ. 2004;207(4):386-9.
  16. Ronconi MC, Merino LA. Prevalencia de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* con resistencia de alto nivel a aminoglucósidos en las ciudades de Resistencia y Corrientes, República Argentina. Enf Infect Microbiol Clin. 1999;18:71-3.
  17. Reis A, Cordeiro J, Machado A, Sader H. *In vitro* antimicrobial activity of linezolid tested against vancomycin-resistant enterococci isolated in Brazilian hospitals. Braz J Infect Dis. 2001;5(5):243-51.
  18. Quiñones D. Epidemiology of antibacterial resistance in *Enterococcus* spp. from Cuba and other Latin American countries. In: Kobayashi N, Pandalai SG, editors. Drug Resistance of Enterococcus: Epidemiology and Molecular Mechanism. Research Signpost; 2005. pp. 1-20.
  19. Lim JA, Kwon A, Kim S, et al. Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in a Korean hospital. J Antimicrob Chemother. 2002;49:489-95.
  20. Mondino SS, Castro AC, Mondino PJ, Carvalho G, Silva KM, Teixeira LM. Phenotypic and genotypic characterization of clinical and intestinal enterococci isolated from inpatients and outpatients in two Brazilian hospitals. Microb Drug Resistant. 2003;9(2):167-74.
  21. Mutnick A, Douglas J, Biedenbach J, Jones RN. Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). Diagn Microb Infect Dis. 2003;46:63-8.
  22. Vergis EN, Shankar N, Chow JW, Hyden MK, Snyderman DR, Zervos MJ. Association between the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin, and enterococcal surface protein and mortality among patients with bacteremia due to *Enterococcus faecalis*. Clin Infect Dis. 2002;35:570-5.
- Recibido: 1 de noviembre de 2007. Aprobado: 11 de enero de 2008.  
 Dra. Dianelys Quiñones Pérez. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”. Departamento de Bacteriología-Micología. Autopista “Novia del Mediodía” Km 6 1/2, Lisa, La Habana, Cuba. Correo electrónico: diany.quinones@infomed.sld.cu; dia@ipk.sld.cu