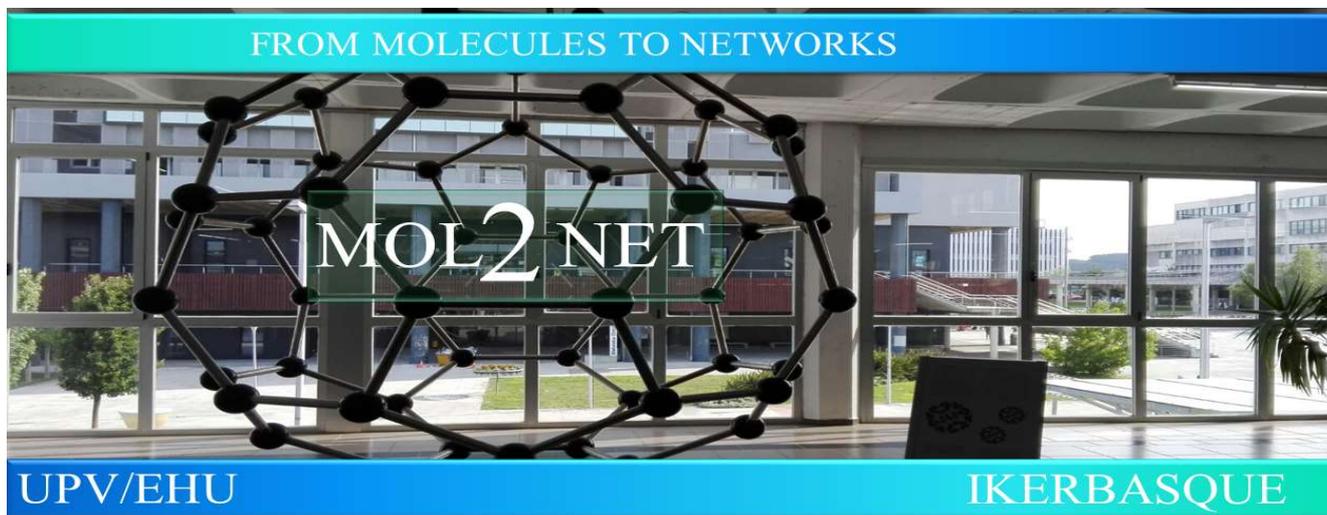




MOL2NET'23, Conference on Molecular, Biomedical,  
Computational, & Network Science and Engineering, 8th ed.

BIOMODECO-08: Biomolecular Engineering, Development,  
and Ecology Congress, Paris, France-Ohio, USA, 2023.



**Notes on a project towards the characterization of *Enterococcus*  
isolated in blood cultures from the different hospitals.**

Cesar A. Rodríguez-Beltran

Provincial Center for Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Faculty of Medicine, University of  
Medical Sciences of Villa Clara, Santa Clara, Cuba.

**Abstract.**

*Enterococcus spp* are microorganisms described in the literature as the main cause of endocarditis and bacteremia, which are both severe conditions that can end the life of the patient, has a morbidity between 5 and 12% of cases and a mortality rate 23-46%; Its rapid dissemination, both intrahospital and interhospital, with a clonal expansion of pathogenic and antimicrobial-resistant strains, makes this situation worrying in the province of Villa Clara, where it also represents a serious problem and the number of patients who have presented *Enterococcus* in blood cultures, as there is no research on this subject. Therefore, there is a knowledge gap in the matter and it is necessary to deepen the epidemiology and microbiological characteristics of the *Enterococcus* isolates circulating in the different hospitals of the province of Villa Clara. In this project we are going to focus / pursue the following objectives. Scientific Problem: Determining what microbiological characteristics will the *Enterococcus* isolated in blood cultures of different provincial hospitals of Villa Clara have. General Objective: Characterize, according to microbiological aspects, *Enterococcus spp*. Isolates in blood cultures of patients admitted to the different provincial hospitals of Villa Clara, in the period January - December 2022. Specific Objectives: Describe cultural characteristics of the *Enterococcus* isolates in the period of study. Describe microscopic characteristics of the colonies. Determine the species of *Enterococcus* to obtain according to hospitals and services studied. Identify susceptibility of *Enterococcus* against tested antimicrobials according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

El término *Enterococcus* se utilizó por primera vez en el año 1899, cuando el microbiólogo francés Thiercelin reconoció a un grupo de bacterias que formaban parte de la microbiota normal del intestino, estos eran cocos agrupados en cadenas y en parejas, similares a los que habían sido identificados en varias enfermedades.<sup>1</sup> Más adelante, en 1906 este microorganismo fue clasificado en el género *Streptococcus* por Andrewes y Holder, llamado *Streptococcus faecalis* al descubrirse en un paciente con endocarditis y por la semejanza que tenían con los microorganismos que habitan el intestino. El segundo microorganismo fecal fue descrito por Orla Jensen en 1919, fue llamado *Streptococcus faecium* el cual compartía características similares con los demás miembros del género.<sup>1,2</sup>

Fue en el año 1984, donde ya se había observado que podían producir hemólisis alfa en agar sangre ovina y eran reconocidos como pertenecientes al grupo D de Lancefield aunque no por poseer el polisacárido C de pared que diferencia a los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, sino por presentar ácido teicoico como antígeno de grupo. Finalmente se agrupó en un nuevo género: *Enterococcus*. Las especies más comunes son *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), y *Enterococcus faecium* (*E. faecium*), siendo responsables de una amplia variedad de infecciones.<sup>1,2</sup>

El género *Enterococcus*, son cocos grampositivos que se disponen aislados, en parejas o en cadenas cortas. Su respiración es anaerobia facultativa, fisiológicamente crecen en un amplio intervalo de temperaturas (10-45 °C), en una amplia gama de valores de pH (4,6 a 9,9) y en presencia de altas concentraciones de cloruro de sodio (NaCl 6,5%). Crecen en presencia de un 40% de sales biliares, hidrolizan la bilis esculina y la pirrolidonil- $\beta$ -naftilamida (PYR), fermentan la glucosa formando ácido L-láctico como producto terminal y son catalasa negativos. Macroscópicamente, las colonias en medio de agar sangre de carnero enriquecido son de gran tamaño y pueden tener un aspecto  $\alpha$ -hemolítico o rara vez  $\beta$ -hemolítico.<sup>2-4</sup>

*Enterococcus* son miembros de la microbiota del tracto gastrointestinal de humanos y animales. Actualmente hay más de 40 especies descritas. Pueden causar infecciones graves y ser responsables de colecistitis, peritonitis, meningitis, infecciones del tracto urinario, absceso pélvicos e intraabdominales, infecciones de piel y partes blandas, así como bacteriemias y endocarditis siendo las complicaciones más graves.<sup>3</sup> En general, la bacteriemia enterocócica ocurre en pacientes con hospitalización prolongada, con enfermedades de base graves, sometidos a manipulación instrumental, tratamiento antimicrobiano de amplio espectro, el uso de catéteres venosos de permanencia prolongada, marcapasos implantables, catéteres venosos de alto flujo para hemodiálisis, pacientes sondeados, que estén inmunocomprometido, diabetes mellitus, es común en los ingresados en unidades de cuidados intensivos.<sup>3</sup> La bacteriemia por *Enterococcus* es una infección grave, con una tasa de mortalidad del 23-46%. Una de las complicaciones más importantes de la bacteriemia enterocócica es la endocarditis, que aparece entre el 5 y el 12% de los casos. *Enterococcus* representan la tercera causa más frecuente de endocarditis infecciosa, después de *Streptococcus* y *Staphylococcus aureus*, siendo responsables del 5-20% de todos los casos de endocarditis.<sup>5</sup>

Para poder hacer este diagnóstico, se implementa el hemocultivo, técnica que parte de la obtención de sangre del paciente, a través de una punción venosa sencilla o acceso intravenoso. La sangre obtenida se mezcla en el medio de cultivo, ejemplo tenemos Soya tripticasa, BHI, Brucella, Columbia, Peptona suplementada. Posteriormente se incuba a una temperatura de 35  $\pm$  2°C, proporcionándole los requisitos nutritivos y generales para la supervivencia y multiplicación de los microorganismos hallados en sangre.<sup>6,7</sup>

El diagnóstico definitivo de la bacteriemia se establece cuando se aísla el microorganismo causal en la sangre del enfermo mediante el cultivo de esta. También se puede identificar fungemia que es la presencia de hongos en la sangre. El aislamiento del agente responsable es trascendental además, para conocer su sensibilidad a los antimicrobianos e instaurar el tratamiento o las modificaciones necesarias a la terapia empírica ya establecida. La mayoría de los microorganismos son capaces de invadir el torrente circulatorio. En la actualidad los grampositivos, especialmente *Stafilococcus* y *Enterococcus*, igualan o superan en frecuencia a los gramnegativos.<sup>6,8</sup>

El principal problema y característica del género *Enterococcus* es su resistencia intrínseca a numerosos antimicrobianos, como son las cefalosporinas, las penicilinas resistentes a la penicilinasas y a los monobactámicos. Tienen una resistencia leve intrínseca a muchos aminoglucósidos, tienen una susceptibilidad intermedia o resistencia a las fluoroquinolonas y son menos susceptibles que los estreptococos (10 a 1 000 veces) a la penicilina y a la ampicilina. Los *Enterococcus* son inhibidos por los  $\beta$ -lactámicos (ej. ampicilina) pero en general no son destruidos por ellos y además es capaz de adquirir fácilmente determinantes genéticos que codifican resistencia añadida, lo anterior limita considerablemente las opciones terapéuticas.<sup>9,2,3</sup>

En estudios epidemiológicos a nivel mundial se comprobó que la especie que con más frecuencia es aislada en hemocultivo fue *Enterococcus faecalis* con casi el 90 % aproximadamente, otra gran parte lo tiene el *E. faecium*. En general los *Enterococcus* causan 5-18% de las endocarditis. Es una de las principales infecciones nosocomiales, citándose entre las 10 primeras.<sup>10,11</sup>

En Europa y en los Estados Unidos ha aumentado también la incidencia de *E. faecium* y *E. faecalis*, así como la resistencia a vancomicina, teicoplanina entre otras. La mayor parte de los aislados resistentes a ambos fármacos corresponde a la especie *E. faecium*.<sup>12</sup>

En el continente asiático y africano también están presentes entre las primeras causas de infección nosocomial, justificando la necesidad de su estudio, con el fin de evitar sus complicaciones, resistencia y mortalidad. Siendo *E. faecium* y *E. faecalis* las más resistentes y aisladas, y en menor medida *E. gallinarum* y *E. casseliflavus*.<sup>13,14</sup>

Sudamérica es otro ejemplo del aumento del número de aislamientos de enterococos, países como: Colombia, Argentina, Chile, Perú han tenido que mantener vigilancia permanente sobre los casos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo consideró como un grave problema, incluyéndolos en el grupo B de prioridad crítica.<sup>15</sup>

En Cuba se inició el proceso de investigación en el año 1999, en los laboratorios del IPK, demostrándose en ese entonces que era una causa de morbilidad y mortalidad importante. En estudios más recientes confirman la importancia de *Enterococcus* como causa de infecciones severas, la muerte y otro factor relevante es su multidrogoresistencia.<sup>16</sup>

### **Justificación del problema**

*Enterococcus* es un microorganismo que se describe en la literatura como principal causa de endocarditis y bacteriemia, que ambos son cuadros severos que puede acabar con la vida del paciente, tiene una morbilidad entre un 5 y el 12% de los casos y una tasa de mortalidad del 23-46%; su rápida diseminación tanto intrahospitalaria como interhospitalaria con una expansión clonal de cepas patógenas y resistentes a los antimicrobianos, hace que sea preocupante esta situación en la provincia de Villa Clara donde también representa un serio problema y se desconoce la cantidad de pacientes que han presentado *Enterococcus* en hemocultivos, por no existir investigaciones de este tema. Por lo que hay un vacío de conocimiento en la materia y que es necesario profundizar en cuanto a la epidemiología y las características microbiológicas de los aislamientos de *Enterococcus* circulantes en los diferentes hospitales de la provincia de Villa Clara.

### **Problema Científico:**

Que características microbiológicas tendrán los *Enterococcus* aislados en hemocultivos de diferentes hospitales provinciales de Villa Clara.

### **OBJETIVOS**

#### **Objetivo General:**

Caracterizarse según aspectos microbiológicos a *Enterococcus spp.* Aislados en hemocultivos de los pacientes ingresados en los diferentes hospitales provinciales de Villa Clara, en el periodo Enero – Diciembre 2022.

#### **Objetivos Específicos:**

- Describir características culturales de los aislamientos de *Enterococcus* en el periodo de estudio.
- Describir características microscópicas de las colonias.
- Determinar especie de *Enterococcus* a obtener según hospitales y servicios estudiados.
- Identificar susceptibilidad de los *Enterococcus* frente a los antimicrobianos probados según Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

### **DISEÑO METODOLÓGICO**

Se realizará una investigación descriptiva transversal con el objetivo de caracterizar *Enterococcus* aislados en hemocultivo de diferentes hospitales provinciales según aspectos microbiológicos en el período Enero – Diciembre/ 2022.

#### **Contexto de la investigación**

El estudio se realizará en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Gineco-Obstétrico Mariana Grajales, donde se reciben muestras del Hospital Provincial Oncológico Universitario Celestino Hernández Robau, del Hospital Pediátrico Universitario José Luis Miranda y del propio Hospital Gineco-Obstétrico en el periodo de Noviembre 2021 a Mayo 2024. El dato primario se recogerá en el período Enero-Diciembre 2022.

### **Población y muestra**

La población de estudio coincide con la muestra y se seleccionara mediante un muestreo no probabilístico intencionado, tomando la totalidad de hemocultivos con aislamientos de *Enterococcus* a los que se pudo determinar especie y realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

### **Métodos, técnicas y procedimientos.**

#### **Métodos Nivel Empírico**

Guía de Observación: Se empleará una guía de observación para recoger las características culturales y microscópicas de los *Enterococcus sp.* aislados en diferentes hospitales de la provincia.

Análisis Documental: Se trabajará con los registros del laboratorio en la búsqueda de los resultados de las especies identificadas, de los servicios y hospitales estudiados, así como para recoger los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

### **Procedimientos**

Los hemocultivos serán realizados a pacientes procedentes de los diferentes hospitales de la provincia que envían sus muestras al laboratorio de Microbiología del Hospital Gineco- Obstétrico Mariana Grajales, siguiendo las técnicas establecidas en el protocolo para la realización de esta toma de muestra reflejado en el (Anexo1).

Las muestras son recibidas en el laboratorio, donde se les aplica el procedimiento diagnóstico para identificación de *Enterococcus sp.*, así como la determinación de especie y susceptibilidad antimicrobiana también reflejados en el.

Procedimiento para identificación de *Enterococcus sp* en hemocultivos.

Técnica para toma de muestra y siembra de hemocultivo

- El momento óptimo para la extracción de hemocultivos es exactamente antes del inicio del pico febril. Como este hecho es imposible de predecir con exactitud, se recomienda que la sangre para cultivo sea extraída siempre que se sospeche una infección grave.
- La muestra de sangre para hemocultivo se extraerá de una vena, utilizándose generalmente las del antebrazo.
- La utilización de sangre arterial no ha demostrado ventajas sobre la venosa. La extracción no se realizará a través de catéteres intravenosos o intaarteriales, salvo en los casos de sospecha de bacteriemia asociada a catéter.
- Cada muestra de sangre se obtendrá de lugares de venopunción diferentes. El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la microbiota cutánea durante la extracción.
- Para evitarla se debe desinfectar la zona con alcohol isopropílico o etílico de 70° durante 30 segundos. Se aplicará a continuación una solución yodada (tintura de yodo al 1-2% durante 30 segundos o povidona yodada al 10% durante 1 minuto) cubriendo un área circular de 2-4 cm de diámetro.

- Los frascos de hemocultivo deben inocularse rápidamente para evitar la coagulación de la sangre en la jeringa, atravesándolos con la aguja en posición vertical.<sup>17,18</sup>
- El número de extracciones considerado óptimo para la documentación de un episodio de bacteriemia es de 2 a 3, utilizando siempre lugares diferentes de venopunción.<sup>17,18</sup>
- El volumen recomendado por cada venopunción en adultos es de 10 ml. En neonatos y niños, se ha comprobado que, con 1 ml, se obtienen resultados aceptables y comparables a los de los adultos. La dilución será 1/10 o 1/5, sangre con el medio de cultivo.
- Los frascos, con su debida identificación, se transportan al Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Gineco-Obstétrico Mariana Grajales. Sólo deben mantenerse a temperatura ambiente durante cortos periodos de tiempo para no afectar la posterior recuperación de los microorganismos. Si no pueden ser enviados inmediatamente al laboratorio se incubarán en una estufa a 35-37°C hasta ser transportados. Los hemocultivos nunca deben ser refrigerados.
- 
- Ya en el laboratorio se incubarán a una temperatura de 36-37°C. La mayoría de los *Enterococcus* se aísla entre las 18 y 72 horas siguientes del inicio de su incubación. Pero es necesario que se mantenga la incubación durante 7 días, por cepas y otras bacterias de crecimiento lento.<sup>17,18</sup>
- Los frascos se observarán diariamente para detectar signos visibles de crecimiento bacteriano como el enturbiamiento del medio, la hemólisis de los hematíes, la producción de gas o la formación de colonias en el fondo del frasco. No obstante, sólo se detecta crecimiento macroscópico a partir de  $10^7$  UFC/ml.<sup>17,18</sup>

### Microscopia

El problema de la detección macroscópica, además del retraso, es la presencia de falsos positivos y falsos negativos. Hay causas ajenas al crecimiento bacteriano que pueden enturbiar el medio o hemolizar los hematíes y, por el contrario, hay microorganismos que pueden crecer sin producir ningún signo macroscópico de crecimiento. Ello obliga a complementar la visualización macroscópica con el examen microscópico. La técnica microscópica más utilizada es la tinción de Gram. Con ella pueden visualizarse microorganismos cuando su concentración se aproxima a los  $10^5$  UFC/ml. Debido a que consume una importante cantidad de tiempo, puede ser sustituida por la tinción con naranja de acridina, con la que contrastan mejor las bacterias con el fondo y se visualizan los microorganismos con concentraciones bacterianas de  $10^4$  UFC/ml.<sup>17,18</sup>

### Diagnóstico fenotípico

- En nuestro centro se realizará un subcultivo a las 48h en Agar sangre, y se incubará ese subcultivo 24h de 36-37°C, los casos negativos se le repetirá el subcultivo a los 7 días.
- En el subcultivo agar sangre, las colonias de *Enterococcus* generalmente son pequeñas, lisas, de bordes uniformes, de color blanco, y microscópicamente serán cocos grampositivos que típicamente se disponen en parejas y en cadenas cortas.<sup>3</sup>

- Para su diagnóstico definitivo, los *Enterococcus* son catalasas negativas, hidrolizan la esculina en presencia de bilis. Crecen en cloruro de sodio al 6,5%, fermentan una gran variedad de carbohidratos con la elaboración de ácido láctico. Toleran altas concentraciones de PH (9,6), usualmente fermentan la lactosa, rara vez reducen nitritos. Por lo general producen  $\alpha$  o  $\gamma$  hemolisis, excepto en algunas cepas de *E.fecalis*, *E.gallinarum* que pueden mostrar una  $\beta$  hemolisis.<sup>3</sup>

#### Pruebas de susceptibilidad Antimicrobiana

Para la determinación de la susceptibilidad de los *Enterococcus* empleará la técnica de Kirby-Bauer, es la prueba de difusión en agar ó Antibiograma por difusión. Esta es una prueba in vitro para los microorganismos aerobios o anaerobios facultativos. Esta técnica consiste en la siembra de las bacterias en la superficie de una placa con un medio de cultivo (Muller Hinton). El inóculo estandarizado se prepara logrando turbidez (0,5 de la escala de Macfarland). La misma representa  $1,5 \times 10^8$  bacterias por ml (UFC/ml). Después de sembrada la placa se depositan discos de papel cargado con una cantidad precisa de antibiótico que difunde casi instantáneamente a través del agar formándose un gradiente de concentración del mismo alrededor del disco y se incuban a 37°C durante 18 a 24 horas.<sup>19,20,21</sup>

Las colonias de *Enterococcus* crecerán en dependencia de la resistencia o la susceptibilidad del microorganismo al antibiótico. Se forma un halo de inhibición que tiene que ser mayor que los parámetros establecidos para cada medicamento, en caso que sea sensible, lo contrario ocurre cuando el microorganismo es resistente, el halo de inhibición está por debajo de lo establecido o hay un crecimiento total el rededor del disco. Entre ambos diámetros la sensibilidad se considera intermedia.<sup>19,20,21</sup>

Es recomendado por CLSI el medio de cultivo Muller-Hinton por ser no selectivo y presentar los nutrientes necesarios, las concentraciones de iones de Ca y Mg son adecuadas, contenido de timina o timidina nula o ausente, su pH es de 7.2 a 7.4, idóneo para la mayoría de los microorganismos.<sup>19,20,21</sup>

Después de procesadas las muestras, la información obtenida en el diagnóstico, dígase características culturales (tamaño de la colonia, coloración, morfología, bordes, hemolisis, mucosidad), y las características microscópicas (morfología y movilidad) serán recogidas en una guía de observación.

Los datos relacionados con la procedencia del hospital, las salas, así como los resultados de las pruebas de susceptibilidad serán recogidos en una guía de revisan documental y tomados del registro de entrada de muestras al laboratorio.

#### Métodos estadísticos

Se aplicarán métodos de estadística descriptiva para la determinación de frecuencias absolutas y por ciento. Para probar la hipótesis nula ( $H_0$ ) de que existe independencia entre dos variables, se realizará la Prueba de independencia basada en la distribución Chi cuadrado. Se obtendrá un estadígrafo y su probabilidad (p) asociada; se trabajará con una confiabilidad de 95% ( $\alpha=0,05$ ), de manera que si  $p \leq 0,05$ , se rechazará  $H_0$  y se asumirá que no existe independencia (existe relación) entre variables.

## **Operacionalización de las Variables**

### **Características culturales.**

1- Tamaño. Cuantitativa continua. Definida como diámetro de las colonias identificadas.<sup>22</sup>

2-Morfología. Cualitativa nominal. Características externas de la superficie colonial.<sup>22</sup>

- Planas
- Cupuliformes
- Meseta
- Deprimidas.

3-Coloración. Cualitativa nominal. Color que presentas la superficie colonial.

- Blancas
- Grises
- Incoloras

4- Bordes. Cualitativa nominal. Forma del contorno de la colonia.<sup>22</sup>

- Regulares
- Irregulares

5- Hemolisis. Cualitativa nominal. Definida como la capacidad del microorganismo de degradar el hematíe.<sup>22</sup>

- Ganma hemolítico: cuando no hay hemolisis.
- Alfa hemolítico: cuando el hemolisis es parcial y toma una coloración verdosa.
- Beta hemolítico: cuando la hemolisis es total.

6-Mucosidad. Cualitativa nominal. Capacidad del microorganismo de producir mucus por la presencia de capsula.<sup>22</sup>

- Si
- No

### **Características microscópicas**

7- Morfología microscópica. Cualitativa nominal. Forma y configuración de las bacterias a su observación al microscopio.<sup>22</sup>

- Cocos
- Bacilos
- Cocobacilos

8-Agrupación. Cualitativa nominal. Forma en que se agrupan las bacterias. estos cocos, bacilos, cocobacilos y espirales.<sup>22</sup>

- Racimos
- Cadenas cortas
- Cadenas largas
- En parejas

9- Movilidad. Cualitativa nominal, Capacidad de moverse conferida por la presencia de flagelos.<sup>22</sup>

- Móviles
- Inmóviles

#### **Detección de especie según servicio y hospitales.**

10- Especie aislada. Cualitativa nominal. Clasificación taxonómica, basada en las características fenotípicas y genotípicas del grupo.

- *E. faecium*
- *E. faecalis*
- Otras (*E. gallinarum* , *E. casseliflavus*.)

11- Hospitales de procedencia de la muestra. Cualitativa nominal, Hospital donde se recogerán las muestras.

- Hospital Gineco-Obstetra Mariana Grajales
- Hospital Provincial Oncológico Universitario Celestino Hernández Robau
- Hospital Pediátrico Universitario José Luis Miranda.

12- Servicios. Cualitativa nominal. Salas o unidades en que se organizan los hospitales según la especialización.

- Neonatología
- Neurología
- Unidad de terapia intermedia (UTI 1)
- Unidad de terapia intensiva (UTI 2)
- Hematología.

#### **Identificación de susceptibilidad antimicrobiana**

13- Antimicrobianos probados. Cualitativa nominal, antimicrobianos a ser probados según método de Kirby Bauer según el CLSI -2021.

- Ampicilina
- Penicilina
- Vancomicina
- Gentamicina de alta carga.
- Estreptomina de alta carga.

14- Susceptibilidad antimicrobiana. Cualitativa nominal.

Determinación de la susceptibilidad a través del método de Kirby-Bauer se apreciará la inhibición o el crecimiento bacteriano alrededor de los discos de antibiograma.

- Sensible
- Resistente

#### **Procesamiento de la información**

El dato primario se recogerá en una guía de observación y revisión documental descargada en una base de datos Excel versión 2015 y analizados mediante un programa estadístico SPSS. Versión 21.

### Aspectos éticos de la investigación.

Se cumplirá con los principios éticos establecidos en la declaración de Helsinki, de beneficencia, no maleficencia y justicia.

Se declara que la información obtenida en el estudio no será utilizada en otros fines que no sean investigativos.

### Principales resultados a alcanzar

En la presente investigación se pretende abordar las características microbiológicas de *Enterococcus sp* aislados en hemocultivos de diferentes hospitales de la provincia. Lo que aportaría una información nueva, para un mejor abordaje diagnóstico y terapéutico de estos pacientes. Hecho considerado un aporte social al mejorar la calidad y premura del diagnóstico. En el orden económico por el ahorro que representaría, no solo en recursos para el diagnóstico sino también en la terapéutica al brindar datos sobre la susceptibilidad del microorganismo y sus posibles alternativas terapéuticas, lo que permitiría un tratamiento empírico oportuno.

### REFERENCIAS

- 1-Horacio A. Lopardo, Silvia Pedrari. Manual de Bacteriología Clínica. Argentina. Asociación Argentina de Microbiología. . [Internet].2020 .Abr. [citado 23 Sep 2021]. Disponible en :<https://aam.org.ar/manual%20bacteriologia%20clinica.pdf>.
- 2-Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Timothy A. Mietzner. Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología médica. vol 1. 27th edición . , México, D.F.. The McGraw-hill. 2016
- 3-Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller . Medical microbiology. vol 1.8th edición. Philadelphia. Elsevier.2016
- 4- GaryW.Procop, Deirdre, Church, W. Koneman, Paul C . Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Vol 13. 7th edición . Washington. EditorialTish Rogers. 2017
- 5---Daniel Aguirre Fernández, Jesica Naanous Rayek, Mariana Vélez Pintado, Rodolfo Jiménez Soto . Endocarditis infecciosa por *Enterococcus faecalis*. Medigraphic. . [Internet].2019 . Mar [citado 29 Sep 2021] ; . Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2019/bc191i>
- 6--Rodríguez Carlos Hernan, García Susana, Barberis Claudia, Saposnik Elsa, Weyland Beatriz, Nastro Marcela et al . Enterococcus spp.: Resistencia antimicrobiana en infecciones intrahospitalarias. Acta bioquím. clín. latinoam. [Internet]. 2013 Mar [citado 2021 Sep 24] ; 47( 1 ): 155-160. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S032529572013000100017&lng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032529572013000100017&lng=es).
- 7-1 Estévez-González R, Serrano-Romero de Ávila V, de Rafael González E, Heredero-Gálvez E, Julián-Jiménez A. Factores predictores de bacteriemia en los pacientes atendidos en el Servicio de Urgencias por infección. Rev Esp Quimioter [revista en internet] 2020 [citado 29 de sept2021]; 33(1): 32-43. Disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6987628/pdf/revesp/quimioter-33-32>.
- 8- Baeza A, Sandoval C. Frecuencia de aislamientos microbiológicos en hemocultivos recolectados en un hospital de alta complejidad durante 2014-2015. J. Health Med. Sci. [revista en internet]. 2019

- [citado 29 de sept 2021]; 5(2):119-123, Disponible en: [http://www.johamsc.com/wp-content/uploads/2019/10/JOH\\_AMSC-52-119-123-2019](http://www.johamsc.com/wp-content/uploads/2019/10/JOH_AMSC-52-119-123-2019)
- 9-- Martínez Odriozola P., Muñoz Sánchez J., Arriola Martínez P., Lizarralde Palacios E., Santamaría Jáuregui J. M., Zuazo Meabe J. et al . Endocarditis infecciosa por enterococo: descripción de 12 casos. An. Med. Interna (Madrid) [Internet]. 2007 Nov [citado 2021 Sep 29] ; 24( 11 ): 539-542. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992007001100006&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992007001100006&lng=es)
- 10-Seguel Natalia, Quezada-Aguiluz Mario, González-Rocha Gerardo, Bello-Toledo Helia, Sánchez-Sanhueza Gabriela. Antibiotic Resistance of Enterococcus faecalis from Persistent Endodontic Infections. Int. J. Odontostomat. [Internet]. 2020 Sep [citado 2021 Oct 15] ; 14( 3 ): 448-456. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-381X2020000300448&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2020000300448&lng=es).
- 11- Díaz Pérez Marilyn, Rodríguez Martínez Claudio, Zhurbenko Raisa. Aspectos fundamentales sobre el género Enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad. Rev Cubana Hig Epidemiol [Internet]. 2010 Ago [citado 2021 Oct 15] ; 48( 2 ): 147-161. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-30032010000200006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032010000200006&lng=es).
- 12-Casellas Jose Maria. Resistencia a los antibacterianos en America latina .Iris Paho. Panamericana. [Internet].2011 . may [citado 29 Sep2021]. Disponible en <https://iris.paho.org/handle/10665.2/9428>
- 13-Cheo-In Kang, Jae –Hoon. Resistencia a los antimicrobianos en Asia ,epidemiologia. Infection and Chemother. Corea . [Internet].2018 . Mar [citado 29Sep2021].Disponible en<https://icjournal.org/DOIx.php?id=10.3947/ic.2013.45.1.22>
- 14-Tsegaye Alemayehu. Prevalence of vancomycin-resistant enterococcus in Africa in one health approach: a systematic review and meta-analysis. Ethiopia. [Internet].2020 May. [citado 29 Sep2021]Disponible en <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77696-6>
- 15-Medell Manuel, Hart Marcia, Batista María Luisa. Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de Enterococcus faecalis y Enterococcus faecium obtenidos de pacientes hospitalizados. Biomédica [Internet]. 2014 Apr [cited 2021 Oct 15] ; 34( Suppl 1 ): 50-57. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572014000500007&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572014000500007&lng=en).
- 16- Dianelys Quiñones Pérez , Meiji Soe, Joao P Martins , Noriko Urushibara. Enterococcus resistente a la vancomicina en Cuba. Rev Cubana Med Trop Cuba. [Internet].2018. Mar [citado 29 Sep2021]. Disponible en [https://scholar.google.com/cu/scholar?start=10&q=+enterococcus+en+cuba&hl=es&as\\_sdt=0,5&as\\_vis=1#d=gs\\_qabs&u=%23p%3DMqJ92EiPg4gJ](https://scholar.google.com/cu/scholar?start=10&q=+enterococcus+en+cuba&hl=es&as_sdt=0,5&as_vis=1#d=gs_qabs&u=%23p%3DMqJ92EiPg4gJ)
- 17- Milá-Pascual MdC, Campos-Bestard I, Torres-Milá I, Aties-López L. Hemocultivos de pacientes ingresados en el Hospital Clínico Quirúrgico “Dr. Ambrosio Grillo Portuondo”, Santiago de Cuba. Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta. [Internet]. 2021 ; 46(1). [citado 17 oct 2021]. Disponible en: <http://revzoilomarinellosld.cu/index.php/zmv/article/view/2480>.
- 18-López Ricardo Yudisleidy, Zhurbenko Raisa, Rodríguez Martínez Claudio, Someillan Iglesias Dennis, Ortega Suris Adelaida, Ortiz Rodríguez Cecilia et al . Desempeño del hemocultivo HemoCen aerobio neonatal con muestras clínicas en hospitales de La Habana, Cuba. Rev Cubana

- Invest Bioméd [Internet]. 2018 Mar [citado 2021 Oct 17] ; 37( 1 ): 65-74. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002018000100007&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002018000100007&lng=es).
- 19-José Luis Arredondo García, Ana Maleny Echeguren Flores, Patricia Arzate Barbosa, José Humberto Medina Cortina. Susceptibilidad antimicrobiana de Enterococcus faecalis y faecium en un hospital de tercer nivel. México. Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica. [Internet]. 2018 abril [citado 2021 Oct 17] ; 37( 1 ): 65-74. Disponible <http://www.medigraphic.com/rlip>
- 20- D. Aguilera-Alonso, L. Martínez Campos, C.M. Fernández Llamazares. Novedades en el Antibiograma. España . Asociación Española de Pediatría. [Internet]. 2021 abr. Abril [citado 2021 Oct 17] ; 37( 1 ): 65-74. Disponible <https://www.analesdepediatría.org/es-novedades-el-antibiograma-i-ya-avance-S169540332100182X>
- 21- Antonieta Jiménez, Anamariela Tijerino, José Luis Vargas Priscilla. Programa de Ensayos de Aptitud en Identificación Bacteriana y Prueba de Sensibilidad a los Antibióticos de Bacterias de Importancia en Salud Pública. Madrid. Centro Nacional de Referencia de Bacteriología. [Internet]. 2020 jul. [citado 2021 Oct 17] Disponible en [https://www.inciensa.sa.cr/vigilancia\\_epidemiologica/InformesEED/Informes\\_PEEDs\\_CNR\\_Bacteriologia/2019%20PEA%20CNRB-Inciensa.pdf](https://www.inciensa.sa.cr/vigilancia_epidemiologica/InformesEED/Informes_PEEDs_CNR_Bacteriologia/2019%20PEA%20CNRB-Inciensa.pdf)
- 22- García Jarrín, Paula Daniela. Lectura interpretativa del antibiograma de cocos Gram positivos basada en los criterios de organismos internacionales para la determinación de mecanismos de resistencia antimicrobiana a nivel de laboratorios de microbiología clínica de mediana y alta complejidad. Madrid. Bioquímica clínica . [Internet]. 2021 jul. [citado 2021 Oct 17] Disponible en <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/18873>