



**UNIVERSIDAD DE LA HABANA
FACULTAD DE BIOLOGÍA**

**“Enterococos en ecosistemas dulceacuícolas
y su dualidad como patógenos e indicador
de contaminación fecal”**

TESIS DE DIPLOMA

Autora: Diana Collado Hernández

**La Habana
2021**



UNIVERSIDAD DE LA HABANA
FACULTAD DE BIOLOGÍA

**“Enterococos en ecosistemas
dulceacuícolas y su dualidad como
patógenos e indicador de contaminación
fecal”**

TESIS DE DIPLOMA

Autora: Diana Collado Hernández

Tutores:

Dra. Jeny Adina Larrea Murrell

Dra. Beatriz Romeu Álvarez

La Habana, Octubre 2021

A mis padres y mi hermano

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis padres y a mi hermano que me brindaron su apoyo incondicional durante toda mi carrera universitaria e hicieron lo posible y lo imposible para que este día llegara. Gracias por haber depositado en mí toda la confianza y por los sacrificios que hicieron durante estos cinco años.

Un agradecimiento especial a todo el personal del Departamento de Microbiología y Virología de la Facultad de Biología, en especial a mis tutoras Jeny Adina Larrea y Beatriz Romeu, por aceptar guiarme en la realización de mi tesis y por tenerme tanta paciencia y confianza. Agradecer a la compañera Daysi Lugo por brindarme sus conocimientos sobre el trabajo básico en el laboratorio y por todo el cariño recibido durante mis prácticas laborales.

A Stephanie por estar a mi lado durante estos cinco años, a Claudia por ser mi mayor apoyo en los momentos difíciles y a todos mis compañeros de aula, que juntos llegamos a este día, a pesar de los contratiempos que nos impuso la pandemia durante este último año.

A Leandro, que aunque nos encontramos casi al final de este camino, me brindó su apoyo desde el minuto cero.

A mi amiga Sol por apoyarme desde la distancia.

A todos los que de alguna manera contribuyeron a que culminara esta etapa de mi vida, los haya mencionado o no anteriormente, siempre los tendré presente.

¡MUCHAS GRACIAS!

Resumen

Los enterococos han pasado de ser considerados agentes comensales de escasa patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera etiología más frecuente de infección nosocomial. Son bacterias que habitan el tracto gastrointestinal de mamíferos, y son eliminados a través de la materia fecal, contaminando diversos nichos ecológicos del medio ambiente. Por esta razón son considerados indicadores de calidad en agua dulce y salada desde 1986. Debido a su amplia distribución y por su elevada resistencia a condiciones adversas, son considerados buenos indicadores bacteriológicos en aguas recreativas y para el consumo humano. Entre las especies más utilizadas se encuentran *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. En contraste con estas características positivas, los enterococos son reconocidos como importantes patógenos nosocomiales, causando enfermedades del tracto urinario, endocarditis y bacteriemias; siendo *E. faecalis* y *E. faecium*, las especies más comunes y responsables de una amplia variedad de infecciones. Este género representa un desafío terapéutico debido a los factores de virulencia que presentan y su resistencia intrínseca, además de los mecanismos de resistencia adquiridos a varios antibióticos y su capacidad para transferirlos a nuevas células.

Palabras Claves: *Enterococcus spp.*, indicadores, patógenos, resistencia antimicrobiana, vancomicina.

Índice

1. Introducción	1
2. Búsqueda de Información.	3
3. Revisión bibliográfica	4
3.1 Género <i>Enterococcus</i> .	4
3.2 Medios y métodos convencionales para la detección de enterococos en agua	5
3.3 Enterococos en ecosistemas acuáticos.	9
3.4 Dualidad de <i>Enterococcus spp.</i> como indicador de contaminación fecal y como patógeno.	10
3.4.1 <i>Enterococcus spp.</i> como indicador de contaminación fecal.	10
3.4.2 <i>Enterococcus spp.</i> como patógeno.	14
3.5 Importancia clínica de los enterococos.	16
3.5.1 Factores de virulencia.	18
3.5.2 Enterococos y la resistencia antimicrobiana.	21
Conclusiones	25
Referencias Bibliográficas.	

1. Introducción

Los enterococos han pasado de ser considerados agentes comensales de escasa patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera etiología más frecuente de infección nosocomial. Han cobrado una gran importancia a nivel internacional por su elevada incidencia en las enfermedades intrahospitalarias y por la adquisición de resistencia a muchos antimicrobianos. De igual manera, son considerados indicadores de calidad en agua dulce y salada, debido a su amplia distribución y por su elevada resistencia a condiciones adversas (Díaz *et al.*, 2010).

A pesar de ser comensales normales del tracto gastrointestinal pueden causar infección por translocación a través de las células epiteliales del intestino si consiguen acceder al sistema linfático y al torrente circulatorio (Escola *et al.*, 2020). La resistencia de los enterococos a diversos agentes antimicrobianos supone un problema de Salud Pública que afecta a todo el mundo, sobre todo a los países en los que el uso de antibióticos no está especialmente regulado (Núñez, 2019). Por su persistencia en el ambiente y su ubicuidad en el intestino humano, los enterococos han sido utilizados como indicadores fecales de contaminación humana en aguas (Torres *et al.*, 2020). Su alto contenido en las heces humanas y animales los convierte en un perfecto indicador para valorar el estado de las aguas para consumo humano y agrícola ya que su presencia en dichas aguas indicaría una contaminación fecal, convirtiéndose en un riesgo para la salud (Zaheer *et al.*, 2020; Pérez, 2021). Estos son resistentes a la mayor parte de los agentes antimicrobianos, incluyendo numerosos betalactámicos, clindamicina y aminoglucósidos (Lesdema *et al.*, 2015; Cho *et al.*, 2019). Las especies patógenas de enterococos son reconocidas por su capacidad para intercambiar información genética a través de plásmidos, transposones conjugativos, intercambio cromosómico o mutaciones; y su poder de diseminación de genes de resistencia a bacterias no patógenas (Díaz *et al.*, 2010; Vázquez, 2019).

La barrera que separa a los enterococos como microorganismos procariotas colonizantes de aquellos agentes que se comportan como patógenos oportunistas, parece ser cada vez más frágil. Por la importancia que implica el

conocimiento de las características de este género se propone el siguiente

Objetivo:

- Profundizar en el papel del género *Enterococcus* spp como patógeno e indicador de contaminación fecal.

2. Búsqueda de la Información.

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica de artículos completos, en español e inglés, de literaturas publicadas en bases de datos electrónicas como PubMed, Scopus, ResearchGate, SciFinder, Scielo, Global Health y Google Académicos, utilizando combinaciones de los términos: enterococos, indicadores de contaminación fecal, ecosistemas acuáticos, patógenos, enfermedades nosocomiales, factores de virulencia, resistencia antimicrobiana, vancomicina.

La revisión realizada es de tipo narrativo donde se seleccionaron publicaciones de los últimos 5 años, entre 2017 y 2021. Esta literatura posteriormente se complementó con publicaciones de otros años, obteniéndose un total de 57 documentos, contando con artículos científicos publicados, tesis de diplomas, normas de calidad y libros de textos. No se tuvieron en cuenta artículos relacionados con el control de calidad de alimentos, enfocándose solamente en calidad de aguas recreativas y para el consumo humano. Se consultó literatura relacionada con campos como ciencia ambiental, ecología, y medicina.

3. Revisión Bibliográfica.

3.1. Género *Enterococcus*.

El género *Enterococcus* spp. engloba a un conjunto de bacterias ácido-lácticas (BAL), cocos Gram positivos, no esporulados, catalasa negativos; son células esféricas y ovoides con un tamaño de entre 0,6-2,0 μm de ancho y 0,6-2,5 μm de largo que se agrupan en parejas o en cadenas cortas (Núñez, 2019). Son bacterias que habitan el tracto intestinal de humanos, animales y han sido aislados de diferentes fuentes ambientales (suelo, alimentos, agua, plantas, animales e insectos). Capaces de hidrolizar la esculina en presencia de 40 % de bilis y poseen la enzima pirrolidonilarilamidasa. Las colonias en los medios agarizados, generalmente se presentan incoloras a grises, y tienen de 2 a 3 mm de diámetro a los dos días de incubación.

El género *Enterococcus*, cuyo nombre hace referencia a la ubicación del mismo (cocos saprofiticos de origen intestinal), fue descrito por Thiercelin en 1899, quien propuso como nombre “enterocoque”, debido al origen intestinal de los mismos y a su morfología (Schell, 2018). Taxonómicamente, se ubica dentro del Reino Bacteria, Phylum *Firmicutes*, Clase *Bacilli*, Orden *Lactobacillales*. Pertenece a la Familia *Enterococcaceae* junto con *Bavariicoccus*, *Catelicoccus*, *Melisococcus*, *Tetragenococcus* y *Vagococcus* (López, 2018). Este género ha pasado por diversas variaciones taxonómicas a lo largo del tiempo. Debido a algunas similitudes entre la morfología y las características bioquímicas, fueron clasificados inicialmente como *Streptococcus* del grupo D de la clasificación antigénica de Lancefield hasta hace apenas 30 años, cuando fueron diferenciadas de estos en base a estudios de ADN. (Suárez, 2002; Díaz *et al.*, 2010; García *et al.*, 2019). La fragmentación de este grupo se fundó a partir de estudios taxonómicos y de ácidos nucleicos que demostraron su relación distante con *Streptococcus* y que permitieron considerarlos géneros diferentes. En el año 1970 oficialmente tomaron una nueva clasificación realizada por Kalina como un género independiente. Desde aquel momento el género *Enterococcus* es apreciado como un género separado del género *Streptococcus* (Márquez, 2020).

Suelen considerarse como buenos indicadores de contaminación fecal debido a que son muy resistentes en condiciones adversas como la congelación y la

desecación (Larrea *et al.*, 2013). Su capacidad de sobrevivir en condiciones de estrés ambiental los capacita para colonizar diferentes nichos ecológicos. Actualmente, este género presenta, según la colección germánica de microorganismos (DSMZ), 67 especies conocidas incluyendo dos sub-especies pertenecientes a este género (Vallejo *et al.*, 2014; Torres *et al.*, 2020;).

Las especies de enterococos más comúnmente encontradas en el intestino de mamíferos son *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae* y *E. durans*, mientras que otras especies como *E. gallinarum*, *E. raffinossus*, *E. casseliflavus* y *E. avium* se aíslan en menor proporción (Larrea *et al.*, 2013; Núñez, 2019). *E. faecalis* (80-90 %) y *Enterococcus faecium* (10 %) son las especies aisladas con mayor frecuencia de muestras clínicas provenientes de infecciones humanas documentadas. *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. dispar*, *E. cecorum*, *E. malodoratus*, *E. flavescens* y *E. durans*, también pueden producir patología infecciosa en el ser humano. Sin embargo, su frecuencia de aislamiento a partir de muestras clínicas es mucho menor (Schell, 2018).

3.2 Medios y métodos convencionales para la detección de enterococos en agua

Los enterococos al ser considerados indicadores de la calidad sanitaria de las aguas y algunos alimentos, su presencia en el ambiente indica contaminación de origen fecal. Por su elevada incidencia en las infecciones nosocomiales, su resistencia antimicrobiana, y por ser considerados indicadores de contaminación fecal, estos microorganismos han adquirido una importancia notable en la actualidad y se ha desarrollado una gran cantidad de medios de cultivo de diferentes propósitos, tanto convencionales como cromogénicos y/o fluorogénicos, específicos para este género, que son empleados en los laboratorios de Microbiología de todo el mundo para lograr su aislamiento e identificación de muestras clínicas, aguas y alimentos (Díaz *et al.*, 2013).

El cultivo, cuando es factible, continúa siendo el método diagnóstico de elección; permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación, el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos. En el cultivo es esencial la correcta elección del medio de crecimiento y las condiciones de incubación (Bou *et al.*, 2011). Según

Díaz *et al.* (2013), se ha desarrollado una amplia variedad de medios de cultivo convencionales para el aislamiento de *Enterococcus* de aguas, alimentos, orina, heces u otros tipos de muestras. Los medios como el agar sangre azida, el agar sangre azida con cristal violeta, el caldo azida de Rothey y el caldo citrato azida se emplean para la detección de *Enterococcus* en aguas y productos de desecho. Se han desarrollado otros medios como son el caldo BAGG, el caldo azida púrpura de bromocresol, el agar y caldo confirmatorio para *Enterococcus* y el caldo presuntivo para *Enterococcus* que se utilizan en las pruebas presuntivas y confirmativas de calidad para *Enterococcus*. La mayoría de estos son medios de cultivo selectivos que contienen ingredientes como la azida de sodio, el cloruro de sodio, el acetato de talio, el telurito de potasio, el tiocianato de potasio, el etil violeta, el cristal violeta, el cloruro de 2,3,5- trifeniltetrazolio (TTC) y algunos antibióticos como, por ejemplo, kanamicina, gentamicina, ácido nalidíxico, ácido oxolínico, polimixina o colistina (Doming *et al.*, 2003). Otros factores que contribuyen a la selectividad de los métodos de cultivo, como son las condiciones de crecimiento, en especial, el pH del medio, la temperatura de incubación, así como la concentración de cada uno de los inhibidores. En el caso de *Enterococcus* se aprovecha su capacidad para reducir el tetrazolio, en un medio a pH 7,0, provocando la aparición de colonias rojas brillosas que pueden ser fácilmente identificadas (Díaz *et al.*, 2013). En la actualidad se han desarrollado medios de cultivo cromogénicos para la detección de la actividad β -D-glucosidasa presente en *Enterococcus*. Estos constituyen herramientas útiles para la enumeración y detección específica de enterococos en agua, contienen mezclas de sustratos cromogénicos que son escindidos por ciertas enzimas producidas por el microorganismo, dando como resultado colonias bacterianas de diferentes colores, proporcionando una identificación más simple y rápida, ya que no requieren pruebas adicionales, lo que permite obtener los resultados en menos tiempo y con gran precisión, en comparación con los métodos tradicionales (Díaz *et al.*, 2014). El medio agar Chromocult® *Enterococcus* (Merck, Darmstadt, Alemania) es uno de los medios cromogénicos que se utilizan para el aislamiento, diferenciación y enumeración de *Enterococcus* en aguas, productos alimenticios y otros materiales. El crecimiento de *Enterococcus* en este medio se ve favorecido por la inclusión de peptonas, fosfatos y Tween 80. Contiene, además, azida de sodio y bilis de

buey que inhiben el crecimiento de la mayoría de la microbiota acompañante; sin embargo, pueden crecer las especies de *Aerococcus viridans* (incoloras o azul/violeta) y *Streptococcus equi* (turquesa) (Manafi, 2000; Díaz *et al.*, 2013).

En el caso de muestras de origen hospitalario, se emplean una variedad de medios en dependencia del tipo de muestra. El medio cromogénico MPO® se recomienda para la detección, enumeración e identificación de patógenos del tracto urinario; dentro de ellos los *Enterococcus* (no es específico para este género). El chrom ID VRE (bioMérieux, Francia) es un nuevo medio cromogénico selectivo que refuerza el aislamiento e identificación presuntiva de *Enterococcus* resistente a vancomicina, directamente de hisopados rectales. Con este medio se reduce el tiempo de ensayo, al no ser necesaria la confirmación, lo cual es de vital importancia para el control de la diseminación de resistencia a la vancomicina (Díaz *et al.*, 2013). En el Centro Nacional de Biopreparados (BioCen, Cuba) se ha desarrollado el primer medio cromogénico del país para el aislamiento, identificación y recuento de *Enterococcus* en muestras clínicas. Ha sido evaluado con muestras clínicas (urocultivos, vaginales, hemocultivos, coprocultivos, uretrales y endocervicales), y se han obtenido valores elevados de sensibilidad (100 %), especificidad (96,19 %) y exactitud diagnóstica (93 %) para el total de las muestras ensayadas, valores estos superiores a los reportados con otros medios cromogénicos como el chromID VRE (bioMérieux, Francia), VRE Agar (AES VRE agar; AES Chemunex) y el Agar VRE (Oxoid). (Díaz *et al.*, 2005; Díaz *et al.*, 2013)

Las cepas de *Enterococcus* spp. poseen propiedades fisiológicas que facilitan su caracterización fenotípica por métodos bioquímicos convencionales. Sin embargo, este tipo de identificación es compleja, dificultosa, demora al menos 48 h y, en algunos casos, debido a la similitud fenotípica no es posible una adecuada identificación. Por esta razón, se han estandarizado diversos métodos moleculares, basados en el estudio de ácidos nucleicos, que permiten la identificación más rápida y precisa de los miembros del género *Enterococcus*. Entre éstos se distinguen los ensayos de amplificación genética por PCR, hibridación ADN-ADN, hibridación ADN-ARN y análisis de proteínas los cuales pueden convertirse en una alternativa a la serología y caracterización bioquímica para la identificación de estos microorganismos (Sepúlveda *et al.*, 2002; Maheux *et al.*, 2017).

Para el caso de las muestras ambientales, específicamente las muestras de agua, existen dos métodos estándar para la detección de enterococos: la técnica de fermentación de tubos múltiples (NMP = Número Más Probable) y la técnica de filtración por membrana (FM) (Grant, 1997; Rivero, 2011). La Técnica de filtración por membrana se basa en la filtración de una muestra de agua para concentrar células viables sobre la superficie de una membrana y transferirlas a un medio de cultivo apropiado para contar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) desarrolladas luego de un período de incubación. El análisis se realiza en 24 horas y es aplicable a aguas potables y recreacionales. Por este método se obtiene un conteo o recuento directo de bacterias en aguas, basado en el crecimiento de colonias en la superficie de un filtro de la membrana. Luego de obtener crecimiento bacteriano en el medio selectivo se verifica que las bacterias sean enterococos pero sin identificar la especie. Se seleccionan algunas colonias y se transfieren a los siguientes medios de cultivo: Agar Bilis Esculina (BEA) y se incuba por 48 horas a 35 ± 0.5 °C; caldo BHI con 6.5% de cloruro de sodio a 35 ± 0.5 °C por 48 horas y en caldo BHI a 45 ± 0.5 °C durante 48 horas. Después de realizado los frotis para tinción de Gram, si se observan cocos Gram positivo que crecen en BEA, caldo BHI con 6.5% NaCl, caldo BHI a 45 °C e hidrolizan la esculina, son confirmados como enterococos. La técnica de FM se utiliza desde 1985 para monitorear la calidad del agua (Méndez, 2004).

La Técnica de Tubos Múltiples, se fundamenta en la producción de turbidez en un caldo selectivo para enterococos, luego de 24-48 horas de incubación a 35 °C. Consta de dos etapas, la presuntiva y la confirmatoria y la precisión de este método depende del número de tubos utilizados (de tres o cinco). Los resultados son reportados como número más probable (NMP); lo cual está basado en tablas de probabilidad estadística ya estandarizadas. Este resultado permite conocer la densidad bacteriana de enterococos en la muestra y se interpreta de manera similar a la técnica de número más probable para bacterias coliformes (Larrea *et al.*, 2013; Diaz *et al.*, 2014).

3.3. Enterococos en ecosistemas acuáticos

La contaminación de los ecosistemas dulceacuícolas es una problemática a nivel mundial debido al constante vertimiento de aguas residuales de origen doméstico e industrial. Los consumidores no tienen la capacidad de conocer la calidad del agua a menos que ésta se encuentre alterada en su composición física y/o presente cambios perceptibles por los sentidos (Méndez, 2004). Para evaluar la calidad microbiana del agua existen guías y normas de calidad que utilizan microorganismos indicadores, los cuales indirectamente sugieren la presencia potencial de microorganismos patógenos. La concentración máxima sugerida del indicador, se asocia con riesgos inaceptables para la salud (Vergaray *et al.*, 2007). Dentro del grupo de indicadores fecales se encuentran los enterococos, formando parte de la microbiota intestinal de mamíferos (Vázquez, 2019). Los enterococos, como integrantes de la microbiota del tracto gastrointestinal (TGI), son eliminados a través de la materia fecal y contaminan diversos nichos ecológicos del medio ambiente, por este motivo, en algunos países, son utilizados como indicadores de contaminación fecal, sobre todo en ambientes acuáticos. La presencia de los enterococos en ambientes extraintestinales, tales como el agua, alimentos y el aire pudieran estar relacionados a la transmisión de estos microorganismos con producción de enfermedades y en especial con diseminación de patrones de resistencia a antibióticos (Silva *et al.*, 2015; Pérez, 2021). La presencia de estas cepas en el medio ambiente puede ser la consecuencia de su prevalencia en el tracto gastrointestinal de animales y humanos. Nichos en los cuales los enterococos son aislados de forma rutinaria son suelo, sedimentos, plantas terrestres y acuáticas y agua, que en contraste con el tracto gastrointestinal de animales de sangre caliente, son hábitats que tienen temperaturas variables, y además presentan factores ambientales estresantes como la luz solar UV, la salinidad, la escasez de nutrientes o los depredadores. Se han encontrado en fuentes de agua como *E. acquimarinus* en agua marina, *E. rivorum* en agua de arroyo, o *E. moraviensis*, *E. silesiacus*, *E. ureasiticus* y *E. quebecensis* en aguas superficiales (Núñez, 2019).

Se consideran microorganismos ubicuos y pueden persistir por largos períodos de tiempo en agua y suelos tropicales y subtropicales (Herrera *et al.*, 2005). El análisis de *Enterococcus* sp. se realiza cuando se trata de aguas de bebida de

calidad dudosa como son las muestras de pozos, es decir, aguas subterráneas o para aguas de recreación (Díaz *et al.*, 2010).

En aguas tratadas, funcionan como una alerta de que ocurrió contaminación, indicando que hubo fallas en el tratamiento, en la distribución o en las propias fuentes domiciliarias (Díaz *et al.*, 2003). Cuando se analizan muestras de aguas, *E. bovis* y *E. equinus*, son indicadores de contaminación por animales de sangre caliente no humana, siendo las especies que más rápidamente mueren en el medio exterior; por tanto, cuando se detectan, indican una contaminación reciente. (Díaz *et al.*, 2010).

3.4. Dualidad de *Enterococcus* spp. como indicador de contaminación fecal y como patógeno

3.4.1. *Enterococcus* spp. como indicador de contaminación fecal.

La calidad, la disponibilidad y el acceso al agua potable constituyen un derecho humano y un componente básico en la política nacional. De esta forma, es preciso establecer límites máximos permisibles para los parámetros físicos y organolépticos, químicos, biológicos y radiactivos que aseguren una adecuada calidad sanitaria del agua, los que permitan servir de referencia para la vigilancia de la calidad del agua que consume la población (NC 827, 2017). La vigilancia de la calidad del agua se efectúa mediante la búsqueda de indicadores de contaminación fecal aprobados por los estándares internacionales y nacionales. El estándar internacional de la Organización Mundial de la Salud (OMS), describe los indicadores de alerta, establecidos para el monitoreo de las aguas y los define como aquellos que al exceder los límites especificados, requerirán de la aplicación de medidas correctivas para tener el proceso bajo control. Para el monitoreo de verificación de la calidad microbiológica del agua potable, la OMS, establece valores de referencia para indicadores bacteriológicos, mediante el empleo de la técnica de Filtración por membrana (FM) (Tabla 1) (OMS, 1995; Robert, 2014).

Tabla 1: Valores de referencia para la verificación de la calidad microbiológica del agua (Robert, 2014).

Microorganismos	Valor de referencia
Toda agua destinada a ser bebida: <i>Escherichia coli</i> o bacterias coliformes termotolerantes.	No detectables en ninguna muestra de 100 mL
Agua tratada que alimenta al sistema de distribución: <i>E. coli</i> o bacterias coliformes termotolerantes.	No detectables en ninguna muestra de 100 mL
Agua tratada presente en el sistema de distribución: <i>E. coli</i> o bacterias coliformes termotolerantes.	No detectables en ninguna muestra de 100 mL

La Norma Cubana 22 de 1999, establece los límites máximos permisibles de concentración de los indicadores de calidad bacteriológicos, coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales, calculados a través de la metodología del número más probable (NMP) (Tabla 2). Esta metodología es muy engorrosa y consume una gran cantidad de tiempo, además los indicadores utilizados no son los más apropiados debido a que muchos de los miembros del grupo coliformes (totales y fecales) pueden formar parte de la microbiota normal de aguas, suelos y vegetación, sin que esto indique que existe una fuente de contaminación fecal (Larrea *et al.*, 2013).

Tabla 2: Norma Cubana para lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores (Larrea *et al.*, 2013).

Tipo de recreación	Coliformes totales/100 mL	Coliformes fecales/100mL	Estreptococos fecales/100mL
Con contacto directo	$> 1 \times 10^3$	$\leq 2 \times 10^2$	$\leq 1 \times 10^2$
Con contacto indirecto	$\leq 5 \times 10^3$	$\leq 1 \times 10^3$	—

Hoy día existen discrepancias en las normas y guías para la evaluación del agua potable, especialmente, con respecto a los indicadores microbiológicos.

Los indicadores microbiológicos de contaminación deben cumplir algunos requisitos para ser considerados como tales: estar presentes en grandes cantidades en heces humanas o animales, ser detectados por métodos sencillos y no multiplicarse en agua; además su persistencia y susceptibilidad de eliminación debe ser similar a la de los microorganismos patógenos (Méndez, 2004). La enumeración de bacterias o grupos de bacterias indicadoras de contaminación fecal es utilizada para valorar la calidad sanitaria de alimentos, sedimentos y aguas destinadas al consumo humano, la agricultura, la industria y la recreación. No existe un indicador universal, por lo que los especialistas deben seleccionar el apropiado para la situación específica en estudio (Suárez, 2002).

El uso de *Enterococcus* sp. como un indicador de contaminación fecal de aguas con fines recreativos fue recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, de las siglas en inglés) en 1986 (USEPA, 1986), llegando incluso, a ser considerado el indicador bacteriológico más eficiente para evaluar la calidad de agua de mar para uso recreativo, debido a que es altamente resistente a las condiciones salinas de este medio (Díaz *et al.*, 2010; Rivero, 2011).

Por su persistencia en el ambiente y su ubicuidad en el intestino humano, este grupo bacteriano ha sido utilizado como indicador fecal de contaminación humana en aguas (Torres *et al.*, 2020). Estos pueden utilizarse como indicador de contaminación fecal, ya que la mayoría de las especies no proliferan en medios acuáticos.

La presencia de *E. faecalis* y *E. faecium* es usada frecuentemente para indicar contaminación de origen fecal. *E. faecalis* es considerado como un indicador de contaminación fecal de fuentes humanas, mientras que *E. faecium* y otras especies (*E. cecorum*, *E. hirae*, *E. bovis*, *E. equinus*), indican contaminación proveniente de animales de granja; y otras como *E. mundtii* y *E. casseliflavus* provenientes de plantas (Larrea *et al.*, 2013; Ramos *et al.*, 2020). Los enterococos son más persistentes en el ambiente que *E. coli* y los coliformes termotolerantes, por lo que pueden ser utilizados como buenos indicadores de la calidad microbiológica de agua para consumo humano y el monitoreo de la

eficacia de los tratamientos de desinfección utilizados para garantizar la potabilidad. Tienen la ventaja de que los métodos utilizados para su detección y enumeración no presentan alto grado de complejidad, ni se necesita infraestructura, material o equipo de gran especialización, como es requerido para identificar a otros microorganismos indicadores tales como colifagos o clostridios y bacterias anaerobias (Larrea *et al.*, 2009). Debido a que *E. coli* es menos persistente en el ambiente que los enterococos, la presencia de esta sugiere una contaminación más reciente. *Enterococcus spp.* tenderá a acumularse en el tiempo, mientras que *E. coli* puede acumularse durante eventos frecuentes de contaminación con un alcance de baja magnitud. De ahí que se pueda concluir que, en ausencia de *E. coli*, valores más altos de concentraciones de *Enterococcus spp.* sugieren altos niveles de contaminación frecuente y cuanto mayor sea esta mayor es el riesgo (Chidamba *et al.*, 2018).

El empleo de la relación *E. coli*/Enterococos (EC/E) puede ser de gran utilidad para la determinación del origen humano o animal de la contaminación fecal. Se ha sugerido que las cantidades de coliformes termotolerantes y enterococos fecales que son descargados por los seres humanos son significativamente diferentes a las descargadas por los animales. Cuando el coeficiente EC/E es mayor de 4 se está en presencia de una contaminación fecal de origen humano, y cuando este cociente es menor de 0,7 la contaminación es de origen animal. Sin embargo, en el intervalo entre 0,7 y 4 no se puede interpretar el origen de la contaminación, e incluso puede tratarse de una contaminación fecal mixta, es decir, donde haya presencia de materia fecal humana y animal (Larrea *et al.*, 2013).

Los enterococos presentan ciertas ventajas como indicadores de contaminación fecal: se encuentran en grandes cantidades en excretas de humanos y animales de sangre caliente, se han aislado en aguas de desecho y con alto grado de contaminación, no se han encontrado en aguas limpias, suelos y ambientes sin contacto de vida humana o animal, son persistentes sin multiplicarse en el ambiente, su aislamiento y cultivo es fácil de realizar, pueden ser utilizados para conocer el origen de la contaminación (Méndez, 2004). Existen numerosas limitaciones asociadas con la aplicación de estas bacterias como indicadores, como es su supervivencia en fuentes no fecales,

su habilidad para multiplicarse después de su liberación en una columna de agua, su emergencia como patógenos, entre otras. Por esta razón, se han utilizado como indicadores alternativos las bacterias anaerobias fecales (*Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium perfringens*), virus (colifagos) y componentes orgánicos fecales (coprostanol) (Larrea *et al.*, 2013).

3.4.2. *Enterococcus* spp. como patógeno.

En contraste con estas características positivas, los enterococos son reconocidos como importantes patógenos nosocomiales y están dentro de los organismos más prevalentes en infecciones hospitalarias a pesar de su baja virulencia (Ledesma *et al.*, 2015). Las enfermedades nosocomiales son aquellas que afectan a las personas hospitalizadas durante su estancia en el centro médico, transmitiéndose a través de comida contaminada o por contacto con una persona infectada (Pérez, 2021).

El género *Enterococcus* tiene ciertas características que le facilita la diseminación entre los pacientes: a) puede colonizar el tracto gastrointestinal, proveyendo un reservorio continuo para la diseminación intrahospitalaria; b) puede colonizar el ambiente hospitalario y sobrevivir en él por períodos prolongados; c) puede contaminar las manos y sobrevivir en ellas durante más de 60 min; d) la resistencia antimicrobiana le permite su supervivencia en un ambiente con alto uso de antibacterianos. Tienen la capacidad de pasar a través del epitelio intestinal intacto, invadiendo así zonas fuera de este y modificando su papel de comensales a patógenos (Fardiñas *et al.* 2007). A nivel mundial, la infección enterocócica se cita entre las 10 primeras infecciones adquiridas en el hospital. Su emergencia como patógeno es un hecho desde finales de la década de los años 80, siendo *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, las especies más comunes y responsables de una amplia variedad de infecciones entre las que se citan infecciones del tracto urinario, infecciones de heridas quirúrgicas, infecciones del torrente sanguíneo, infecciones del sistema nervioso central, endocarditis, infecciones intrabdominales, hepatobiliares, pélvicas y sepsis neonatal (Baldassari *et al.*, 2006; Quiñones *et al.*, 2018). Originalmente, *E. faecalis* era el principal agente causante de infecciones nosocomiales, pero en las últimas dos décadas, ha ocurrido justo lo contrario. La mayor parte de las infecciones han sido

provocadas por *E. faecium*, el cual tiene mayor facilidad para volverse resistente frente a vancomicina y ampicilina que *E. faecalis* (Pérez, 2021).

Los principales factores de riesgo que conducen a una infección por enterococos son principalmente el tratamiento previo de infecciones con antibióticos, la presencia de catéteres en el tracto urinario o vascular, las largas estancias en el hospital y la mala praxis a la hora de aplicar las medidas de higiene básicas, causando una mortalidad del 20-30% (Pérez, 2021). La mayoría de las infecciones son originadas de la microbiota endógena, aunque pueden ser transmitidas de persona a persona o por consumo de agua o alimentos contaminados. De las diversas infecciones causadas por *Enterococcus* sp., las endocarditis infecciosas (infección a nivel del endotelio o de las válvulas cardiacas) son una de las más desafiantes terapéuticamente, debido a que se requiere un alto grado de experiencia de médicos de diversas especialidades: neurólogos, cardiólogos, neurocirujanos, especialista en enfermedades infecciosas, microbiólogos y expertos en cardiopatías congénitas, entre otros. El período de incubación de la endocarditis puede variar entre unos pocos días, sobre todo cuando se trata de patologías agudas y, hasta 12 meses, en los casos subagudos y postoperatorios (Díaz *et al.*, 2010; Quirós, 2017). Los enterococos son causa frecuente de infección del tracto urinario (ITU) y bacteriemias, esta última suele asociarse con las endocarditis. En las bacteriemias sin endocarditis, el tracto urinario es el origen más común, y es el responsable del 19-43% de los casos. Otros orígenes pueden ser el tracto hepatobiliar y las infecciones intrabdominales. En personas que han tenido cateterizaciones urinarias o algún tipo de instrumentación de las vías urinaria es común este tipo de infección por enterococos, llegando a un 16% en pacientes hospitalizados y de edad avanzada. Las enfermedades malignas, los dispositivos intravasculares, las cirugías recientes, las quemaduras y la terapia antimicrobiana previa, son condiciones que se asocian con las bacteriemias. La incidencia anual de bacteriemias nosocomiales debidas a enterococos es de uno o dos episodios por cada 1000 pacientes hospitalizados, sobre todo en aquellos con períodos prolongados de hospitalización (Fariñas *et al.*, 2007; Márquez, 2020). *E. faecalis* y *E. faecium* son causas raras de ITU en mujeres jóvenes. No obstante, intervienen con frecuencia en infecciones complicadas. De hecho, estudios epidemiológicos

recientes han revelado que estas especies constituyen la segunda causa de ITU complicadas, seguidas de *E. coli*, y representan el 7 al 25% del número total de casos de ITU (Álvarez *et al.*, 2020).

El género *Enterococcus* representa un desafío terapéutico debido a su resistencia intrínseca (de carácter cromosómico y no transferible) y los mecanismos de resistencia adquiridos a varios antibióticos. Además, de la adquisición de mecanismos de resistencia a muchos de los antibióticos, existe la posibilidad de compartir dichos mecanismos con otros patógenos como *Staphylococcus aureus*. (Fardiñas *et al.* 2007). Según Guzmán *et al.* (2016), la plasticidad del genoma de este microorganismo le permite responder y adaptarse al medio adquiriendo determinantes genéticos que incrementan su habilidad para colonizar o infectar al hospedero.

Una de las características que deben cumplir los indicadores de contaminación fecal es que no debe ser patógeno (Méndez, 2004). La emergencia de los enterococos como patógenos nosocomiales pone en duda su papel como indicador de la calidad microbiológica del agua. A pesar del aumento de su patogenicidad en los últimos años, el género *Enterococcus spp.* se encuentra entre los colonizadores naturales de tracto gastrointestinal y manifiestan escaso potencial patogénico en el hospedero normal. Aunque ocurren infecciones por enterococos, la mayoría de éstas son originadas por la microbiota endógena y en pacientes inmunocomprometidos. La complejidad de su tratamiento se debe a la resistencia antimicrobiana intrínseca que presentan estos microorganismos de forma natural y a su capacidad para transferirlos a nuevas células. Su empleo como indicadores de contaminación fecal no solo contribuye al reconocimiento de fuentes fecales que pudieran estar contaminando el medio sino que también ayudan a la identificación de cepas resistentes que pudieran encontrarse en el ecosistema.

3.5. Importancia clínica de los enterococos.

En la década de los años 90, la aparición de nuevas enfermedades infecciosas y las modificaciones observadas en las enfermedades “clásicas” condujeron a acuñar los términos de patógeno emergente y reemergente para definir a aquellos agentes que ya causaban infecciones o que han aparecido en

el presente en una determinada población y están expandiendo su localización rápidamente. (Gaspar, 2018).

Durante los últimos 30 años, los enterococos han pasado de ser considerados agentes comensales de escasa patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera etiología más frecuente de infección nosocomial. La resistencia de los enterococos a diversos agentes antimicrobianos supone un problema de Salud Pública que afecta a todo el mundo, sobre todo a los países en los que el uso de antibióticos no está especialmente regulado (Núñez, 2019). Generalmente no causan enfermedades en el hábitat intestinal; aunque, en algunas ocasiones la relación de comensalismo establecida con el hospedero se rompe y provocan enfermedades (Padilla *et al.*, 2012). Se vuelven patógenos oportunistas principalmente en pacientes que están en las Unidades de Cuidado Intensivo que sufren de una enfermedad subyacente severa o pacientes inmunocomprometidos.

Los enterococos son organismos fuertes, pueden resistir varias condiciones adversas y sobrevivir por varios meses. Son capaces de sobrevivir a un rango de ambientes estresantes y hostiles, condiciones de pH extrema, a altas concentraciones de NaCl, a temperaturas entre 10 °C y los 45 °C, incluso pueden tolerar el cloro y algunas preparaciones a base de alcohol. Su control es todo un reto una vez que se establecen en el ambiente hospitalario. (Ramos *et al.*, 2020).

La reciente alerta sobre *Enterococcus* sp. no solo se debe a su incremento en las infecciones nosocomiales, sino también por su resistencia intrínseca, de carácter cromosómico y no transferible, a varios antibióticos, incluyendo cefalosporinas, merodeen, ertapenem, penicilinas, clotrimoxazol, aminoglucósidos y clindamicina (Díaz *et al.*, 2010).

Generalmente las bacterias del género *Enterococcus* sp. poseen bajos niveles de virulencia lo que se evidencia en el hecho de que son colonizadores naturales del tracto gastrointestinal y en que, desde hace unos años se ven como posibles candidatos probióticos y suplementos dietarios. (Vallejo *et al.*, 2014; Núñez, 2019; Torres *et al.*, 2020).

3.5.1. Factores de virulencia.

En la actualidad se tiene pleno conocimiento de que la virulencia de un organismo está mediada por la codificación de genes de virulencia, los cuales están presentes en regiones especiales dentro del genoma, a las cuales se les denominan islas de patogenicidad. Se entiende como factor de virulencia a los diversos componentes o sustancias producidas por los microorganismos que son necesarios para causar enfermedad o potenciar su capacidad de hacerlo (Padilla *et al.*, 2012). Particularmente, esto ocurre cuando los genes que confieren o expresan resistencia a antibióticos presentan a su vez factores de virulencia localizados en los mismos elementos genéticos móviles (Chajęcka-Wierzchowska *et al.*, 2017). Se sabe que el intercambio genético entre enterococos se produce mediante elementos genéticos móviles (MGEs) procarióticos que se clasifican como bacteriófagos, plásmidos o transposones que pueden contribuir en la plasticidad del genoma de los enterococos (Ledesma *et al.*, 2015; Núñez, 2019). Son varios los factores de virulencia que han sido descritos en el género *Enterococcus* sp., entre ellos, principalmente los referidos para las de cepas *E. faecalis* (Lendo, 2017). Estos factores han sido estudiados a lo largo de los años, siendo los más comunes, el antígeno A (EfaA), la adhesina del colágeno (Ace), la sustancia de agregación (Asal o Agg), la gelatinasa (GeIE), la proteína enterocócica de superficie (Esp), la citolisina enterocócica (CylA), la hialuronidasa (Hyl) y la formación de biopelículas (Ledesma *et al.*, 2015, Braiek *et al.*, 2019).

Según Vergaray *et al.* (2007) y Chajęcka-Wierzchowska *et al.* (2017), los enterococos son capaces de adherirse a los tejidos, pueden unirse a los receptores de la membrana mucosa y/o a las proteínas de la matriz extracelular, lo que favorece la colonización del epitelio. Obviamente, la colonización no es prueba de patogénesis, pero combinado con otros factores de virulencia y la presencia de genes de resistencia bacteriana, pueden hacer a la cepa potencialmente patógena. Entre los factores que promueven la colonización se encuentran:

El antígeno A (EfaA), se asocia a la adherencia de la bacteria tanto a células bióticas y superficies abióticas, además de participar en ciertas etapas de la formación de biopelículas. Tiene un peso molecular de 34 kDa y es codificado por el gen *efAfs* en *E. faecalis* y el gen *afArm* en *E. faecium*. Además se

conoce mediante métodos genéticos que existen genes homólogos a *efaA* en cepas de *E. avium*, *E. asini*, *E. durans* y *E. solitarius*

La sustancia de agregación (Asal o Agg), promueve la formación de agregados durante la conjugación bacteriana y media la unión específicas a células epiteliales para la colonización e intercambio de plásmidos que llevan rasgos de virulencia y genes de resistencia. La proteína tiene un peso molecular de 137 kDa y una estructura en forma de horquilla. Los enterococos tienen un mecanismo de acumulación de plásmidos basado en la producción de genes de feromonas sexuales. Estas facilitan la transferencia conjugada de plásmidos entre células, generalmente una misma cepa secreta varias feromonas diferentes, cuando se unen a los receptores de superficie de la célula donante, la señal transduce e induce el gen de la sustancia de agregación. El proceso resulta en la formación de un gran agregado conjugativo constituido por células bacterianas, facilitando el intercambio de material genético. (Madsen *et al.*, 2017; Chajeka-Wierzchowska *et al.*, 2017).

La proteína enterocócica de superficie (Esp), está codificada en un gen virulento que determina la adhesión célula-célula y la evasión de la respuesta inmune del hospedero. Se encuentra localizado en una región cromosómica altamente conservada (islas de patogenicidad) dentro del género. con un peso molecular de 200 kDa, siendo más común en *E. faecium*. Estudios han comprobado que esta proteína participa en la formación de biopelículas, donde juegan un papel importante en el intercambio de material genético entre células e incrementando su resistencia a antibióticos.

La adhesina del colágeno (Ace), posee la capacidad de unirse al colágeno y a proteínas de la matriz extracelular. Tiene un peso molecular de 74 kDa. Esta proteína fue aislada en cepas de *E. faecalis* aunque en *E. faecium* se encontraron proteínas con estructura similar a estas, las Acm; que son codificada por el gen *acm*, homólogo al gen *ace* que codifica para Ace.

Posterior a la colonización, ocurre la secreción de sustancias tóxicas que dañan los tejidos del individuo (Núñez, 2019). Entre los factores de virulencia que son excretados por este género de bacteria se encuentran:

La gelatinasa (GelE), esta enzima tiene un peso molecular de 30 kDa y se encuentra implicada en la hidrólisis de gelatina, colágeno, β -insulina, hemoglobina, caseína y otros péptidos biológicos. Es codificada por el gen

gelE, situado en el cromosoma, este gen es controlado por la proteína de transmembrana FsrB, que a su vez es regulado por el locus *fsr* constituido por tres genes: *fsrA*, *fsrB*, *fsrC*. Es capaz de degradar el tejido del hospedero permitiendo la migración bacteriana hacia tejido sano.

La citolisina enterocócica (CylA), también denominada hemolisina, es el factor más estudiado. Se conoce su efecto bactericida contra bacterias Gram positivas y tiene propiedades tóxicas contra eritrocitos, leucocitos y macrófagos (propiedades β -hemolíticas). Constituye una toxina peptídica capaz de formar poros en las membranas citoplasmáticas de las células blanco conllevando a la lisis celular. Genes que codifican la citolisina han sido encontrados en especies como; *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. malodoratus* y *E. raffinosus* (Madsen *et al.*, 2017).

La hialuronidasa (Hyl), es una proteína del genoma de *E. faecium* con un peso molecular cercano a 45 kDa y codificada por el gen *hyl*. Es capaz de hidrolizar el ácido hialurónico con posible papel en la translocación contribuyendo entonces a la invasión de la nasofaringe y neumonía pneumococal. Se ha encontrado rara vez en cepas de *E. faecalis*, aunque en cepas aisladas de alimentos como *E. casseliflavus*, *E. mundtii* y *E. durans* también ha sido encontrada (Padilla *et al.*, 2012; Lendo, 2017).

La habilidad para formar biopelículas incrementa la tasa de supervivencia y la propagación de genes de resistencia en diferentes condiciones ambientales, favoreciendo la colonización y persistencia en los tejidos. Las cepas que viven en las biopelículas son entre 10 y 100 veces más resistentes a los antibióticos que fuera de ellos (Núñez, 2019).

Existen además otros factores de virulencia implicados en una infección por enterococos aunque menos estudiados. Entre ellos podemos encontrar los genes *sag* y *scm* secretados por *E. faecium*, capaz de unirse a proteínas de la matriz extracelular y permitir la adhesión, respectivamente. También encontramos los genes *bee*, que permite una alta formación de biopelículas en fenotipos de *E. faecalis* (Braiek *et al.*, 2019).

No existe un único factor responsable de su virulencia como ocurre en otros microorganismos, sino que pueden ser varios los factores que juegan un papel en su patogénesis, siendo la mayoría de los descritos hasta ahora productos de secreción o factores de adhesión (Ledesma *et al.*, 2015).

3.5.2. Enterococos y la resistencia antimicrobiana.

El uso indiscriminado de antibióticos por las poblaciones ha propiciado cada vez más afectaciones en la calidad de los ecosistemas. La liberación de los antibióticos, incluso en pequeñas cantidades provoca la eliminación o muerte de la mayoría de los microorganismos con los que interactúan. Por otro lado, la fuerte presión selectiva que ejercen estos agentes antimicrobianos ha contribuido a un incremento significativo de microorganismos con resistencia a múltiples drogas (García *et al.*, 2009; Veranes, 2013). La resistencia a los antibióticos constituye un problema grave para la salud pública mundial, debido a la transferencia de organismos virulentos y genes de virulencia a los humanos a través de la cadena alimentaria. Dicha resistencia incrementa cada vez más e involucra nuevas especies microbianas y nuevos mecanismos de resistencia (Cabrera *et al.*, 2018; Betancourt, 2020).

La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico natural, de modo que cada vez que se pone en uso un nuevo agente antimicrobiano en la práctica clínica, se detecta en el laboratorio cepas resistentes. De manera general se considera que los mecanismos de resistencia a antimicrobianos pre-existen o se modifican en la naturaleza, ya sea por transferencia de genes de resistencia o por mutaciones (Vázquez, 2019). Existe preocupación por la aparición de bacterias que albergan genes de resistencia a los antibióticos en aguas recreativas, así como el riesgo que estos puedan suponer para los usuarios. Se sabe que los enterococos tienen rasgos de resistencia intrínseca al mismo tiempo que posee mecanismos específicos adquiridos de resistencia a diferentes antibióticos (Cho *et al.*, 2019). Lo anterior limita considerablemente sus opciones terapéuticas, presentando un gran desafío para el control de la infección enterocócica. La resistencia bacteriana está clasificada por la OMS como uno de los retos en la salud más urgentes a nivel global. (Quiñones *et al.*, 2018, Domesle *et al.*, 2020).

Las especies patógenas de enterococos son reconocidas por su capacidad para intercambiar información genética a través de plásmidos, transposones conjugativos, intercambio cromosómico o mutaciones; y su poder de diseminación de genes de resistencia a bacterias no patógenas (Díaz *et al.*, 2010; Vázquez, 2019). Los enterococos resistentes presentes en fuentes de

agua pueden, de manera potencial, transferir genes de resistencia a bacterias patógenas en el ambiente o a bacterias presentes en el tracto gastrointestinal humano después de una ingestión de agua contaminada, durante actividades recreativas (Cho *et al.*, 2019).

Las cepas resistentes se hacen predominantes por la presión selectiva de los antibióticos que hacen desaparecer las bacterias sensibles, no estando implicados solamente los antibióticos utilizados en medicina, sino también y de forma muy importante los empleados en veterinaria. La continua exposición a los antibióticos y su intensivo uso en la medicina y la veterinaria como agentes profilácticos o promotores de crecimiento, respectivamente, ha provocado un incremento de las cepas de enterococos resistente a diferentes clases de antibióticos (cepas multirresistente), posiblemente a través de mutaciones genéticas que le confieren esta antibioresistencia, posibilitando así su supervivencia. Los mecanismos de resistencia adquirida y transmisible consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos o en la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana o en la alteración del propio punto diana (Pérez, 1998; Braek *et al.*, 2019).

Los enterococos son intrínsecamente susceptibles a vancomicina, tetraciclina y eritromicina pero resistentes a clindamicina, cefalosporinas, meropenem, ertapenem, clotrimoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol y a concentraciones clínicamente alcanzables de aminoglucósidos. En el contexto clínico, la ampicilina sigue siendo el tratamiento de elección para las cepas susceptibles en pacientes que puedan tolerar este agente (Díaz *et al.*, 2010; García *et al.*, 2019). La resistencia que pueden presentar las cepas de enterococos a la vancomicina, son una de las principales preocupaciones en la actualidad. La vancomicina es un antimicrobiano glucopéptido utilizado en el tratamiento de varias infecciones bacterianas. Es un péptido tricíclico glicosilado, que actúa solamente sobre Gram positivos. Inhibe la síntesis de la pared celular de las bacterias, bloqueando la incorporación de peptidoglicano de las subunidades N-ácido acetilmurámico y N-acetilglucosamina, ligándose a la porción terminal D-Ala-D-Ala. De esta manera al encontrarse afectada la pared celular las bacterias no resisten la presión osmótica y ocurre la lisis celular (Raza *et al.*, 2018; Alves *et al.*, 2020). Los enterococos resistentes a vancomicina (VRE, por

sus siglas en inglés) representan un verdadero reto en la medicina. Este antibiótico se considera como el “último recurso a utilizar” en el tratamiento de una infección por enterococos, se utiliza para remplazar a la penicilina, ampicilina y aminoglucósidos en pacientes con alergias (Braek *et al.*, 2019). Estudios recientes plantean que la admisión en una habitación ocupada anteriormente por un paciente con una infección por VRE, incrementa significativamente el riesgo de adquirir dicha infección por el nuevo paciente (Faron *et al.*, 2016).

Entre los años 2000 y 2001 se notificaron, por primera vez casos de VRE en Cuba, observándose una baja prevalencia de este patógeno (0,4%) hasta 2005. Durante el período de 2010 a 2013, cinco nuevos VRE fueron detectados entre 596 aislamientos recolectados a través de la vigilancia nacional. La vigilancia sistémica de VRE se ha detenido desde entonces por la necesidad profundizar primeramente, en el conocimiento de las cepas de *Enterococcus* circulantes en Cuba, su susceptibilidad antimicrobiana, las bases moleculares de la resistencia, sus factores de virulencia, y llevar a cabo un análisis molecular de los aislados resistente a la vancomicina que aporten datos sobre la diversidad genética de ellos (Quiñones *et al.*, 2018).

Se conocen seis genes de resistencia a glucopéptidos: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, y *vanG*. El gen *vanA* es el operón mejor caracterizado, con altos niveles de resistencia a vancomicina y teicoplanina, siendo más común en *E. faecium*. Solamente este gen junto a *vanB*, tienen la capacidad de transmitirse vertical y horizontalmente proporcionando altos niveles de resistencia. En general, *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, y *vanG*; se consideran una propiedad adquirida, mientras que el gen *vanC* una rasgo intrínseco (Araújo *et al.*, 2013).

Las bacterias pertenecientes al género *Enterococcus spp.* que presentan el gen *vanA* son altamente resistente a los glucopéptidos. La resistencia es mediada por la sustitución de la terminal peptídica D-Ala-D-Ala, por la subunidad D-Ala-D-Lac. Esta sustitución de aminoácido causa una disminución de la afinidad del pentapéptido por la vancomicina. Las cepas que presentan el gen *vanB* prevalecen menos que *vanA* pero también se pueden encontrar alrededor del mundo. Como con *vanA*, la resistencia en *vanB* esta mediada por la conversión de D-Ala-D-Ala a D-Ala-D Lac. Sin embargo el gen *vanB* confiere una variada resistencia a vancomicina, desde niveles moderados a altos

niveles de resistencia (Faron *et al.*, 2016. La inducción de resistencia por los fenotipos vanA y vanB puede ocurrir por los propios glucopéptidos o por antimicrobianos no glucopéptidicos como la Bacitracina y la Polimixina B (Alves *et al.*, 2020).

Los patógenos emergentes y reemergentes son uno de los grandes desafíos para la salud pública global, tanto por su elevada morbimortalidad, como por sus dificultades en el diagnóstico, tratamiento e implantación de medidas preventivas y estrategias de control. Aunque son muchos los factores que favorecen la aparición y selección de la resistencia a los antibióticos, la utilización masiva y el uso inapropiado son determinantes. Se hace necesario entonces, la elección de antibióticos que por sus características farmacológicas y por otros parámetros sean efectivos donde deben serlo y contra los agentes que pretendemos que lo sean. Es primordial el conocimiento de la epidemiología de la resistencia (en cada lugar y tiempo concretos) que conducirá a la instauración de pautas de tratamiento adecuadas a esa realidad (Gaspar, 2018).

Conclusiones.

1. El género *Enterococcus* se considera un importante patógeno clínico a nivel mundial, responsable de una gran cantidad de enfermedades que pueden incluso ocasionar la muerte, por lo que resulta de notable significación su detección temprana, el reporte de los aislamientos, así como el seguimiento de su perfil de resistencia antimicrobiana.
2. Está demostrada la utilidad y eficiencia del género *Enterococcus* como indicador de contaminación fecal no reciente de aguas, especialmente para agua de mar de uso recreativo debido a su resistencia a las condiciones salinas de este medio.

Referencias Bibliográficas

1. Álvarez E., A. Campo, E. García, M. Garcia, O. Cores, I. Galindo, J. Pendones; A. López, M. Belhassen y J. Pardo. (2020). Infección urinaria por enterococos: Factores de riesgo y mortalidad. Estudio observacional. *Revista Clínica Española*. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2020.09.005>
2. Alves M., I. C. de Paiva y E. G. da Silva. (2020). Vancomicine resistant *Enterococcus* (VRE): General profile. *REVISTA JRG DE ESTUDOS ACADÊMICOS*. 5(8).
3. Araújo T. F. y C. L. D. L. F. Ferreira. (2013). "The genus enterococcus as probiotic: Safety concerns," *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 56(3):457–466.
4. Bou G., A. Fernández, C. Garcia, J. A. Sáez y S. Valdezate. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 29(8):601–608.
5. Braiek O. B. y S. Smaoul. (2019). Enterococci: Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2019/5938210>. pp: 13.
6. Chajęcka-Wierzchowska W., A. Zadernowska y L. Laniewska-Trokenheim. (2016). "Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food". *LWT—Food Science and Technology*. 75:670-676.
7. Chidamba L. y L. Korsten. (2018). Relative proportions of *E. coli* and *Enterococcus* spp. may be a good indicator of potential health risks associated with the use of roof harvested rainwater stored in tanks. *Environ Monit Assess*. 190:177
8. Cho S., L.M. Hiott, J.M. McDonald, J.B. Barrett, E.A. McMillan, S.L. House, E.S. Adams, J.G. Frye y C.R. Jackson. (2019). Diversity and antimicrobial resistance of *Enterococcus* from the Upper Oconee Watershed, Georgia. *Journal of Applied Microbiology*. 128:1221—1233.
9. Díaz M., C. Rodríguez y R. Zhurbenko. (2013). *Enterococcus*, medios de cultivo convencionales y cromogénicos. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 51 (1):97-110.
10. Díaz M., R. Zhurbenko, T. Lobaina, D. Quiñones y C. Rodríguez. (2014). Determinación cuantitativa de enterococos en aguas utilizando un método

cromogénico alternativo. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 33(1):1-11.

11. Díaz M, C. Rodríguez, R. Zhurbenko, E. Hernández, J. L. Muñoz del Campo y O. Bello. (2005). Evaluación del Desempeño de un nuevo medio de cultivo en la búsqueda de *Enterococcus* en muestras clínicas. Rev CENIC Cienc Biol. 36(No. Especial):1-6.
12. Díaz, C., C. Fall, E. Quentin, Ma. C. Jiménez, M. V. Esteller, S. E. Garrido, C. M. López y D. García. (2003). Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Capítulo 20-21: pp 224-239.
13. Díaz, M., C. Rodríguez y R. Zhurbenko. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno elevada importancia en la actualidad. Rev. Cubana Hig Epodemiol. 48(2): 147-161.
14. Domesle K. J., S. A. Gaines, C. Lam, S. M. Bodeis, Q. Yang, S. L. Ayers y P. F. McDermott. (2020). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Indicator Organisms *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. Isolated from U.S. Animal Food, 2005–2011. *Microorganisms*. 8(1048):1-14.
15. Doming K. J., H. K. Mayer y W. Kneifel. (2003). Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. Media for isolation and enumeration. *International Journal of Food Microbiology* 88:147– 164.
16. Escola L., M. Peghin, F. Givone, M.T. Pérez, M. Suárez, Y. Meije, G. Abelendad, B. Almirante y N. Fernández. (2020). Prevalencia de enfermedad colorrectal en la endocarditis infecciosa por *Enterococcus faecalis*: resultados de un estudio metacéntrico observacional. *Rev Esp Cardiol*. 73(9):711–717.
17. Fariñas M.C. y C. Torres. (2007). Enterococos ¿un patógeno emergente en nuestros hospitales? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 25(4):500-2.
18. Faron M. L., N. A. Ledebor y B. W. Buchan. (2016). Resistance Mechanisms, Epidemiology, and Approaches to Screening for Vancomycin-Resistant *Enterococcus* in the Health Care Setting. *Journal of Clinical Microbiology*. 54(10):1-12.

19. García L., A. J. Martínez, M. Pérez, L. López, M. Ruiz, F. Solar y J. Beltrán (2009): Evaluación de la calidad de las aguas del litoral de la ciudad de la Habana en el período lluvioso del año 2009. <http://hdl.handle.net/1834/3627>
20. García, M. y Rice L. B. (2019). The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clinical Microbiology Reviews*. 32:1-28.
21. Gaspar E. S. (2018). Patógenos emergentes: influencia de la resistencia a los antimicrobianos. Tesis de Diploma. Universidad de Salamanca. Facultad de Medicina. pp 28.
22. Grant M. A. (1997). A New Membrane Filtration Medium for Simultaneous Detection and Enumeration of *Escherichia coli* and Total Coliforms. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(9):3526-3530.
23. Guzmán A. M., W. Van Schaik, M. R. C. Rogers, T. M. Coque, F. Baquero; J. Corander y R. J. L. Willems. (2016). Global Emergence and Dissemination of Enterococci as Nosocomial Pathogens: Attack of the Clones? *Frontiers in Microbiology*. 7(788):1-15.
24. Larrea, J., M. Rojas, B. Romeu, N. Rojas y M. Heydrich (2013): Bacterias Indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: Revisión de literatura. *Revista CNIC Ciencias Biológicas*. 44(3):24-34.
25. Larrea, J., M. Rojas, B. Romeu, N. Rojas, M. Heydrich y D. Lugo (2009). Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico "Las Terrazas", Pinar del Río (Cuba). *Higiene y Sanidad Ambiental*. Vol 9, pp 492-504.
26. Ledesma, P., R. B. Parada, M. Vallejo y E. R. Marguet. (2015). Factores de virulencia de cepas de Enterococcus aisladas de aves silvestres de corral en la Patagonia. *Anacleto Vet*. 35(1):6-12,
27. Lendo, H. M. (2017). Determinantes de virulencia (gelatinasa y citolisina) en *Enterococcus spp* aislados de ríos y aguas residuales hospitalarias. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nayarit.
28. López D.V. (2018). Enterococcus, Salmonella y H2S. Control remoto de la resistencia a antibióticos. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. pp 211.

29. Madsen K. T., M. N. Skov, S. Gill y M. Kemp. (2017). Virulence Factors Associated with *Enterococcus Faecalis* Infective Endocarditis: A Mini Review. *The Open Microbiology Journal*, 11:1-11.
30. Maheux A.F., S. Bouchard, È. Bérubé y M. G. Bergeron. (2017). Rapid molecular identification of fecal origin-colonies growing on *Enterococcus* spp.-specific culture methods. *Journal of Water and Health*. 15(2): 1-12.
31. Manafi M. (2000). New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *International Journal of Food Microbiology* 60: 205–218.
32. Márquez G.J. (2020). Ocurrencia de *Enterococcus faecalis* en pacientes edéntulos mayores de 45 años en la parroquia Turi y El Valle en la ciudad de Cuenca. Trabajo de Diploma. Universidad Católica de Cuenca. pp 72.
33. Méndez R. A. (2004). Desarrollo y validación de una prueba de fácil aplicación para la determinación de enterococos en aguas de consumo humano. Tesis de Diploma. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de ciencias químicas y farmacia. pp 71.
34. Méndez R. I., L San Pedro, E. R. Catillo y E. Vázquez. (2010). Modelación de muestras Biológicas de agua. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 26(4): 327-335.
35. NC 22. (1999). Lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores. Requisitos higiénicos sanitarios. 1ra edn. Oficina Nacional de Normalización. Cuba.
36. NC 827. (2017) Agua potable requisitos sanitario. 3ra edn. Oficina Nacional de Normalización
37. Núñez, R. (2019). Importancia actual del género *Enterococcus spp* para su caracterización molecular. Tesis de Maestría. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria.
38. OMS. Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable. Ginebra: 1995.
39. Padilla E.C., A.M. Núñez, G.A. Padilla y G.O. Lobos. (2012). Genes de virulencia y bacteriocinas en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas desde diferentes muestras clínicas en la Región del Maule. *Rev Chi/Infect.* 29 (1): 55-61.
40. Pérez D. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud.* 22: 57-67.

41. Pérez L.A. (2021). Enterococos Intestinales. Trabajo de Diploma. Universidad de Jaén. Facultad de Ciencias Experimentales. pp 37.
42. Quiñones, D., M. Soe, J.P. Martins, N. Urushibara y N. Kobayashi. (2018). *Enterococcus* resistente a la vancomicina en Cuba: impacto clínico-terapéutico y epidemiología molecular. Convención Internacional de Salud.
43. Quirós, R. (2017). Tratamiento y manejo de Endocarditis Infecciosa. Rev. Med. Sinergia. 2(5):3-7.
44. Ramos, S., V. Silva, M. L. Enes, G. Igrejas y P. Poeta. (2020). Enterococci, from Harmless Bacteria to a Pathogen. *Microorganisms*. 8:1118.
45. Raza T., S. Rahmat, K. Mehmood y S. Andleeb. (2018). Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. 68(5): 768-772.
46. Rivero, Y. (2011). Empleo de bacterias indicadoras de contaminación fecal para la determinación de la calidad microbiológica de tres ecosistemas dulceacuícolas de la capital. Tesis de Licenciatura. Universidad de La Habana. Facultad de biología. pp.48.
47. Robert M. (2014). Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 45(1): 25-36.
48. Schell C. M. (2018). Caracterización fenotípica y genotípica de cepas de *Enterococcus spp.* aisladas de líquidos obtenidos por punción proveniente de infecciones invasivas humanas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Médicas. Pp 300.
49. Sepúlveda M., H. Bello, M. Ruiz, J. Hernández, M. Domínguez, G. González, S. Mella y R. Zemelman. (2002). Metodología clásica y molecular en la identificación de especies de *Enterococcus spp.* 130(1).
50. Silva R. A., M. Montiel, J. A. Núñez, Z. Medina, L. Atencio, J. Rivera y V. Aranaga. Especies, antibioresistencia y bandas plasmídicas en *Enterococcus* provenientes del Lagode Maracaibo, Venezuela. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas.49(1):26-43.
51. Suárez M. (2002). Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. Rev Cubana Hig Epidemiol. 40(1):38-43.
52. Torres, M. T., A. Pinheiro, F. Gleire, R. H. Silva y O. Viana. (2020). Factores de virulencia en estirpes bacterianas del género *Enterococcus* aisladas en el litoral de Fortaleza, Brasil. Higiene y Sanidad Ambiental. 20(4):1915-1922.

53. Vallejo, M., P. Ledesma, L. F. Aguirre, R. B. Parada y E. R. Marguet. (2014). Seguridad alimentaria y sanitaria de *Enterococcus* Proveniente de la provincia del Chubut- Argentina. *Rev. Pakamuros*. 2(2):52-60.
54. Vázquez J. (2019). Caracterización molecular y de susceptibilidad a antimicrobianos de *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp aisladas en el proceso de un rastro para bovinos. Tesis de Doctorado. Universidad autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. pp 43.
55. Veranes O. (2013). Evaluación de la resistencia a antibióticos y a metales pesados en aislados bacterianos del río Almandares. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 44(3): 35-37.
56. Vergaray G., C.R. Méndez, H. Y. Morante, V. I. Heredia y V. R. Béjar. (2007). *Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG*. 10(20): 82-86.
57. Zaheer R., R. Shaun, R. Barbieri, N. Goji, A. Cameron, A. Petkau, R. Ortega, L. Tymensen, C. Stamm, J. Song, S. Hannon, T. Jones, D. Church, C. W. Booker, K. Amoako, G. Van Domselaar, R. R. Read y T. A. McAllister. (2020). Surveillance of *Enterococcus* spp. reveals distinct species and antimicrobial resistance diversity across a One-Health continuum. *Scientific Reports*. 10:3937.