

***Enterococcus* en aguas del arroyo Vicario: recuento, identificación y perfil de sensibilidad**

***Enterococcus* spp in water Vicario stream: Counts, identification and sensibility profiles**

Amada B. Pucciarelli^{1,*}, Alberto Tessari¹, Martha H. von Specht¹

1- Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología "Dr. F. Benassi", Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552, Posadas, Misiones, Argentina.

* E-mail: mima@fceqyn.unam.edu.ar

Resumen

Enterococcus spp. es uno de los microorganismos indicadores de contaminación fecal de aguas y alimentos. Puede causar infecciones oportunistas en el hombre, y adquirir resistencia a antimicrobianos. El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de enterococos en aguas del arroyo Vicario de la ciudad de Posadas, Misiones, y conocer sus características microbiológicas. La detección, caracterización y perfil bioquímico se realizó según normas estándares americanas de aguas. Los ensayos de sensibilidad a quimioterápicos (Glucopéptidos, Aminoglucósidos y β -lactámicos), según metodología de Clinical Laboratory Standards Institute. Se aislaron 54 cepas: *Enterococcus faecalis* (86%), *E. faecium* (9%), *E. hirae* (1%), *E. gallinarum* (1%) y otros cocos grampositivos no *Enterococcus* (3%). Se observó amplia sensibilidad a antibióticos, salvo tres *E. faecalis*, dos con alto nivel de resistencia a aminoglucósidos y uno con resistencia intermedia a vancomicina. La contaminación provendría de efluentes cloacales considerando el origen intestinal de las cepas aisladas. Los hallazgos de este estudio son relevantes para el control de la resistencia a antibióticos en el medio ambiente.

Palabras clave: Enterococos; Arroyo; Detección; Sensibilidad a antibióticos.

Abstract

Enterococcus genus is a microorganism considered an indicator of fecal contamination of water and food; their presence in food is due to their ability to survive and their high resistance to different processes and treatment conditions. *Enterococcus* genus has relevance due to its high incidence in nosocomial illnesses and its property to acquire resistance to antimicrobials agents. The presence of *Enterococcus* species from Vicario stream water of Posadas City, Misiones, was studied. Detection, characterization and the biochemical profile was done according to the standard methods for water and streams, and sensibility assays to chemotherapeutic (Glucopéptids, Aminoglucosides and β -lactamics were done by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The strains were: 86% *Enterococcus faecalis*; 9% *E. faecium*; 1% *E. hirae*; 1% *E. gallinarum*; and 3% no *enterococcus*. A high sensibility towards antibiotics was observed, except three *E. faecalis* of which two presented high resistance to aminoglucosides and one with a medium resistance to vancomicine. These contaminants came from waste water considering the intestinal origin of isolated strains. The findings of this study are important for the control of antibiotic resistance in the environment.

Keywords: Enterococci; Stream; Detection; Sensibility antimicrobials.

Introducción

Se investigó la presencia del género *Enterococcus* en aguas del arroyo Vicario, cuya cuenca hídrica recorre importantes zonas de la ciudad de Posadas, Misiones. Desde el punto de vista epidemiológico constituye una severa advertencia la detección de enterococos en cuencas hídricas en contacto con asentamientos humanos, no solo por su origen en el tracto intestinal. La llegada al ambiente de bacterias antibiótico-resistentes compromete su calidad

higiénico-sanitaria, no habiéndose documentado en nuestra región la vigilancia de la resistencia a antibióticos en enterococos de este origen. (1).

Los enterococos se caracterizan por presentar resistencia natural o intrínseca a las cefalosporinas, aminoglucósidos (bajo nivel de resistencia) clindamicina, cotrimoxazol (in vivo) y por su capacidad para adquirir nuevas resistencias (2).

Desde el punto de vista clínico, es de especial interés la resistencia transferible a glicopéptidos (vancomicina

o teicoplanina) y estreptograminas (por ejemplo, quinupristina / dalbopristina) en los enterococos (3). No debe descartarse la posibilidad de transferencia *in vivo* de estas resistencias al género *Staphylococcus*, hecho que ya se ha logrado *in vitro*, lo que plantea graves dificultades terapéuticas sobre todo en las infecciones causadas por *S. aureus* Resistentes a Meticilino (2, 4, 5).

Estos microorganismos forman parte de la flora nativa gastrointestinal del hombre y animales, aislándose en más del 90% de individuos sanos. Si bien presentan escasa patogenicidad para el hombre, son agentes causales de infecciones oportunistas, algunas de suma gravedad como endocarditis bacteriana subaguda, y diversas infecciones relacionadas al ámbito hospitalario (6). *E. faecalis* (antes *Streptococcus faecalis*), también llamado enterococo por la frecuencia con que se encuentra en las vías digestivas del hombre, es un organismo resistente a la temperatura, soporta 62° C durante 30 minutos; además, muchas cepas halladas en la clínica son muy resistentes a los medicamentos antimicrobianos y hacen especialmente difícil el tratamiento de las endocarditis por esta bacteria (4).

Morfológicamente, los enterococos, son células esféricas u ovoides, Gram positivas, catalasa negativos, que se presentan de a pares o en cadenas cortas en medio líquido. Algunos son móviles por escasos flagelos, anaerobios facultativos y no forman endosporas ni cápsulas y de requerimientos nutricionales complejos (2,7).

Las características fisiológicas que distinguen al género *Enterococcus* son la habilidad para crecer en presencia de 6.5% de cloruro de sodio; a temperaturas de 10 °C y 45 °C y rango de pH entre 4,6 y 9.6-10; además, en presencia de azida de sodio al 0,04%. Son capaces de hidrolizar la esculina en presencia de 40% de bilis y poseen la enzima pirrolidonyl arylamidasa (8, 9).

Por otra parte, no existe una característica de las mencionadas que sea única para este género; las cepas de bacterias en forma de cocos, Gram positivas y catalasa negativas de los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus* pueden mostrar una o más de las características típicas del *Enterococcus* (10).

Con la excepción de *E. cecorum* todas las especies crecen a 10 °C, la mayoría de las especies desarrolla a 45 °C, algunos como *E. faecalis* y el *E. faecium* crecen a 50 °C. Todas las cepas de *E. gallinarum* y *E. flavescens* son móviles, *E. casseliflavus* y *E. malodoratus* producen H₂S (sulfuro de hidrógeno) (11, 12).

Se conocen en la actualidad 48 especies, clasificadas en siete grupos según los estudios de secuencia de ADN y la fracción de 16S de ARN (Tabla 1). Ellos son: *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. dispar*, *E. faecalis*, *E. faecium*, y *E. saccharolyticus* (8).

Tabla 1: Especies incluidas en el género *Enterococcus*

Grupo	Especie
<i>E. avium</i>	<i>E. avium</i> , <i>E. malodoratus</i> , <i>E. psuedoavium</i> , <i>E. gallinarum</i> , <i>E. raffinosus</i> , <i>E. casseliflavus</i>
<i>E. cecorum</i>	<i>E. cecorum</i> , <i>E. columbae</i>
<i>E. dispar</i>	<i>E. dispar</i> , <i>E. asini</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. haemoperoxidus</i> , <i>E. moraviensis</i>
<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. hirae</i> , <i>E. mundtii</i>
<i>E. saccharolyticus</i>	<i>E. saccharolyticus</i> , <i>E. sulfureus</i>
Otras especies (aún no clasificadas)	<i>E. aquimarinus</i> , <i>E. azikeevi</i> , <i>E. caccae</i> , <i>E. canis</i> , <i>E. anintestini</i> , <i>E. devriesei</i> , <i>E. gilvus</i> , <i>E. italicus</i> , <i>E. hermanniensis</i> , <i>E. inusitatus</i> , <i>E. malodoratus</i> , <i>Epallens</i> , <i>E. phoeniculicola</i> , <i>E. rattus</i> , <i>E. rottae</i> , <i>E. silesiacus</i> , <i>E. termitis</i> .

Fuente: Adaptado de Klein, G (2003) (9).

Como agentes oportunistas de infecciones relacionadas al ámbito hospitalario, son considerados el segundo patógeno responsable de infecciones hospitalarias en los Estados Unidos de América (infecciones urinarias, quirúrgicas, endocarditis, bacteriemias y raras veces meningitis), solo superado por *Escherichia coli* como causa de infección urinaria y tercero, luego de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulans* negativos, como agente de bacteriemia (4, 13).

Las especies de mayor importancia clínica son *Enterococcus faecalis* (80-90% de los aislamientos) y *E. faecium* (5-10%), mientras que *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. durans*, *E. hirae* y *E. casseliflavus* ocupan el tercer lugar, con una frecuencia en conjunto, menor del 10% (12). En nuestro país, según el programa VIHDA, los enterococos constituyen el cuarto microorganismo en orden de importancia en infecciones primarias de sangre, de sitio quirúrgico e infección urinaria en adultos internados en áreas no críticas (14,15). Factores de virulencia de *Enterococcus*, como hemolisinas, sustancias de agregación, bacteriocinas, proteasas y aglutininas, son los que favorecen las infecciones en huésped, especialmente en el anciano y en el paciente inmunocomprometido (2, 3, 16).

Clásicamente se consideraba que la infección enterocócica era de origen endógeno, pero la infección exógena, por transmisión cruzada a través del personal de salud, así como de paciente a paciente, o por consumo de agua o alimentos contaminados, está claramente demostrada en la actualidad, y es en este tipo de infecciones donde se han aislado cepas multiresistentes (2). En el año 1988 se publicaron los primeros casos de enterococos con alto nivel de resistencia a la vancomicina (ERV) en Reino Unido y Francia. A partir de allí se implementaron distintos protocolos de vigilancia para detectar pacientes portadores en servicios cerrados, lo que permitió caracterizar a los ERV como emergentes, productos de la presión de selección del medio hospitalario (17).

Sin embargo, a pesar de las medidas implementadas, se observó un ascenso exponencial de las tasas de portación en relación a las cifras de registros anteriores, por el empleo extensivo de la vancomicina (VAN) que ha provocado un aumento de enterococos resistentes a este antibiótico.

Hasta la fecha se han descrito seis fenotipos de resistencia a glicopéptidos en enterococos: VanA, VanB, VanC, VanD, VanE y VanG. Los fenotipos VanA y VanB son en el mundo los más ampliamente distribuidos y se presentan especialmente en *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, aunque también han sido reconocidos en otras especies (3).

El fenotipo VanA se caracteriza por un elevado nivel de resistencia a la vancomicina (CIM \geq 64 μ g/ml) y por la resistencia a la teicoplanina (CIM $>$ 16 μ g/ml), mientras que los fenotipos VanB presentan resistencia variable a la vancomicina (CIM entre 4 y 1000mg/ml) y son sensibles a la teicoplanina. Los fenotipos VanC, VanD, VanE y VanG, son de menor relevancia clínica (3). La mayoría de los aislamientos de ERV se refieren a pacientes hospitalizados, ya sea en unidades de cuidados intensivos, salas de oncología o unidades de trasplante. También se los ha aislado en pacientes que presentaron largos periodos de internación, algún grado de inmunosupresión o que se les había suministrado antibióticos. Estos factores fueron determinantes para que se los encontrara asociados a brotes de infección hospitalaria. Además se encontraron *Enterococcus* aislados de aguas superficiales y aguas residuales que resultaron resistentes a vancomicina (18).

El primer aislamiento fehacientemente documentado en Argentina fue una cepa de *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina portador del fenotipo VanA (19). Posteriormente se comunicaron otros aislamientos de *E. faecium* VanA e incluso *E. faecalis* VanB. Dos casos clínicos en los que se obtuvo aislamiento de *E. faecium* con fenotipo VanB (resistentes a vancomicina y sensibles a la teicoplanina), fueron atendidos en el Policlínico Bancario de Buenos Aires en julio del 2000. Los pacientes provenían de la comunidad y eran de sexo femenino. No referían internaciones previas ni tratamiento antimicrobiano reciente. (19).

No existen reportes en nuestra región que aborden este problema desde el punto de vista ambiental.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de enterococos en aguas del arroyo Vicario de la ciudad de Posadas, Misiones, conocer las especies predominantes, y caracterizar sus perfiles de resistencia considerando que éstos podrían ser buenos indicadores de las consecuencias ambientales del uso intensivo y extensivo de antibióticos en medicina humana y veterinaria.

Materiales y Métodos

Se trabajó con muestras tomadas del arroyo Vicario de la ciudad de Posadas, que fueron procesadas para recuento y aislamiento.

Las tomas de muestras se realizaron en tres puntos geográficos (Fig 1): Desembocadura sobre el Río Paraná (P1), Avenida Marconi (P2) y Avenida Uruguay (P3), durante seis muestreos en cada punto. Las muestras fueron transportadas en forma refrigerada al laboratorio (entre 4-10 °C aproximadamente), procesándose antes de las 6 horas.



Figura Nº 1: Uno de los puntos de muestreo de Arroyo Vicario.

Recuento e identificación

Para el recuento se utilizó el método de fermentación de los múltiples tubos expresando los resultados como Número Más Probable (NMP/100mL). Se realizaron diluciones seriadas de las muestras con agua destilada estéril como diluyente y se inocularon series de tres tubos con caldo de enriquecimiento azida dextrosa de doble y simple concentración (20), los que se incubaron a 35 °C durante 24-48h. Los tubos que presentaron turbidez fueron confirmados en placas de agar KF para estreptococos (6, 21, 22).

Las colonias típicas (colonias rojas/rosadas con halo amarillo) fueron repicadas para su propagación, en estrías de agar Infusión Cerebro Corazón (BHIA) y se incubaron a 37 °C durante 24h. Con estas cepas se efectuaron: reacción de la catalasa, tinción de Gram y las pruebas bioquímicas para la identificación de género y especies tales como: desarrollo a 45 °C y 10 °C (en BHI caldo), movilidad, actividad de la enzima pirrolidonilarilamidasa (PYR), bilis esculina, desarrollo en medio con NaCl al 6,5% y con telurito al 0,04%, hidrólisis de Arginina y producción de ácido de manitol y arabinosa, con los que se obtuvieron las distintas especies que fueron posteriormente confirmadas por el laboratorio Nacional de Referencia INEI ANLIS Malbrán (6, 12, 23).

El NMP se calculó con la densidad de enterococos a partir del número de tubos que dieron turbidez y resultado positivo (+) en Agar K-F; además, la confirmación frente a las pruebas bioquímicas catalasa, tinción de Gram, crecimiento en presencia de 6.5% de cloruro de sodio y desarrollo a 10 °C y 45 °C en BHI caldo. Con las combinaciones de tubos positivos (+) y negativos (-) se leyó el NMP/100mL según la tabla de Mac Crady (20, 24).

Perfil de Sensibilidad Antimicrobiana

Para el estudio de la sensibilidad a los antibióticos, los aislamientos fueron reactivados con caldo BHI a 35 °C

por 24h, posteriormente se prepararon suspensiones de microorganismos, ajustadas a la escala 0,5 Mc-Farland e inocularon mediante hisopos estériles sendas placas de agar Mueller Hinton (Britania, Argentina). Se trabajó con monodiscos (Laboratorios Britania) de: vancomicina (Van 30 µg), gentamicina de alta carga (GHC 120 µg), estreptomina de alta carga (SHC 300 µg), teicoplanina (TEI 30 µg), ampicilina (Am 10 µg) conforme a las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute. (25).

Se efectuó la lectura con la placa invertida e iluminación directa, luego de 18-24 h. de incubación a 37 °C, y se midieron los halos de inhibición en mm (Tabla 2, Fig. 2).

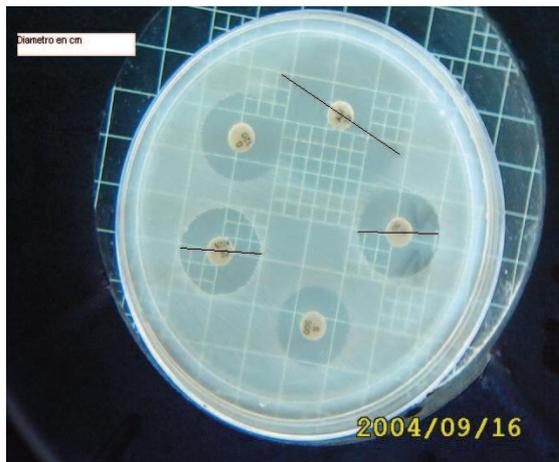


Figura 2: *Enterococcus* spp del Arroyo Vicario, Posadas Misiones. Lectura de Antibiograma.

Las lecturas de los antibiogramas se efectuaron en base a los diámetros de corte de la Tabla 2 (25).

Tabla 2: Referencia (Diámetro de corte) CLSI 2012

Antibiótico	Resistente	Intermedio	Sensible
Gentamicina (Gen,M1)*	6	7-9	≥10
Estreptomina(Str)*	6	7-9	≥10
Ampicilina (Amp)	≤16	--	≥17
Vancomicina (Van)	≤14	15-16	≥17
Teicoplanina (T)	≤10	11-13	≥14

*Alta carga

Conservación y mantenimiento de cepas: Los microorganismos fueron conservados en Caldo Tripteina Soya-Glicerina al 20%. Para ello, las cepas aisladas se repicaron en caldo Tripteina Soya, o infusión de cerebro y corazón (BHI) y se incubaron durante 48 h a 37 °C, para obtener mayor inóculo y luego fueron repicadas (4 o 5 por cada cepa) en recipientes de plástico (Eppendorff) estériles conteniendo 1 mL del medio anteriormente mencionado y llevados a -20 °C (26).

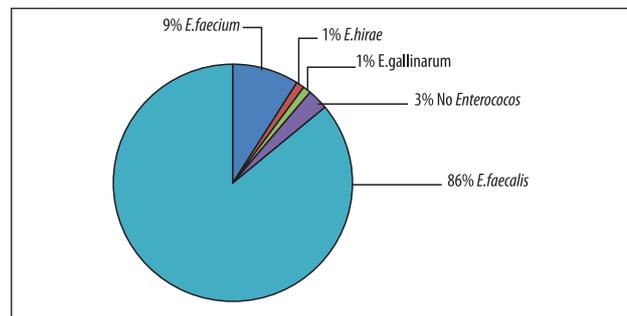
Como control del método de conservación, se tomaron 4-5 cepas (viales) al azar y se repicaron en Agar Tripteina Soya, incubándose durante 48h a 37 °C observando el crecimiento de las mismas, y controlando con pruebas bioquímicas mínimas las características del género *Enterococcus*.

Resultados

Considerando 5 muestras en un período de 30 días, se obtuvieron las medias geométricas: (P1: 706,6±438,3; P2: 716±529,6 y P3: 702,8±544,7) NMP/100mL. Los recuentos de *Enterococcus* fueron similares en los 3 puntos con un promedio de 708,8±7,1NMP/100mL. El sexto muestreo tomado después de 15 días no fue considerado debido a las precipitaciones en la zona; con valores de 1100 NMP/100 mL en cada uno de los puntos.

Entre las 54 cepas aisladas, el 86% correspondió a *E. faecalis*, hallazgos que se ilustran en la Fig. 2.

Figura 2: Distribución de especies de *Enterococcus* detectadas en Arroyo Vicario Posadas- Misiones.



Se efectuó un antibiograma a 32 cepas del total de aislamientos que fueron seleccionadas al azar, cuyas lecturas se exponen en la Tabla 3.

Tabla 3: Diámetros de halos de inhibición de *Enterococcus* spp frente a antibióticos. Aguas del Arroyo Vicario. Posadas Misiones.

Cepa	Vancomicina	Gentamicina	Estreptomina	Ampicilina	Teicoplanina
	Diámetro del halo (mm)				
1	16	11	8	30	17
3	22	19	17	30	22
5	23	10	16	34	24
6	23	8	20	28	19
7	28	27	25	29	23
9	20	15	18	25	19
10	23	16	22	30	22
11	22	20	19	28	22
12	18	10	15	24	19
15	16	11	8	30	17
23	24	9	21	31	22
26	19	12	12	31	18
27	19	15	16	23	18
28	22	24	21	36	20
29	20	22	19	30	20
30	21	24	22	31	20
31	22	22	23	32	19
32	25	22	20	33	21
33	19	19	17	31	21
34	21	20	17	32	20
35	20	25	21	34	22
37	22	21	22	28	20
44	21	22	22	30	21
46	20	20	22	35	22
47	21	22	19	28	19
48	21	22	22	30	21
49	21	22	19	29	20
50	22	21	19	29	22
51	20	21	16	31	21
52	23	18	16	30	18
53	21	18	18	31	20
54	22	20	21	32	21

En Tabla 4 se presentan los perfiles de resistencia de *E. faecalis* y *E. faecium*. Se observa que *E. faecalis* (N = 28), mostró predominio de aislamientos sensibles a todos los ATB estudiados, aunque también resistencia intermedia en Van, resistencia de alta carga a Gen y Est. En cambio, todas las cepas estudiadas de *E. faecium* fueron sensibles a todos los ATB ensayados.

Tabla 4: Perfil de Sensibilidad de *E. faecalis* y *E. faecium* frente a ATB

	<i>E. faecalis</i> N=28 (87,5%)			<i>E. faecium</i> N=4 (12,5%)		
	Sensible	Intermedio	Resistente	Sensible	Intermedio	Resistente
Amp	28	--	--	4	--	--
Van	27	1	--	4	--	--
Teico	28	--	--	4	--	--
Gen	26	2	--	4	--	--
Est	26	2	--	4	--	--

Discusión

La contaminación es un problema mundial inquietante en los lugares donde la población está creciendo rápidamente, como la ciudad de Posadas y no hay suficiente control sanitario sobre los efluentes arrojados a los cursos de aguas superficiales y profundas. Las aguas y los alimentos contaminados con microorganismos constituyen un vehículo de transmisión de enfermedades infecciosas; por otra parte, el desarrollo microbiano destruye grandes cantidades de alimentos, causando problemas económicos y una considerable pérdida de importantes nutrientes (27).

Considerando los niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente (Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación), con valores de hasta 33 NMP/100mL como aceptables, los recuentos obtenidos indican un alto nivel de contaminación en las aguas estudiadas. Esto significa un riesgo potencial de contaminación de colonización para humanos en contacto con cualquiera de los arroyos que se encuentran en la ciudad; además, los enterococos por tener una amplia distribución, gran capacidad para sobrevivir y desarrollarse bajo condiciones extremas, mayor resistencia a condiciones adversas como congelación, desecación y mayor sobrevivencia que los coliformes, estos microorganismos se han aislado de diferentes ecosistemas como agua superficiales, alimentos, plantas, suelos e insectos (1, 7, 28). También estos microorganismos se encuentran en el tracto gastrointestinal del ganado vacuno, cerdo y aves, perros, gatos (9).

La inconsciencia de la población ribereña establecida en los márgenes de este arroyo, que arrojan sus aguas residuales (y otros residuos), contribuyen a superar la lenta depuración natural del agua.

La selección y diseminación de bacterias resistentes a antibióticos, es un problema creciente que limita las opciones terapéuticas. Tradicionalmente, la vigilancia de la dispersión de estas bacterias se realiza con microorganismos aislados de muestras clínicas, no habiéndose documentado en nuestra provincia en enterococos provenientes del medio ambiente.

Nuestros hallazgos, muestran amplia sensibilidad a los quimioterápicos ensayados (Tabla 4). El 100% de nuestros aislamientos mostró sensibilidad a ampicilina, si bien se reportan Enterococos productores de β -lactamasas no detectadas por el disco de ampicilina, estos aislamientos son escasos (29). La ausencia de enterococos resistentes a vancomicina en aguas, ha sido reportada por otros investigadores de Argentina (30). Este resultado contrasta con los comunicados en países europeos (6, 31) y en Cuba (32), en los que se encontró una alta prevalencia de Enterococos resistentes a vancomicina en muestras ambientales. Si bien en el presente estudio se detectó sensibilidad disminuida a esta droga en un solo aislamiento de *E. faecalis*, debe constituir una alarma y considerarse su vigilancia en el ambiente (4, 17). En cuanto a aminoglucósidos, y como se desprende de la Tabla 4, fue baja la resistencia de alta carga encontrada, y al igual que investigadores de Bahía Blanca, Buenos aires, no se aislaron cepas con resistencia simultánea a ambos antibióticos (gentamicina y estreptomycinina) (30).

Nuestros hallazgos, muestran la importancia de la detección temprana de estos microorganismos en los procesos de control de calidad de las aguas y los alimentos, vehículos de transmisión de microorganismos muchos de los cuales con resistencia a antibióticos y la probable transferencia horizontal de las mismas a otras bacterias que comparten el hábitat, pudiendo constituir un reservorio de las mismas. .

Conclusiones

En todas las muestras se detectaron enterococos. Con un valor promedio de $708,6 \pm 7,1$ NMP/100mL, muy superior a los considerados aceptables por los niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente (Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación), que establece valores de hasta 33NMP/100mL para considerarlo apto para el baño.

La presencia importante de *E. faecalis* y *E. faecium* con una distribución uniforme a través del tiempo y de las zonas de muestreo, evidencia una contaminación fecal apreciable de origen humano, la cual puede provenir de los asentamientos poblacionales aledaños al curso de agua.

La resistencia frente a los antibióticos β -lactámicos y aminoglucósidos, no constituyó un factor alarmante en nuestro estudio, siendo la totalidad de los aislamientos sensibles a ampicilina y los aislamientos resistentes a alta carga de aminoglucósidos no presentaron resistencia combinada de ambos. Sin embargo, la presencia de un aislamiento con sensibilidad disminuida a vancomicina, debe alertarnos a continuar con la vigilancia de estos perfiles en el ambiente.

Los hallazgos de este estudio constituyen una alerta sobre la posibilidad de dispersión de bacterias resistentes en el ambiente acuático, el cual se constituiría en un reservorio de las mismas, pudiendo ser diseminadas a la población en general.

Bibliografía

1. Benassi, F.; Palmieri de Morey S.; Leardini N. *Investigación de Streptococos Fecales en Aguas del Arroyo Zaimán.*, Rev. Arg. de Microbiol. Vol. 18. Nº 2: p. 79-82. 1986.
2. Ayats Ardite J. *Resistencia a la Vancomicina en el Género Enterococcus*, Control, Calidad SEIMEC. http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/envancor.html. 2007.
3. Klare, I.; Konstabel, C.; Badstübner, D.; Werner, G.; Witte, W. *Occurrence and spread of antibiotic resistances in Enterococcus faecium*. Int J Food Microbiol. Dec 1; 88 (2-3): p. 269-290. 2003.
4. Facklan, R.; Sahm, D.; Teixeira, L. "Enterococcus". In: Murray, P.R.; Baron, E. J.; Tenover, F. C. and Tenover, R. H. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. p. 297-305. Washington D. C.: ASM PRESS. 1999.
5. Deurenberg, R.H.; Stobberingh, E.E. *The evolution of Staphylococcus aureus*. Infect Genet E. 8: p. 747-763. 2008.
6. Novais, C.; Coque, T.M.; Ferreira, H.; Sousa, J.C.; Peixe, L. *Environmental contamination with vancomycin-resistant enterococci from hospital sewage in Portugal*. Appl Environ Microbiol. 71: p. 3364-3368. 2005.
7. Suárez Pita, M. *Tendencia Actual del Streptococo como Indicador de Contaminación Fecal.*, Rev. Cubana Hig Epidemiol Vol. 40(1): p. 38-43. 2002.
8. Giraffa, G. *Enterococci from foods*, FEMS Microbiology Reviews. 26: p. 163-171. 2002.
9. Klein, G. *Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract.*, Int.J.Food Microbiol., www.elsevier.com/locate/ijfood-micro. 2003.
10. Ruoff, K. "Aerococcus, Abiotrophia, and other catalase-negative, gram-positive cocci". In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. editors. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. p. 443-454. Washington D.C: ASM. PRESS. 2007.
11. Schleifer, K.H.; Kilpper-Bälz, H. *Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the Genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov.*, Int J Syst Bacteriol. Vol.34: p. 31-34.1984.
12. Vay, C.; Bantar C. *Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas*. Curso de Microbiología Clínica Módulo 3, Asociación Argentina de Microbiología, Colegio de Bioquímicos. de la provincia de Entre Ríos. Fac. Bqca. y Cs. Biológicas UNL, 1997.
13. Jeff, B.; Huycke, M. *Gilmore, M. Virulence of enterococci*. Clin Microbiol Rev. 7: p. 462-478, 1994.
14. Togneri, A.M.; Corso, A.; González, J.; Lopardo, H.; Podestá, L.B.; Gagetti, L.; Pérez, M.; Rodríguez, V.; Rodríguez, M.; Ríos, L.; Dinerstein, E. *Análisis clínico-epidemiológico de la portación intestinal de enterococos resistentes a vancomicina en una unidad de terapia intensiva*. Rev. Arg. de Microb. Vol. 35: p. 41-44. 2003.
15. Programa Nacional de Vigilancia de Infecciones Hospitalarias de Argentina (VIHDA). *Estudio Nacional de Diagnóstico Institucional y Prevalencia de Infecciones Asociadas al Cuidado de la Salud en Áreas No Críticas de Hospitales de Argentina*. 2010. <http://www.vihda.gov.ar>. Dic. 2011.
16. Acosta Gnass, S. *Enterococcus*. Buenos aires: Grupo Aesor Control de Infecciones y Epidemiología. p. 1-15. 2005 <http://www.codeinep.com.ar/control/Enterococcus.pdf>. Acceso Dic. 2008.
17. Rice, L.B. *Emergency of Vancomycin-Resistant enterococci.*, Infect. Dis. Vol.7: p. 183-187. 2001.
18. Marcinek, H.; Wirth, R.; Muscholl-Silberthorn, A.; Gaver, M. *Enterococcus faecalis gene transfer under natural conditions in municipal sewage water treatment plants*. Appl. Environ.Microbiol. 64: p. 626-632. 1998.
19. Marín, E.; Mera, J.R.; Anduino, R.C.; Correa, A.P.; Coque, T.M.; Stambouliau, D.; Murria, B.E. *First Report of Vancomycin resistant Enterococcus faecium isolated in Argentina*. Clint. Infect. Dis. Vol. 26: p. 235-236. 1998.
20. Standard Methods for examination of Water and Waste Water. APHA (American Public Health Association). 21th Ed. Copyright. 2005.
21. Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente. Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación. Diciembre 2001.
22. Morrison, D.; Woodford, N.; Cookson, B. *Enterococci as emerging pathogens of humans*. J. Appl. Microbiol. Vol. 83: p. 89-99. 1997.
23. Hernández, C.; Gómez, M.; Muñoz, F.; Zamora, F.; Villaroel, M.; Medina, G. *Identificación de cepas de enterococos utilizando el método convencional y el sistema automatizado ATB – plus*. Boletín SVM. 2: 58-50. 1999.
24. Mac Faddin, J. *Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Ed. Médica Panamericana. 1980.
25. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing for bacterial that grow aerobically. Approved standards. 6Th edition; 13th Informational Supplement. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2003.
26. Tejedor Junco, I.M.; González Martín, M.; Pita Toledo, M.L.; Lupiolla Gómez, P.; Martín Barrasa, J.L. *Identification and antibiotic resistance of faecal enterococci isolated from water samples*. Int J Hyg Environ Health. Vol. 203 - 4: p. 363-368. 2001.
27. Díaz Pérez, M.; Rodríguez Martínez, C.; Zhurbenko, R. *Aspectos fundamentales sobre el género Enterococcus como patógeno de elevada importancia en la actualidad*. Rev Cubana Hig Epidemiol v. 48, nº 2. 2010.
28. Pucciarelli, A.B.; Zubreski, R.E.; von Specht, M.H.; Benassi, F.O.(†), *Estudio de Enterococcus spp. en Aguas de Arroyos de Posadas- Misiones.*, Revista de Ciencia y Tecnología-FCEQyN-Centro de Investigación y Desarrollo Tecno-

- lógico (CIDeT)-UNaM. Vol 9: p. 32-35 - 2007.
29. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty Second Informational Supplement.** *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)-M100-S22*; Vol. 32, N° 3: p. 91. Jan 2012.
30. **Baldini, M.; Zelser, P.** *Patrones de resistencia a antibióticos de enterococos aislados de aguas estuarinas.*, Rev Arg de Microbiol Vol. 40: p. 48-51. 2008.
31. **Iversen, A.; Kühn, I.; Franklin, A.; Möllby, R.** *High prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Swedish sewage*, *Appl Environ Microbiol.* 68: p. 2838-2842. 2002.
32. **Junco Díaz, R.A.; Suárez Pita, M.T.; Weng Alemán, Z.; Chiroles Rubalcaba, S.; González González, M.I.; Díaz Rosa, O.E.** *Sensibilidad antimicrobiana en bacterias de origen ambiental.*, Hig Sanid Ambient. 6: p. 150-159. 2006.

Recibido: 21/08/2012

Aprobado: 26/08/2013