

Identificación de *Enterococcus sp.* en muestras de leche cruda del Area Metropolitana de Costa Rica y evaluación del patrón de sensibilidad a antibióticos

Melania Araya, Gabriela Davidovich, Carolina Chaves y María Laura Arias

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales. Costa Rica

RESUMEN. Se aislaron e identificaron bacterias del género *Enterococcus sp.* a partir de muestras de leche no pasteurizada del Gran Área Metropolitana costarricense, con el propósito de evaluar su patrón de sensibilidad a antibióticos de uso común. Se recolectaron 105 muestras de leche de proveedores de una industria lechera nacional y se realizó el aislamiento inicial de las bacterias en el medio de cultivo EVA (Ethyl Violet Agar). Las colonias que crecieron, fueron inicialmente caracterizadas fenotípicamente por medio de pruebas bioquímicas, la identificación a nivel de especie se realizó utilizando el sistema API 20 Strep. A las distintas especies de *Enterococcus sp.* se les realizó pruebas de sensibilidad a diversos antibióticos utilizando el método de difusión en placa, la Concentración Mínima Inhibitoria a vancomicina fue determinada por medio del E-test. Del total de muestras de leche analizadas, un 38% fueron positivas para *Enterococcus sp.*; se aislaron 48 cepas diferentes en donde se encontró un predominio de *E. faecalis* y *E. faecium* (71% y 19% respectivamente); además de *E. durans* (4%), *E. gallinarum* (4%) y *E. avium* (2%). El análisis de distribución geográfica de los aislamientos no indicó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la procedencia de las muestras positivas por *Enterococcus sp.* Todas las bacterias identificadas mostraron una resistencia importante a los antibióticos probados. La familia de los aminoglicósidos resultó ser la menos eficiente para limitar el crecimiento de estas bacterias. La resistencia a eritromicina, tetraciclina y cloranfenicol fue menor al 50% y las bacterias fueron sensibles a la bacitracina. Se encontró un 8% de resistencia a la vancomicina. No se encontró relación entre los porcentajes de resistencia y las distintas provincias analizadas. Es importante resaltar que las especies resistentes a vancomicina provenían de Cartago, una de las provincias con mayor producción de leche en Costa Rica. **Palabras clave:** *Enterococcus sp.*, resistencia a antibióticos, leche no pasteurizada.

SUMMARY. Identification of *Enterococcus sp.* isolated from raw milk samples coming from the Metropolitan Area of Costa Rica and evaluation of its antibiotic sensibility pattern. Bacteria from the genus *Enterococcus sp.* were isolated and identified from non-pasteurized milk samples obtained from the Costa Rican Metropolitan Area, in order to evaluate its sensitivity pattern to common use antibiotics. One hundred five milk samples were collected from suppliers of a national dairy industry. The initial isolation was done in EVA (Ethyl violet agar). Isolated colonies were initially characterized phenotypically as *Enterococcus sp.* using biochemical tests, species' identification was done using the Api 20 Strep kit. The different *Enterococci* species were tested for their antibiotic sensitivity using the plate diffusion method; the minimal inhibition concentration (MIC) to vancomycin was determined using E test. 38% of the milk samples were positive for *Enterococcus*; 48 different strains were isolated, where *E. faecalis* corresponded to 71%, *E. faecium* to 19%, *E. durans* to 4%, *E. gallinarum* to 4% and *E. avium* to 2%. The geographical distribution analysis of the species isolated did not show significant statistical differences according to the origin of the samples. All isolates identified showed an important resistance rate to the antibiotics tested. The aminoglycoside family showed the lower resistance rate, the resistance to eritromycin, tetracycline and chloranphenicol was lower than 50% and all strains were sensitive to bacitracin. An 8% resistance rate to vancomycin was determined. No relationship between the resistance rate of samples and the province of origin was found, but it is important to emphasize that the strains resistant to vancomycin came from Cartago, one of the Costa Rican regions with highest milk production.

Key words: *Enterococcus sp.*, antibiotics resistance, non-pasteurized milk

INTRODUCCION

El uso de los agentes antimicrobianos en la terapéutica de las enfermedades infecciosas ha constituido un acontecimiento sin precedentes. La cura y control de las infecciones permitió modificar favorablemente el panorama de la morbilidad y mortalidad del adulto, en el que estas afecciones ocupan el

primer lugar entre las causas de muerte. En la actualidad se calcula que aproximadamente el 40% de todos los pacientes hospitalizados reciben tratamiento con antimicrobianos; sin embargo, su amplio uso fomenta el aumento de la resistencia de los microorganismos, lo que crea una necesidad cada vez mayor de nuevas drogas y encarece el tratamiento (1).

Los antibióticos son utilizados en los animales para

prevenir y tratar las infecciones; pero también se utilizan con frecuencia en dosis subterapéuticas para promover el crecimiento, incrementando el aumento de peso y mejorando la utilización del alimento. Dentro de los antibióticos utilizados, ya sea como promotores de crecimiento o profilaxis, se incluyen agentes aprobados y no aprobados; aminoglicósidos (gentamicina, kanamicina, neomicina y estreptomycin), bacitracina, cloranfenicol, glicopéptidos (vancomicina), macrólidos (eritromicina), oligosacáridos y tetraciclina. Muchos de estos antibióticos, por ejemplo glicopéptidos como la vancomicina, pueden inducir la selección y amplificación de patógenos resistentes y dentro de ellos, se incluyen a bacterias como los enterococos. Estos microorganismos potencialmente resistentes pueden transmitirse a los seres humanos a través de las cadenas alimenticias y podrían causar enfermedades en las circunstancias apropiadas (2).

Dada la información anterior, es claro que los enterococos que habitan reservorios no humanos juegan un papel crítico en la adquisición y diseminación de determinantes de resistencia a antibióticos. De manera que el monitoreo de cepas resistentes en agricultura, ganadería y clínica es de suma importancia para preservar el valor terapéutico de los antimicrobianos (3).

En Costa Rica se consumen 451 millones de litros de leche al año, proveniente principalmente de ganado vacuno. El 50% de la leche se industrializa y el otro 50% se consume fresca (leche cruda) (4). La leche contiene microorganismos de importancia en Salud Pública, entre los que se destacan *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Estas bacterias son resistentes al calor y poseen la característica de sobrevivir los procesos de pasteurización de la leche (5) y aún cuando estrictamente no son patógenos que se transmitan con los alimentos; el ganado puede servir como reservorio de cepas de enterococos resistentes a antibióticos, que eventualmente pueden ingresar a las cadenas alimenticias humanas, lo cual ha hecho que se reconozcan como las principales bacterias causantes de infecciones intrahospitalarias severas (6).

En Costa Rica, existen muy pocos trabajos relacionados con el aislamiento de *Enterococcus sp.* a partir de leche cruda y/o la descripción de su patrón de sensibilidad a antibióticos. En vista de esto se desarrolló este proyecto, considerando el amplio consumo de leche en el ámbito nacional y su actual importancia como producto de exportación.

MATERIAL Y METODOS

Recolección de muestras

Se obtuvieron 105 muestras de leche no pasteurizada de proveedores de una industria lechera nacional. Todas las muestras se obtuvieron por ordeño automático. Se

transportaron en frío al Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Facultad de Microbiología, donde se analizaron en menos de 4 horas después de su recolección.

Aislamiento inicial

Se siguió la metodología descrita en el "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food" (5), para el aislamiento de *Enterococcus sp.* Se rayó una asada de cada muestra de leche en agar EVA (Ethyl Violet Agar). Las placas se incubaron por 48 horas a 44.5°C, con el fin de aumentar la selectividad.

Caracterización fenotípica

Las colonias que crecieron en el agar EVA se evaluaron por: tinción de Gram (cocos gram positivos), catalasa (negativa), crecimiento en CTS con 6.5% de NaCl (positivo) y crecimiento en presencia de bilis con reducción de la esculina (positivo).

Identificación a nivel de especie

Las cepas aisladas fueron identificadas utilizando el sistema API 20 Strep.

Determinación del patrón de sensibilidad a antibióticos

Las pruebas de sensibilidad a antibióticos se realizaron de acuerdo al procedimiento de difusión en placa, descrito por Kirby y Bauer, tomado del Manual de Microbiología Clínica de la ASM (7). Este procedimiento está aprobado por The National Committee for Clinical Laboratory Standards (8).

De acuerdo a esto, se hizo una suspensión en solución salina estéril 0.85% ajustado al 0.5 de la escala de McFarland, a partir de cultivos frescos en placas de ATS de los aislamientos previamente identificados. En un lapso no mayor a 15 minutos de ajustado el inóculo, se introdujo un hisopo de algodón, se le eliminó el exceso de líquido y se distribuyó en la superficie de dos placas de agar Müeller-Hinton, rayando en tres direcciones, rotando la placa aproximadamente 60° entre cada una, para asegurar una distribución uniforme. En un lapso no mayor a 15 minutos, se aplicaron los discos de antibióticos (gentamicina, kanamicina, neomicina, estreptomycin, bacitracina, cloranfenicol, eritromicina y tetraciclina) utilizando pinzas estériles.

Se incubaron las placas a 35°C por 18 a 20 horas. Pasado este tiempo, se midió el diámetro de inhibición alrededor del disco de antibiótico.

En cuanto a la interpretación de los halos de inhibición para neomicina y bacitracina, no se encontraron tablas de referencia para la evaluación de sensibilidad o resistencia debido a que su uso no requiere de prueba de sensibilidad. Se utilizaron los valores planteados por la NCCLS para otros antibióticos de estas familias (aminoglicósido y polipéptido).

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de vancomicina: E-test

Esta prueba se realizó siguiendo la metodología descrita por el Departamento de Microbiología del Hospital Mount Sinai, en su Manual para Pruebas de Susceptibilidad. Según el método, se preparó una suspensión de la cepa a analizar en solución salina 0.85% que fuera equivalente al 0.5 de la escala de McFarland y que proviniera de cultivos frescos (24 horas) en placas de ATS. En un lapso no mayor a 15 minutos de ajustado el inóculo, se introdujo un hisopo de algodón, se le eliminó el exceso de líquido y se distribuyó en la superficie de una placa de agar Müeller- Hinton, rayando en tres direcciones, rotando la placa aproximadamente 60° entre cada una, para asegurar una distribución uniforme. En un lapso no mayor a 15 minutos, se aplicaron con pinzas estériles las tiras de E-test con vancomicina.

Se incubaron las placas a 35°C por 24 horas. Pasado este tiempo, se leyó el valor de la Concentración Mínima Inhibitoria en el punto de intersección entre la elipse de inhibición y el borde de la tira.

Como control de calidad se utilizó la cepa de *E. faecalis* ATCC 29212, con una concentración mínima inhibitoria de 1-4 µg/mL y también se probó la cepa de *E. faecalis* ATCC 51299 (van A+) encontrándose el patrón de resistencia esperado.

Análisis estadístico

Se utilizaron los programas de cómputo Excell y SPSS para realizar el estudio estadístico de los datos obtenidos.

RESULTADOS

Aislamiento e identificación

De las 105 muestras de leche cruda provenientes del Gran Área Metropolitana que fueron analizadas, 40 fueron positivas por enterococos, lo cual corresponde a un 38% del total. Se aislaron 48 cepas diferentes puesto que 8 de las muestras de leche analizadas (20%) tenían más de una de estas bacterias.

En la Tabla 1 se presenta la identificación de las especies aisladas. La mayoría correspondieron a *Enterococcus faecalis*, un menor porcentaje a *Enterococcus faecium* y unas pocas a *Enterococcus durans*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus avium*.

En cuanto a la distribución geográfica de los aislamientos, se tiene que del total de muestras analizadas de la provincia de Heredia, un 67% fueron positivas por *Enterococcus sp.* En el resto de las regiones estudiadas se obtuvieron porcentajes de positividad mucho menores; así, en Cartago se observó un 43% y en San José y Alajuela los resultados fueron muy similares, 33% y 32% respectivamente. La Tabla 2 presenta la distribución de las cepas aisladas según la provincia de origen.

TABLA 1
Número y porcentaje de cada especie de enterococos aislada de las muestras de leche cruda (n = 48)

Especie	Número de cepas	Porcentaje
<i>Enterococcus faecalis</i>	34	71%
<i>Enterococcus faecium</i>	9	19%
<i>Enterococcus durans</i>	2	4%
<i>Enterococcus gallinarum</i>	2	4%
<i>Enterococcus avium</i>	1	2%

TABLA 2
Distribución de cada una de las especies de enterococos aisladas según la provincia de origen

Especie	Alajuela	Cartago	Heredia	San José
<i>E. faecalis</i>	70%	62%	80%	100%
<i>E. faecium</i>	18%	24%	20%	0%
<i>E. durans</i>	0%	9%	0%	0%
<i>E. gallinarum</i>	6%	5%	0%	0%
<i>E. avium</i>	6%	0%	0%	0%

Pruebas de susceptibilidad a antibióticos por difusión en placa

De los 48 aislamientos de enterococos probados por su resistencia contra 8 antibióticos, el 100% mostró algún grado de resistencia.

En la Tabla 3 se muestran los porcentajes totales de resistencia para los diferentes tipos de antibióticos en los aislamientos de *Enterococcus sp.* Las cepas con perfil de susceptibilidad a antibióticos «intermedio» de acuerdo a las normas de la NCCLS, fueron considerados como resistentes al antibiótico en cuestión. Para seis de los ocho antibióticos analizados, la resistencia superó el 50%. El porcentaje mayor se observó para la estreptomina, seguida de la neomicina, la kanamicina y la gentamicina; todas con resultados mayores al 75%. Por otro lado, en la eritromicina, tetraciclina y cloranfenicol se obtuvo una resistencia entre el 25% y el 56%; mientras que las bacterias se mostraron muy susceptibles a la bacitracina presentando una resistencia del 6%.

En cuanto a las distintas especies de enterococos identificadas, se observó que un 94% de las cepas de *E. faecalis* presentaron resistencia a cuatro o más de los antibióticos analizados, condición que se considera como multiresistencia. La misma situación se encontró en el caso de *E. durans*, donde el 100% de los aislamientos fueron multiresistentes. *E. faecium* presentó porcentajes de resistencia de 11% a dos y tres antibióticos y de 78% a cuatro o más antibióticos; mientras que en las cepas de *E. gallinarum* se encontró un 50% de resistencia a dos antibióticos y un 50% de multiresistencia.

Por último, el único aislamiento de *E. avium* mostró ser resistente sólo a uno de los antibióticos utilizados (Tabla 4).

TABLA 3
Porcentajes totales de resistencia a los antibióticos utilizados en los aislamientos de *Enterococcus sp*

Antibiótico	Número de cepas resistentes	Porcentaje de resistencia
Estreptomina	47	98%
Neomicina	44	92%
Kanamicina	41	85%
Gentamicina	38	79%
Eritromicina	27	56%
Tetraciclina	25	52%
Cloranfenicol	12	25%
Bacitracina	3	6%

TABLA 4
Porcentajes de resistencia de las especies de enterococos a diferentes cantidades de antibióticos

Cantidad de antibióticos	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. avium</i>
0	0%	0%	0%	0%	0%
1	0%	0%	0%	0%	100%
2	3%	11%	0%	50%	0%
3	3%	11%	0%	0%	0%
4 o más	94%	78%	100%	50%	0%

La distribución geográfica de los aislamientos muestra que en cada una de las provincias del área metropolitana analizadas, existen niveles de multirresistencia (resistencia a cuatro o más antibióticos) mayores al 80%, siendo San José la zona con un mayor nivel de multirresistencia (100%), seguida por Cartago (90%), Alajuela (82%) y Heredia (80%).

Concentración mínima inhibitoria de vancomicina

Según el análisis de resistencia a vancomicina en las cepas de *Enterococcus sp.*, se encontró un porcentaje total de resistencia del 8% y el resto de los aislamientos se mostraron sensibles a este antibiótico.

El 75% de las bacterias resistentes fueron *E. faecium* con una concentración mínima inhibitoria de 6 µg/mL y el 25% *E. gallinarum* con una concentración mínima inhibitoria de 8 µg/mL.

Es importante resaltar que todas las bacterias resistentes a vancomicina provenían de muestras de leche de la provincia de Cartago.

DISCUSION

Aislamiento e identificación

Al observar los resultados obtenidos en este estudio, se encuentra que en las muestras de leche analizadas se tiene poca presencia de *Enterococcus sp.* puesto que sólo un 38% del total se encontraban positivas. Este hecho concuerda con previos estudios en los que se establece que la prevalencia de este género en ganado de leche es infrecuente (9).

La presencia de *Enterococcus sp.* en leche puede provenir de una contaminación fecal directa o indirecta. Esta situación se puede explicar de distintas maneras, por un lado se relaciona con el ambiente del cual se obtiene este producto puesto que el ganado vacuno, por lo general mantiene una relación estrecha con otros animales de granja como gallinas, perros, caballos y cerdos. Así, estos ruminantes adquieren distintas especies de *Enterococcus sp.* que pueden llegar a encontrarse en la leche. Por otro lado, la leche también podría contaminarse directamente con materia fecal de cualquier animal de granja e incluso del ser humano. Otro mecanismo para justificar la presencia de estas bacterias en la leche se relaciona con la limpieza del equipo de ordeño y con la pureza del agua que se utiliza para el proceso.

Enterococcus faecalis fue la especie bacteriana que se aisló en mayor cantidad en estas muestras, constituyendo el 71% de los aislamientos. Esto concuerda con lo observado en la naturaleza, ya que esta especie es sumamente ubicua y se puede aislar de fuentes diversas como agua, animales domésticos, animales de granja y seres humanos (10). Además, el 19% de las cepas eran *E. faecium* que también se encuentra en hábitats variados, se aisló en algunas muestras junto con *E. faecalis* y se considera otro indicador importante de contaminación fecal (9).

Diversos estudios (9,11) han descrito que existen especies de enterococos que son más frecuentemente aisladas de ciertos animales, como es el caso de *E. durans* que se encuentra principalmente en cerdos, *E. avium* presente en diversos tipos de aves y *E. gallinarum* que se asocia a aves de corral como gallos, gallinas y pollos. De ahí que se encontraron estas bacterias en porcentajes menores al 5% en el tipo de muestra analizada (leche de vaca).

En cuanto a la distribución geográfica, las muestras positivas por *Enterococcus sp.* presentaron similitud en porcentajes en las provincias de Alajuela, Cartago y San José. En Heredia la positividad fue mucho mayor, duplicando los valores obtenidos en las otras provincias (67%). Esto puede deberse a que existe un mayor nivel de contaminación fecal en la leche o el equipo de ordeño en las lecherías de esta provincia. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico para comparar el porcentaje de positividad en las provincias estudiadas, se demostró que no existen diferencias en las distintas regiones.

Pruebas de susceptibilidad a antibióticos

Los resultados obtenidos indican que en nuestro país es importante la incidencia de bacterias resistentes en la leche no pasteurizada puesto que todos los aislamientos presentaron resistencia a uno o más de los antibióticos analizados.

Según el análisis estadístico realizado (chi cuadrado), hay diferencias significativas en cuanto a la resistencia de las bacterias a los antibióticos probados ($p < 0,01$). Esto se evidencia claramente con la observación de que hay únicamente un 6% de resistencia a bacitracina, mientras que a estreptomycin es del 98%. Cabe resaltar que para seis de los nueve antibióticos estudiados, el porcentaje de resistencia superó el 50% lo cual es sumamente relevante.

El alto grado de resistencia de los *Enterococcus sp.* en muestras de leche es un reflejo del uso indiscriminado de los antibióticos en ganadería, tanto a nivel terapéutico así como para promover el crecimiento de los animales (4,12). Además, estas observaciones evidencian la evolución que han sufrido las poblaciones bacterianas a causa de la presión de selección que ejercen estos fármacos sobre los microecosistemas naturales (13).

Debe destacarse que el grupo de los aminoglicósidos es el que presenta los mayores niveles de resistencia. Esto se debe a dos razones, la primera es que estas bacterias presentan niveles bajos de resistencia innata a estos antibióticos. Al ser anaerobias facultativas, no pueden crear el potencial de electrones necesario para que el sistema de transporte de los aminoglicósidos se active, con lo que la droga no ingresa al citoplasma y no puede ejercer su efecto. La segunda razón es el desarrollo de resistencia de alto nivel a través de mutaciones cromosómicas que impiden la unión con el sitio blanco o la adquisición de genes que codifican por enzimas que inactivan la droga (7).

Estudios previos han demostrado que la estreptomycin es el antibiótico que induce resistencia de alto nivel con mayor frecuencia (14). Esto se comprueba en este trabajo, ya que para este antibiótico el porcentaje de resistencia fue mayor que para el resto de las drogas analizadas (98%). Además, las cepas de *Enterococcus sp.* que presentan resistencia de alto nivel a estreptomycin, no necesariamente son altamente resistentes a gentamicina ni al resto de aminoglicósidos, situación que también se demostró en este proyecto, al tener porcentajes de resistencia del 79% al 92% para gentamicina y el resto de los fármacos de esta familia.

La eritromicina, la tetraciclina y el cloranfenicol poseen mecanismos de acción similares al actuar sobre el ribosoma bacteriano y en este caso, presentaron porcentajes de resistencia intermedios que oscilaron entre el 25% y el 56%.

Tanto la bacitracina como la vancomicina ejercen su acción sobre la pared bacteriana y se ha visto que los enterococos se caracterizan por ser sensibles a bajas dosis de estos antibióticos (14). De acuerdo a los resultados, la resistencia a

estos antibióticos fue únicamente del 6% y del 8% lo cual es relativamente bajo.

La problemática de una alta tasa de resistencia como la descrita anteriormente, representa un grave problema en salud pública ya que la terapia de elección para las infecciones por *Enterococcus sp.* es una combinación de un aminoglicósido junto con un glicopéptido (14).

La presencia de bacterias resistentes a antibióticos en la leche es de suma importancia ya que posibilita la diseminación de tales microorganismos a las personas a través de la cadena alimenticia. Además, el proceso de pasteurización no es suficiente para eliminar estas bacterias del producto por lo que es probable que lleguen al ser humano y transfieran su resistencia a otras cepas patógenas, complicando el tratamiento en el caso de enfermedad (2).

E. faecalis y *E. faecium* fueron las bacterias aisladas en mayor cantidad de las muestras de leche y a la vez presentaron índices de multiresistencia elevados (94% y 78% respectivamente). Además, estas son las dos especies que con mayor frecuencia causan patología en el ser humano (11). Esto representa un grave problema puesto que incrementa la incidencia de brotes de infecciones producidas por bacterias patógenas y/o emergentes transmitidas por alimentos, que son resistentes a antibióticos de uso común.

Cabe resaltar que de las especies de enterococos resistentes a vancomicina, 75% eran *E. faecium*. Estos hallazgos correlacionan con la literatura en el hecho de que se sabe que existe una marcada diferencia en la prevalencia de resistencia a vancomicina en cepas de *E. faecalis* (3-8% de resistencia) y *E. faecium* (46% de cepas resistentes) (2,14). Además, los datos resultan alarmantes debido a que estas bacterias son capaces de servir como reservorios de genes de resistencia, de manera que los pueden transferir a otras cepas que colonizan tracto gastrointestinal o genitourinario del ser humano, e incluso causar patología por sí solas.

El estudio de las distintas provincias del Gran Área Metropolitana reveló que existen porcentajes de resistencia similares entre ellas, sin diferencias significativas. No obstante, la resistencia a vancomicina estuvo circunscrita a la zona de Cartago. Lo anterior constituye un hallazgo significativo debido a que implica que se están diseminando determinantes de resistencia a antibióticos potentes a través de muestras que no provienen del ambiente hospitalario, sino más bien de productos de consumo masivo. Además, en Costa Rica esta es una de las provincias con mayor producción de leche (15). El problema se agrava por el reducido tamaño de nuestro país y la facilidad con la cual estos genes se pueden distribuir de Cartago al resto del Área Metropolitana y en un futuro, tal vez cercano, a todo el territorio nacional.

Con esta investigación se demuestra que existe un alto porcentaje de multiresistencia en *Enterococcus sp.* en leche no pasteurizada, además de una probable resistencia cruzada

entre algunos de los antibióticos analizados. Esto podría llegar a limitar el uso de estos fármacos a nivel clínico e impedir que se utilicen los sinergismos necesarios para combatir las infecciones por enterococos.

La utilización indiscriminada y constante de diversos antibióticos en agricultura y ganadería, induce una presión selectiva sobre las poblaciones bacterianas que trae como consecuencia la supervivencia de aquellas que son resistentes. Así, con el paso del tiempo, se produce un desequilibrio ecológico en el que disminuye el número total de microorganismos en la población, se limita el crecimiento de las bacterias sensibles y se favorece el de las resistentes al agente aplicado.

Finalmente, la presencia de cepas de enterococos resistentes a antibióticos es sumamente importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que aunque la mayoría de ellas son inocuas o rara vez producen problemas a nivel de salud pública, la existencia de genes de resistencia en las mismas podría llevar a la transferencia de este material genético a otros microorganismos y la subsecuente aparición de resistencia en bacterias que estén causando infección en el humano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa colaboración de Laura Villalobos. Este proyecto recibió financiamiento de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica, proyecto 803 A4 073.

REFERENCIAS

1. Cordiés L, Machado L, Hamilton M. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica, Cuba* 1998; 8(1):13-27.
2. Collignon P. Vancomycin-Resistant Enterococci and use of avoparcin in animal feed: is there a link? *Medical Journal of Australia*, 1999;171(3): 144-146.
3. Bates J. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. *Journal of Hospital Infection*, 1997;37 (2): 89-101.
4. Campos M. Los antibióticos viajan en la leche. *Revista Rumbo*, San José 1995.
5. Vanderzant C, Splittstoesser D. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Third Edition, American Public Health Association. Estados Unidos, 1992.
6. Union of Concerned Scientists. *Antibiotic resistance*. Estados Unidos, 2000. <http://www.ucsusa.org/food-and-environment/antibiotic-resistance>.
7. Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover F, Tenover R. *Manual of Clinical Microbiology*. Seventh Edition; American Society for Microbiology; Estados Unidos, 1999.
8. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twelfth International Supplement; Estados Unidos, 2002;22(1).
9. Lukasova J, Sustackova A. *Enterococci and antibiotic resistance*, *Acta Veterinaria Brno*, 2003;72: 315-323.
10. Devriese L, Laurier P, De Herdt P, Haesebrouck F. Enterococcal and Streptococcal species isolated from faeces of calves, young cattle and dairy cows. *Journal of Applied Bacteriology*, 1992;72: 29-31.
11. Huycke M, Sahm D, Gilmore M. Multiple Drug Resistance Enterococci: The Nature of the Problem and an Agenda for the Future, *Emerging Infectious Diseases*, 1998;4 (2): 239-250.
12. Coghi R. Residuos de antibióticos en leche bovina pasteurizada suministrada a hospitales nacionales y regionales de Costa Rica. Tesis de Licenciatura en Medicina Veterinaria. Universidad Nacional.,1993.
13. Robles D, Castillo P. Determinación de bacterias resistentes a tetraciclina y gentamicina en vegetales y legumbres cultivadas en el Valle Central de Costa Rica. Trabajo Final de Graduación. Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica, 2002.
14. National Foundation for Infectious Diseases (NFID). *Enterococcal Resistance*. Estados Unidos, 1998;4(3).
15. Cooperativa de Productores de Leche, Dos Pinos R.L. Zonas de recolección en la Meseta Central. San José, 2004.

Recibido:01-11-2004

Aceptado: 10-06-2005