

Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*

Raúl Garza-Velasco¹, Karen Hernández-Acosta¹ y Adriana G. Mejía-Chávez¹

¹Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM.

RESUMEN

En los últimos años, *Enterococcus faecalis* se ha ubicado súbitamente entre los principales agentes etiológicos de bacteremias, infecciones urinarias y otros diversos padecimientos intrahospitalarios, debido a la mayor virulencia de las cepas implicadas y a la progresiva propagación de clonas multirresistentes a los antibióticos.

De hecho, la cantidad de cepas nosocomiales conocidas como VRE (por *vancomycin-resistant Enterococcus*) continúa aumentando progresivamente, al tiempo que provoca la inutilidad de la vancomicina, un antimicrobiano al que se le había reservado para la erradicación de microorganismos resistentes.

El presente trabajo se refiere al actual papel de los enterococos en salud pública, dado que la temática abordada resulta muy significativa, y reitera las recientes llamadas de atención de diversos autores, acerca de uno de los inminentes peligros que acechan al ser humano: volver a carecer de recursos terapéuticos para combatir las numerosas enfermedades infecciosas.

Terminología clave: *Enterococcus faecalis*, enterococos resistentes a vancomicina, infecciones intrahospitalarias, plásmidos, multirresistencia, sustancia de agregación, feromonas.

ABSTRACT

Actually *Enterococcus faecalis* is one of the most important etiological agents of bacteremia, urinary tract infections and other nosocomial diseases, because numerous strains have increased their virulence and antimicrobial resistance.

In fact, hospital strains named VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus*) are increasing every day, reducing the utility of vancomycin, an antibiotic that was reserved to eradicate multiresistant Gram-positive bacteria.

The present work treats the interesting theme of the importance of enterococci in public health, because it is necessary to reiterate the advice of several authors: the

time for concern about the reduction of therapeutic options is now, before the crisis by incurable diseases materializes.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, vancomycin-resistant enterococci, nosocomial infections, plasmids, multiresistance, aggregation substance, sexual pheromons.

Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*

Raúl Garza-Velasco¹, Karen Hernández-Acosta¹ y Adriana G. Mejía-Chávez¹

¹Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM.

INTRODUCCIÓN

Si bien los primeros reportes referentes a la patogenicidad de los enterococos se remontan a fines del siglo XIX, lo cierto es que estos microorganismos han manifestado su mayor trascendencia clínica en los años más recientes, merced a su inusitada y aún creciente incidencia en las infecciones intrahospitalarias.

En otras palabras, aquella especie *Streptococcus faecalis* (actualmente *Enterococcus faecalis*), a la que hace apenas tres lustros se le concedía una importancia secundaria en las infecciones urinarias, hoy en día protagoniza uno de los más preocupantes problemas de salud al interior de los nosocomios.

A este último respecto, entre los principales motivos de la mencionada conversión etiológica se cuentan la relativa tolerancia del microorganismo a la acción antibacteriana de detergentes y antisépticos considerados en los programas de limpieza intrahospitalaria y, sobre todo, su sorprendente eficacia para adquirir y compartir material genético asociado a mayor virulencia y/o a multirresistencia.

Así las cosas, numerosas cepas de enterococos vinieron evolucionando hasta evidenciar una plena tolerancia a los antibióticos β -lactámicos, aminoglucósidos y quinolónicos y, en respuesta a ello, los equipos de salud se vieron obligados a darle un continuo empleo terapéutico a la vancomicina, glucopéptido al cual –por motivos estratégicos– sólo debía recurrirse para combatir los casos especiales de resistencia. Consecuentemente, hoy en día aparecen reiterados reportes sobre los VRE (por *vancomycin-resistant Enterococcus*), siglas que reflejan el gran desafío que, en el futuro cercano, habrá de enfrentar el ser humano: sobrevivir a padecimientos “comunes” que la resistencia bacteriana tiende a reubicar como incurables, tal como lo eran antes del descubrimiento y desarrollo de los antibióticos.

Por lo pronto, se estima que las infecciones intrahospitalarias ocasionadas por enterococos afectan anualmente a más de 800,000 pacientes estadounidenses, con costos superiores a los 500 millones de dólares, lo que sitúa a estas bacterias como el segundo agente causal de infecciones urinarias en EUA –con frecuencias sólo menores a las de *Escherichia coli*–, y el tercero de bacteremia –apenas por debajo de *Staphylococcus aureus* y de los estafilococos coagulasa negativa–; cabe destacar que más de la mitad de los casos enterocócicos de invasión sanguínea

son debidos a VRE, en cuyo caso los índices de mortalidad ascienden hasta 37 %, cifra muy superior a la de 16 %, la cual se estima para los decesos provocados por cepas susceptibles a vancomicina.

El presente trabajo describe los principales aspectos asociados a la patogenia, la patología y los factores de virulencia de *Enterococcus faecalis*, incluyendo los mecanismos que sustentan la transferencia génica involucrada y la resistencia de estos microorganismos a la vancomicina.

I. PATOGENIA

Sin lugar a dudas, uno de los eventos que determina el origen de una infección enterocócica consiste en la colonización de las mucosas humanas por parte del agente etiológico. Para tal efecto, éste debe contar con moléculas superficiales que actúen como adhesinas, lo que implica la necesidad de que existan receptores para ellas, generalmente de naturaleza proteica, glicoproteica, lipoproteica o glicosídica, sobre los tejidos “blanco”. Diversos estudios *in vitro* realizados en células epiteliales del tracto urinario y en la línea celular cardíaca de Girardi, han demostrado que las adhesinas enterocócicas más destacadas corresponden a proteínas, ácidos lipoteicoicos de la pared celular y uno o más carbohidratos superficiales¹ (28, 55, 61).

Una vez concretado el proceso de adherencia, el microorganismo puede invadir otras regiones anatómicas cercanas e ingresar al sistema linfático o a la circulación sanguínea, lo que provoca diversas alteraciones patológicas, varias de las cuales tienen su origen en severas respuestas inflamatorias, e inclusive, en la participación de enzimas y toxinas enterocócicas (28, 31, 40).

Los enterococos más virulentos colonizan inicialmente las células entéricas² y, algunos días más tarde, suelen translocarse desde el lumen del intestino delgado hasta los nódulos linfáticos, el hígado y el bazo, después de haber sido englobados por las células de ileon y colon, o bien, por macrófagos intestinales, lo que en cualquier caso favorece que atraviesen la pared intestinal y alcancen las vías linfáticas (35, 71).

A tal respecto, se ha observado que una proteína superficial enterocócica, conocida como sustancia de agregación (AS), induce la internalización del microorganismo en las células HT-29 y que, además, la gran cantidad de ion superóxido (O_2^-) producido por diversas cepas de *Enterococcus*, podría representar una herramienta eficaz para sobrevivir a la fagocitosis macrofágica (27, 31, 38, 40, 41, 55).

¹ La adherencia disminuía notablemente cuando las células “blanco” eran preincubadas en presencia de D-galactosa o L-fructosa

² Los enterococos se detectan en las heces fecales humanas, a razón de 10^5 a 10^7 UFC/g

Evidentemente, los enterococos también pueden desplazarse desde el intestino hasta el torrente circulatorio, a través de abscesos diversos o de la previa colonización del tracto urinario (39, 40, 80).

Por último, es importante comentar que las infecciones enterocócicas también ocurren debido a que el microorganismo resiste la acción de diversos mecanismos de defensa del humano, mediante la participación de algunas cápsulas de polisacáridos y de proteínas superficiales con actividad antifagocitaria. En contrasentido, algunos trabajos realizados *in vitro* han revelado que los anticuerpos séricos anti-enterococo pueden reducir hasta en un 90 % el inóculo bacteriano original, fungiendo como opsoninas y/o activando el complemento por la vía clásica (2, 59, 85).

II. PATOLOGÍA

La infección y el contagio asociados a los padecimientos nosocomiales tienen su origen en fuentes endógenas y exógenas; en el primer caso, el enterococo proviene de la propia flora bacteriana del paciente y, en cuanto al segundo, destacan el equipo e instrumental, así como el propio personal médico y paramédico, el cual suele fungir como vehículo de traslado de agentes causales desde ciertos enfermos hacia los otros, e inclusive, puede transferir su propia flora habitual la cual, por motivos ocupacionales, es lógico que se encuentre parcialmente constituida por algunos microorganismos resistentes a los antibióticos de uso común.

De hecho, por lo menos el 40 % de los medicamentos administrados dentro de los hospitales corresponde precisamente a antimicrobianos de amplio espectro, lo que representa el principal motivo de la selección y predominio de bacterias multirresistentes dentro del ambiente hospitalario. Inclusive, cada vez que se cambian las preferencias terapéuticas ocurren modificaciones significativas en la etiología de las próximas infecciones intrahospitalarias; por ejemplo, durante las pasadas décadas de los 50s y 60s, los cocos Gram positivos representaban las bacterias más comunes; a partir de los 70s, las Gram negativas (principalmente las enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*) vinieron manifestándose como las de mayor incidencia y, en los años más recientes, ha resurgido el predominio de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* (1*).

Es decir, los actuales enterococos son resistentes a una gran cantidad de antibióticos: aminoglucósidos, β -lactámicos, quinolonas, macrólidos, tetraciclinas y vancomicina, lo que explica las crecientes tasas de mortalidad entre los pacientes hospitalizados³.

³ En Europa y norteamérica, el fracaso de las terapias antimicrobianas destinadas a combatir VRE alcanza cifras promedio cercanas al 60 %.

A continuación se describen las características más relevantes de las principales infecciones nosocomiales debidas a *Enterococcus faecalis*.

Bacteremia

En la actualidad, se estima que las septicemias representan el 6 % de todas las enfermedades intrahospitalarias y que, en cuanto a su origen, pueden ser primarias o secundarias: las primeras tienen lugar vía la introducción accidental de la bacteria en la sangre, al implantarse prótesis o catéteres, o bien, al practicarse endoscopías, hemodiálisis o al administrarse nutrición parenteral. Por su parte, las bacteremias secundarias aparecen previa infección en alguna otra región anatómica, destacando las vías urinarias, el tracto respiratorio o los tejidos cutáneo y subcutáneo, sobre todo después de haberse sufrido de quemaduras o de traumatismos graves, e inclusive, como resultado de intervenciones quirúrgicas. Evidentemente, las septicemias suelen aparecer con mayor frecuencia en neonatos o pacientes de edad avanzada, ante la insuficiencia de los mecanismos de defensa en ambos grupos etarios (32, 56, 72).

En EUA se estima que ocurren anualmente alrededor de 250,000 episodios intranosocomiales de bacteremia y que, cuando este tipo de patologías se presenta en las unidades de cuidados intensivos, su mortalidad asciende a alrededor de 35 % y los decesos ocurren después de haberle brindado al paciente una atención intrahospitalaria de 24 días adicionales, con un costo cercano a los cuarenta mil dólares (43).

Endocarditis

La endocarditis infecciosa corresponde a la infección de una o más válvulas cardíacas, lo cual en dos terceras partes de los casos es posterior a ciertas patologías cardiovasculares preexistentes. Además, durante la edad pediátrica, la localización inicial del cuadro implica a alguna válvula anormal o a otros defectos congénitos del endocardio en tanto que, en los adultos –en quienes el padecimiento es aún más frecuente–, la patología afecta a las válvulas que manifiestan fibrosis, o bien, a las pertenecientes a individuos con antecedentes de fiebre reumática (50).

Los enterococos también ocupan el tercer lugar como agentes etiológicos de endocarditis⁴, afección que predomina en el sexo masculino; de hecho, su frecuencia hombre/mujer es de 2:1 y la edad promedio rebasa los 60 años (6, 28).

La secuencia patogénica inicia con un episodio bacterémico, al ingresar el microorganismo a la sangre debido a afecciones cutáneas, manipulaciones dentales, intervenciones quirúrgicas en la rinofaringe, exploraciones endoscópicas de las vías genitourinarias o abscesos pulmonares. Otras características que influyen como factores predisponentes son las lesiones estructurales del corazón y

⁴ Seguidos por los estreptococos del grupo *Viridans* y *S. aureus*.

la implantación de válvulas prostéticas⁵, aunque también es importante la inserción de catéteres intravasculares (50, 81).

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 (51, 61, 81).

Infecciones urinarias

Los enterococos son agentes etiológicos comunes de las infecciones del tracto urinario (UTIs), patologías consideradas como las más frecuentes entre los pacientes ubicados en las unidades de cuidados intensivos. De hecho, las UTIs representan el 39 % de las enfermedades nosocomiales, están estrechamente relacionadas con el uso de catéteres y las bacterias patógenas aisladas con mayor frecuencia son *Escherichia coli*, *Enterococcus sp* y *Pseudomonas aeruginosa*.

En términos generales, las infecciones de las vías urinarias se pueden dividir en uretritis, cistitis y pielonefritis, y su adecuado diagnóstico depende del método de recolección de la muestra: micción media, sondeo uretral y punción suprapúbica, ya que el primero de los mencionados es el más accesible y de mayor empleo aunque también el menos exacto. Las vías urinarias son normalmente estériles (con excepción de la porción más inferior de la uretra) gracias a una serie de mecanismos de defensa, el más importante de los cuales consiste en el flujo libre de la orina a través de todo el tracto. Cabe señalar que el acceso de los microorganismos ocurre mediante dos vías: la hematógena y la ascendente, e inclusive, que el intestino grueso es el principal reservorio de bacterias potencialmente uropatógenas. Por otra parte, los factores que favorecen la aparición de las infecciones urinarias incluyen a la obstrucción del flujo urinario, la neutralización de la acidez de la orina, los traumatismos, el ayuno prolongado y la diabetes, entre algunos otros.

Contaminación de heridas postquirúrgicas

Este tipo de cuadros constituye la tercera causa (17 %) de enfermedades nosocomiales, estimándose que entre el 5 y 12 % de los pacientes intervenidos quirúrgicamente desarrolla infecciones post-operatorias. Cuando la cirugía involucra a los tractos gastrointestinal, respiratorio o genitourinario, la probabilidad de que ocurra una infección en el endocardio fluctúa alrededor del 30 %, ya que aquellas regiones anatómicas albergan una gran cantidad de microorganismos de la flora habitual; por otro lado, las bacterias que se aíslan con mayor frecuencia a partir de infecciones en heridas son, nuevamente, *Staphylococcus aureus*, los estafilococos coagulasa negativa y *Enterococcus sp*.

Endoftalmitis

⁵ La mayoría de los centros médicos reporta una incidencia de 2 a 4 % para los casos de endocarditis que aparecen después de las cirugías valvulares.

Después de efectuadas las cirugías oculares, las diversas complicaciones a considerar incluyen a las de origen enterocóccico, ya que el género *Enterococcus* suele dar lugar a procesos inflamatorios muy severos: su firme adhesión a la superficie membranosa del vítreo no depende de la síntesis de la AS, lo que reitera que la adherencia de este microorganismo a los tejidos humanos involucra a varias adhesinas conformadas por carbohidratos y/o moléculas proteicas (11, 40).

III. RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

El uso terapéutico de la vancomicina empezó a destacar al iniciar los 80s y tomó aún más impulso a mediados de esa misma década al aparecer formulaciones comerciales orales; no obstante, su demanda máxima mundial tuvo lugar en 1994, año en el que precisamente iniciaron los intentos aún vigentes por restringir su prescripción, ante la desafortunada aparición y propagación de numerosas bacterias resistentes a ella (4,20,29,31,38).

Las cepas VRE se aislaron por vez primera en Europa, durante el lapso 1986-1987, al parecer en Francia y en el Reino Unido, aunque poco tiempo después se les empezó a detectar en EUA, Australia, Argentina, Japón, etc. En 1993, la incidencia de estos microorganismos en los hospitales estadounidenses ascendió hasta el 12 % y, consecuentemente, en 1995, el Center for Diseases Control (CDC) publicó las siguientes recomendaciones destinadas a detener la diseminación de resistencia a la vancomicina (15,18,47,65, 69):

- Limitar al mínimo el uso de la vancomicina.
- Capacitar y concienciar a los equipos intrahospitalarios de salud.
- Documentar las metodologías asociadas a la exacta detección de VRE en los laboratorios de Infectología.
- Describir en forma escrita las precauciones a observar durante el contacto del personal de salud con los pacientes infectados por VRE.

Cabe subrayar que a la fecha se han descrito cuatro fenotipos de cepas enterocóccicas resistentes a los glucopéptidos: el VanA evidencia una gran resistencia inducible a vancomicina y teicoplanina; el VanB exhibe niveles variables de resistencia inducible a la vancomicina; el VanD también es resistente a vancomicina y teicoplanina y, por último, el VanE es susceptible a teicoplanina y resistente a bajas concentraciones de vancomicina (19).

Sin embargo, el tipo VanA es el de mayor distribución y frecuencia, por lo que ha concentrado una mayor cantidad de estudios, e inclusive, constituye el paradigma de acción de los genes *van*: éstos aportan a las clonas implicadas la capacidad para sintetizar y ensamblar terminaciones D-alanil-D-lactato (D-Ala-D-Lac) en el peptidoglicano de su pared celular, en vez de producir las clásicas moléculas D-

alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala), las cuales funcionan como el “blanco” de los glucopéptidos.

En otras palabras, las cepas VanA crean una vía alterna de biosíntesis de la pared celular, a fin de seguir produciendo esta importante estructura, aunque sin receptores para vancomicina y teicoplanina. A tal respecto, la maquinaria biosintética requerida para efectuar dicha adaptación depende del transposón Tn1546 y, particularmente, de cinco genes ubicados en este último: *vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanA* y *vanX*, cuyos productos realizan las siguientes funciones: la proteína VanA (derivada del gen *vanA*), corresponde a la enzima que sintetiza a la molécula D-Ala-D-Lac, la VanH actúa como una alfa-cetoácido reductasa que provee de sustrato a VanA (convirtiendo al piruvato en D-lactato) y, por último, VanX es una dipeptidasa que hidroliza específicamente al dímero D-Ala-D-Ala, pero incapaz de reconocer al sustituto D-Ala-D-Lac. De esta manera, los enterococos sintetizan su peptidoglicano con base en residuos D-Ala-D-Lac y en total ausencia de la molécula D-Ala-D-Ala, requerida como “blanco” por los glucopéptidos (45).

IV. FACTORES DE VIRULENCIA

i. Sustancia de agregación (AS)

Si bien la actual problemática de salud asociada a los enterococos data de hace poco más de diez años, lo cierto es que aún se desconoce buena parte de los mecanismos de virulencia de estos microorganismos. De hecho, la mayoría de las investigaciones sobre este particular se ha enfocado en una sola molécula, conocida como sustancia de agregación (AS), cuyo papel aparenta ser decisivo en la patogenicidad.

La AS es una proteína superficial⁶ codificada principalmente por el plásmido pAD1, específicamente por el gen *asa1*, cuya presencia incrementa considerablemente la adherencia e internalización enterocócica en los macrófagos, previa interacción con las integrinas CD11b, CD18 y CR3, presentes también en otras células de defensa del humano. ^(1,2) (Sigurd y cols, 2000),

En concreto, la sustancia de agregación (AS) desempeña las siguientes funciones:

- Potenciación de la conjugación de plásmidos.
- Adhesión a los tejidos del hospedero.
- Promoción de la internalización y la supervivencia en los fagocitos.

Potenciación de la conjugación de plásmidos

⁶ Al parecer, en la AS destacan las secuencias Arg-Gly-Asp o Arg-Gly-Asp-Ser.

Uno de los rasgos más característicos del género *Enterococcus* radica en la eficacia con la que lleva a cabo la conjugación plasmídica; el proceso inicia cuando una clona que funge como potencial receptora libera al medio ciertos péptidos, denominados feromonas, que promueven la aproximación de enterococos hacia ella y la secuencial transferencia de diversos plásmidos provenientes de las células bacterianas capaces de actuar como donadoras. Cabe señalar que una clona enterocócica que ya posee un determinado plásmido no elabora la feromona homóloga correspondiente, pero continúa sintetizando y excretando otras que inducen su apareamiento con las células que cuentan con moléculas plasmídicas de las que aquélla carece.

A tal respecto, entre los plásmidos inducibles por las feromonas, destacan el pCF10 –que confiere resistencia a la tetraciclina– y, desde luego, el pAD1, uno de los principales productores de AS la cual, entre otras funciones, suele participar precisamente en la formación de agregados constituidos por células donadoras y receptoras⁷, para facilitar e intensificar la transferencia plasmídica. Aparentemente, la transferencia de plásmidos bacterianos implica cuatro pasos críticos:

1. El contacto directo entre las células donadora y receptora.
2. La formación de un canal que permite la transferencia del DNA entre ellas.
3. El desplazamiento del plásmido o del segmento de DNA a través de dicho canal.
4. La estabilización del DNA plasmídico en el nuevo huésped, ya sea por replicación autónoma o mediante su inserción en el genoma.

En los enterococos, la unión de una a cinco moléculas de feromonas a la superficie de la célula donadora, induce un proceso de transmisión de señales que da como resultado la expresión de distintos genes relacionados con la transferencia de plásmidos.

Sin lugar a dudas, el sistema de feromonas asociado a la transferencia de plásmidos aporta una gran ventaja a los enterococos: un determinado plásmido no es movilizado, excepto cuando existe una bacteria potencialmente receptora que no lo posee; de esta manera, ocurren una óptima conservación energética y la mayor adaptabilidad ambiental del género al nicho ecológico que coloniza.

Adhesión a los tejidos del hospedero

La región de la AS en la que radica la capacidad de adherencia se detectó incubando macrófagos junto con distintas cepas enterocócicas: una AS⁻, otra que sintetizaba a la proteína completa y, las restantes, producían AS carentes de algún segmento. Las observaciones más relevantes del experimento fueron las siguientes: ⁽¹⁾

⁷ La AS interactúa con otra molécula, conocida como “sustancia de unión enterocócica” (EBS, por *enterococcus binding substance*), situada sobre la superficie de las clonas donadoras.

- La falta de segmentos amplios en el extremo N-terminal de la AS reducía en 40 % la adherencia bacteriana a macrófagos.
- La carencia de pequeños fragmentos en el extremo N-terminal se traducía en efectos menores: la adherencia resultaba tres veces mayor que la asociada a las cepas AS⁻.
- La falta de segmentos largos en el extremo C-terminal sólo disminuía en 10 % la adherencia; de hecho, ésta resultaba 3.3 veces mayor que la observada en las cepas AS⁻.
- Las grandes ausencias en ambos extremos (N-terminal y C-terminal) redujeron una muy escasa adherencia, comparable a la de las cepas AS⁻.

De acuerdo con lo anterior, se concluyó que la región del extremo N-terminal de la AS contiene a la secuencia encargada de interactuar con los receptores presentes en las células eucariotes. Por otra parte, la previa incubación de macrófagos con el péptido Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS), mostró que éste corresponde a la secuencia adherente: las cepas AS⁺ que se agregaban 40 minutos después que el RGDS sólo se adherían a los fagocitos en proporciones aproximadas de 34 %.⁽¹⁾

Es importante señalar que los receptores de la AS en las células humanas son las integrinas⁸ β_2 , proteínas que se localizan en la superficie de numerosos leucocitos, e inclusive, de las células epiteliales y endoteliales; no obstante, aquella adhesina enterocócica también reconoce a diversas matrices celulares humanas en las que predominan la colágena y/o la laminina.

Si bien la AS representa un factor fundamental en la adherencia enterocócica, es clara la participación de otras moléculas en el proceso: la adhesión de las cepas de *E. faecalis* a las células del tracto urinario también depende del disacárido D-glucosa-D-manosa, en tanto que la llevada a cabo sobre las células cardíacas reside en estructuras que presentan D-galactosa. A este último respecto, se ha logrado comprobar que los aislamientos clínicos provenientes de pacientes con UTI y endocarditis cuentan con ambos azúcares y que, en contraste, las cepas asociadas exclusivamente a endocarditis sólo expresan al segundo de ellos⁹.

Promoción de la internalización y la supervivencia en los fagocitos

Aparentemente, en las numerosas infecciones endógenas debidas a enterococos, es determinante el papel de los macrófagos, los cuales suelen fungir como vehículos responsables de la translocación del microorganismo, desde el intestino hasta el sistema linfático o el torrente circulatorio del individuo involucrado. Por otra

⁸ Las integrinas deben su nombre al hecho de que, al interactuar con su ligando bacteriano homólogo, desencadenan modificaciones en la membrana de la célula eucariote que las posee, a fin de que el microorganismo implicado sea ingresado; por lo regular, constan de dos subunidades, α y β , las cuales varían según el tipo celular que las presenta; por ejemplo: las β_1 se ubican en la superficie apical de las células intestinales.

⁹ De hecho, las clonas obtenidas mediante urocultivos también evidencian *in vitro* un alto grado de adherencia a las células cardíacas.

parte, llama la atención una hipótesis en el sentido de que cepas intracelulares de *E. faecalis* son las que más frecuentemente convierten las UTI en severas pielonefritis y, posteriormente, dan lugar a las graves bacteremias que suelen acompañarse por agudos episodios de endocarditis.

En tal contexto, diversos hallazgos apuntan hacia la AS, como la promotora de que los enterococos se adhieran a los fagocitos, penetren en ellos, e inclusive, sobrevivan intracelularmente. Así, algunos trabajos han revelado que la presencia del gen *asa1* incrementa la eficacia de la adherencia a macrófagos, evento que se puede inhibir de manera competitiva, preincubando a estas células eucariotes con anticuerpos que reconocen específicamente a los receptores de la AS: las integrinas CD18 y CD11b –también presentes en los linfocitos–, pero sobre todo las CR3, las cuales se expresan de manera constitutiva en los monocitos.

En cuanto a la internalización, diversos autores han analizado la influencia de dos moléculas codificadas por el plásmido pCF10: la sustancia de agregación Asc10 y la proteína Sec10, inoculando *in vitro* cepas Asc10⁺Sec10⁺, Asc10⁺Sec10⁻ y Asc10⁻Sec10⁺ en enterocitos HT-29. Los hallazgos han permitido comprobar que, a diferencia de la Sec10, la sustancia de agregación Asc10 resulta decisiva en el ingreso enterocócico, mismo que llega a alcanzar niveles similares al observado en *Salmonella typhimurium* y en las cepas no hemolíticas de *Listeria monocytogenes*¹⁰.

Adicionalmente, otros estudios realizados mediante microscopía electrónica, han confirmado que el microorganismo es capaz de internalizarse, mediante un mecanismo que implica a su propia envoltura y a las microvellosidades apicales de los enterocitos.

De cualquier manera, lo más relevante es que, cuando las cepas AS⁺ son inoculadas intraperitonealmente en modelos murinos, aquéllas son rápidamente engullidas por los macrófagos, pero son capaces de sobrevivir durante lapsos prolongados dentro de dichas células fagocíticas. A tal respecto, varios trabajos han demostrado que la AS interactúa con la molécula macrofágica CR3, promoviendo un ingreso microbiano que no induce el ataque oxidativo por parte de los macrófagos y que, además, implica la formación de fagosomas de mayor tamaño, dentro de los cuales el pH es aproximadamente de 5.9¹¹. En este sentido, es oportuno recordar que los fagosomas comunes presentan valores de pH que fluctúan entre 4 y 5, esenciales para promover la actividad de diversas enzimas lisosomales, tales como la mieloperoxidasa (MPO), en las que reside gran parte de la capacidad antimicrobiana de los fagocitos profesionales. ⁽¹⁾

Finalmente, otro hecho que apoyaría la teoría de la internalización enterocócica reside en la frecuencia con la que se debe establecer una terapia combinada para combatir la endocarditis; si bien esta clase de regímenes se aplica pensando en

¹⁰ *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes* son microorganismos con capacidad reconocida para penetrar en células eucariotes; sin embargo, también es oportuno señalar que, en esta última especie, las cepas hemolíticas se internalizan con mayor eficacia.

¹¹ Ello contrasta con los pH intrafagosómicos de 4.5, los cuales aparecen en presencia de cepas AS⁻.

vencer la resistencia bacteriana, sus buenos resultados también podrían deberse a que alguno de ambos antibióticos seleccionados logra difundir hacia el interior de las células infectadas.

ii. Hemolisina

La citolisina de *E. faecalis* destruye células eucariotes y procariotes, así como a los eritrocitos de humano, caballo, vaca y conejo. Se considera que dicha sustancia desempeña un papel importante durante la primera fase de la infección por enterococos la cual, aún cuando es asintomática, implica la penetración bacteriana en los tejidos intestinales humanos, así como una toxemia y cierto daño tisular que antecede a la segunda fase, en la que ocurre la manifestación de los principales síntomas.

La citolisina enterocócica también está codificada por el plásmido pAD1 y se constituye por tres subunidades, mismas que interactúan para provocar la lisis celular; no obstante, sólo una de ellas, conocida como enzima activadora, ha venido concentrando la mayor atención de los especialistas, e inclusive, se espera que en un futuro cercano habrán de diseñarse medidas terapéuticas basadas en la administración de proteasas, dirigidas precisamente a neutralizar su trascendental participación en las enfermedades ocasionadas por enterococos.¹¹

La citolisina desempeña relevantes funciones patogénicas: actúa como toxina, provocando la ruptura del sistema membranoso de los glóbulos rojos y de diversas células humanas. Los modelos experimentales murinos han permitido demostrar que las clonas productoras de citolisina ocasionan septicemias persistentes —a diferencia de las que no lo hacen— y que, además, dicha citotoxina provoca en sólo 24 h la disminución de la función retinal de los conejos; sin embargo, la incuestionable existencia de muchos otros factores enterocócicos de patogenicidad y el hecho de que sólo cerca de la mitad de las cepas clínicas sintetiza citolisina, sugieren que ésta no representa un elemento indispensable en el origen de las enfermedades debidas a *E. faecalis*.

Si bien los mecanismos implicados en el daño tisular aún son desconocidos, es muy probable que la citolisina induzca la liberación de mediadores inflamatorios a partir del tejido dañado o de las células fagocitarias y que, de esa manera, contribuya a la severidad del proceso inflamatorio.

Es oportuno señalar la probable correlación entre la producción de hemolisina y la resistencia a antibióticos: en la Universidad de Wisconsin se obtuvieron 40 % de cepas enterocócicas hemolíticas, en su mayoría resistentes a los aminoglicósidos. Por otra parte, la exposición de cepas de *E. faecalis* productoras de citolisina a dosis medianamente letales de bacitracina y vancomicina da lugar a una evidente disminución de la actividad citolítica.

iii. Gelatinasa

Al parecer, otro factor de virulencia de los enterococos reside en la gelatinasa, enzima capaz de degradar a la gelatina, caseína, hemoglobina y a ciertos péptidos bioactivos, incluídas las feromonas quimiotácticas de *E. faecalis*, las cuales promueven la llegada de neutrófilos a los tejidos colonizados por el microorganismo; en tal sentido, una de las posibles funciones de esta proteasa podría consistir en modular o modificar, junto con las feromonas quimiotácticas, la defensa del hospedero, induciendo alternativamente la ausencia o la acumulación de leucocitos en los tejidos colonizados.

Adicionalmente, diversos trabajos realizados *in vitro* han mostrado que las cepas enterocóccicas productoras de gelatinasa suelen asociarse a menores valores de DL₅₀.

COMENTARIOS FINALES

Algunos estudios sugieren que las cepas de *E. faecalis* provenientes de pacientes con endocarditis y bacteremia producen un 60 % más de ion superóxido, en comparación con los aislamientos asociados a personas aparentemente sanas. A tal respecto, se ha observado la presencia de radicales libres en el contenido intestinal de ratones inoculados con este tipo de clonas las cuales, además, provocan *in vitro* diversas alteraciones al DNA de las células epiteliales colónicas. Esta clase de hallazgos implica la posibilidad de que las clonas enterocóccicas productoras de ion superóxido promuevan la formación de tumores en el humano.

Por otra parte, las estrategias terapéuticas dirigidas a combatir microorganismos intrahospitalarios multirresistentes apuntan hacia la aplicación de regímenes combinados más costosos, tales como los basados en la administración de las estreptograminas semisintéticas denominadas quinopristina y dalfopristina: ambas ejercen su acción antimicrobiana vía la inhibición de la síntesis proteica –a nivel del centro peptidiltransferasa–, pero cada una utiliza receptores diferentes; de esta manera, aún cuando el enterococo llegara a desarrollar algún mecanismo capaz de neutralizar el efecto de alguna de ellas, la restante permanecería activa.