

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A CRIOTECA® PLAQUIS® M-IDENT® NEOGRAM COSMETIKIT® CHROMOSALM KITPRO-PLUS SEILAGUA® ENVIROCOUNT Apartado de Correos / P.O. Box 44 28210-Valdemorillo (Madrid, Spain) (34) 91 897 46 16 Fax: (34) 91 897 46 41

E-mail: microkit@microkit.es
Web: http://www.microkit.es
Blog: www.medioscultivo.com

DRY PLATES® MUC DESINFECTEST® CCC CROMOKIT® MBS SALMOQUICK AIR

MUGPLUS CCCNT MBS AIRESANO

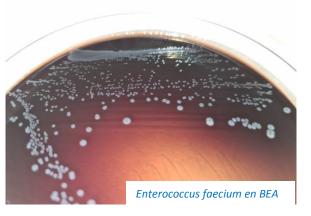
#### **MONOGRAFÍA** Enterococos fecales

### 1-El microorganismo y su interrelación con el ser humano

Los **Enterococos fecales** son un grupo de estreptococos ("cocos encadenados") entéricos, Gram positivos, catalasa negativos, anaerobios facultativos, que hidrolizan la esculina en presencia de bilis y que abarcan las especies *Enterococcus faecalis*, *E.faecium*, *E.durans*, *E.hirae*.

estreptococos Los fecales S.S. (Streptococcus bovis y S.equinus) tienen una importancia similar y la diferenciación de ambos grupos Estreptococos/Enterococos es más taxonómica que práctica, ya que todos ellos son indicadores contaminación fecal (humana o de animales de sangre caliente), que puede haberse provocado desde hace varios días e incluso semanas, dada su resistencia a las condiciones adversas que se dan en el agua. Por eso no tiene sentido la ortodoxia en distinguir ambos grupos. Todos ellos pertenecen al grupo D de Lancefield. Son importantes no sólo como indicadores (más *E.coli*-coliformes) robustos que contaminación fecal, sino que cobran una enorme importancia como agentes de infecciones (sobre todo nosocomiales) por su gran resistencia a casi todos los antibióticos (se suelen tratar con







ciprofloxacino). Son muy fáciles de distinguir de inmediato de la mayoría de bacterias aerobias y facultativamente anaerobias, porque son catalasa negativos: sus colonias no burbujean en presencia de peróxido de hidrógeno (al igual que las de anaerobios estrictos y Lactobacilos).

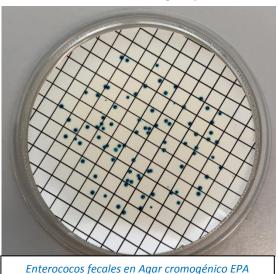
# 2-Los tipos de productos donde la legislación exige su búsqueda o recuento, así como otros tipos de productos donde a nuestro criterio, sería recomendable analizarlos

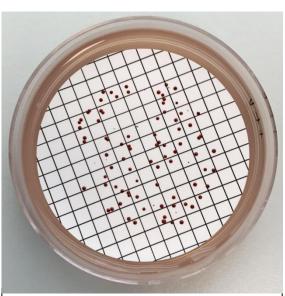
-La legislación UE (Directiva Europea 2015/1787 de 6/X) y por ende la española (Real Decreto 902/2018 de 20/7) exigen la búsqueda diaria de Enterococos fecales en **aguas** de consumo humano (incluidos grifos públicos y la empleada en industria alimentaria, "olvidándose" de los grifos privados y de otras industrias como la cosmética), incluyendo en este mismo BOE las aguas envasadas. Y en aguas de baño: aguas continentales y playas (RD 1341/2007 de 11/X) y piscinas (RD 742/2013 de 27/9).

-Los Enterococos fecales deben buscarse (según legislación española y europea, actualizada en 2021) en los siguientes **alimentos**: agua de mar envasada, patatas fritas y aperitivos. Antes se buscaban también en otros alimentos (ej: queso, cacao...) y desconocemos por qué han dejado de ser importantes en ellos, dándole prioridad la legislación actual en todo tipo de alimentos al menos robusto indicador coliformes-*E.coli*.

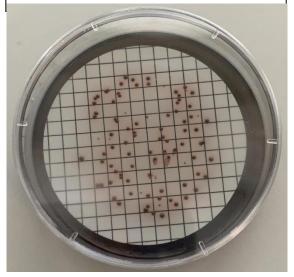
# 3-Los métodos oficiales para su detección/recuento

-En aguas de consumo y envasadas la legislación exige el seguimiento de la Norma ISO 7899, que habla de Slanetz-Bartley Agar (SB) por Filtración de Membrana. Las colonias sospechosas (rojas y diminutas) se confirman trasladando la membrana completa a Agar Bilis Esculina Azida (BEA), que provoca ennegrecimiento en pocas horas alrededor de dichas colonias rojas. En aguas de baño se aplica el método NMP, tradicionalmente el caldo KF púrpura era mejor considerado en aguas marinas; y en continentales, los caldos EVA-Litsky, Azide Dextrose Rothe, Agar KAA; y en ambos tipos de aguas de baño, el caldo cromogénico con X-Glucosuro de la EPA (USA-Environmental Protection Agency).





Arriba, Enterococos fecales en SB. Abajo, BEA tras SB

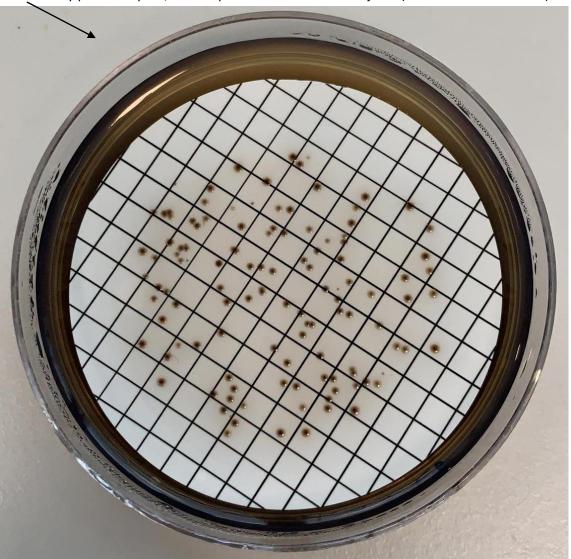


-En alimentos se emplea el KAA Agar y en algunos casos más raros el SB Agar.

### 4-Los métodos alternativos que mejoran la rapidez de los resultados y la robustez del análisis

Los métodos de detección y/o recuento de Enterococos fecales son tan robustos, que en 18 años de intercomparación Seilagua, fué siempre el parámetro que mejores calificaciones obtuvo en todos los participantes, usasen el método que usasen.

Lo malo del método oficial ISO 7899 es que es sumamente lento (48 h en SB y otras 4 h más de incubación en BEA). MICROKIT ha validado el **uso directo de la membrana recién filtrada en BEA** (al menos el de marca Microkit) en sólo 18 h, con resultados que no sólo ahorran día y pico de espera, sino sorprendentemente aún mejores (117-237 % de exactitud).



El **Enterocult P/A**, un caldo selectivo estéril que, añadido a 100-250 ml de muestra de agua, genera color negro opaco en sólo 18-24h. Lógicamente todo presunto positivo en Enterocult P/A se debe confirmar estriando en Agar BEA y siguiendo la confirmación de la catalasanegativa en las colonias sospechosas. Mientras que los



presuntos negativos del Enterocult P/A, son confirmativamente negativos.

Dada la ortodoxia que obliga a "contar ceros" en algunas legislaciones (0 ufc/100-250 ml en vez de decir ausencia/100-250 mL), se puede usar el medio Enterocult con tubos o con cubetas NMP.

O bien los **Quanti-P/A-ETC** diseñados también por MICROKIT

Las **Dryplates-ETC** (con BEA) y las DryPlates-SB (con Slanetz-Bartley), permiten tener en todo laboratorio medio listo para su uso

inmediato con larga caducidad, incluso para picos de trabajo, imprevistos o uso de rutina.

La **confirmación** de los Enterococos fecales se hace con la prueba inmediata de la catalasa sobre las mismas colonias, ya que son, junto a los Lactobacilos y los Clostridium, los microorganismos más típicamente catalasa-negativos, es decir, no burbujean al añadir el reactivo, mientras todos los demás aerobios estrictos y aerobios anaeróbicamente facultativos sí que burbujean. Por lo que haciendo esta prueba en un medio selectivo como los antes descritos (SB, BEA, KAA, Cromogénico EPA...), las colonias de Enterococos fecales no burbujean.

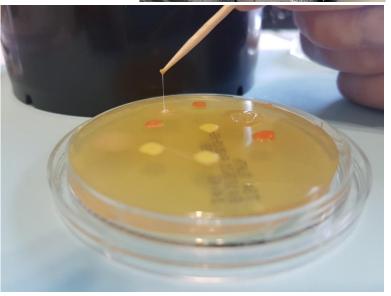


Catalasa + en colonias que NO son de enterococos fecales



Tambien debe confirmarse que son colonias de Gram positivos. Con la prueba inmediata del **Neogram**, directa en las colonias, descartaremos las que filamentan (ya que éstas son de Gram negativos).

Se puede también confirmar que son grupo D de Lancefield con el **kit latex de estreptococos** 



Neogram: colonia de Gram -: filamenta.en unos segundos Si fuese Gram +, la colonia no filamentaría

### 5-Cómo vemos el futuro en la detección de este grupo

La búsqueda de Enterococos fecales, como ya se hace en alguna CCAA, debería extenderse a centros de embalaje de huevos, artesanos de la leche y el helado, leche cruda y en general a cualquier alimento donde se está buscando actualmente *E. coli*, al ser un indicador de contaminación fecal mucho más robusto que éste, casi sin falsos negativos.

En cosméticos, *E.hirae* es un contaminante típico, por lo que ya hay varios laboratorios que han incluido la búsqueda rutinaria de Enterococos fecales en sus productos.