

© 2024 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 27: 1-17, 2024.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2024.678>

Enterococcus, la oveja negra de las bacterias ácido lácticas

Daniel Acero-Pimentel y Maricarmen Quirasco*

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito de la Investigación Científica s/n, Facultad de Química, Conjunto E., Alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México. E-mail: *quirabma@unam.mx

RESUMEN

Los *Enterococcus* forman parte de la microbiota nativa del tracto gastrointestinal de los seres humanos y de otros animales; a través de distintos mecanismos moleculares participan en la regulación de la homeóstasis intestinal y la reducción de la severidad de ciertos procesos infecciosos. Al ser bacterias ácido lácticas (BAL) participan en los procesos fermentativos de alimentos como los lácteos, los cárnicos y los vegetales, y en el desarrollo de olores y sabores deseables. Sin embargo, aunque las BAL son “generalmente reconocidas como seguras” (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), a *Enterococcus* no se le incluye en esta clasificación por su alta capacidad para adquirir y ser reservorio de elementos de importancia epidemiológica y a su prevalencia como microorganismo patógeno oportunista en entornos nosocomiales, situación que lo limita a ser utilizado como probiótico o en un cultivo iniciador. ¿Hasta qué punto y en qué condiciones un *Enterococcus* inocuo es importante en la salud, y cuánto de lo que se conoce sobre él es comparable con otros géneros considerados como seguros? Esta revisión expone un panorama bioquímico que explica su presencia en alimentos fermentados, así como atributos que le permiten participar en procesos infecciosos intrahospitalarios.

Palabras clave: *Enterococcus*, bacteriocinas, alimentos fermentados, resistencia a antibióticos, virulencia.

Enterococcus, the black sheep of lactic acid bacteria

ABSTRACT

The *Enterococcus* genus is part of the native microbiome of the gastrointestinal tract in humans and other animals, where it plays a role in regulating gut homeostasis and reducing infection severity through various molecular mechanisms. As lactic acid bacteria (LAB), they also participate in the fermentation process of various dairy, meat, and vegetable products, contributing to the development of desirable odors and flavors. Even though LAB are considered “generally regarded as safe” (GRAS) by the Food and Drug Administration (FDA), the *Enterococcus* genus does not fall into this category due to its high ability to acquire and act as a reservoir of epidemiologically relevant elements, as well as its prevalence as an opportunistic pathogen in hospital environments, hindering its use as a probiotic or starter culture of fermented foods. To what extent and under which conditions can an innocuous enterococci become epidemiologically relevant? And how much of what is discussed about *Enterococcus* can be said about other GRAS genera? This review presents a biochemical overview that may account for its presence in fermented foods, as well as characteristics that allow its involvement in hospital-acquired infections.

Keywords: *Enterococcus*, bacteriocins, fermented foods, antibiotic resistance, virulence.

INTRODUCCIÓN

Los enterococos son bacterias ácido lácticas, Gram-positivas, catalasa-negativas, anaerobias facultativas, quimio-organotótrofos, no esporuladas, en general inmóviles que se distinguen fácilmente de otras bacterias como los *Streptococcus* y los *Lactococcus* por su capacidad para crecer en una concentración hasta del 6.5% de NaCl, en presencia del 40% de sales biliares y con un pH de hasta 9.6 (Ferchichi *et al.*, 2021). Estas bacterias son auxótrofas a varios aminoácidos, por lo que su crecimiento no suele ser abundante (Dapkevicius, Sgardioli, Cámara, Poeta & Malcata, 2021).

En un inicio, debido a sus características fenotípicas, se les clasificó como *Streptococcus* spp. del serotipo D. Es hasta el año 1984 cuando, con la aplicación de métodos moleculares de hibridación de ADN – ADN y ADN – ARNr, se determinó que *Enterococcus* era filogenéticamente distante a *Streptococcus* y se encontraba más cercano a otros géneros de la familia *Enterococcaceae*, como *Bavariicoccus*, *Catelicoccus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* y *Vagococcus* (Lebreton, Willems & Gilmore, 2014). Dentro del género existen aproximadamente 74 especies oficialmente reconocidas, pero las dos más conocidas son *E. faecium* y *E. faecalis*, seguido de otras especies como *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* y *E. mundtii* (García-Solache & Rice, 2019; Ferchichi *et al.*, 2021). Los enterococos se encuentran distribuidos en una gran variedad de hábitats y no se limitan al tracto gastrointestinal de animales, pues también se encuentran presentes de forma natural en las plantas, el agua y el suelo (Lebreton *et al.*, 2014). Como consecuencia, las características fenotípicas y genotípicas de estas bacterias son altamente dependientes del hábitat que colonizan. La recopilación de información vertida en este artículo expone esas características no discutidas comúnmente. Considerando que su presencia en los alimentos fermentados de manera natural es frecuente, se abordará su papel en el proceso fermentativo y como probióticos, ya que no necesariamente forman parte del grupo de patógenos oportunistas. Estos últimos han generado interés en la salud pública debido a su resistoma, lo que recientemente ha propiciado una mayor investigación sobre este género y los mecanismos de adquisición de factores de virulencia. Asimismo, exponemos algunos avances en los análisis genómicos que permiten diferenciar las cepas de origen alimentario de las patógenas oportunistas.

IMPORTANCIA DE *Enterococcus* EN LA SALUD PÚBLICA

Aun siendo parte de la microbiota nativa del tracto gastrointestinal, el papel epidemiológico de *Enterococcus* en entornos intrahospitalarios, en especial en las cepas que presentan múltiples resistencias a los antibióticos, no debe ser subestimado. Estos microorganismos suelen estar asociados al desarrollo de enfermedades como las infecciones en el tracto urinario, la peritonitis, la endocarditis bacteriana y la septicemia, e incluso la muerte. Se encuentra reportado que la

tasa de mortalidad de pacientes en estado inmunocomprometido, infectados con *Enterococcus* multiresistente es del 32 – 66.7% (Hemapnairoa, Changpradub, Thunyaharn & Santimaleeworagun, 2021). Dentro de los factores de mayor importancia asociados a esta cifra, es de principal preocupación, su resistencia a la vancomicina. Por esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a los enterococos resistentes a vancomicina (VRE) de alta prioridad en cuanto al desarrollo de nuevos antibióticos (Organización Mundial de la Salud, 2017). Al problema de multiresistencia a antibióticos también se adiciona su plasticidad genómica.

Virulencia: colonización

El primer paso para que un microorganismo lleve a cabo un proceso de infección exitoso es la colonización del hospedero. Lo que no necesariamente involucra una patogénesis, pues tanto microorganismos probióticos, como comensales y patógenos requieren colonizar al hospedero. En *Enterococcus*, los factores de virulencia que participan en la colonización del hospedero son la proteína de superficie enterocócica (Esp), la sustancia de agregación (AS), la proteína de unión al colágeno y la adhesina de pared celular (EfaA) (Chajęcka-Wierzchowska, Zadernowska & Łaniewska-Trokenheim, 2017).

Dentro de los factores antes citados, la presencia de la proteína Esp (codificada por el gen *esp*) es el principal signo de alerta en los enterococos de importancia en salud pública y el de mayor preocupación hospitalaria por la formación de biopelículas, que le permiten al microorganismo unirse irreversiblemente a una superficie tanto biótica como abiótica y es de especial relevancia en infecciones en el tracto urinario y en pacientes intubados (Hashem, Abdelrahman & Aziz, 2021). La proteína Esp está codificada dentro de una isla de patogenicidad comúnmente asociada con bombas de eflujo, y su presencia en el genoma suele acompañarse de resistencia a la vancomicina, el cual es uno de los fenotipos de mayor importancia en entornos intrahospitalarios (Dapkevicius *et al.*, 2021). Esp también está asociada a una mayor respuesta inflamatoria e infiltración de neutrófilos durante un proceso infeccioso (Zou & Shankar, 2015). Aunque se ha observado que la prevalencia de Esp es mayor en las cepas provenientes de aislados clínicos, se debe mencionar que algunos *Enterococcus* provenientes de alimentos también poseen el gen *esp*, lo que podría dar razón al motivo de no otorgarle al género la clasificación GRAS por la FDA o QPS (por sus siglas en inglés, *Qualified Presumption of Safety*) por la Unión Europea (Dapkevicius *et al.*, 2021). A pesar de poseer ese factor asociado con los entornos nosocomiales, se ha observado que la presencia de ciertos marcadores genéticos relacionados con virulencia no siempre está correlacionada con su expresión (Deekshit & Srikumar, 2022).

La síntesis de biopelículas también contribuye a la capacidad de resistencia a los antibióticos en el género, no solo actuando como una barrera física, sino que su producción se encuentra

estrechamente relacionada con la transferencia horizontal de genes mediante *quorum-sensing*, en particular de elementos de resistencia a diversos compuestos antimicrobianos (Conwell, Dooley & Naughton, 2022). Esta transferencia se encuentra en parte mediada por la sustancia de agregación (AS), la cual forma agregados conjugativos al recibir señales de las feromonas sexuales. Este fenómeno está asociado con la transferencia de plásmidos dentro de la especie, que pueden contener (además de genes de resistencia) otros factores de virulencia como el principal factor de invasión en enterococos, la citolisina (Chajęcka-Wierzchowska *et al.*, 2017). La AS no solamente promueve el fenómeno de transferencia horizontal de genes, sino también la adhesión a las células del tubo renal y, de igual forma, a las células del epitelio intestinal (Dapkevicius *et al.*, 2021), es importante tanto en los procesos de patogénesis como en los de colonización natural del tracto gastrointestinal.

El conjunto denominado factor accesorio de colonización, también conocido como conjunto de proteínas de unión al colágeno, es otro elemento asociado con la adhesión y formación de biopelículas. El colágeno es un componente esencial de la matriz extracelular de las células animales. La capacidad de las variantes de *Enterococcus* de reconocer al colágeno tipo I y IV y su alta prevalencia en aislados clínicos provenientes de pacientes con endocarditis infecciosa, sugieren que este componente es relevante en el proceso de colonización del hospedero (Arora, Gordon & Hook, 2021). Sin embargo, su presencia no es indicativa de la patogenicidad de la cepa, pues contrario a lo que se observa con *Esp*, las proteínas de unión al colágeno suelen encontrarse distribuidas de forma indistinta entre los aislados clínicos y los alimentarios (Medeiros *et al.*, 2014).

Enterococcus es intrínsecamente resistente a varios grupos de antibióticos, como los aminoglucósidos y los macrólidos, pero puede adquirir resistencia a múltiples grupos como los glucopéptidos, las tetraciclinas y las penicilinas, entre otros; sin embargo, destaca la resistencia a la vancomicina como la de mayor relevancia en los entornos intrahospitalarios (Sattari-Maraji, Jabalameli, Node Farahani, Beigverdi & Emaneini, 2019). Estas resistencias pueden transferirse dentro y entre especies mediante elementos móviles como los plásmidos y los transposones. Por ejemplo, en los transposones *Tn917* y *Tn1546*, se encuentran las resistencias a la vancomicina, y a los macrólidos, las lincosamidas y las estreptograminas, respectivamente (Ramos, Dapkevicius, Igrejas & Poeta, 2020). La adquisición de elementos móviles con genes de resistencia y/o virulencia se relaciona de forma inversa a la capacidad del microorganismo para degradar el ADN exógeno. Se ha observado que cepas incapaces de degradar el material genético exógeno mediante un sistema CRISPR-Cas funcional, suelen tener una mayor cantidad de genes de resistencia a antibióticos y de genes codificantes para factores de virulencia, y viceversa (Palmer & Gilmore, 2010). De igual forma, se ha

observado que la ausencia de elementos CRISPR-Cas en cepas nosocomiales se correlaciona con una mayor presencia del gen *esp* (Tao, Chen, Li, Fang, Xu & Liang, 2022). Esto contrasta con el comportamiento observado en las cepas probióticas y las provenientes de alimentos (como los cárnicos y los lácteos), donde se aprecia una predominancia de las que tienen sistemas CRISPR-Cas funcionales y, por lo tanto, una menor presencia de genes de resistencia no intrínsecos (Bonacina, Suárez, Hormigo, Fadda, Lechner & Saavedra, 2016). Por lo antes expuesto, se observa que a pesar de que *Enterococcus* tiene un genoma flexible, los aislados clínicos presentan una mayor capacidad de adquirir elementos genómicos exógenos, lo que nos hace pensar que esta flexibilidad se encuentra relacionada con el nicho en el que habitan.

Virulencia: invasión

Una vez establecido dentro del hospedero, el microorganismo produce sustancias que le permiten diseminarse y colonizar otros tejidos, lo que se denomina proceso de invasión, y en el género *Enterococcus* se debe a tres proteínas principales: la citolisina (Cyl), la gelatinasa (GeI) y la hialuronidasa (Hyl) (Chajęcka-Wierzchowska *et al.*, 2017).

La citolisina es una bacteriocina tipo lantibiótico, conformada por dos subunidades: CylL y CylS, con actividad lítica en proporción equimolar, que actúan tanto en contra de células bacterianas como en contra de células eucariontes (Rahman, Sanchez, Tang & van der Donk, 2021). Aunque esta bacteriocina se encuentra descrita en varias especies de *Enterococcus*, es más común su presencia en *E. faecalis*. La citolisina está codificada en un operón dentro de una isla de patogenicidad móvil, y es el factor de virulencia mejor descrito del género: su papel en el proceso de patogénesis se correlaciona directamente con el desarrollo de una condición intratable en modelos de endocarditis y endoftalmítis, además de un aumento de la letalidad de hasta 5 veces por bacteriemia en seres humanos (Van Tyne, Martin & Gilmore, 2013). Se ha observado que, al igual que con *esp*, *cylA* (el gen codificante para la proteína responsable de procesar y activar a los precursores de la citolisina madura, CylL_L y CylL_S) predomina en muestras provenientes de hospitales. Estas muestras no siempre presentan actividad β-hemolítica aun con la presencia del gen *cylA* (Medeiros *et al.*, 2014). Este comportamiento se debe a la complejidad del sistema de procesamiento de CylL_L y CylL_S hasta los productos maduros CylL_L” y CylL_S”. La ausencia de uno solo de los elementos codificados en el operón de citolisina (CylL_L, CylL_S, CylM, CylI, CylB y CylA) desencadena en un procesamiento incompleto de dichos péptidos y la ausencia de la actividad lítica (Figura 1) (Van Tyne *et al.*, 2013).

GeI es una metalopeptidasa que hidroliza diversos componentes celulares como la elastina, la gelatina, el colágeno y la hemoglobina, y es otro factor de virulencia importante en el proceso de invasión del hospedero (Chajęcka-

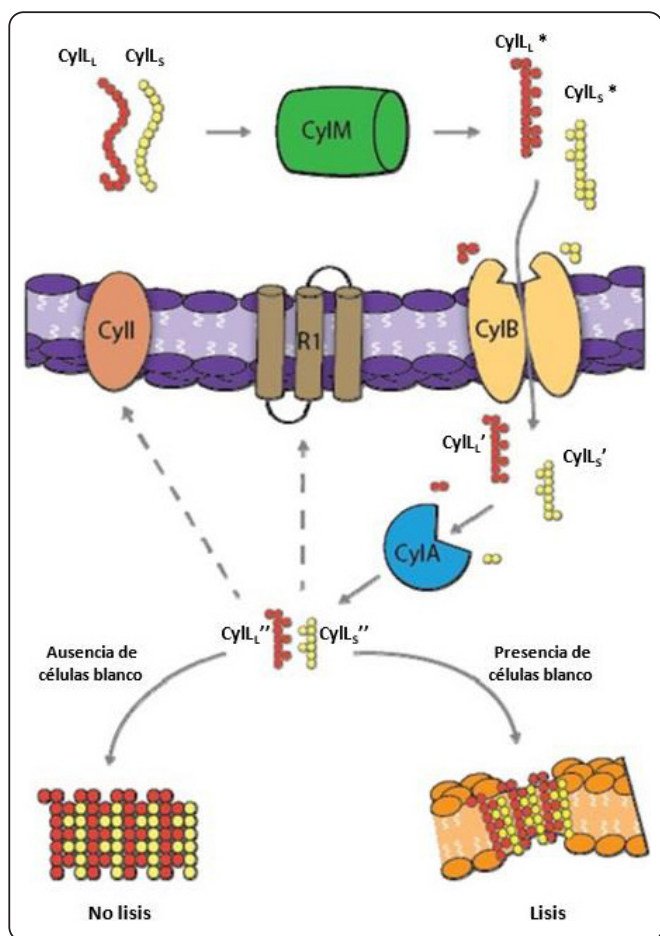


Figura 1. Operón de la citolisina enterocócica, adaptado de Van Tyne *et al.*, 2013.

Wierzchowska. *et al.*, 2017). GeIe tiene una actividad directa sobre el sistema inmune, debido a su capacidad de hidrolizar al componente C3b del complemento, inhibiendo la formación del complejo de ataque a membrana y el proceso de opsonización, relacionado con la neutralización del agente extraño (Wang, Yang & Huycke, 2020). Se ha reportado que hasta un 70% de aislados provenientes de matrices alimentarias, particularmente cárnicos, contienen el gen *gelE*, probablemente debido a la alta abundancia de gelatina y colágeno en éstas (Ferchichi *et al.*, 2021). A pesar de esto, muchos aislados de *Enterococcus* positivos para *gelE* no presentan actividad gelatinasa (Medeiros *et al.*, 2014).

Virulencia: otros problemas a considerar

Cada factor de virulencia involucrado en los procesos de colonización e invasión tiene un papel en la patogenicidad del microorganismo. Sin embargo, es la forma en la que interactúan estos factores entre ellos y con el entorno lo que determina la letalidad de la infección. Se ha reportado que la expresión de la citolisina junto con la sustancia de agregación

puede volver letal un episodio de endocarditis que bajo otras condiciones no lo sería (Van Tyne *et al.*, 2013). Lo que puede ser mediante la regulación positiva de la citolisina en el sistema de *quorum-sensing* (Chajęcka-Wierzchowska *et al.*, 2017). La regulación del *quorum-sensing* es dependiente de las feromonas enterocócicas que, además de propiciar la transferencia de elementos móviles, actúan como moléculas quimiotácticas capaces de reclutar leucocitos humanos (Şchiopu *et al.*, 2023). Se ha demostrado que cuando *Enterococcus* infecta, es capaz de sobrevivir el proceso de fagocitosis y producir altos niveles de estrés oxidativo, por lo que también se le ha asociado con procesos genotóxicos y cancerígenos (Wang *et al.*, 2020).

Adicionalmente, el microorganismo presenta sinergismo con miembros de otros géneros bacterianos. Se ha reportado que infecciones con la presencia simultánea de *E. faecalis* y *Escherichia coli* presentan una mayor mortalidad que cuando actúan por separado (Lavigne, Nicolas-Chanoine, Bourg, Moreau & Sotto, 2008).

Enterococcus como reservorios y el resistoma ambiental

Uno de los factores por el que *Enterococcus* es considerado un patógeno oportunista de importancia es su alta plasticidad genómica y, por lo tanto, su capacidad de ser reservorio de múltiples determinantes genéticos de relevancia epidemiológica. Adicionalmente, su capacidad para formar y vivir en biopelículas facilita la adquisición de genes de resistencia a antibióticos en contraste con su forma planctónica (Michaelis & Grohmann, 2023).

Se conoce como resistoma al conjunto de genes de resistencia a antibióticos de una población determinada (conformada por microorganismos patógenos y no patógenos) en un entorno particular. El tracto gastrointestinal posee un resistoma con elementos que, con el tiempo, pueden volverse de importancia clínica. Sin embargo, y contrario a lo que se esperaría, se ha observado que eventos de transferencia de genes de resistencia entre microorganismos patógenos con comensales son escasos (Kim & Cha, 2021). En particular, los *Enterococcus* de naturaleza probiótica, presentan una baja receptividad al ADN exógeno debido a la presencia de elementos como el sistema CRISPR-Cas, comportamiento opuesto a lo observado en las cepas de origen intrahospitalario (Bonacina *et al.*, 2016; Palmer & Gilmore, 2010). Se ha reportado una correlación entre la resistencia al ciprofloxacino, a la eritromicina y a la tetraciclina con la presencia del gen *esp* en aislados de *Enterococcus* spp. provenientes de perros y gatos (Yuan *et al.*, 2023).

Además de los genes de resistencia que sí se expresan, existe un conjunto de ellos que no lo hacen, llamados genes de resistencia crípticos. Estos están silenciados debido a la presencia de promotores no funcionales río arriba del gen, a mutaciones en el propio gen, a la acción de proteínas represoras y/o a modificaciones epigenéticas, con la finalidad de evitar el

uso de recursos en su expresión cuando ésta no es necesaria (Deekshit & Srikumar, 2022). Este fenómeno también da sentido a la falta de expresión de ciertos factores de virulencia a pesar de estar presentes en el genoma, como *gelE* y *cylA* (Medeiros *et al.*, 2014).

MLST y WGS como herramientas en la evaluación de la patogenicidad de *Enterococcus*

La expresión génica de *Enterococcus* es variable y la sola presencia de ciertos componentes genómicos no permite emitir una certeza sobre la naturaleza comensal o patógena de una cepa. A pesar de ello, las herramientas de secuenciación del genoma completo (WGS) y tipificación por secuencias multi-locus (MLST) son utilizadas para la evaluación del potencial patógeno de alguna cepa.

La técnica de MLST consiste en una amplificación y posterior secuenciación de las regiones internas altamente conservadas de un conjunto de genes estandarizado para cada microorganismo y las diferencias en las secuencias representan alelos diferentes de cada región. Según la combinación de alelos, se le asigna a la cepa en cuestión una secuencia tipo (ST) y los resultados de estos experimentos suelen ser añadidos a las bases de datos públicas (como PubMLST: <https://pubmlst.org/>) con la finalidad de construir una biblioteca que permita determinar tendencias de origen, patogenicidad y comportamiento de las ST (Jolley, Bray & Maiden, 2018). Dentro del género *Enterococcus* se han identificado cepas provenientes de entornos nosocomiales que comparten entre sí muchas características de relevancia clínica. En el caso de *E. faecium*, a este grupo de cepas se le denomina complejo clonal 17 (CC17) y está compuesto por las ST 17, 18, 78, 80 y 117.

Este complejo clonal (CC) se caracteriza por tener el alelo *purK* 1, al gen *esp* y presentar resistencia a la ampicilina y a la vancomicina (Carmen Fariñas & Torres, 2007). El equivalente para *E. faecalis* son los complejos clonales CC2 y CC9 que se caracterizan por su resistencia al ciprofloxacino y por la presencia del gen *esp* (Muruzábal-Lecumberri, Girbau, Canut, Alonso & Fernández-Astorga, 2015). La estandarización de la metodología MLST para *E. faecium* fue llevada a cabo en el año 2002, con la finalidad de dar lugar a una técnica de vigilancia epidemiológica de bajo costo y alta capacidad de rastreo de brotes infecciosos (Homan *et al.*, 2002). Desde entonces, se han propuesto mejoras a la metodología MLST con la finalidad de volverla aún más discriminativa y eficiente. En el caso de *E. faecium*, se ha sugerido la expansión de la tipificación de 7 a 8 genes, para obtener un poder discriminativo y número de secuencias tipo mayor a las observadas en el método tradicional (Bezdicsek *et al.*, 2023). Esta metodología no solamente tiene utilidad entre brotes intrahospitalarios, también permite ubicar a las ST de muestras de distintos orígenes con respecto a los CC de preocupación.

Los análisis de MLST suelen complementarse con estudios del genoma completo, debido a que el MLST solamente utiliza el 1% del núcleo genómico para el análisis (O'Toole, Leong, Cumming & Van Hal, 2023). Los análisis de WGS son ahora más que una herramienta analítica, y se han vuelto parte esencial en la vigilancia epidemiológica, lo que permite encontrar nuevas ST asociadas con genes de resistencia a antibióticos y de virulencia (Rogers *et al.*, 2021). Este tipo de análisis permite establecer relaciones filogenéticas entre cepas de la misma especie y determinar diferencias entre aislados obtenidos a partir de distintos orígenes, como el clínico y el alimentario (Olvera-García, Sanchez-Flores & Quirasco Baruch, 2018). La combinación de ambas metodologías ha permitido el desarrollo de herramientas en línea que pueden llevarlos a cabo a partir de datos de WGS, lo que facilita el análisis de *Enterococcus* de relevancia epidemiológica (Marbjerg *et al.*, 2021).

Sin embargo, y como se mencionó, la presencia de un gen de virulencia o resistencia en el genoma de una cepa no permite asegurar que éste se expresará, pues los genes crípticos pueden estar en un estado activo o inactivo, dependiendo de las presiones ambientales en las que se encuentre el microorganismo (Deekshit & Srikumar, 2022).

IMPORTANCIA DE *Enterococcus* EN LOS ALIMENTOS

A pesar de ser un género relacionado con brotes infecciosos en los hospitales, *Enterococcus* se encuentra distribuido de forma natural en una gran variedad de alimentos fermentados y su presencia no es debida a su uso como cultivo iniciador, sino a la ubicuidad del microorganismo. El género es de especial importancia en la elaboración y conservación de alimentos fermentados de forma natural debido a las características metabólicas que posee y a su correlación con las propiedades sensoriales del alimento en el que se encuentra.

Una gran variedad de bebidas tradicionales mexicanas contiene a este microorganismo, como el pozol, el tepache, la tuba y el tejuino (Díaz-Ruiz, Guyot, Ruiz-Teran, Morlon-Guyot & Wachter, 2003; de la Fuente-Salcido, Castañeda-Ramírez, García-Almendárez, Bideshi, Salcedo-Hernández & Barboza-Corona, 2015; Rubio-Castillo *et al.*, 2021). En lo que respecta a los productos lácteos, algunos quesos en los que se ha encontrado *Enterococcus* incluyen, pero no se limitan a: Roquefort, Cheddar, Manchego, Cabrales, Cotija, Beaufort, Serra da Estrela y Mozzarella, entre otros (Tabla I) (Gelsomino *et al.*, 2004, Olvera-García *et al.*, 2018).

Maduración: olores, sabores y texturas

Se suele dividir a los sistemas de generación de olores, sabores y texturas de *Enterococcus* en 3 grupos: sistema proteolítico, lipolítico y de metabolismo de citrato (Terzić-Vidojević, Veljović, Popović, Tolinački & Golić, 2021).

Tabla I. Ejemplos de alimentos fermentados de forma natural que contienen a *Enterococcus* spp.

Alimento	Especie	Referencias
Sauerkraut	<i>E. faecium</i>	Yang & Pei, 2020
Pozol	<i>E. sulfureus</i>	Díaz-Ruiz <i>et al.</i> , 2003
Kimchi	<i>E. faecium</i>	Rho <i>et al.</i> , 2017
Tuba	<i>E. faecium</i>	de la Fuente-Salcido <i>et al.</i> , 2015
Tepache	<i>E. faecium</i>	de la Fuente-Salcido <i>et al.</i> , 2015
Pulque	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	Huezo-Sánchez, Ortega-Rodríguez, Pérez-Armendáriz & El-Kassis, 2023
Aguamiel	<i>E. casseliflavus</i>	Huezo-Sánchez <i>et al.</i> , 2023
Atole agrio	<i>Enterococcus</i> spp.	Väkeväinen <i>et al.</i> , 2018
Queso Manchego	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	Nieto-Arribas, Seseña, Poveda, Chicón, Cabezas & Palop, 2011
Queso Cotija	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	García-Cano <i>et al.</i> , 2014, Escobar-Zepeda, Sanchez-Flores & Quirasco Baruch, 2016
Queso Pecorino	<i>Enterococcus</i> spp.	Grispoldi <i>et al.</i> , 2022
Pepinillos	<i>E. casseliflavus</i>	Satomi <i>et al.</i> , 2022
Aceitunas	<i>E. olivae</i>	Lucena-Padrós, González, Caballero-Guerrero, Ruiz-Barba & Maldonado-Barragán, 2014
Mezcal	<i>E. faecium</i>	Hernández-Delgado <i>et al.</i> , 2021

En los alimentos provenientes de matrices lácteas, el sistema proteolítico es de especial importancia metabólica por la alta disponibilidad de proteínas en el medio. La hidrólisis de la caseína hasta péptidos la realiza el sistema Clp y el posterior metabolismo de estos últimos se efectúa mediante el sistema Pep (Olvera-García *et al.*, 2018; Dapkevicius *et al.*, 2021). El proceso de proteólisis produce precursores de varios compuestos involucrados en el desarrollo de sabores agradables, como ésteres y aldehídos, principalmente derivados de los péptidos ricos en metionina, fenilalanina, treonina, leucina, isoleucina y valina (Smit, Smit & Engels, 2005). Dentro de la proteólisis, la peptidasa PepP se encarga del metabolismo de los péptidos de prolina tipo Xaa-Pro-Xaa, responsables de un sabor amargo, y es esencial en el balance entre la producción de compuestos agradables y no deseables (Dapkevicius *et al.*, 2021). Se ha propuesto el uso de cultivos de naturaleza enterocócica en la producción de salchichas y otras carnes fermentadas para mejorar sus características sensoriales (Carvalho, de Santos, Gomes & Hoffmann, 2017). En el caso de los quesos bajos en grasa, se ha propuesto el uso del exopolisacárido (EPS) de *Enterococcus* para mejorar su textura debido a sus propiedades higroscópicas (Dapkevicius *et al.*, 2021). *Enterococcus* también tiene un papel importante en la industria panificadora, pues se encuentra presente en la masa del pan y es parte del primer grupo de BAL dominantes en el microbioma de este alimento. Este

grupo inhibe el crecimiento de las bacterias no fermentativas y no deseables, como *Bacillaceae* y *Enterobacteriaceae*; para posteriormente favorecer el crecimiento de BAL como *Lactobacillus* (Oshiro, Zendo & Nakayama, 2021).

El segundo sistema de importancia en el desarrollo de características deseables en los alimentos fermentados es el sistema lipolítico. Mediante la lipólisis de los triglicéridos se producen ácidos grasos libres, precursores de compuestos con sabores agradables, principalmente lactonas, ésteres, alcoholes y metilcetonas (Smit *et al.*, 2005). A pesar de que se han identificado cientos de compuestos con olores producto de la lipólisis, solamente unos cuantos son responsables de la mayor parte de los aromas característicos de los alimentos fermentados, entre los que se encuentran el ácido acético, el ácido butírico, el ácido hexanoico, el ácido decanoico, el ácido dodecanoico y el ácido isovalérico, entre otros (Wolf, Meinardi & Zalazar, 2009). Las enzimas de *Enterococcus* involucradas en el proceso de la lipólisis son las lipasas y las estereras. En particular, la enzima EstA se ha identificado como clave en el desarrollo de los sabores y los olores en los alimentos lácteos madurados; ésta junto con la peptidasa PepP son responsables de la producción de compuestos característicos del sabor de los alimentos lácteos madurados, como el diacetilo, acetona y 2,3-pentadiona (Engels, Siu, van Schalkwijk, Wesselink,

Jacobs & Bachmann, 2022). Se ha observado que la especie *E. faecium* tiene una mejor actividad lipolítica que *E. faecalis*, y esta actividad es dependiente de la cepa (Terzić-Vidojević *et al.*, 2021).

Otro sistema de desarrollo de aromas en alimentos fermentados donde participa *Enterococcus* es el metabolismo del citrato. La degradación de este ácido tricarboxílico produce moléculas como el diacetilo, que se encuentra relacionado con notas mantecillosas y cremosas, además de acetoina y 2,3-butanodiol (Foulquié Moreno, Sarantinopoulos, Tsakalidou & De Vuyst, 2006). Adicionalmente, el metabolismo del citrato también es responsable de la formación de las burbujas de aire características de quesos como el Gouda (Dapkevicius *et al.*, 2021).

Con respecto a los clusters del metabolismo del citrato en *Enterococcus*, se ha propuesto una división según el tipo de regulador (CitI o CitO), transportador (CitP o CitH) y localización de la oxalacetato descarboxilasa (citoplásmica o membranal) presente en la cepa (Martino, Quintana, Espariz, Blancato & Magni, 2016). Se ha observado que la producción de compuestos específicos a partir del citrato es altamente dependiente de otras fuentes de energía y microorganismos presentes en el medio. En el caso de *E. faecium* FAIR-E 198 experimentos *in vitro* demostraron una mayor producción de acetato en presencia de lactosa, sacrificando la producción de acetoina, que tampoco se produce en cocultivo con *Leuconostoc mesenteroides* (De Vuyst, Vaningelgem, Ghijssels, Tsakalidou & Leroy, 2011).

Conservación: bacteriocinas y peptidoglucano hidrolasas

Enterococcus es una bacteria tolerante al estrés producido por el pH, con la capacidad de acidificar el medio en el que se encuentra, aunque en un grado menor que otros géneros de BAL como *Lactobacillus*. Esto se debe a la producción de ácidos orgánicos como el láctico, propiónico, fórmico y succínico, que, como consecuencia, pueden inhibir el crecimiento de microorganismos que no son capaces de sobrevivir en bajos niveles de pH (Wang *et al.*, 2021). Aunado a esto, durante el proceso de fermentación del alimento *Enterococcus* produce otros compuestos antimicrobianos de naturaleza proteínica, como las bacteriocinas y las peptidoglucano hidrolasas (PGHs); que en conjunto con procesos como la producción de peróxido de hidrógeno y los ácidos orgánicos mencionados, y aunado a cambios fisicoquímicos del alimento (como la disminución de la actividad acuosa durante su maduración) aportan a la inocuidad del alimento, sin la necesidad de llevar a cabo procesos como la pasteurización de la materia prima. Esto es de especial importancia en alimentos cuya calidad sensorial es altamente dependiente de su ecología microbiana, pues un proceso de pasteurización sobre la materia prima sería deletéreo para su microbiota y, por consiguiente, a la generación de propiedades organolépticas complejas.

Las bacteriocinas son péptidos ribosomales que generalmente presentan actividad antimicrobiana contra microorganismos filogenéticamente cercanos a la bacteria productora (espectro reducido), pero que también pueden actuar contra organismos de otros filos e inclusive reinos (espectro amplio) (Simons, Alhanout & Duval, 2020). Estas biomoléculas se clasifican según su estructura y, a la fecha, se reconocen 4 clases: clase I (menores a 10 kDa y con modificaciones post-traduccionales extensas), clase II (menores a 10 kDa y donde la única modificación post-traducciona es la remoción del péptido líder), clase III (péptidos termolábiles, mayores a 10 kDa) y clase IV (proteínas mayores a 30 kDa) (Antoshina, Balandin & Ovchinnikova, 2022). Algunas bacteriocinas de *Enterococcus* son de importancia epidemiológica para el ser humano, como la citolisina ya mencionada, que es una bacteriocina clase I con actividad hemolítica (Rahman *et al.*, 2021). Sin embargo, en el proceso de conservación alimentaria las bacteriocinas de mayor interés son las de la clase II, por su actividad contra *Listeria monocytogenes*, un microorganismo gram-positivo, presente en alimentos contaminados y es el agente etiológico de la listeriosis, una infección con la capacidad de provocar meningitis y abortos espontáneos (Organización Mundial de la Salud, 2018). Se han propuesto diversos mecanismos por los que las bacteriocinas de la clase II producidas por BAL pueden llevar a cabo la inhibición del crecimiento de *Listeria* spp. y generalmente se dividen en: a) la formación de poros en la membrana citoplasmática y b) la inhibición de la síntesis del peptidoglucano mediante la unión a sus precursores (lípidos A y undecaprenilpirofosfato fosfatasa, UppP) (Figura 2), (Antoshina *et al.*, 2022).

La mayoría de las bacteriocinas de interés alimentario producidas por *Enterococcus* pertenecen a la clase II y se denominan enterocinas (Yusuf, 2018). La enterocina A (EntA), producida por una cepa de *E. faecium* proviene de una salchicha española fermentada y fue la primera en ser estudiada y caracterizada (Aymerich, Holo, Håvarstein, Hugas, Garriga & Nes, 1996). Esta molécula con actividad antilisteral en productos lácteos, también inhibe a otros microorganismos como *Salmonella enterica* y *Staphylococcus aureus* (Wu, Pang, Wu, Liu & Zhang, 2022). Desde entonces, se han descubierto más enterocinas de cepas de *Enterococcus* aisladas de varias fuentes, de diversas clases y con diversos mecanismos de acción (Tabla II).

Las bacteriocinas son posiblemente los productos derivados de *Enterococcus* más estudiados en el ámbito biotecnológico. Las enterocinas A y AS-48 han sido útiles en la conservación del jamón ahumado y el queso cottage, y se ha propuesto usarlas en conjunto con empaques compuestos de polímeros biodegradables (Robles Camacho, 2019; Gumienna & Górna, 2021). Las bacteriocinas A, B y AS-48 son activas contra *L. monocytogenes* y otros microorganismos de interés alimentario como *Salmonella* spp., *E. coli* y *Bacillus coagulans* (Yusuf, 2018). Adicionalmente, son capaces de resistir un

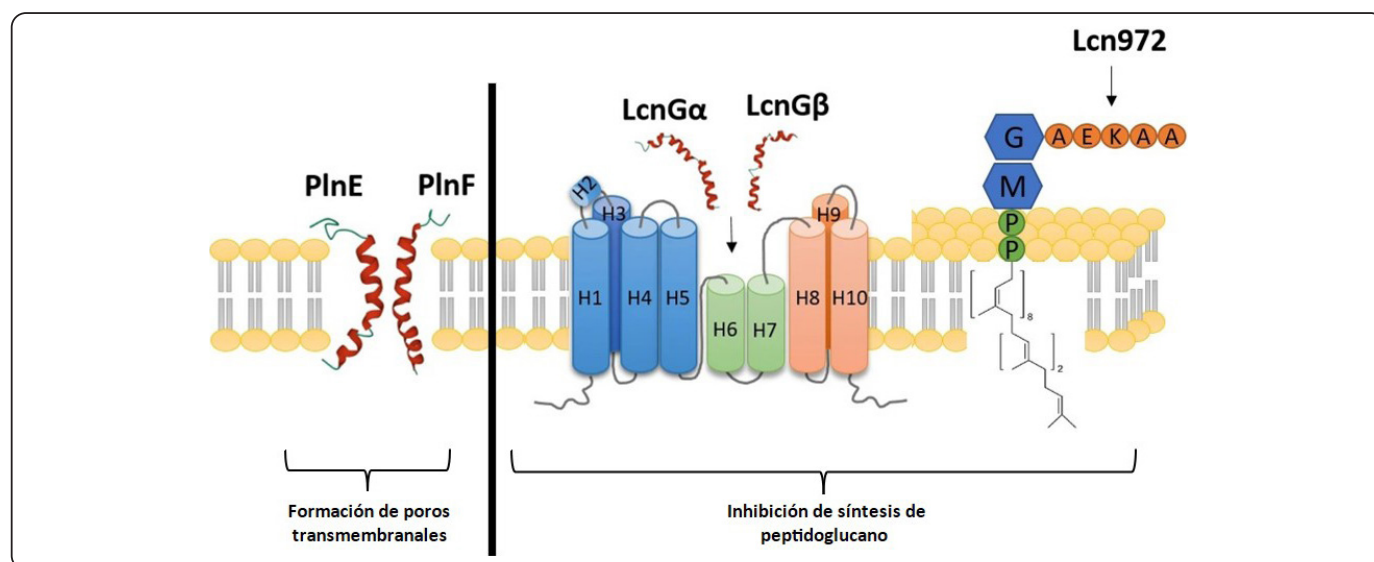


Figura 2. Principales mecanismos de acción de las bacteriocinas clase II plantaricina (PlnE y PlnF), lactococina G (LcnGa y LcnGb) y lactococina 972 (Lcn972); H1 a H10 (UppP). Adaptado de Antoshina *et al.*, 2022.

Tabla II. Enterocinas obtenidas de diversas fuentes

Enterocina	Fuente	Referencias
Enterocina A	Salchicha española	Aymerich <i>et al.</i> , 1996
Enterocina B	Salchicha española	Casaus, Nilsen, Cintas, Nes, Hernández & Holo, 1997
Enterocina X	Noi-Na tailandés	Hu, Malaphan, Zendo, Nakayama & Sonomoto, 2010
Enterocina 1071	Heces de cerdo	Balla, Dicks, Du Toit, Van Der Merwe & Holzapfel, 2010
Enterocina P	Salchicha española	Cintas <i>et al.</i> , 2000
Enterocina HF	Heces de <i>Gyps fulvus</i> subsp. <i>fulvus</i>	Arbulu <i>et al.</i> , 2015
Enterocina L50A/B	Salchicha española	Cintas <i>et al.</i> , 2000
Enterocina Q	Salchicha española	Cintas <i>et al.</i> , 2000
Mundticina K	Forraje fermentado	Kawamoto <i>et al.</i> , 2002
Enterocina SE-K4	Forraje fermentado	Eguchi <i>et al.</i> , 2001
Enterocina RJ-11	Arroz	Yamamoto, Togawa, Shimosaka & Okazaki, 2003
Enterocina EJ97	Agua residual	Gálvez <i>et al.</i> , 1998
Enterocina AS-48	Exudado de herida humana	Gálvez <i>et al.</i> , 1989
Enterocina AS-48RJ	Queso de cabra	Abriouel <i>et al.</i> , 2005
Bacteriocina T8	Secreciones vaginales	De Kwaadsteniet, Fraser, Van Reenen & Dicks, 2006
Enterocina 96	Queso Munster	Izquierdo, Wagner, Marchioni, Aoude-Werner & Ennahar, 2009
Enterocina E-760	Intestino de pollo	Line <i>et al.</i> , 2008

tratamiento térmico (100 °C por 30 min), conservan su actividad en valores de pH entre 2 y 8, y son útiles en la mejora del aspecto de la carne roja mediante la reducción de la metamioglobina (Kasimin, Shamsuddin, Molujin, Sabullah, Gansau & Jawan, 2022). Algunas bacteriocinas enterocócicas presentan una actividad anticancerígena, al inhibir líneas celulares de cáncer de pulmón, cervical y de osteosarcoma, cuya eficacia depende de la dosis (Sharma, Kaur, Chadha, Kaur, Kaur & Kaur, 2021).

Otro conjunto de moléculas producidas por *Enterococcus* con la capacidad de inhibir el crecimiento de algunas bacterias son las peptidoglucano hidrolasas (PGHs), que son proteínas importantes en el proceso del remodelado de la pared celular bacteriana, y debido a la complejidad del peptidoglucano, las PGHs pueden tener diferentes especificidades según el sitio que reconocen (Figura 3) (Layec, Decaris & Leblond-Bourget, 2008).

Dentro del género *Enterococcus* se han encontrado diversas PGHs con actividad antibacteriana (García-Cano *et al.*, 2014). Una de ellas es AtlA, la principal PGH de tipo N-acetilmuraminidasa de *E. faecalis*. Esta proteína ha demostrado ser esencial en la formación del septo al momento de la división celular, además de tener actividad antimicrobiana contra *Micrococcus lysodeikticus* (Roig-Zamboni *et al.*, 2022). Una N-acetilmuraminidasa novedosa descrita por nuestro

equipo de investigación, AtlD, demostró tener actividad contra patógenos de importancia alimentaria como *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. faecium* y *E. faecalis* de origen clínico (Serrano-Maldonado, García-Cano, González-Canto, Ruiz-May, Elizalde-Contreras & Quirasco, 2018). Por otro lado, la PGH de tipo endopeptidasa EnpA_{CD} ha mostrado la capacidad de lisar 10⁷ células de *S. aureus* a una concentración de 500 nM a temperatura ambiente, especialmente en contra de especies cuyo peptidoglucano contiene puentes peptídicos compuestos principalmente de glicina, serina y alanina (Małecki, Mitkowski, Jagielska, Trochimiak, Mesnage & Sabała, 2021). Se ha reportado que las PGHs también actúan en contra de los patógenos que afectan a otros animales como el camarón, en concreto contra *Vibrio* spp., agente etiológico del cólera (Chino de la Cruz, Cornejo-Granados, Gallardo-Becerra, Rodríguez-Alegría, Ochoa-Leyva & López Munguía, 2023).

Ventajas de su consumo: *Enterococcus* como probiótico y postbiótico

La función de *Enterococcus* en la maduración y conservación de los alimentos fermentados no puede ser subestimada; la comunidad científica ha reconocido su importancia en estos procesos. Sin embargo, la propuesta de que *Enterococcus* se desempeñe como probiótico sigue siendo un tema controversial debido a la prevalencia que tiene en entornos nosocomiales y su correlación con afecciones como la endocarditis e infecciones del

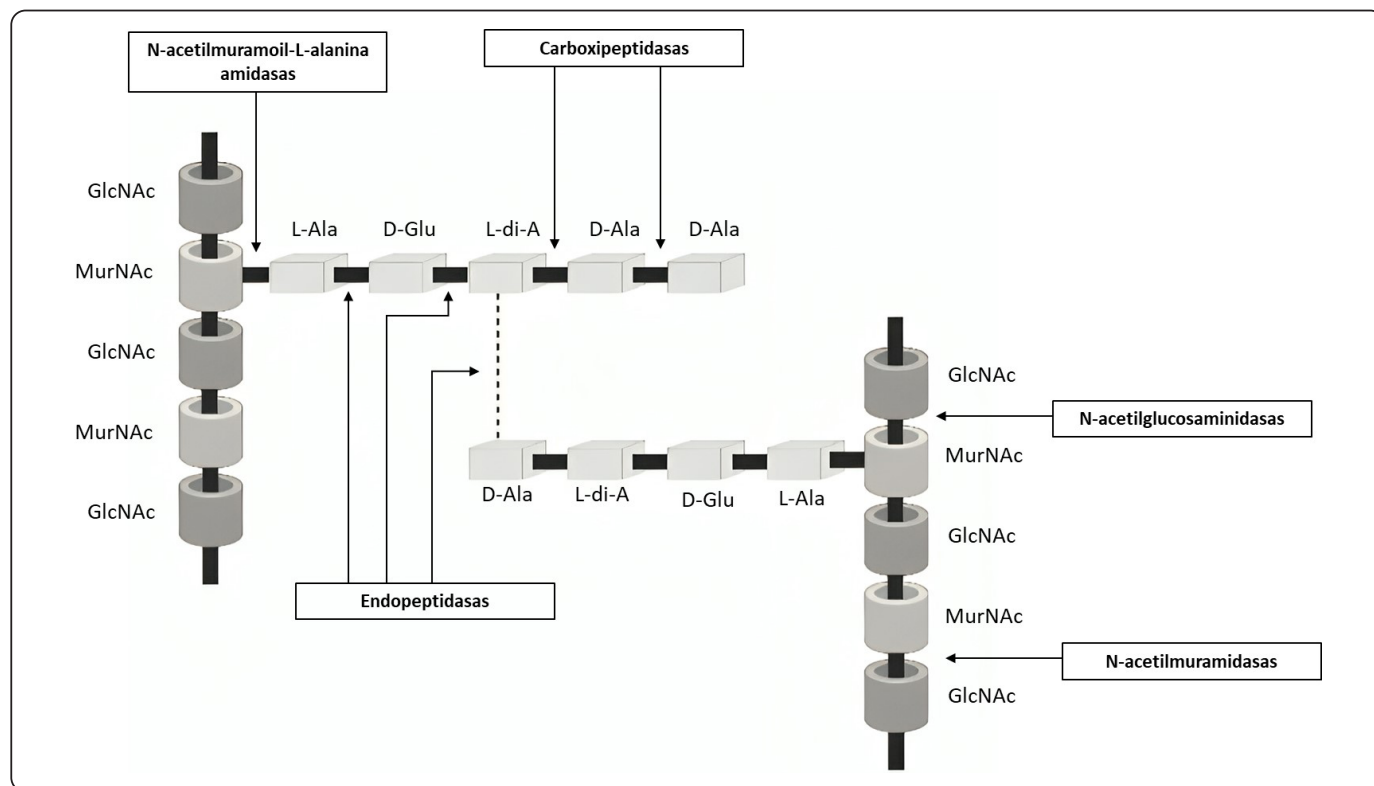


Figura 3. Mecanismos de acción de distintas peptidoglucano hidrolasas. Adaptado de Layec *et al.*, 2008; Serrano Maldonado, 2013.

tracto urinario (Hemapanpaíroa *et al.*, 2021). Se ha observado que *Enterococcus* tiene varias propiedades que lo convierten en un microorganismo con potencial probiótico como: la resistencia al paso por el tracto gastrointestinal hasta llegar al colon, la adhesión a la mucosa intestinal, la inmunomodulación, la síntesis de compuestos bioactivos y el metabolismo de compuestos no digeribles. Por consiguiente, sus preparados postbióticos han comenzado a ser estudiados de igual forma (Sakoui *et al.*, 2024; Sun, Wang & Jiang, 2010; Popović *et al.*, 2023; Olvera-García *et al.*, 2018). Se define como postbiótico a una preparación de microorganismos no viables, o de sus restos celulares, obtenidos posterior a una inactivación térmica o enzimática de ellos, que son benéficos para la salud humana (Vinderola, Sanders & Salminen, 2022). Su principal cualidad es el hecho de que permite explorar las propiedades benéficas de los metabolitos, de los componentes celulares o de las proteínas no termolábiles o resistentes al tratamiento enzimático, sin la necesidad de contar con el microorganismo viable, lo que ofrece ventajas tecnológicas importantes en su aplicación industrial. Hoy en día contamos con escasos probióticos y postbióticos comerciales enterocócicos, como el producto Symbioflor 1, compuesto de células vivas y lisadas de 10 aislados distintos de *E. faecalis* (Fritzenwanker, Chakraborty, Hain, Zimmermann & Domann, 2016).

Como probiótico, se conoce que ciertas cepas de *E. faecalis* estimulan la producción de un perfil de citocinas que conllevan a un fenotipo de actividad inmune intracelular, además de activar células dendríticas mediante la inducción de la producción de interleucinas tanto proinflamatorias como antiinflamatorias (Molina *et al.*, 2015). Estudios en *Caenorhabditis elegans* han demostrado la capacidad de *E. faecalis* de inducir la transcripción de genes codificantes para lisozima y lectinas en eventos de infección con *Staphylococcus aureus* (Ford, Drew & King, 2022). La producción y actividad anticancerígena de ciertas bacteriocinas de *Enterococcus thailandicus* han sugerido la posibilidad de utilizar al microorganismo como apoyo en el tratamiento del cáncer hepático (Al-Madboly, El-Deeb, Kabbash, Nael, Kenawy & Ragab, 2020). Este efecto anticancerígeno también ha sido observado en otras especies como *E. mundtii*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. casseliflavus* y *E. faecium*, con varios mecanismos, que incluyen la producción de enterocinas y metabolitos con actividad apoptótica y antiproliferativa en células cancerígenas de mama, colon y tejido cervicouterino (Grenda, Grenda, Domaradzki & Kwiatek, 2022). La capacidad proteolítica de *Enterococcus* no solamente ha demostrado ser de utilidad en la síntesis de compuestos con aroma y sabor, sino que este proceso también tiene la capacidad de producir péptidos bioactivos. Se ha reportado la síntesis de péptidos enterocócicos con actividad antihipertensiva que actúan mediante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), con el potencial de ser usados como agentes antihipertensivos sin los efectos secundarios de compuestos como el captopril (Graham, Stack & Rea, 2020).

Los productos de fermentación de múltiples cepas de *E. faecalis* han demostrado ser antioxidantes debido a la producción de compuestos fenólicos y a una actividad antihiper-glucemiante al inhibirse la enzima α -glucosidasa (Graham, Rea, Simpson & Stack, 2019). Otros metabolitos benéficos para la salud humana y que son sintetizados por bacterias comensales intestinales, incluyendo a *Enterococcus*, son las vitaminas. Éstas sintetizan *in situ* vitamina K y algunas vitaminas B *de novo*, como el folato y la cobalamina (Hadadi, Berweiler, Wang & Trajkovski, 2021; Engevik *et al.*, 2019). Adicionalmente, se ha demostrado que, junto con otras bacterias de la microbiota intestinal, produce ácido γ -aminobutírico (GABA), un neurotransmisor asociado con efectos antihipertensivos y diuréticos que forma parte del eje intestino-cerebro (Rutsch, Kantsjö & Ronchi, 2020).

Por otro lado, *Enterococcus* lleva a cabo un sinergismo con el metabolismo digestivo del hospedero. Es capaz de degradar polisacáridos no digeribles, volviéndolos más accesibles para el hospedero (Wang *et al.*, 2021). Se ha reportado que, en presencia de sales biliares, la cepa *E. faecium* 96B4 disminuye los niveles de colesterol mediante posibles mecanismos como la conversión a coprostanol, su incorporación a la membrana bacteriana o su adsorción a la superficie celular (Abedini, Zaghari, Jabbari, Salekdeh & Hashemi, 2023).

En conjunto, estas características probióticas han demostrado la utilidad de *Enterococcus* como suplemento alimenticio, al mejorar la absorción de nutrientes y nitrógeno, y disminuir la cantidad de coliformes totales sin afectar la presencia de otros microorganismos comensales probióticos como *Lactobacillus* (Park, Jeong, Lee & Kim, 2016). Como parte de la microbiota intestinal, *Enterococcus* forma parte del eje intestino-cerebro, actuando directamente sobre la salud mental del hospedero al ser capaz de producir neurotransmisores como serotonina, GABA y acetilcolina (Rutsch *et al.*, 2020). Se ha reportado la actividad antidepresiva de una cepa de *E. faecalis* gracias a la disminución de la producción de citocinas inflamatorias en el hipocampo y el tracto gastrointestinal, y el aumento de la síntesis de citocinas antiinflamatorias como la IL-10, por lo que disminuye el proceso inflamatorio asociado con afecciones como la depresión y el trastorno obsesivo-compulsivo (Takahashi *et al.*, 2019). Algunos preparados probióticos y postbióticos de *Enterococcus* ya se comercializan, y se ha demostrado su eficacia en la reducción de episodios de diarrea infecciosa tras tratamiento con antibióticos, y para atender el síndrome de colon irritable y mantenimiento general de la homeóstasis microbiana intestinal (Figura 4), (Popović *et al.*, 2023; Graham *et al.*, 2020).

Otras aplicaciones biotecnológicas

Las propiedades proteolíticas de *Enterococcus* han sido exploradas más allá de la maduración de alimentos fermentados y se ha propuesto su uso en la proteólisis de proteínas de la leche, para dar lugar a péptidos bioactivos como producto final, con actividades antihipertensivas, anticariogénicas,

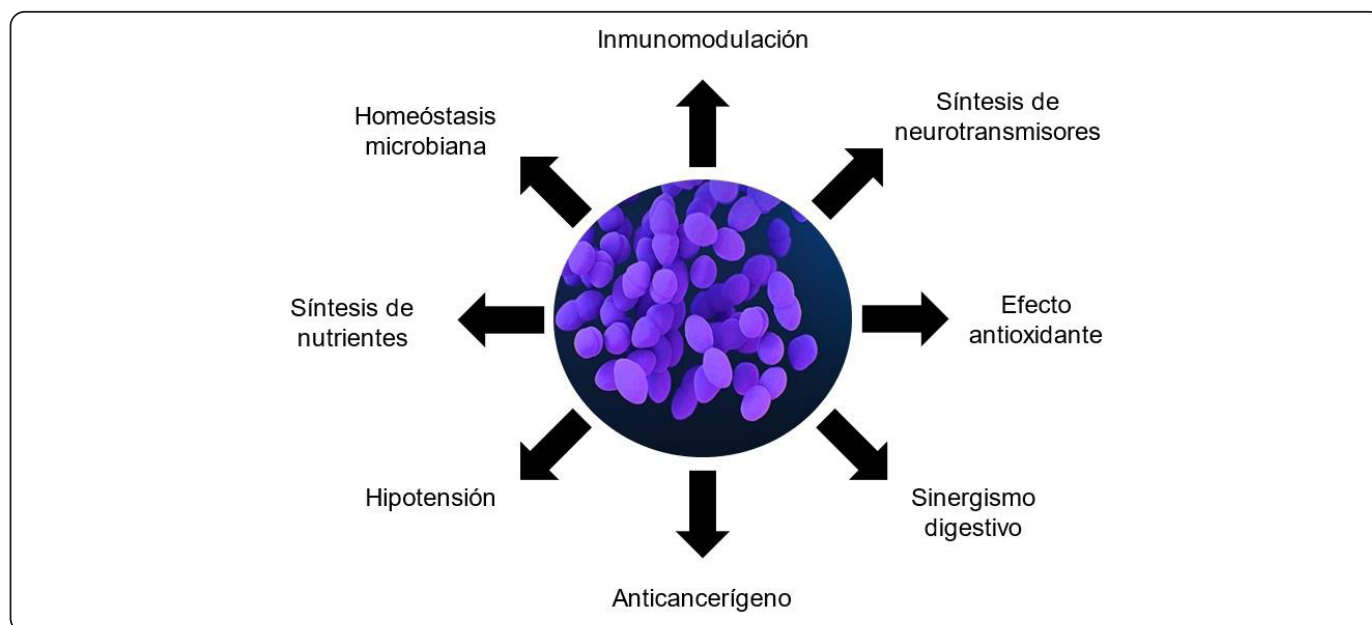


Figura 4. Papel de *Enterococcus* spp. como probiótico.

inmunomoduladoras y antimicrobianas (Graham *et al.*, 2020). Sus proteasas y lipasas también tienen aplicaciones en el procesamiento de residuos de la industria alimentaria y, en conjunto con detergentes, en la industria textil. Se ha reportado la producción de proteasas y lipasas de interés industrial en cepas de *E. faecium*, *E. durans* y *E. hirae* y se ha propuesto su uso en la producción de lácteos (Ramakrishnan, Balakrishnan, Rai, Narayan & Halami, 2012).

Enterococcus forma una gran variedad de exopolisacáridos. Estos compuestos son emulsificantes y floculantes, por lo que pueden ser utilizados en la modificación de las propiedades reológicas de diversos productos (Kavitake, Devi, Delattre, Reddy & Shetty, 2023). Estudios mencionan que estos compuestos mejoran la textura de quesos madurados gracias a su alta capacidad higroscópica (Dapkevicius *et al.*, 2021). Se ha observado que algunos exopolisacáridos enterocócicos tienen propiedades inmunomoduladoras, antioxidantes, antimicrobianas, citotóxicas y antitumorales (Kavitake *et al.*, 2023). Adicionalmente, el exopolisacárido de *Enterococcus* sp. MG6 tiene actividad inmunomoduladora y anticancerígena, al inducir la producción de TNF- α , NO, IL-6 e IL- β , citocinas involucradas en el proceso inflamatorio relacionado con la respuesta inmune al cáncer (Sharma & Gosh, 2021).

Además de los diversos metabolitos de *Enterococcus*, los bacteriófagos que infectan a este género también han demostrado utilidad en el área biotecnológica. Un aspecto negativo del desarrollo de algunas cepas de *Enterococcus* en alimentos fermentados es la producción de aminas biógenas. Éstas son producto del metabolismo de desaminación de ciertos

aminoácidos, que tienen efectos deletéreos en el ser humano como náuseas, diarrea y taquicardia (Doeun, Davaatseren & Chung, 2017). El bacteriófago 156 de *E. faecalis* controla la producción de las aminas biógenas tiramina y putrescina en los alimentos fermentados, mediante la regulación del crecimiento de *Enterococcus* spp. (del Rio *et al.*, 2019). Otra aplicación de los bacteriófagos es su uso en el tratamiento de infecciones dentales provocadas por *E. faecalis* (Rodríguez-Lucas & Ladero, 2023).

Enterococcus: UNA PERSPECTIVA EQUILBRADA

El género *Enterococcus* lleva consigo un estigma producto tanto de su plasticidad genómica y su correlación con entornos nosocomiales, como de su mismo nombre (p. ej. *E. faecalis*). Sin embargo, y como se ha expuesto en este artículo, el papel de *Enterococcus* en los alimentos y sus potenciales aplicaciones en el área de la biotecnología son muy amplias como para reducirlo a patógeno oportunista. *Enterococcus* no es el primer género de BAL (ni será el último) que preocupe desde el punto de vista clínico. Géneros GRAS como *Lactobacillus* pueden comportarse como patógenos en pacientes con diabetes mellitus, de la misma forma en que *Enterococcus* puede comportarse como patógeno oportunista en pacientes inmunocomprometidos (Rossi, Amadoro & Colavita, 2019). Se ha reportado que en *Lactobacillus* spp. existen numerosos genes de resistencia a antibióticos (tetraciclina, macrólidos, clindamicina y aminoglicósidos) y de virulencia (citolisina, sustancia de agregación, antígeno específico de endocarditis y gelatinasa) algunos de los que también se encuentran en *Enterococcus* spp. (Colautti, Arnoldi, Comi & Iacumin, 2022). Existen algunas cepas de *Lactobacillus* que, de igual forma que algunas cepas de *Enterococcus*, presentan resistencia a la

vancomicina (Campedelli *et al.*, 2019). Esto no se menciona con la finalidad de desacreditar la clasificación GRAS que ostenta *Lactobacillus*, sino para incitar una discusión acerca del enfoque que se le da a *Enterococcus* y resaltar que, así como tiene características de preocupación, también las tiene positivas y de utilidad para la tecnología alimentaria y la biotecnología, tal como sucede con otros microorganismos. Adicionalmente, es de resaltar que el género *Enterococcus* está presente en prácticamente cualquier alimento de fermentación láctica de manera natural, es decir, que se ha elaborado sin la adición de cultivos iniciadores, cuya fermentación se debe a la microbiota presente de manera nativa en las materias primas, sin que esto conlleve a considerar riesgoso el consumo del alimento por la presencia de este tipo de bacterias (Suvorov, 2020).

CONCLUSIONES

El papel del género *Enterococcus* en la salud no está en discusión: existen infecciones nosocomiales que pueden llevar a la muerte, causadas por cepas de este microorganismo virulentas y resistentes a antibióticos. Sin embargo, pensar que todos los miembros de este género son patógenos oportunistas se ha convertido en una limitante en cuanto a la percepción de peligro cuando se encuentra como microbiota nativa de un alimento o respecto a su potencial aplicación biotecnológica. Con la finalidad de no caer en prejuicios sobre este género bacteriano, el estudio de los enterococos debe abordarse desde una perspectiva objetiva. Se necesita hacer análisis genotípicos y fenotípicos de cada cepa en particular para conocer las ventajas o las desventajas de su presencia en distintos entornos, ya que la profundización en el conocimiento científico de los microorganismos lleva a una mejor evaluación del papel que desempeñan en cada hábitat.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo recibió financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, Universidad Nacional Autónoma de México (IN214423).

Daniel Acero-Pimentel contó con la Beca de Maestría en Ciencias Bioquímicas otorgada por CONAHCyT.

REFERENCIAS

- Abedini, R., Zaghari, G., Jabbari, L., Salekdeh, G. H. & Hashemi, M. (2023). A potential probiotic *Enterococcus faecium* isolated from camel rumen, fatty acids biotransformation, antilisteria activity and safety assessment. *Int. Dairy J.*, **145**, 105706. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105706>
- Abriouel, H., Lucas, R., Ben Omar, N., Valdivia, E., Maqueda, M., Martínez-Cañamero, M. & Gálvez, A. (2005). Enterocin AS-48RJ: a variant of enterocin AS-48 chromosomally encoded by *Enterococcus faecium* RJ16 isolated from food. *Systemat. Appl. Microbiol.*, **28(5)**, 383–397. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.01.007>
- Arora, S., Gordon, J. & Hook, M. (2021). Collagen binding proteins of gram-positive pathogens. *Front. Microbiol.*, **12**, 628798. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628798>
- Al-Madboly, L. A., El-Deeb, N. M., Kabbash, A., Nael, M. A., Kenawy, A. M. & Ragab, A. E. (2020). Purification, characterization, identification, and anticancer activity of a circular bacteriocin from *Enterococcus thailandicus*. *Front Bioeng. Biotechnol.*, **8**, 450. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00450>
- Antoshina, D. V., Balandin, S. V. & Ovchinnikova, T. V. (2022). Structural features, mechanisms of action, and prospects for practical application of class II bacteriocins. *Biochemistry (Moscow)*, **87(11)**, 1387–1403. <https://doi.org/10.1134/s0006297922110165>
- Arbulu, S., Lohans, C. T., van Belkum, M. J., Cintas, L. M., Herranz, C., Vederas, J. C. & Hernández, P. E. (2015). Solution structure of enterocin HF, an antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* M3K31. *J. Agr. Food Chem.*, **63(49)**, 10689–10695. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03882>
- Aymerich, T., Holo, H., Håvarstein, L. S., Hugas, M., Garriga, M. & Nes, I. F. (1996). Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. In *Appl. Environ. Microbiol.*, **62(5)**, 1676–1682. <https://doi.org/10.1128/aem.62.5.1676-1682.1996>
- Balla, E., Dicks, L. M. T., Du Toit, M., Van Der Merwe, M. J. & Holzappel, W. H. (2000). Characterization and cloning of the genes encoding enterocin 1071A and enterocin 1071B, two antimicrobial peptides produced by *Enterococcus faecalis* BFE 1071. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66(4)**, 1298–1304. <https://doi.org/10.1128/aem.66.4.1298-1304.2000>
- Bezdicck, M., Hanslikova, J., Nykrynova, M., Dufkova, K., Kocmanova, I., Kubackova, P., Mayer, J. & Lengerova, M. (2023). New multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecium* based on whole genome sequencing data. *Microbiol. Spectr.*, **11(4)**, e05107-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.05107-22>
- Bonacina, J., Suárez, N., Hormigo, R., Fadda, S., Lechner, M. & Saavedra, L. (2016). A genomic view of food-related and probiotic *Enterococcus* strains. *DNA Res.*, **24(1)**, 11–24. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsw043>
- Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., Ross, R. P., Hill, C. & O'Toole, P. W. (2019). Genus-wide assessment of antibiotic resistance in *Lactobacillus* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, **85(1)**, e01738-18. American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/aem.01738-18>
- Carmen Fariñas, M. & Torres, C. (2007). Enterococo ¿un patógeno emergente en nuestros hospitales? *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, **25(8)**, 500–502. <https://doi.org/10.1157/13109985>
- Carvalho, C. C. P. de, Santos, V. A. Q., Gomes, R. G. & Hoffmann, F. L. (2017). Fermented sausage production using *E. faecium* as starter culture: physicochemical and

- microbiological profile, sensorial acceptance and cellular viability. *Acta Sci. Technol.*, **39**(4), 395–402. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v39i4.30882>
- Casaus, P., Nilsen, T., Cintas, L. M., Nes, I. F., Hernández, P. E. & Holo, H. (1997). Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* T136 which can act synergistically with enterocin A. *Microbiol.*, **143**(7), 2287–2294. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-7-2287>
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A. & Łaniewska-Trokenheim, Ł. (2017). Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food. *LWT*, **75**, 670–676. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.026>
- Chino de la Cruz, C. M., Cornejo-Granados, F., Gallardo-Becerra, L., Rodríguez-Alegría, M. E., Ochoa-Leyva, A. & López Munguía, A. (2023). Complete genome sequence and characterization of a novel *Enterococcus faecium* with probiotic potential isolated from the gut of *Litopenaeus vannamei*. *Microb. Genome*, **9**(3). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000938>
- Cintas, L. M., Casaus, P., Herranz, C., Håvarstein, L. S., Holo, H., Hernández, P. E. & Nes, I. F. (2000). Biochemical and genetic evidence that *Enterococcus faecium* L50 produces enterocins L50A and L50B, the sec-dependent enterocin P, and a novel bacteriocin secreted without an N-terminal extension termed enterocin Q. *J. Bacteriol.*, **182**(23), 6806–6814. <https://doi.org/10.1128/jb.182.23.6806-6814.2000>
- Colautti, A., Arnoldi, M., Comi, G. & Iacumin, L. (2022). Antibiotic resistance and virulence factors in lactobacilli: something to carefully consider. *Food Microbiol.*, **103**, 103934. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103934>
- Conwell, M., Dooley, J. S. G. & Naughton, P. J. (2022). Enterococcal biofilm—A nidus for antibiotic resistance transfer? *J. Appl. Microbiol.*, **132**(5), 3444–3460. <https://doi.org/10.1111/jam.15441>
- Dapkevicius, M. de L. E., Sgardoli, B., Câmara, S. P. A., Poeta, P. & Malcata, F. X. (2021). Current trends of enterococci in dairy products: a comprehensive review of their multiple roles. *Foods*, **10**(4), 821. <https://doi.org/10.3390/foods10040821>
- De Kwaadsteniet, M., Fraser, T., Van Reenen, C. A. & Dicks, L. M. T. (2006). Bacteriocin T8, a novel class IIa sec-dependent bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* T8, isolated from vaginal secretions of children infected with human immunodeficiency virus. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**(7), 4761–4766. <https://doi.org/10.1128/aem.00436-06>
- de la Fuente-Salcido, N. M., Castañeda-Ramírez, J. C., García-Almendárez, B. E., Bideshi, D. K., Salcedo-Hernández, R. & Barboza-Corona, J. E. (2015). Isolation and characterization of bacteriocinogenic lactic bacteria from M-Tuba and Tepache, two traditional fermented beverages in México. *Food Sci. Nutr.*, **3**(5), 434–442. <https://doi.org/10.1002/fsn3.236>
- del Rio, B., Sánchez-Llana, E., Redruello, B., Magadan, A. H., Fernández, M., Martín, M. C., Ladero, V. & Alvarez, M. A. (2019). *Enterococcus faecalis* bacteriophage 156 is an effective biotechnological tool for reducing the presence of tyramine and putrescine in an experimental cheese model. *Front. Microbiol.*, **10**, 566. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00566>
- De Vuyst, L., Vaningelgem, F., Ghijssels, V., Tsakalidou, E. & Leroy, F. (2011). New insights into the citrate metabolism of *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 and its possible impact on the production of fermented dairy products. *Int. Dairy J.*, **21**(9), 580–585. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.03.009>
- Deekshit, V. K. & Srikumar, S. (2022). ‘To be, or not to be’—The dilemma of ‘silent’ antimicrobial resistance genes in bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, **133**(5), 2902–2914. <https://doi.org/10.1111/jam.15738>
- Díaz-Ruiz, G., Guyot, J. P., Ruiz-Teran, F., Morlon-Guyot, J. & Wachter, C. (2003). Microbial and physiological characterization of weakly amyolytic but fast-growing lactic acid bacteria: a functional role in supporting microbial diversity in pozol, a mexican fermented maize beverage. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(8), 4367–4374. <https://doi.org/10.1128/aem.69.8.4367-4374.2003>
- Doeun, D., Davaatseren, M. & Chung, M.-S. (2017). Biogenic amines in foods. *Food Sci. Biotechnol.*, **26**(6), 1463–1474. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0239-3>
- Eguchi, T., Kaminaka, K., Shima, J., Kawamoto, S., Mori, K., Choi, S.-H., Doi, K., Ohmomo, S. & Ogata, S. (2001). Isolation and characterization of enterocin SE-K4 produced by thermophilic enterococci, *Enterococcus faecalis* K-4. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**(2), 247–253. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.247>
- Engels, W., Siu, J., van Schalkwijk, S., Wesselink, W., Jacobs, S. & Bachmann, H. (2022). Metabolic conversions by lactic acid bacteria during plant protein fermentations. *Foods*, **11**(7), 1005. <https://doi.org/10.3390/foods11071005>
- Engevik, M. A., Morra, C. N., Röth, D., Engevik, K., Spinler, J. K., Devaraj, S., Crawford, S. E., Estes, M. K., Kalkum, M. & Versalovic, J. (2019). Microbial metabolic capacity for intestinal folate production and modulation of host folate receptors. *Front. Microbiol.*, **10**, 2305. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02305>
- Escobar-Zepeda, A., Sanchez-Flores, A. & Quirasco Baruch, M. (2016). Metagenomic analysis of a Mexican ripened cheese reveals a unique complex microbiota. *Food Microbiol.*, **57**, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.02.004>
- Ferchichi, M., Sebei, K., Boukerb, A. M., Karray-Bouraoui, N., Chevalier, S., Feuilloley, M. G. J., Connil, N. & Zommiti, M. (2021). *Enterococcus* spp.: Is it a bad choice for a good use—a conundrum to solve? *Microorganisms*, **9**(11), 2222. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112222>
- Ford, S. A., Drew, G. C. & King, K. C. (2022). Immune-mediated competition benefits protective microbes over pathogens in a novel host species. *Heredity*, **129**(6), 327–335. <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00569-3>

- Foulquié Moreno, M. R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E. & De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *Int. J. Food Microbiol.*, **106**(1), 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026>
- Fritzenwanker, M., Chakraborty, A., Hain, T., Zimmermann, K. & Domann, E. (2016). Draft genome sequences of the probiotic *Enterococcus faecalis* Symbioflor 1 Clones DSM16430 and DSM16434. *Genome Announc.*, **4**(5), e01061-16. <https://doi.org/10.1128/genomea.01061-16>
- Gálvez, A., Giménez-Gallego, G., Maqueda, M. & Valdivia, E. (1989). Purification and amino acid composition of peptide antibiotic AS-48 produced by *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* subsp. *liquefaciens* S-48. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **33**(4), 437–441. <https://doi.org/10.1128/aac.33.4.437>
- Gálvez, A., Valdivia, E., Abriouel, H., Camafeita, E., Mendez, E., Martínez-Bueno, M. & Maqueda, M. (1998). Isolation and characterization of enterocin EJ97, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* EJ97. *Arch. Microbiol.*, **171**(1), 59–65. <https://doi.org/10.1007/s002030050678>
- García-Cano, I., Serrano-Maldonado, C. E., Olvera-García, M., Delgado-Arciniega, E., Peña-Montes, C., Mendoza-Hernández, G. & Quirasco, M. (2014). Antibacterial activity produced by *Enterococcus* spp. isolated from an artisanal Mexican dairy product, Cotija cheese. *LWT Food Sci. Technol.*, **59**(1), 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.059>
- García-Solache, M. & Rice, L. B. (2019). The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clin. Microbiol. Rev.*, **32**(2), e00058-18. <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-18>
- Gelsomino, R., Huys, G., D'haene, K., Vancanneyt, M., Cogan, T. M., Franz, C. M. A. P. & Swings, J. (2004). Antibiotic resistance and virulence traits of enterococci isolated from Baylough, an Irish artisanal cheese. *J. Food Protect.*, **67**(9), 1948–1952. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.9.1948>
- Graham, K., Rea, R., Simpson, P. & Stack, H. (2019). *Enterococcus faecalis* milk fermentates display antioxidant properties and inhibitory activity towards key enzymes linked to hypertension and hyperglycaemia. *J. Funct. Food*, **58**, 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.052>
- Graham, K., Stack, H. & Rea, R. (2020). Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications – a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **60**(22), 3836–3861. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1709800>
- Grenda, A., Grenda, T., Domaradzki, P. & Kwiatek, K. (2022). Enterococci—involvement in pathogenesis and therapeutic potential in cancer treatment: a mini-review. *Pathogens*, **11**(6), 687. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060687>
- Grispoldi, L., Karama, M., El-Ashram, S., Saraiva, C., García-Díez, J., Chalias, A. & Cenci-Goga, B. T. (2022). Evolution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from Pecorino and goat cheese manufactured on-farm in an area facing constraints as per EU Regulation 1305/2013 in Umbria, Italy. *Ital. J. Food Saf.*, **11**(2). <https://doi.org/10.4081/ijfs.2022.10070>
- Gumienna, M. & Górna, B. (2021). Antimicrobial food packaging with biodegradable polymers and bacteriocins. *Molecules*, **26**(12), 3735. <https://doi.org/10.3390/molecules26123735>
- Hadadi, N., Berweiler, V., Wang, H. & Trajkovski, M. (2021). Intestinal microbiota as a route for micronutrient bioavailability. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res.*, **20**, 100285. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2021.100285>
- Hashem, Y. A., Abdelrahman, K. A. & Aziz, R. K. (2021). Phenotype–genotype correlations and distribution of key virulence factors in *Enterococcus faecalis* isolated from patients with urinary tract infections. *Infect. Drug Res.*, **14**, 1713–1723. <https://doi.org/10.2147/idr.s305167>
- Hemapanairoa, J., Changpradub, D., Thunyaharn, S. & Santimaleeworagun, W. (2021). Does vancomycin resistance increase mortality? Clinical outcomes and predictive factors for mortality in patients with *Enterococcus faecium* infections. *Antibiotics*, **10**(2), 105. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020105>
- Hernández-Delgado, N. C., Torres-Maravilla, E., Mayorga-Reyes, L., Martín, R., Langella, P., Pérez-Pastén-Borja, R., Sánchez-Pardo, M. E. & Bermúdez-Humarán, L. G. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory properties of probiotic candidate strains isolated during fermentation of agave (*Agave angustifolia* Haw). *Microorganisms*, **9**(5), 1063. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051063>
- Homan, W. L., Tribe, D., Poznanski, S., Li, M., Hogg, G., Spalburg, E., van Embden, J. D. A. & Willems, R. J. L. (2002). Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecium*. *J. Clin. Microbiol.*, **40**(6), 1963–1971. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.6.1963-1971.2002>
- Hu, C.-B., Malaphan, W., Zendo, T., Nakayama, J. & Sonomoto, K. (2010). Enterocin X, a novel two-peptide bacteriocin from *Enterococcus faecium* KU-B5, has an antibacterial spectrum entirely different from those of its component peptides. *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**(13), 4542–4545. <https://doi.org/10.1128/aem.02264-09>
- Huezo-Sánchez, A. R., Ortega-Rodríguez, E. M., Pérez-Armendáriz, B. & El-Kassis, E. G. (2023). Characterization of bacterial diversity in aguamiel and two types of pulque from the Zacatlán region, México. *Fermentation*, **9**(6), 564. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060564>
- Izquierdo, E., Wagner, C., Marchioni, E., Aoude-Werner, D. & Ennahar, S. (2009). Enterocin 96, a novel class II bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* WHE 96, isolated from Munster cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, **75**(13), 4273–4276. <https://doi.org/10.1128/aem.02772-08>
- Jolley, K. A., Bray, J. E. & Maiden, M. C. J. (2018). Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.*, **3**, 124. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
- Kasimin, M. E., Shamsuddin, S., Molujin, A. M., Sabullah,

- M. K., Gansau, J. A. & Jawan, R. (2022). Enterocin: promising biopreservative produced by *Enterococcus* sp. *Microorganisms*, **10**(4), 684. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040684>
- Kavitake, D., Devi, P. B., Delattre, C., Reddy, G. B. & Shetty, P. H. (2023). Exopolysaccharides produced by *Enterococcus* genus—An overview. *Int. J. Biol. Macromol.*, **226**, 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.042>
- Kawamoto, S., Shima, J., Sato, R., Eguchi, T., Ohmomo, S., Shibato, J., Horikoshi, N., Takeshita, K. & Sameshima, T. (2002). Biochemical and genetic characterization of mundticin KS, an antilisterial peptide produced by *Enterococcus mundtii* NFRI 7393. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**(8), 3830–3840. <https://doi.org/10.1128/aem.68.8.3830-3840.2002>
- Kim, D.-W. & Cha, C.-J. (2021). Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Exp. Mol. Med.*, **53**(3), 301–309. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00569-z>
- Lavigne, J.-P., Nicolas-Chanoine, M.-H., Bourg, G., Moreau, J. & Sotto, A. (2008). Virulent synergistic effect between *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* assayed by using the *Caenorhabditis elegans* model. *PLoS ONE*, **3**(10), e3370. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003370>
- Layec, S., Decaris, B. & Leblond-Bourget, N. (2008). Diversity of Firmicutes peptidoglycan hydrolases and specificities of those involved in daughter cell separation. *Res. Microbiol.*, **159**(7–8), 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.06.008>
- Lebreton, F., Willems, R. J. L., Gilmore, M.S. (2014). *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. En Gilmore, M.S., Clewell, D.B., Ike, Y. et al. (Ed.). En *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/>
- Line, J. E., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Perelygin, V. V., Mitsevich, E. V., Mitsevich, I. P., Levchuk, V. P., Svetoch, O. E., Seal, B. S., Siragusa, G. R. & Stern, N. J. (2008). Isolation and purification of enterocin E-760 with broad antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **52**(3), 1094–1100. <https://doi.org/10.1128/aac.01569-06>
- Lucena-Padrós, H., González, J. M., Caballero-Guerrero, B., Ruiz-Barba, J. L. & Maldonado-Barragán, A. (2014). *Enterococcus olivae* sp. nov., isolated from Spanish-style green-olive fermentations. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **64**(8), 2534–2539. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.062208-0>
- Macovei, L., Ghosh, A., Thomas, V. C., Hancock, L. E., Mahmood, S. & Zurek, L. (2009). *Enterococcus faecalis* with the gelatinase phenotype regulated by the *fsr* operon and with biofilm-forming capacity are common in the agricultural environment. *Environ. Microbiol.*, **11**(6), 1540–1547. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01881.x>
- Małecki, P. H., Mitkowski, P., Jagielska, E., Trochimiak, K., Mesnage, S. & Sabała, I. (2021). Structural characterization of EnpA D,L-endopeptidase from *Enterococcus faecalis* prophage provides insights into substrate specificity of M23 peptidases. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**(13), 7136. <https://doi.org/10.3390/ijms22137136>
- Marbjerg, L., Stougaard, C. L., Sørensen, S.-A. G., Thomsen, A. V., Wang, L., Andersen, L., Andersen, T. E., Kallipolitis, B. & Kemp, M. (2021). A new tool for analyses of whole genome sequences reveals dissemination of specific strains of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a hospital. *Front. Med.*, **8**, 733676. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.733676>
- Martino, G. P., Quintana, I. M., Espariz, M., Blancato, V. S. & Magni, C. (2016). Aroma compounds generation in citrate metabolism of *Enterococcus faecium*: Genetic characterization of type I citrate gene cluster. *Int. J. Food Microbiol.*, **218**, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.004>
- Medeiros, A. W., Pereira, R. I., Oliveira, D. V., Martins, P. D., d’Azevedo, P. A., Van der Sand, S., Frazzon, J. & Frazzon, A. P. G. (2014). Molecular detection of virulence factors among food and clinical *Enterococcus faecalis* strains in South Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, **45**(1), 327–332. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014005000031>
- Michaelis, C. & Grohmann, E. (2023). Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. *Antibiotics*, **12**(2), 328. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020328>
- Molina, M. A., Díaz, A. M., Hesse, C., Ginter, W., Gentilini, M. V., Nuñez, G. G., Canellada, A. M., Sparwasser, T., Berod, L., Castro, M. S. & Manghi, M. A. (2015). Immunostimulatory effects triggered by *Enterococcus faecalis* CECT7121 probiotic strain involve activation of dendritic cells and interferon-gamma production. *PLoS ONE*, **10**(5), e0127262. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127262>
- Muruzábal-Lecumberri, I., Girbau, C., Canut, A., Alonso, R. & Fernández-Astorga, A. (2015). Spread of an *Enterococcus faecalis* sequence type 6 (CC2) clone in patients undergoing selective decontamination of the digestive tract. *APMIS*, **123**(3), 245–251. <https://doi.org/10.1111/apm.12336>
- Nieto-Arribas, P., Seseña, S., Poveda, J. M., Chicón, R., Cabezas, L. & Palop, L. (2011). *Enterococcus* populations in artisanal Manchego cheese: Biodiversity, technological and safety aspects. *Food Microbiol.*, **28**(5), 891–899. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.12.005>
- O’Toole, R. F., Leong, K. W. C., Cumming, V. & Van Hal, S. J. (2023). Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and the emergence of new sequence types associated with hospital infection. *Res. Microbiol.*, **174**(4), 104046. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104046>
- Olvera-García, M., Sanchez-Flores, A. & Quirasco Baruch, M. (2018). Genomic and functional characterisation of two *Enterococcus* strains isolated from Cotija cheese and their potential role in ripening. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*,

- 102(5)**. 2251–2267. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8765-3>
- Organización Mundial de la Salud. (2017). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. [online]. Recuperado de <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> el 11 de enero de 2024.
- Organización Mundial de la Salud. (2018). *Listeriosis*. [online]. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/listeriosis> el 11 de enero de 2024
- Oshiro, M., Zendo, T. & Nakayama, J. (2021). Diversity and dynamics of sourdough lactic acid bacteria created by a slow food fermentation system. *J. Biosci. Bioeng.*, **131(4)**. 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.11.007>
- Palmer, K. L. & Gilmore, M. S. (2010). Multidrug-Resistant enterococci lack CRISPR-cas. *mBio*, **1(4)**, e00227-10. <https://doi.org/10.1128/mbio.00227-10>
- Park, J. W., Jeong, J. S., Lee, S. I. & Kim, I. H. (2016). Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens. *Poult. Sci.*, **95(12)**, 2829–2835. <https://doi.org/10.3382/ps/pew241>
- Popović, N., Stevanović, D., Radojević, D., Veljović, K., Đokić, J., Golić, N. & Terzić-Vidojević, A. (2023). Insight into the postbiotic potential of the autochthonous bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* BGZLM1-5 in the reduction in the abundance of *Listeria monocytogenes* ATCC19111 in a milk model. *Microorganisms*, **11(12)**, 2844. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122844>
- Rahman, I. R., Sanchez, A., Tang, W. & van der Donk, W. A. (2021). Structure–activity relationships of the enterococcal cytolysin. *ACS Infect. Dis.*, **7(8)**, 2445–2454. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.1c00197>
- Ramakrishnan, V., Balakrishnan, B., Rai, A. K., Narayan, B. & Halami, P. M. (2012). Concomitant production of lipase, protease and enterocin by *Enterococcus faecium* NCIM5363 and *Enterococcus durans* NCIM5427 isolated from fish processing waste. *Int. Aquat. Res.*, **4(1)**, 14. <https://doi.org/10.1186/2008-6970-4-14>
- Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M., Igrejas, G. & Poeta, P. (2020). Enterococci, from harmless bacteria to a pathogen. *Microorganisms*, **8(8)**, 1118. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081118>
- Rho, M.-K., Kim, Y.-E., Rho, H.-I., Kim, T.-R., Kim, Y.-B., Sung, W.-K., Kim, T.-W., Kim, D.-O. & Kang, H. (2017). *Enterococcus faecium* FC-K derived from kimchi is a probiotic strain that shows anti-allergic activity. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **27(6)**, 1071–1077. <https://doi.org/10.4014/jmb.1611.11020>
- Robles Camacho, T. (2019). Elaboración de una película activa utilizando compuestos antibacterianos producidos por *Enterococcus* spp. Maestría en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rodríguez-Lucas, C. & Ladero, V. (2023). Enterococcal phages: food and health applications. *Antibiotics*, **12(5)**, 842. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050842>
- Rogers, L. A., Strong, K., Cork, S. C., McAllister, T. A., Liljebjelke, K., Zaheer, R. & Checkley, S. L. (2021). The role of whole genome sequencing in the surveillance of antimicrobial resistant *Enterococcus* spp.: A scoping review. *Front. Public Health*, **9**, 599285. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.599285>
- Roig-Zamboni, V., Barelier, S., Dixon, R., Galley, N. F., Ghanem, A., Nguyen, Q. P., Cahuzac, H., Salamaça, B., Davis, P. J., Bourne, Y., Mesnage, S. & Vincent, F. (2022). Molecular basis for substrate recognition and septum cleavage by AtIA, the major N-acetylglucosaminidase of *Enterococcus faecalis*. *J. Biol. Chem.*, **298(5)**, 101915. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101915>
- Rossi, F., Amadoro, C. & Colavita, G. (2019). Members of the *Lactobacillus* genus complex (LGC) as opportunistic pathogens: a review. *Microorganisms*, **7(5)**, 126. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050126>
- Rubio-Castillo, Á. E., Méndez-Romero, J. I., Reyes-Díaz, R., Santiago-López, L., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A., Sáyago-Ayerdi, S. G. & González-Córdova, A. F. (2021). Tejuino, a traditional fermented beverage: composition, safety quality, and microbial identification. *Foods*, **10(10)**, 2446. <https://doi.org/10.3390/foods10102446>
- Rutsch, A., Kantsjö, J. B. & Ronchi, F. (2020). The gut-brain axis: how microbiota and host inflammasome influence brain physiology and pathology. *Front. Immunol.*, **11**, 604179. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.604179>
- Sakoui, S., Derdak, R., Pop, O. L., Vodnar, D. C., Jouga, F., Teleky, B.-E., Addoum, B., Simon, E., Suharoschi, R., Soukri, A. & El Khalfi, B. (2024). Exploring technological, safety and probiotic properties of *Enterococcus* strains: impact on rheological parameters in fermented milk. *Foods*, **13(4)**, 586. <https://doi.org/10.3390/foods13040586>
- Satomi, S., Kokubu, D., Inoue, T., Sugiyama, M., Mizokami, M., Suzuki, S. & Murata, K. (2022). *Enterococcus casseliflavus* KB1733 isolated from a traditional Japanese pickle induces interferon-lambda production in human intestinal epithelial cells. *Microorganisms*, **10(4)**, 827. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040827>
- Sattari-Maraji, A., Jabalameli, F., Node Farahani, N., Beigverdi, R. & Emancini, M. (2019). Antimicrobial resistance pattern, virulence determinants and molecular analysis of *Enterococcus faecium* isolated from children infections in Iran. *BMC Microbiol.*, **19(1)**, 156. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1539-y>
- Șchiopu, P., Toc, D. A., Colosi, I. A., Costache, C., Ruospo, G., Berar, G., Gălbău, Ștefan-G., Ghilea, A. C., Botan, A., Pană, A.-G., Neculicioiu, V. S. & Todea, D. A. (2023). An

- overview of the factors involved in biofilm production by the *Enterococcus* genus. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**(14), 11577. <https://doi.org/10.3390/ijms241411577>
- Serrano Maldonado, C. E. (2013). Caracterización de peptidoglucano hidrolasas de bacterias ácido lácticas aisladas del queso Cotija. Maestría en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Serrano-Maldonado, C. E., García-Cano, I., González-Canto, A., Ruiz-May, E., Elizalde-Contreras, J. M. & Quirasco, M. (2018). Cloning and characterization of a novel N-acetylglucosaminidase (AtlD) from *Enterococcus faecalis*. *Microb. Physiol.*, **28**(1), 14–27. <https://doi.org/10.1159/000486757>
- Sharma, V. & Ghosh, M. (2021). Characterization of immunomodulatory, anticancer and antioxidant properties of an extracellular polymer produced by *Enterococcus* sp. in vegetable waste medium. *Environ. Sustain.*, **4**(2), 419–428. <https://doi.org/10.1007/s42398-021-00188-4>
- Sharma, P., Kaur, S., Chadha, B. S., Kaur, R., Kaur, M. & Kaur, S. (2021). Anticancer and antimicrobial potential of enterocin 12a from *Enterococcus faecium*. *BMC Microbiol.*, **21**(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02086-5>
- Simons, A., Alhanout, K. & Duval, R. E. (2020). Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria. *Microorganisms*, **8**(5), 639. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>
- Smit, G., Smit, B. A. & Engels, W. J. M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiol. Rev.*, **29**(3), 591–610. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2005.04.002>
- Sun, P., Wang, J. & Jiang, Y. (2010). Effects of *Enterococcus faecium* (SF68) on immune function in mice. *Food Chem.*, **123**(1), 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.128>
- Suvorov, A. (2020). What is wrong with enterococcal probiotics? *Probiotics Antimicrob. Proteins.*, **12**(1), 1–4. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09633-y>
- Takahashi, K., Nakagawasai, O., Nemoto, W., Odaira, T., Sakuma, W., Onogi, H., Nishijima, H., Furihata, R., Nemoto, Y., Iwasa, H., Tan-No, K. & Tadano, T. (2019). Effect of *Enterococcus faecalis* 2001 on colitis and depressive-like behavior in dextran sulfate sodium-treated mice: involvement of the brain–gut axis. *J. Neuroinflammation*, **16**(11), 201. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1580-7>
- Tao, S., Chen, H., Li, N., Fang, Y., Xu, Y. & Liang, W. (2022). Association of CRISPR-Cas system with the antibiotic resistance and virulence genes in nosocomial isolates of *Enterococcus*. *Infect. Drug Resist.*, **2022**(15), 6939–6949. <https://doi.org/10.2147/idr.s388354>
- Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Popović, N., Tolinački, M. & Golić, N. (2021). Enterococci from raw-milk cheeses: current knowledge on safety, technological, and probiotic concerns. *Foods*, **10**(11), 2753. <https://doi.org/10.3390/foods10112753>
- Väkeväinen, K., Valderrama, A., Espinosa, J., Centurión, D., Rizo, J., Reyes-Duarte, D., Díaz-Ruiz, G., von Wright, A., Elizaquível, P., Esquivel, K., Simontaival, A.-I., Aznar, R., Wachter, C. & Plumed-Ferrer, C. (2018). Characterization of lactic acid bacteria recovered from atole agrio, a traditional Mexican fermented beverage. *LWT*, **88**, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.004>
- Van Tyne, D., Martin, M. & Gilmore, M. (2013). Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin. *Toxins*, **5**(5), 895–911. <https://doi.org/10.3390/toxins5050895>
- Vinderola, G., Sanders, M. E. & Salminen, S. (2022). The concept of postbiotics. *Foods*, **11**(8), 1077. <https://doi.org/10.3390/foods11081077>
- Wang, X., Yang, Y. & Huycke, M. M. (2020). Risks associated with enterococci as probiotics. *Food Res. Int.*, **129**, 108788. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108788>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y. & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **9**, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wolf, I. V., Meinardi, C. A. & Zalazar, C. A. (2009). Production of flavour compounds from fat during cheese ripening by action of lipases and esterases. *Protein Pept. Lett.*, **16**(10), 1235–1243. <https://doi.org/10.2174/092986609789071289>
- Wu, Y., Pang, X., Wu, Y., Liu, X. & Zhang, X. (2022). Enterocins: classification, synthesis, antibacterial mechanisms and food applications. *Molecules*, **27**(7), 2258. <https://doi.org/10.3390/molecules27072258>
- Yamamoto, Y., Togawa, Y., Shimosaka, M. & Okazaki, M. (2003). Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* strain RJ-11. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(10), 5746–5753. <https://doi.org/10.1128/aem.69.10.5546-5553.2003>
- Yang, Y. & Pei, J. (2020). Isolation and characterization of an *Enterococcus* strain from Chinese sauerkraut with potential for lead removal. *Eur. Food Res. Technol.*, **246**(10), 2055–2064. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03555-3>
- Yuan, T., Liang, B., Jiang, B., Sun, S., Zhou, Y., Zhu, L., Liu, J., Guo, X., Ji, X., & Sun, Y. (2023). Virulence genes and antimicrobial resistance in *Enterococcus* strains isolated from dogs and cats in Northeast China. *J. Vet. Med. Sci.*, **85**(3), 371–378. <https://doi.org/10.1292/jvms.22-0410>
- Yusuf, M. (2018). Natural antimicrobial agents for food biopreservation. En Grumezescu, A.M. & Holban, A.M (Ed.). *Food Packaging and Preservation* (pp. 409–438). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811516-9.00012-9>
- Zou, J., & Shankar, N. (2015). Surface protein Esp enhances pro-inflammatory cytokine expression through NF-κB activation during enterococcal infection. *Innate Immun.*, **22**(1), 31–39. <https://doi.org/10.1177/1753425915611237>