

Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio

Antimicrobial resistance in bacteria from animals, challenges for their contention from laboratory



<http://opn.to/a/6fQBe>

Ivette Espinosa Castaño ^{1*}, Michel Báez Arias ¹, Rosa Elena Hernández Fillor ¹, Yanet López Dorta ¹, Evelyn Lobo Rivero ¹, Belkis Corona-González ¹

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Apartado 10, CP 32 700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: La resistencia antimicrobiana (RAM) constituye una crisis global con impacto en la salud humana y animal. El consumo de antibióticos en la crianza animal, también propicia la selección y propagación de cepas y sus determinantes de resistencia al ambiente y en la cadena de producción de alimentos. Una de las iniciativas estratégicas para la contención de la RAM, es asegurar el uso apropiado de los antibióticos disponibles, en lo cual, los laboratorios de microbiología tienen un importante papel, a través del diagnóstico y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. La presente revisión tiene como objetivo proporcionar información sobre las pautas, dificultades y los desafíos en la interpretación de datos derivados de las pruebas de laboratorio para la identificación de bacterias, su tipificación y la estimación del perfil de susceptibilidad a los antibióticos. También se describen enfoques para la distinción entre bacterias patógenas, comensales e indicadoras a considerar en los planes de vigilancia y monitoreo de la RAM. En la crianza de los animales suelen aparecer cepas zoonóticas o indicadoras de multiresistencia, que son prioridad en programas de vigilancia, bajo el concepto Una Salud, por presentar resistencia adquirida con ventaja para su diseminación. Ejemplos alarmantes en los últimos años son *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (*E. coli* BLEE) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Además, se diserta sobre las expresiones transitorias de resistencia microbiana, las biopelículas y células persistentes, que explican las recidivas de infecciones y aún son poco consideradas en la medicina veterinaria. Finalmente, se enfatiza en la necesidad de estrategias para armonizar y divulgar datos que soporten guías para el tratamiento de infecciones bacterianas de interés veterinario.

Palabras clave: resistencia antimicrobiana, animales, pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, diagnóstico.

ABSTRACT: Antimicrobial resistance (AMR) constitutes a global crisis with an impact on human and animal health. The consumption of antibiotics in animal husbandry also encourages the selection and propagation of strains and their determinants of resistance to the environment and in the food production chain. One of the strategic initiatives for the contention of AMR is to ensure the appropriate use of available antibiotics, in which microbiology laboratories play an important role, through diagnosis and microbial susceptibility testing. The purpose of this review is to provide information on patterns, difficulties and challenges in interpreting data derived from laboratory tests to allow the identification of bacteria, their typing and the estimation of the antibiotic susceptibility profile. Methodological approaches for the distinction between pathogenic, commensal and indicator bacteria to be considered in the AMR surveillance and monitoring plans are also described. In the breeding of animals, strains of zoonotic bacteria or multiresistance indicators usually appear, which are a priority in surveillance programs, under the concept of One health, for presenting acquired resistance with an advantage for their dissemination. Alarming examples in recent years are extended spectrum betalactamases producing *Escherichia coli* (*E. coli* ESBL) and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). It also discusses the transient expressions of microbial resistance, biofilms and persistent cells, which explain the recurrence of infections and are still poorly considered in veterinary medicine. Finally, the need for strategies to harmonize and disseminate data that support guidelines for the treatment of bacterial infections of veterinary interest is emphasized.

Key words: Antimicrobial resistance, animals, antimicrobial susceptibility tests, diagnosis.

*Autor para la correspondencia: Ivette Espinosa Castaño. E-mail: espinosa@censa.du.cu

Recibido: 28/09/2019

Aceptado: 15/11/2019

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la actividad antibacteriana del género *Penicillium* en 1929 por Alexander Fleming, transformó la medicina y estimuló la búsqueda de nuevos antibióticos para el control de infecciones bacterianas. Sin embargo, desde entonces las bacterias han manifestado resistencia a todos los antibióticos introducidos en la práctica clínica (1,2). El primer informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la resistencia a los antimicrobianos y en particular a los antibióticos, revela que esta grave amenaza no es una previsión para el futuro, sino una realidad que afecta a personas de cualquier región (3). El riesgo de enfrentar un contexto similar a la era pre-antibiótica se advierte, según los datos de fracasos terapéuticos avalados por los estudios de laboratorio (4). Actualmente, es difícil imaginar la existencia sin antibióticos, su uso terapéutico permite la cura de infecciones bacterianas y su empleo en la profilaxis preserva el éxito de las cirugías, extracciones molares, tratamiento para el cáncer, terapias que usualmente predisponen a los pacientes a una mayor susceptibilidad a bacterias oportunistas (3,5).

En la crianza animal, los antibióticos se utilizan para el tratamiento de infecciones, prevención de enfermedades y evitar complicaciones ante el estrés fisiológico durante el ciclo productivo. Una práctica común es su empleo como promotores del crecimiento, al llamado de la OMS, de la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), muchos países han tomado medidas para evitar esta forma de uso (6). En la producción ganadera intensiva, usualmente los antimicrobianos se administran a una gran cantidad de animales de manera simultánea, sin distinción de enfermos y sanos (7,8). Los antibióticos que se utilizan en la salud humana y animal a través de las excretas pueden alcanzar diferentes ambientes (suelos, aguas, plantas, seres vivos) y alterar la función y estructura de las comunidades bacterianas que en ellos habitan, al facilitar la selección, desarrollo y diseminación de la resistencia (9,10,11).

Muchas manifestaciones clínicas en la crianza animal son tratadas con antibióticos, sin evidencia de una infección bacteriana. La garantía del uso adecuado de los antibióticos disponibles en medicina veterinaria es un área clave a priorizar en la contención de la RAM. La identificación de las bacterias y su susceptibilidad son las bases para la selección de un apropiado antimicrobiano, incluso entre los disponibles (6). Esta revisión considera las pautas, dificultades y desafíos en la interpretación de datos derivados de las pruebas de laboratorio que permiten la identificación de bacterias, su tipificación y la estimación del perfil de susceptibilidad a los antibióticos. También se describen enfoques para la distinción entre bacterias patógenas, comensales e indicadoras en los planes de vigilancia y monitoreo de la RAM. Se comenta sobre las expresiones transitorias de resistencia (biopelículas y células persistentes), que explican la recurrencia de infecciones y se enfatiza en la necesidad de estrategias para armonizar y divulgar datos que soporten guías para el tratamiento de infecciones bacterianas de interés veterinario.

BRECHAS Y DESAFÍOS EN EL DIAGNÓSTICO Y LA EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE INFECCIONES BACTERIANAS EN LA GANADERÍA

El diagnóstico de un proceso clínico infeccioso, en salud animal, más aun, en la producción ganadera intensiva, requiere un enfoque multidisciplinario, que comprende desde la experticia de las personas que interactúan con los animales y perciben un cambio en su comportamiento y eficiencia productiva, así como de los medios al alcance, para la orientación adecuada de las pruebas de laboratorio (12,13). Primeramente, es necesario definir si se trata de un proceso infeccioso, luego discriminar su naturaleza microbiana (virus, bacteria, hongo o protozooario), seguidamente identificar la especie y en el caso de las bacterias distinguir entre cepas patobiontes o comensales. Las cepas comensales usualmente colonizan la superficie mucosa de los tractos respiratorio, entérico y reproductivo y es, en estos sistemas de

órganos, donde ocurren con mayor frecuencia infecciones que precisan un uso de antibióticos para su control (14,15). Por tanto, aunque en la actualidad existen diferentes metodologías para abordar el diagnóstico, aún existen brechas que dificultan su alcance, los siguientes párrafos hacen referencia a los desafíos que aún existen.

Un área válida para iniciar algoritmos de diagnóstico es potenciar las investigaciones futuras en los biomarcadores, se trata de moléculas primarias indicadoras de procesos biológicos y estados patológicos que se generan en el organismo ante el daño a los tejidos a partir de múltiples condiciones clínicas, como las infecciones. Muchos de estos biomarcadores se detectan en el suero, orina, heces fecales y fluido cerebroespinal. Desde hace dos décadas estas moléculas son motivo de investigación exhaustiva en la salud humana, con la perspectiva de su utilización como soporte temprano al diagnóstico, parecen ser de gran utilidad para discriminar procesos inflamatorios, sepsis severas e indicar la posible etiología viral o bacteriana, al aparecer los primeros signos. Las principales investigaciones se han focalizado en la procalcitonina (PCT) y la proteína C-reactiva (CRP), determinar su dinámica de expresión, la concentración que alcanzan en fluidos corporales acorde a infecciones virales o bacterianas. Estos factores podrían incluso monitorear, una terapia con antibióticos (16,17,18).

En la salud animal las investigaciones sobre biomarcadores son limitadas, se han informado resultados experimentales en perros y cerdos para proteínas en fase aguda, específicamente los componentes del suero amiloide y haptoglobulina (19,20). Pero muchos biomarcadores conocidos no son patognomónicos de las enfermedades, por eso constituye un reto la búsqueda de nuevas moléculas con valor para el soporte del diagnóstico preciso y sensible.

Una vez que el diagnóstico presuntivo, acorde a la anamnesis de un proceso clínico, orienta la posible etiología bacteriana de una infección, la identificación se apoya en la experticia del microbiólogo para la elección de la batería de pruebas, acorde a su fiabilidad (13). El cultivo microbiológico y la microscopía, iniciados en el siglo XIX por Pasteur y Koch, aún desempeñan un papel principal en la identificación de

infecciones bacterianas y son la base de los AST (de sus siglas en inglés *Antimicrobial susceptibility test*), tanto en salud humana y animal (13). Estos métodos resultan laboriosos y requieren un tiempo nunca inferior a 48 horas, incluso algunas especies precisan de tiempos prolongados para lograr su multiplicación. En el afán de superar estas limitaciones, desde entonces se han introducido diversas alternativas que, de forma directa o indirecta, determinan la naturaleza bacteriana de un proceso clínico. Las reacciones antígeno-anticuerpo (inmunodiagnóstico), la detección de ácidos nucleicos y su secuenciación, así como la espectrometría de masa y en los años más recientes la nanotecnología, constituyen las principales opciones (21).

Ciertamente, el inmunodiagnóstico es de gran utilidad fundamentalmente en el pesquaje masivo de animales, su formato de uso más amplio se basa en la detección indirecta de una infección bacteriana a partir de los anticuerpos inducidos en la respuesta humoral frente algunos géneros bacterianos como *Brucellas*, *Leptospira*, *Mycobacterium* y especies del orden Rickettsiales (22,23,24,25). Sin embargo, la detección de anticuerpos en animales infectados por patógenos que afectan las mucosas no suele ser exitosa debido a la alta homología que comparten las proteínas de superficie de muchos géneros y especies que agrupan cepas comensales y patógenas que colonizan estos tejidos, por la que las infecciones por estas bacterias precisan de métodos que permitan detectar directamente su presencia y discriminar entre las cepas.

La reacción en cadena de la polimerasa PCR (de sus siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*) permite la confirmación de la mayoría de las especies microbianas que afectan la salud animal, a partir de genes conservados como el ARNr 16S. Hoy se conocen secuencias específicas para discernir entre especies bacterianas incluso muy cercanas. Mediante PCR es posible detectar directamente en la muestra, con inmediatez la presencia de una especie bacteriana, sin necesidad del cultivo y en ocasiones identificar más de un patógeno en una misma reacción (PCR múltiplex). Sin embargo, algunas limitaciones son los procedimientos para la extracción de ADN en la muestra clínica que

resultan costosos, la PCR convencional no distingue entre células viables o no (26,27). Para la identificación de patógenos de mucosa de crecimiento rápido, una opción que podrían implementar los laboratorios con escasos recursos es la extracción rápida de ADN mediante la lisis por calor, tan solo seleccionando una colonia de un cultivo; incluso, a partir de una siembra primaria y posteriormente la amplificación por PCR de la diana específica para confirmar la especie en al menos 48 horas y superar también las ambigüedades de pruebas bioquímicas e inmunológicas (28,29).

Además, la proteómica es de gran utilidad en la confirmación taxonómica de especies a partir de muestras cultivadas, mediante el análisis de proteínas específicas por espectrometría de masas, MALDI-TOF MS (de sus siglas en inglés *matrix-assisted laser desorption/ionization*; desorción/ionización por láser asistida por matriz) y TOF por el analizador *time of flight* (tiempo de vuelo). Esta tecnología requiere una concentración de 10^4 - 10^5 células, pero resulta muy costosa en cuanto al equipamiento necesario para garantizar su sostenibilidad en países fundamentalmente en vías de desarrollo (13).

Otro importante desafío que dificulta la interpretación de los resultados del diagnóstico bacteriológico es la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a la virulencia de las bacterias y la patogénesis de la enfermedad, se trata de la distinción entre cepas patógenas y patógenas facultativas. Los factores de virulencia (FV) son los mecanismos y macromoléculas derivadas del patógeno que contribuyen a la severidad de una infección en un hospedero. Durante el siglo XX se realizaron investigaciones en muchas especies bacterianas para dilucidar los FV; estas metodologías se basaron en la inactivación de un gen y posteriormente la evaluación sobre modelos biológicos, de los efectos de la cepa mutante para ese gen y su comparación con la cepa salvaje que preserva el gen y una cepa mutante-complementada con una versión intacta del mismo gen. Estas aproximaciones no son suficientes, pues no tienen en consideración la visión holística que comprende a los sistemas de genes y reguladores globales que conforman el

“viruloma”, además la predisposición del hospedero, que contribuye también a la expresión de la patogénesis (30), por tanto, en muchas especies continúa siendo un reto encontrar las moléculas que permiten discernir entre las cepas.

Una vez que se confirma una especie bacteriana asociada a una condición clínica, ya sea un brote, epidemia o infecciones esporádicas resulta necesario establecer vínculos entre las cepas, es por ello que la epidemiología es un objetivo importante en el diagnóstico bacteriológico clínico. Los métodos de subtipado bacteriano se dividen en fenotípicos y genotípicos. Las pruebas fenotípicas comparan a las cepas mediante las características expresadas por sus genes, como el crecimiento en un medio artificial, las propiedades bioquímicas y serológicas, entre otras. Mientras los métodos genotípicos se basan en el análisis del contenido de ácido nucleico microbiano, que incluye ADN cromosómico, ADN extracromosómico (plásmidos y fagos) y permiten la inferencia desde el genoma de las características intraespecie y constituyen el soporte de la epidemiología molecular como subdisciplina de la epidemiología (31).

Al abordar la epidemiología molecular bacteriana es imprescindible considerar algunos conceptos renovados en los últimos años; una especie, como unidad taxonómica en bacteriología, agrupa una diversidad de cepas, con un repertorio de genes denominados pangenoma o supragenoma, alrededor de 40 % de estos genes son compartidos (core-genoma) entre las cepas de esa especie, mientras el resto se consideran genes accesorios, específicos para la cepa en cuestión (31,32,33). El término clon también es una importante unidad taxonómica en la epidemiología molecular bacteriana, su definición estándar comprende a cualquier aislado o un grupo de aislados que descienden de un precursor común, se trata de un grupo de cepas bacterianas pertenecientes a una especie que no se pueden distinguir por una prueba determinada de genotipado que se emplee (31). La prioridad epidemiológica es determinar el vínculo entre las cepas o clones, para trazar estrategias de intervención y reducir los riesgos.

Existe un amplio repertorio de métodos

genotípicos que se basan en tres categorías generales de procedimientos de biología molecular: la electroforesis, la amplificación y la secuenciación de ácidos nucleicos. La electroforesis en campo pulsátil PFGE (de sus siglas en inglés *pulsed field gel electrophoresis*) y el análisis de secuencias multilocus, MLST (de sus siglas en inglés *Multilocus Sequence Typing*), son las de mayor uso en los últimos años para abordar la epidemiología molecular en bacterias. La PFGE se basa en la digestión del genoma bacteriano con enzimas específicas que dan lugar a fragmentos visualizados por sus tamaños en geles de agarosa; mientras, el MLST se basa en la selección de genes conocidos como *housekeeping* por realizar funciones metabólicas y conservadas en la célula bacteriana. La amplificación y la secuenciación de fragmentos de 500-700 pares de base contenidos en estos genes, la consideración de cada secuencia nueva obtenida como un alelo para dicho gen, así como su comparación con ciertos alelos (cuyas secuencias se encuentran depositadas en el sitio web <http://www.mlst.net>) permiten obtener un perfil de secuencias tipos (ST), comparable a nivel local y global (32,33).

Sin embargo, se percibe que las tecnologías de secuenciación masiva NGS (de sus siglas en inglés *Next Generation Sequence*), la secuenciación de genomas completo, WGS (de sus siglas en inglés *Whole Genome Sequencing*) y la metagenómica revolucionarán la microbiología clínica y la epidemiología molecular. Estas técnicas permiten el tipaje al nivel de cepa o clon, con un procesamiento de alto flujo, hoy se utilizan en investigaciones académicas y en el manejo de algunos brotes. El gran reto de estas tecnologías es alcanzar estándares clínicos a partir de la armonización y validación de los procedimientos, así como de los programas bioinformáticos amigables para el análisis de datos (34).

Otro aspecto de importancia al considerar el diagnóstico microbiológico es su valoración como monoinfección o simples patógenos, cuando a menudo los procesos clínicos transcurren como coinfecciones entre diferentes microorganismos. Estas coinfecciones tienen un efecto fundamental y alteran el curso y la gravedad de las diferentes enfermedades. Las interacciones de patógenos coinfectantes pueden

ser sinérgicas, por tanto, también promueven la evolución de la resistencia a los antibióticos, o son antagonistas impidiendo el desarrollo de resistencia (35). Estos efectos se explican por la modulación de la respuesta inmune en presencia de un agente primario o la disponibilidad de nutrientes, proteínas, receptores de membrana basal para los patógenos oportunistas (34). El efecto de la coinfección aún recibe un escrutinio limitado en la salud animal y son escasos los datos disponibles sobre este tema.

Por lo general, los procesos respiratorios, entéricos y reproductivos que requieren un mayor empleo de antibióticos son provocadas por virus, bacterias y en ocasiones en coinfecciones; de ahí la necesidad de contar con herramientas precisas de diagnóstico. En un estudio sobre el tratamiento antimicrobiano de cerdos de cría coinfectados por virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino, PRRSV (de sus siglas en inglés *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus*) y *Streptococcus suis*, la penicilina y la ampicilina usualmente efectivas no lograron minimizar la enfermedad en presencia de PRRSV, solo la administración de ceftiofur fue adecuada para tratar cerdos de cría coinfectados (36).

Un estudio realizado por Pomorska-Mól *et al.* (18), evidenció la dinámica de aparición de biomarcadores, en presencia de co-infecciones. La dinámica en fase aguda de la expresión de la proteína C reactiva, amyloide A y Haptoglobina en el suero de cerdos co-infectados por el virus Influenza porcina H1N1 y la bacteria *Pasteurella multocida*, las proteínas comenzaron a aparecer entre el segundo y séptimo día posinfección, mucho antes de la aparición de anticuerpos a ambos agentes microbianos. Estos resultados señalan la necesidad de realizar investigaciones en la búsqueda de algoritmos para biomarcadores en presencia de coinfecciones en la salud animal.

En los párrafos anteriores se comentó sobre la amplia disponibilidad de metodologías que existen para identificar una especie bacteriana y abordar su tipaje, sin embargo, aún existen brechas en su análisis como coinfecciones y su relación con la expresión de biomarcadores. También es un reto, garantizar la viabilidad de las bacterias, impedir el sobrecrecimiento de cepas comensales para lograr el aislamiento por cultivo

o la integridad del ADN para la detección y secuenciación de ácidos nucleicos, a partir de la muestra.

La mayoría de los países desarrollados cuenta con un sistema de vigilancia y la capacidad de detectar y diagnosticar enfermedades en humanos, animales y vegetales, sin embargo, muchos países en desarrollo, donde reside la mayor parte de la población mundial, carecen de los recursos o la infraestructura para apoyar tales actividades. En estas circunstancias, el diagnóstico de enfermedades se produce a nivel local y depende del reconocimiento temprano de infecciones conocidas o emergentes, por lo que resulta necesario disponer de opciones que aseguren la actividad de diagnóstico en tales condiciones. La disponibilidad de diagnósticos de calidad garantizada es comprometida en estos escenarios, aún más por la ausencia de la producción *in situ* y las cadenas de suministro inadecuadas, que son incompatibles con la vida útil y el almacenamiento en frío de los reactivos, requisitos de muchos sistemas comerciales de diagnóstico (37,38). Un reto a nivel mundial es garantizar la factibilidad del diagnóstico en países con bajo nivel de desarrollo.

MECANISMOS DE RESISTENCIA EN LAS BACTERIAS

El concepto más amplio de la RAM considera que puede ser una capacidad natural, adquirida o incluso transitoria de una cepa, de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un compuesto antimicrobiano (39). En este acápite se abordan algunos elementos a considerar en las manifestaciones de resistencia bacteriana. Primeramente, la resistencia natural intrínseca es una propiedad específica para algunos géneros o especies con respecto a un antimicrobiano en cuestión y es independiente de una exposición previa al antibiótico y a la adquisición de genes externos o mutaciones. Algunos ejemplos son la resistencia a cefalosporinas del género *Enterococcus*, a ampicilina por *Klebsiella* spp. y a los betalactámicos por *Mycoplasma* spp. (40,41,42).

Los mecanismos de resistencia en las bacterias son diversos, generalmente consisten en la producción de enzimas que inactivan

antibióticos, modificaciones a nivel de proteínas de membrana que impiden la llegada del fármaco al punto diana, la alteración del propio punto diana o sobreexpresión de bombas de eflujo, que facilitan la incorporación y a la vez expulsión del fármaco (42).

RESISTENCIA ADQUIRIDA POR BACTERIAS

La resistencia adquirida, se refiere a cambios que ocurren en el genoma del microorganismo, mutaciones puntuales, pérdidas o inserciones de material genético. Los ciclos de replicación bacteriana son una oportunidad para la mutación y favorecen la aparición de factores genéticos que contribuyen a la RAM. Los genes que confieren resistencia, pueden estar contenidos en elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones, integrones, secuencias de inserción o islas de patogenicidad, definidos comúnmente como mobiloma. La transferencia horizontal de estos genes (THG) ocurre a través de cualquiera de los siguientes mecanismos: transformación, conjugación y transducción, específicos de la célula bacteriana (43).

La conjugación involucra la transferencia de transposones, plásmidos conjugativos y requiere del contacto directo entre células viables donantes y receptoras, es frecuente en enterobacterias. Durante la transformación fragmentos de ADN exógeno son tomados por células bajo un estado natural que se denomina “competencia”, donde la célula se prepara para recibir e incorporar este material genético exógeno (43,44,45). La transducción ocurre por bacteriófagos, que se adhieren a la célula bacteriana e inyectan su material genético y cuya promiscuidad favorece la diseminación de genes (43,44). En los párrafos siguientes se abordarán tres ejemplos relevantes y alarmantes en los últimos años asociados a la resistencia adquirida a los antibióticos betalactámicos, quinolonas y colistina.

Las betalactamasas son enzimas cuya característica común es la capacidad de hidrolizar compuestos químicos que contienen un anillo β -lactámico, aunque su distribución es amplia en bacterias Gram positivas y Gram negativas, en estas últimas son el mecanismo más común de

resistencia para los antibióticos betaláctamicos, cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, monobactámicos y carbapenémicos. Las betalactamasas son enzimas muy versátiles, actualmente suman casi 2 800 proteínas con un perfil de hidrólisis típico. Su expresión puede ser constitutiva (bajos niveles en ausencia del fármaco) o inducible (solo en presencia de un betalactámico) y se debe a genes que se localizan en el cromosoma; sin embargo, cuando los genes involucrados en su biogénesis se ubican en elementos genéticos móviles (plásmidos, transposones) o son flanqueados por secuencias de inserción, constituyen una amenaza por su rápida diseminación (46,47).

La nomenclatura para las betalactamasas combina las clasificaciones moleculares y bioquímicas y reconoce 17 grupos funcionales. Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), AmpC y las serina, metalcarbapenemasas se presentan con mayor frecuencia en cepas que infectan a pacientes hospitalizados y en la comunidad. Entre las betalactamasas AmpC y las BLEE existen ciertas diferencias, las AmpC son resistentes a la acción de inhibidores (clavulánico, sulbactam, tazobactam) y a sus combinaciones comerciales betalactámico-inhibidor (ejemplos: amoxicilina-clavulánico, ampicilina-sulbactam, ticarcilina-clavulánico, cefoperazona-sulbactam y piperacilina-tazobactam); además, actúan sobre las cefamicinas y los carbapenémicos, mientras que las BLEE son sensibles a los inhibidores, las cefamicinas, los carbapenémicos. Por tanto, la detección fenotípica y la discriminación entre ellas en el laboratorio son posibles por el uso de discos con estos compuestos. Las familias de genes más frecuentes para la síntesis de estas enzimas son *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} y *bla*_{CMY}; su detección también es posible por PCR (46).

Las quinolonas son antibióticos que se prescriben con alta frecuencia, su mecanismo de acción consiste en inhibir a las topoisomerasas bacterianas y modular el superenrollamiento cromosómico requerido para la síntesis de ADN. La resistencia a quinolonas se asocia a la adquisición de diferentes mecanismos, uno de ellos son las mutaciones cromosómicas que alteran las enzimas diana y su afinidad de unión a

estos fármacos. La complejidad mayor de la resistencia a este fármaco se asocia también a la presencia de plásmidos PMQR (de sus siglas en inglés *Plasmid-mediated quinolone resistance*); alrededor de 100 familias de genes *qnr* se han identificado que codifican para proteínas que protegen físicamente a las dianas (girasa y topoisomerasa) de la acción de estos fármacos. Otro mecanismo, también asociado al plásmido PMQR, se debe a la presencia de la enzima acetyltransferasa codificada por el gen *aac* (*6c*)-*Ib-cr*, que acetila a las quinolonas y disminuye la sensibilidad. Las bombas de flujo QepA and OqxAB, también cuando se asocian a plásmidos incrementan la resistencia a quinolonas (50,51).

La resistencia adquirida a colistina constituye otro ejemplo alarmante de RAM, que se informó por primera vez en el año 2015 en China. La colistina es un polipéptido catiónico, su enlace inicial ocurre por interacción con el lípido A del lipopolisacárido (LPS) en la membrana externa de bacterias Gram negativas, desde donde difunde hasta el periplasma, se intercala en la membrana interna y forma poros que provocan la lisis celular. Este fármaco se ha utilizado durante muchos años en medicina veterinaria, pero se reintrodujo en humanos como fármaco rebote para el tratamiento de infecciones en pacientes hospitalizados causadas por bacterias Gram negativas resistentes a múltiples fármacos y mostró resultados favorables. Sin embargo, en el año 2015 en China se detecta por primera vez la presencia del plásmido *mcr-1* que confiere la resistencia a este fármaco y garantiza la propagación de este mecanismo de resistencia, que consiste en la modificación de la biogénesis del lípido A, impidiendo su reconocimiento por la colistina (52). La estrategia acordada para el uso de este fármaco es un ejemplo a seguir en cada país bajo el enfoque intersectorial de Una Salud.

Las estructuras génicas generalmente se ubican conjuntamente con determinantes de resistencia a diferentes compuestos, por tanto, el uso de un simple fármaco facilita la coselección simultánea propiciando la multiresistencia. La presión selectiva ejercida por el uso de antibióticos en los últimos 70 años ha acelerado el ritmo de la aparición y diseminación de estos genes, de una

forma mucho más eficaz que la ocurrida a través de millones de años y por consiguiente la selección y propagación de cepas multirresistentes (50).

RESISTENCIA TRANSITORIA

En las bacterias existen otras manifestaciones de resistencia denominadas transitorias, fenotípicas o reversibles; que se vinculan al estado fisiológico de las células cuando se enfrentan a diferentes estreses; pueden consistir en la producción de biopelículas o células persistentes y no se deben a la adquisición de un mecanismo genético como se explicó anteriormente. Por lo general, cuando las bacterias producen estas formas de resistencia transitoria son cepas que en las pruebas convencionales en el laboratorio como los antibiogramas fueron sensibles a los fármacos. La población bacteriana trata de asegurar la sobrevivencia en presencia de condiciones de estrés; para esto, una subpoblación sobrevive al antibiótico, aun cuando pertenece a una población bacteriana clonal que en su mayoría resulta sensible (52). Aunque lo anterior se define como resistencia fenotípica, el número de genes que soportan este comportamiento es superior al que podría soportar la resistencia, si la célula evoluciona a través de elementos específicos genéticos para contrarrestar el efecto del fármaco (53,54,55).

Las células formadoras de biopelículas se adhieren a superficies bióticas o no, conforman una matriz en la que se crea un gradiente de nutrientes y oxígeno que establece diferentes estados metabólicos en las células atendiendo a su profundidad dentro de la matriz, de esta manera disminuye la difusión de los antibióticos, permitiendo la sobrevivencia en estas condiciones de parte de la población celular. La estructura de las biopelículas propicia los eventos de THG (53,56).

Las células persistentes representan una pequeña subpoblación que pasan espontáneamente a un estado latente, no divisorio, por lo que son tolerantes a altas dosis de antibióticos bactericidas, alcanzando este estado sin sufrir cambios genéticos. Por tanto, los antibióticos que actúan sobre células bacterianas

fisiológicamente activas o que interfieren con los procesos celulares activos, como la síntesis macromolecular, son ineficaces en las células persistentes debido a su inactividad metabólica reducida. Dichas células podrían volver a un estado de crecimiento cuando cesa el tratamiento. Ambas expresiones (biopelículas y células persistentes) desempeñan un importante papel en las recidivas de muchas infecciones (53,54).

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Los AST predicen el éxito de un tratamiento en la salud humana y animal. Aunque se han descrito fracasos en estas predicciones, pues se basan en metodologías estandarizadas *in vitro* que no logran simular todas las circunstancias clínicas que ocurren *in vivo*. Existen metodologías fenotípicas y genotípicas para la realización de estas pruebas. Los métodos fenotípicos para testar la susceptibilidad microbiana se clasifican en tres categorías 1) difusión 2) mínima concentración inhibitoria MIC (de sus siglas en inglés *Minimal Inhibitory Concentration*) y 3) procedimientos que combinan la dilución y difusión (específicamente método E-Test) (57).

El método de agar difusión (AD), Kirby-Bauer o antibiograma es la prueba más utilizada, aparentemente tiene poca complejidad, pero es esencial asegurar la concentración del inóculo. Para este propósito, algunos laboratorios utilizan la comparación con la escala 0.5 McFarland; otros emplean dispositivos fotométricos (57). La colocación de los discos requiere ciertas precauciones, incluyendo su conservación en refrigeración y el número de ellos a utilizar según el tamaño de las placas petri (58). El método que se basa en la determinación de la MIC consiste en el testaje de la actividad antibacteriana del fármaco a partir de un rango de diluciones seriadas dobles (\log_2) (ej, 4, 8, 16 mg/mL, y así continuamente) y se enfrenta a una concentración del inóculo bacteriano equivalente en este ensayo a 1×10^5 ufc/mL. La dilución del fármaco más baja que inhibe el crecimiento visible del microorganismo se designa como MIC (59,60,61). La siembra de estos cultivos en un

medio específico, permite además conocer la mínima concentración bactericida.

Las pautas para la armonización de los AST y los puntos de cortes para su interpretación se establecen a nivel mundial por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios CLSI (de sus siglas en inglés *Clinical Laboratory Standards Institute*), una organización de Estados Unidos de América, no gubernamental y reconocida internacionalmente. El Comité Europeo para testaje de susceptibilidad antimicrobiana EUCAST (de sus siglas en inglés *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) contribuye también a los datos para la armonización internacional. El CLSI es representado por médicos, agencias regulatorias, industria farmacéutica, mientras EUCAST por comités nacionales europeos. El CLSI requiere pago para el acceso a algunos de sus documentos, mientras para EUCAST el acceso es libre. Ambas organizaciones cuentan con un subcomité para el ámbito veterinario, en CLSI el subcomité veterinario VAST, mientras EUCAST VetCAST (de sus siglas en inglés *Veterinary Committee on AST*) (61). En 1997, considerando la creciente importancia de RAM a nivel mundial, la OIE decidió desarrollar un conjunto completo de normas relacionadas a los programas de vigilancia de resistencia. Estas normas son contenidas en el Capítulo 6.7 Armonización de los antimicrobianos nacionales. Programas de vigilancia y monitoreo de resistencia OIE (62).

Los criterios de interpretación de los AST son la expresión de los puntos de corte clínico (PCC), los valores de MIC expresados en $\mu\text{g/mL}$ o sus subrogados en diámetros de halos de inhibición expresados en mm. Estos PCC se seleccionan por los subcomités *ad hoc* para ser utilizados por los laboratorios y establecer las categorías de sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) para la cepa en cuestión. Los PC se definen y actualizan anualmente para cada antibiótico a utilizar en cada especie animal y según los patógenos bacterianos de relevancia. Cada país, al elaborar su plan para la contención de la RAM, debe establecer pautas acordes al CLSI o EUCAST para la ejecución, lectura e interpretación de los AST y garantizar resultados

armonizados, según cada especie de bacteria y antibióticos en cuestión (60,61).

VetCAST inició la consideración adicional de puntos de cortes epidemiológicos, ECOFF (de sus siglas en inglés *Epidemiological cut off*). Los ECOFF son valores de MIC que separan las poblaciones bacterianas de una misma especie en dos grupos, cepas salvajes y no salvajes, basado en presencia o ausencia de mecanismo de resistencia fenotípico detectable, según los valores de MIC. Por tanto, los ECOFF se basan en información *in vitro* únicamente, todas las cepas que presentan valores de MIC por encima de los ECOFF son consideradas resistentes desde un punto de vista ecológico. Estos datos alertan sobre la emergencia o la evolución de cepas no salvajes (61).

Los párrafos anteriores se refieren a los criterios para la interpretación de los resultados del laboratorio a partir de los AST. Sin embargo, los regímenes efectivos de tratamiento antimicrobiano para las infecciones bacterianas son fundamentales para lograr el efecto terapéutico y minimizar el desarrollo de resistencia antimicrobiana bacteriana. Para diseñar las dosis y los esquemas de tratamiento, se requiere conocer la farmacocinética (PK) y farmacodinamia (PD) del antimicrobiano y establecer los modelos de interacción PK/PD. Desde el comienzo de la era antibiótica, la MIC es el principal parámetro de la PD sobre el cual se basan estos diseños; se refiere a la interacción entre la concentración del fármaco en el foco infeccioso y la MIC del patógeno. Mientras que la farmacocinética determina los niveles alcanzados por el fármaco en varios fluidos corporales y tejidos para varias infecciones. Otros ensayos, como las curvas de letalidad y la evaluación del efecto posantibiótico, se adicionan a las pruebas de laboratorio e intentan adicionar información de la farmacodinamia al simular las variaciones en las concentraciones del fármaco en el tiempo, que pueden ocurrir en el hospedero. Ciertamente, los modelos PK/PD para diversos agentes antimicrobianos a usar en diferentes especies animales y contra patógenos específicos son limitados (62).

Los datos sobre la toma de decisiones de los veterinarios europeos, al elegir antibióticos para

recetar, demostraron que los AST generalmente se realizaron después del fracaso del tratamiento empírico elegido (64,65). Una tendencia en los últimos años consiste en la armonización de las pautas para fortalecer el valor de los datos acumulados en el tiempo. Los datos de susceptibilidad acumulada cAST (de sus siglas en inglés *Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test*) son de gran valor para implementar terapias empíricas, cuando los resultados del diagnóstico por cultivo u otra metodología no son disponibles, fundamentalmente en países en vías de desarrollo. Muchos laboratorios realizan el testaje de la susceptibilidad bacteriana en cepas de origen animal asociadas a procesos clínicos, sin embargo, a menudo los criterios para generar estos reportes son inconsistentes (63,65,66).

El CLSI establece para los laboratorios de salud humana pautas para el manejo de los datos de cAST, por ejemplo, solo se consideran aislados derivados del diagnóstico y se excluyen aquellos derivados de la vigilancia de individuos sin síntomas clínicos o de muestras ambientales. Propone considerar al menos 30 aislados para una especie dada, suficientes para garantizar el valor estadístico de la estimación, indica que el cálculo se debe realizar a partir de la combinación antibiótico-especie bacteriana y eventualmente, pueden incluirse datos de más de un año para alcanzar este valor de referencia (67). Aún no existen pautas para el aprovechamiento de estos datos en medicina veterinaria. Los resultados de cAST deben contar con medios que recopilen la mayor información, un software de gran utilidad resulta WHONET (68) por su factibilidad en el registro y almacenamiento de información. Es necesario para cada país promover el desarrollo de estudios multicéntricos nacionales sobre tendencias de sensibilidad en patógenos de interés veterinario.

El aprovechamiento de datos acumulados es más exitoso bajo el amparo de los programas de optimización de uso de antibióticos (PROA) denominación y siglas empleadas en el idioma español para el concepto ASPs (de sus siglas en Inglés *antimicrobial stewardship programs*), se implementan en varios países en los sistemas de salud humana, con resultados exitosos. El establecimiento de los PROA, requiere equipos multidisciplinarios con capacidad de liderazgo en

las instituciones para aprovechar la información acumulada y orientar la optimización de las terapias, promover la adecuada selección, dosificación, ruta de administración y duración de los mismos. Los equipos de los PROA implementan estrategias como la auditoría prospectiva, la restricción en el formulario, prescripción pre-autorizada, algoritmos de terapia empírica, uso de programas informáticos que apoyan la decisión terapéutica y la combinación de tecnologías que favorecen el diagnóstico rápido en los laboratorios de microbiología (69). Los resultados de los PROA pueden ser una motivación para su aprovechamiento en el sector veterinario.

Las metodologías clásicas para el testaje de la susceptibilidad microbiana se basan en el crecimiento plantónico de la bacteria. Sin embargo, las mencionadas formas de resistencia fenotípica o transitoria (*biopelículas* o células persistentes), no se consideran en la práctica *in vitro* para evaluar el éxito de un antibiótico. Las bacterias que muestran estos fenotipos de resistencia, son, sensibles en los AST convencionales, por lo que se espera que el tratamiento antimicrobiano sea efectivo, pero al expresar estas formas de tolerancia ocurren fracasos terapéuticos y recidivas de las infecciones (69). Las bacterias que crecen en *biopelícula* son más resistentes que sus contrapartes en crecimiento plantónico (69,71). Existe un interés en el desarrollo de AST específicos para las bacterias en *biopelícula*, que son patógenas para la salud humana como *Pseudomonas aeruginosa* (fibrosis quística) o *Mycobacterium tuberculosis* (72). Sin embargo, la relevancia clínica de la tolerancia fenotípica para bacterias patógenas en animales aún es especulativa y poco investigada. Por el momento estudios *in vitro* han demostrado un amplio incremento de la MIC para erradicar biopelículas *in vitro* de especies bacteriana de interés veterinario (73).

Los ensayos moleculares de primera línea como PCR, microarreglo de ADN y secuenciación útiles en la confirmación de una especie y las relaciones entre cepas, como se explica anteriormente, también se aplican en la detección de genes de resistencia y en la tipificación de las cepas en cuanto a la RAM.

Gracias al soporte de estos métodos se abordó la estructura poblacional intraespecie, conformada por linajes y clones característicos y se propician análisis filogenéticos entre las cepas y sus posibles vínculos epidemiológicos. La WGS, también se aplica en el esclarecimiento de mecanismos de la multirresistencia en bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (74). Sin dudas, la WGS produce un panorama amplio de todos los genes de resistencia que pueden estar presentes en un solo aislado, aún resulta una tecnología costosa, pero se espera que en un futuro disminuya y se simplifique su procesador analítico, conduciendo a un uso más amplio de esta metodología (32).

La WGS confiere además una ventaja práctica atractiva en comparación con los métodos moleculares convencionales (PFGE, PCR) porque toda la información esencial necesaria para estudiar la epidemiología de la RAM queda disponible con las secuencias obtenidas y posiblemente incluso en un solo ensayo. Los resultados de WGS se almacenan y preservan en bases de datos que quedan a disposición para futuras investigaciones a nivel nacional o mundial, independientemente de la preservación de las colecciones de cepas en el laboratorio (75,76). A pesar de las ventajas de la WGS, la vigilancia de la RAM aún descansa en los métodos fenotípicos y algunos autores recomiendan el uso de herramientas polifásicas, combinando las pruebas fenotípicas y genotípicas para los propósitos de vigilancia (76).

VIGILANCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS, COMENSALES, INDICADORAS Y ZONÓTICAS EN LA CRIANZA ANIMAL

La terapia antimicrobiana es una de las principales vías para el control de las frecuentes infecciones de causa bacteriana que afectan la producción intensiva ganadera. Sin embargo, la información sobre la susceptibilidad o la magnitud de la RAM en bacterias patógenas en la producción animal es limitada. Los programas de vigilancia y los datos divulgados refieren mayoritariamente el estudio de microorganismos que usualmente son comensales, zoonóticos, no afectan al animal, pero se diseminan por contacto

directo a través de la cadena de producción de alimentos o al ambiente y son un riesgo para la salud humana. Esta carencia de información se atribuye a los altos costos de los AST, la dificultad de tomar muestras en animales con signos clínicos y la lenta respuesta de los laboratorios para orientar la terapia (3). No obstante, pese al reducido número de estudios, se ha demostrado la existencia de resistencia a diversos antimicrobianos en patógenos para animales tales como cepas de *E. coli* patógena en ganado bovino, cerdos y aves, *P. multocida* y *Mannheimia haemolytica* en bovinos, *Actinobacillus pleuroneumoniae*, *Streptococcus suis* y *Pasteurella multocida* en cerdos y *S. aureus* multirresistentes aislado de ganado lechero (77,78,79).

Una recopilación de estudios sobre la RAM en patógenos aviares revela un incremento en el tiempo del patrón de resistencia para las siguientes especies: *E. coli*, *Salmonella Pullorum/Gallinarum*, *M. gallisepticum* y *Gallibacterium anatis* en un 80% para ampicilina, amoxicilina y tetraciclina. Las cepas de *Ornithobacterium rhinotracheale* superan en un 50% la resistencia a co-trimoxazole, enrofloxacin, gentamicina, amoxicilina y ceftiofur, mientras las cepas de *P. multocida* fueron en su mayoría sensibles. La revisión evidencia disparidades en las metodologías empleadas y en los criterios para la interpretación de los resultados, señala la necesidad de promover esfuerzos para armonizar las prácticas de testaje y proporcionar el acceso libre a los datos con el objetivo de contribuir a la confección de guías de tratamiento (80). Estudios en Cuba, evidencian el incremento de la resistencia en el tiempo en cepas de *S. suis*, *P. multocida* aisladas de cerdos a los antibióticos espectinomocina y tetraciclinas, así como a quinolonas para *Mycoplasma gallisepticum* aisladas de aves (81,82,83).

En cuanto a las cepas patógenas los mecanismos de resistencia que prevalecen, generalmente están asociados a los antibióticos de mayor uso en producciones intensivas de cerdos, aves y bovino (79). Un alto por ciento de cepas de origen aviar y porcino en diferentes países revelan mecanismos para la resistencia a las tetraciclinas, de la cual se hace un vasto uso

en la producción animal. Alrededor de 70 genes se conocen por estar asociados a la resistencia a este antibiótico *tet(B)*, *tet(H)*, *tet(G)* y *tet(L)*, algunos de estos genes se transportan por transposones y plásmidos que facilitan su propagación entre las cepas (79).

La RAM es uno de los principales motivos que promueve el concepto “Una Salud”, impulsa la vigilancia en la salud humana, animal y el ambiente. Algunos países como Dinamarca, Noruega, Bélgica, Estados Unidos, Canadá y Australia poseen programas permanentes de vigilancia que involucran bacterias patógenas, zoonóticas y comensales derivadas de la producción animal con un enfoque colaborativo y multidisciplinario para controlar la propagación de la resistencia a los antibióticos (10,11).

El concepto de multiresistencia presenta matices diferentes según un enfoque clínico, microbiológico o epidemiológico, consiste en la resistencia a más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, pero su relevancia clínica supone una dificultad para el tratamiento y su impacto epidemiológico la posibilidad de provocar brotes epidémicos, a través de la transmisión del mecanismo de resistencia (84). Según la OMS ejemplos relevantes de patógenos resistentes a múltiples drogas que afectan la salud humana a nivel hospitalario y comunitario son agrupados en las siglas ESC(K)APE e incluye *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM), *Clostridium difficile*, (*Klebsiella pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacteriaceae* (3). Sin embargo, la selección del tipo de bacteria (género y especie), que se incluirá en un programa de vigilancia integrada de la RAM para evidenciar la conexión epidemiológica de cepas y marcadores de RAM entre animales destinados a la producción de alimentos y humanos, depende de las prioridades de salud, prácticas de uso de antimicrobianos, las estimaciones de las enfermedades transmitidas por alimentos en cada localidad geográfica.

Las enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (C3G), específicamente *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (Ec-BLEE) y SARM son dos géneros que desarrollan y diseminan rápidamente

resistencia a múltiples agentes antimicrobianos, son motivo de preocupación en infecciones asociadas a hospitales y en los últimos años, su persistencia comunitaria provocó el interés de su vigilancia en la crianza animal. Por ese motivo, la conexión epidemiológica de estas bacterias comensales y zoonóticas multiresistentes entre animales y humanos y el ambiente a partir del flujo de sus determinantes de RAM, es motivo de investigación. La epidemiología molecular con técnicas de primera generación y las tecnologías de secuenciación proporcionan evidencias para establecer posibles vínculos epidemiológicos y relaciones evolutivas (86,87).

E. coli se considera una cepa indicadora en los programas de vigilancia de la RAM en la salud humana en la mayoría de los países, la plasticidad de su genoma, permite la adquisición y difusión de determinantes genéticos de resistencia. La elección de *E. coli* como bacteria indicadora también en la vigilancia animal se justifica por su elevada frecuencia de aislamiento e identificación en los laboratorios de sanidad animal, además cepas extra-intestinales se asocian a importantes eventos clínicos en aves, cerdos, bovinos y humanos; debido a su importancia médica es imprescindible abordar la epidemiología de las cepas multiresistentes (86,87,88,89).

Los métodos genotípicos convencionales (PFGE, MLST) y la WGS se aplican para establecer la estructura poblacional de colecciones de cepas de *E. coli* productoras de BLEE de diferentes entornos geográficos (ambiente, humanos y animales) con la finalidad además de definir la asociación entre las ST, betalactamasas, plásmidos y sus grupos de incompatibilidad (85,86). A nivel mundial, el gen BLEE más común en aislados de *E. coli* de origen humano es *bla*_{CTX-M-15}, presente también en las cepas del clon que pertenece a la ST131, pandémico a nivel mundial (41). Este clon es raramente identificado en animales y, de ser así, principalmente, en animales de compañía. La presencia de varios genes BLEE también es informada en aislados de *E. coli* de origen animal pero asociados a una amplia variedad de secuencias tipos. Realmente aún no es evidente una asociación exclusiva de un gen *bla* específico

a un hospedante y a ciertas ST. Las ST que se detectan con mayor frecuencia en aislados de *E. coli* de animales y humanos son ST10, ST23, ST38, ST88, ST131, ST167, ST410 y ST648; se supone que estos clones facilitan la propagación de genes BLEE. Estas comparaciones consideran que las cepas de humanos y animales comparten los mismos genes BLEE, pero corresponden a clones plásmidos diferentes (88,89).

Las carbapenemasas rara vez se han identificado en cepas de origen animal, probablemente es consecuencia de la débil presión selectiva, si es que hay, por los carbapenemes, ya que estos agentes antimicrobianos en muy raros casos son prescritos en Medicina Veterinaria. Sin embargo, emerge la preocupación en los últimos años, por el aislamiento de ciertas cepas de *Enterobacteriaceae* y no-*Enterobacteriaceae* que producen carbapenemasas de origen ambiental y animal (90,91).

Por definición, las cepas de SARM, se denomina así debido a la expresión de una proteína de unión a la penicilina PBP2a de sus siglas en inglés *penicillin binding protein*, estas cepas son resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos, con la excepción de las cefalosporinas anti-SARM (ceftarolina y ceftobiprol). PBP es una proteína esencial para la síntesis de la pared celular y la variante PBP2a es indiferente a la acción de estos antibióticos. Su expresión se debe a los elementos genéticos móviles *mecA/mecC* y *mecI* y *mecR1*. SARM es una causa importante de infecciones asociadas a pacientes hospitalizados (SARM-AH), también en personas en la comunidad sin contactos sanitarios (SARM-AC) y además asociado al ganado (SARM-AG). Su capacidad de colonizar las fosas nasales, piel de humanos y animales contribuye a su diseminación en las diferentes etapas de la cadena productiva, presenta una alta diversidad, su epidemiología molecular reconoce linajes, clones y secuencias tipos de impacto en estos escenarios (91).

Los rápidos cambios epidemiológicos asociados con SARM representan un desafío para la caracterización molecular de esta bacteria en diferentes entornos. La nomenclatura empleada al denominar los diferentes clones o genotipos hace

referencia a varias características como la presencia de la toxina PVL (de sus siglas en inglés *Panton Valentin Leucoxidina*), el casete ACME (de sus siglas en inglés *Arginine catabolic mobile element*), el polimorfismo de gen que codifica la proteína A, entre otras. Los cinco clones principales de SARM-AC son positivos para PVL y se agrupan en las siguientes secuencias tipos ST1, ST30, ST80, ST59 y ST8, distribuidas a nivel mundial (91). La mayoría de las cepas que se aíslan asociadas al ganado pertenecen al complejo clonal CC398 ampliamente difundido entre los cerdos en Europa, Países Bajos, Dinamarca y Alemania, pero también en terneros, caballos y perros (92). La presencia del CC398 se demostró en humanos en contacto o no con la producción porcina, provocando infecciones en tejidos blandos o enfermedades invasivas y ocasionalmente la muerte (93). El clon USA 300 (ST8) es el más frecuente en Estados Unidos, Canadá a nivel de la comunidad (92).

La vigilancia de la RAM en cepas recomendadas por la OMS (*E. coli*, SARM, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp.) derivadas de la producción ganadera en la mayoría de los países de medianos y bajos ingresos no es sistemática. Los datos disponibles se deben a estudios de prevalencia puntuales mayoritarios en Asia, donde se concentran altos índices de producción de crianza intensiva en cerdos y aves, seguido de estudios en África y América (93).

Datos recientes en América Latina, específicamente en Cuba, revelan el genoma completo de una cepa de *E. coli* aislada de cerdos saludables que transporta el plásmido IncX1 que contiene el gen de resistencia a la cefalosporina de tercera generación *bla*_{CTX-M-32}, junto con otros genes de resistencia a antibióticos y desinfectantes, que facilitan su resistencia en el ambiente (94). Por otra parte, para SARM el clon USA 300 (ST8) frecuente en Estados Unidos y en Canadá a nivel de la comunidad, se informó en Cuba en pacientes hospitalizados (95) y estudios posteriores revelaron la presencia de cepas similares a USA 300 en cerdos sanos en mataderos (96). Los resultados de ambos estudios sugieren posible transmisión reversa de humanos o del ambiente a animales, y es posible que estos

clones ganen estabilidad en las instalaciones productivas. En ausencia de la vigilancia sistémica, estos datos son útiles como fuente de información para mapear tendencias en la RAM en animales y guiar las intervenciones (96).

CONCLUSIONES

Una de las acciones inmediatas para el control de la RAM en la producción ganadera es el desarrollo de métodos de diagnósticos precisos, rápidos y evitar el uso de terapias empíricas. A pesar de los avances en las tecnologías para la identificación y caracterización bacteriana, incluyendo la epidemiología molecular, el diagnóstico veterinario precisa aún de medios conectados, fáciles de utilizar, escalables, disponibles a nivel global, asequibles, precisos y seguros que faciliten distinguir entre infecciones bacterianas y virales, entre bacterias patógenas y patógenas facultativas. Resulta imprescindible desarrollar guías terapéuticas a nivel local; para ello es preciso acumular datos que relacionen resultados de laboratorio con información epidemiológica y establecer vías para su divulgación y análisis intersectorial, así como estimar las frecuencias de los principales agentes bacterianos, sus fenotipos, perfiles y tendencias de resistencia a los antimicrobianos. A nivel nacional, es preciso estandarizar las metodologías para la vigilancia epidemiológica y los procesos de notificación de la información de la resistencia a los antimicrobianos. El desarrollo de la WGS avanza con rapidez cada vez más hacia una tecnología asequible; es una oportunidad para reducir los costos de inversión para equipos, su mantenimiento, los resultados derivados de la secuenciación se almacenen en bases de datos públicas y los países en desarrollo se deben acercar cada vez más a estas herramientas.

REFERENCIAS

1. Clatworthy AE, Pierson E, Hung DT. Targeting virulence: A new paradigm for antimicrobial therapy. *Nat Chem Biol.* 2007;3:541-548.
2. Smith RP, Paxman JJ, Martin J, Scanlon and Begoña Heras. Targeting bacterial Dsb proteins for the development of anti-virulence. *Agents Molecules.* 2016;21:811.
3. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2014.
4. Cavaco LM, Frimodt-Moller N, Hasman H, Guardabassi L, Nielsen L, Aarestrup FM. Prevalence of quinolone resistance mechanisms and associations of minimum inhibitory concentration in quinolone-resistant *Escherichia coli* isolated in humans and swine in Denmark. *Microb Drug Resist.* 2008;14:163-169.
5. Aryee A, Price N. Antimicrobial stewardship- can we afford to do without it? *Br J Clin Pharmacol.* 2014;79(2):173-181.
6. Acar JF, Moulin G. Antimicrobial resistance at farm level. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 2006;25(2):775-792.
7. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112(18):5649-5654. <http://dx.doi.org/10.1073/>
8. Aenishaenslin C, Häslér B, Ravel A, Parmley J, Stärkd K, Buckeridge D. Evidence needed for antimicrobial resistance surveillance systems. *Bull World Health Organ.* 2019;97:283-289. <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.18.218917>.
9. Patricia LK, David MP. Tracking Change: A Look at the Ecological Footprint of Antibiotics and Antimicrobial Resistance Antibiotics. 2013;2:191-205. doi:10.3390/antibiotics2020191.
10. Verraes C, Van BS, Van ME, Van CE, Butaye P, Catry B, et al. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10:2643-2669. Doi: 10.3390/ijerph10072643.
11. Alex VB, Géraldine D, Michel P, Sonia Ch, Gilles Z, Jacques S, et al. Rapid Clinical Bacteriology and Its Future Impact. *Ann Lab Med.* 2013;33:14-27. <http://dx.doi.org/10.3343/alm.2013.33.1.14>
12. Fernández A, García C, Saéz JA, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de Microbiología. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Editores:

- Emilia Cercenado y Rafael Cantón. SEIMC. 2010.
13. Anholt RM, Klima C, Allan N, Matheson-Bird H, Schatz C, Ajitkumar P, et al. Antimicrobial susceptibility of bacteria that cause bovine respiratory disease complex in Alberta, Canada. *Front Vet Sci*. 2017;4:207. Doi: 10.3389/fvets.2017.00207.
 14. Yoon-Hee O, Dong-Chan M, Young JL, Bang-Hun H, Suk-Kyung L. Genetic and phenotypic characterization of tetracycline-resistant *Pasteurella multocida* isolated from pigs. *Vet Microbiol*. 2019;233:159-163.
 15. Germolec DR, Frawley RP, Evans E. Markers of inflammation. *Methods Mol Biol*. 2010;598:53-73.
 16. Kapasi AJ, Dittrich S, González IJ, Rodwell TC. Host Biomarkers for distinguishing bacterial from non-bacterial causes of acute febrile illness: A Comprehensive Review. *PLoS ONE* 2016;11(8): e0160278. doi: 10.1371/journal.pone.016027.
 17. Downes KJ, Weiss SL, Gerber JS, Klieger SB, Fitzgerald JC, Balamuth F, et al. A Pragmatic Biomarker-Driven Algorithm to Guide Antibiotic Use in the Pediatric Intensive Care Unit: The Optimizing Antibiotic Strategies in Sepsis (OASIS) Study. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2017;16(2):134-141. doi: 10.1093/jpids/piw023.
 18. Pomorska-Mól M, Markowska-Daniel I, Kwit K, Stepniewska K, Pejsak Z. C-reactive protein, haptoglobin, serum amyloid A and pig major acute phase protein response in pigs simultaneously infected with H1N1 swine influenza virus and *Pasteurella multocida*. *BMC Veterinary Research*. 2013;9:14. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/14>
 19. Lappin MR, Blondeau J, Boothe D, Breitschwerdt EB, Guardabassi L, Lloyd DH, et al. Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *J Vet Intern Med*. 2017;31:279-294.
 20. Law JW, AbMutalib N, Chan K, Lee L. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Front Microbiol*. 2015;5:770. doi: 10.3389/fmicb.2014.00770.
 21. Lane AB, Dore MM. Leptospirosis: A clinical review of evidence based diagnosis, treatment and prevention. *World J Clin Infect Dis*. 2016;6(4):1-66. doi: 10.5495/wjcid.v6.i4.61
 22. Glatman F. Advances in antibody mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*: implications for a novel vaccine strategy. *Immunol Med Microbiol*. 2003;39:9-16.
 23. Seco-Mediavilla P, Verger JM, Grayon M, Cloeckert A, Marin CM, Zygmunt MS, et al. Epitope mapping of the *Brucella melitensis* BP26 immunogenic protein: usefulness for diagnosis of sheep brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(4): 647-51.
 24. Shtrek SV, Rudakov NV, Abramova NV, Samoylenko IE, Berezkina GV, Zelikman SY, et al. Evaluation of the effectiveness of the serological methods for the identification of antibodies in patients with tissue rickettsiosis on the territories of a different risk of *Rickettsia sibirica* infection. *Klin Lab Diagn*. 2018;63(12):777-782.
 25. Cai HY, Caswell JL, Prescott JF. Nonculture Molecular Techniques for Diagnosis of Bacterial Disease in Animals: A Diagnostic Laboratory Perspective. *Vet Pathol*. 2014;51(2):341-350.
 26. Ranjbar R, Karami A, Farshad S, Giammanco GM, Mammina C. Typing methods used in the molecular epidemiology of microbial pathogens: a how-to guide. *New Microbiol*. 2014;37:1-15.
 27. Hofmann MA, Brian DA. Sequencing PCR DNA amplified directly from a bacterial colony. *Biotechniques*. 1991;1:30-31.
 28. Espinosa I, Báez M, Percedo MI, Martínez S. Evaluation of simplified DNA extraction methods for *Streptococcus suis* typing. *Rev Salud Anim*. 2013;35(1):59-63.
 29. Davis KM, Isberg RR. One for All, but Not All for One: Social Behavior during Bacterial Diseases. *Trends Microbiol*. 2018;27(1):64-74. doi: 10.1016/j.tim.2018.09.001
 30. van Belkum A, Durand G, Peyret M, Chatellier S, Zambardi G, Schrenzel J, Shortridge D, Engelhardt A, Dunne WM Jr.

- Rapid Clinical Bacteriology and Its Future Impact. *Ann Lab Med.* 2013; 33:14-27. doi:10.3343/alm.2013.33.1.14
31. Anjum MF, Zankari E, Hasman H. 2017. Molecular methods for detection of antimicrobial resistance. *Microbiol Spectrum.* 2017; 5(6): ARBA-0011. doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0011-2017.
32. Edward JF, Mark C E. Analyses of clonality and the evolution of bacterial pathogens. *Current Opinion in Microbiology.* 2004;7:308-313.
33. Tagini F, Greub G. Bacterial genome sequencing in clinical microbiology: a pathogen-oriented review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:2007-2020. doi: 10.1007/s10096-017-3024-6.
34. Opriessnig T, Giménez-Lirola L, Halbur PG. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Anim Health Res Rev.* 2011;12(2):133-148.
35. Seitz M, Valentin-Weigand P, Willenborg J. Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicines Exemplified by the Swine Pathogen *Streptococcus suis*. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2016;398:103-121. doi: 10.1007/82_2016_506.
36. Barbé B, Yansouni CP, Affolabi D, Jacobs J. Implementation of quality management for clinical bacteriology in low-resource settings. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(7):426-433. doi: 10.1016/j.cmi.2017.05.007.
37. Ombelet S, Ronat JB, Walsh T, Yansouni CP, Cox J, Vlieghe E, et al. Clinical bacteriology in low-resource settings: today's solutions. *Lancet Infect Dis.* 2018; 18(8):e248-e258. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30093-8.
38. Acar, J, Röstel B. Antimicrobial resistance: An overview. *Rev Sci Tech OIE.* 2001;20:797-810.
39. Wright GD. The antibiotic resistome. *Expert Opin. Drug Discov.* 2010;5:779-788.
40. Olivares J, Bernardini A, Garcia-Leon G, Corona F, Sanchez MB, Martinez JL. Intrinsic antibiotic resistance. *Front Microbiol.* 2013;4:103. doi: 10.3389/fmicb.2013.00103
41. Avendaño MC. La resistencia antimicrobiana. Algunos aspectos de un grave problema. *An Real Acad Farm.* 2017;83 (4):380-391.
42. Verraes C, Van Boxtael S, Van Meerven E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, et al. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10:2643-2669. doi:10.3390/ijerph10072643
43. Nakaminami H, Noguchi N, Nishijima S, Kurokawa I, So H, Sasatsu M. Transduction of the plasmid encoding antiseptic resistance gene *qacB* in *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm. Bull.* 2007;30:1412-1415.
44. Kelly BG, Verspermann, A, Bolton DJ. Horizontal gene transfer of virulence determinants in selected bacterial foodborne pathogens. *Food Chem Toxicol.* 2008;47:969-977.
45. Bush K. Past and present perspectives on β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62:01076-18. doi:10.1128/AAC.01076-18.
46. Robert A. Bonomob-Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017;7:a025239.
47. Yanat B, Rodríguez-Martínez JM, Touati A. Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36:421-435.
48. Correia S, Poeta P, Hebraud M, Capelo JL, Igrejas G. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? *J Med Microbiol.* 2017;66:551-559.
49. Rhouma M, Beaudry F, Thériault Wand Letellier A. Colistin in Pig Production: Chemistry, Mechanism of Antibacterial Action, Microbial Resistance Emergence, and One Health Perspectives. *Front Microbiol.* 2016;7:1789.
50. Nguyen NT, Nguyen HM, Nguyen CV, Nguyen TV, Nguyen MT, Thai HQ, et al. Use of colistin and other critical antimicrobials on pig and chicken farms in southern Vietnam and its association with resistance in commensal *Escherichia coli* bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2016;82:3727-3735. doi: 10.1128/AEM.00337-16.
51. Zhou G, Shi QS, Huang XM, Xie XB. The Three Bacterial Lines of Defense against Antimicrobial Agents. *Int J Mol Sci.* 2015; 6:21711-21733. doi: 10.3390/ijms160921711

52. Fernando C, Martinez JL. Phenotypic Resistance to Antibiotics. *Antibiotics*. 2013;2:237-255. doi: 10.3390/antibiotics2020237
53. Kell D, Potgieter M, Pretorius E. Individuality, phenotypic differentiation, dormancy and 'persistence' in culturable bacterial systems: commonalities shared by environmental, laboratory, and clinical microbiology. *Version 2. F1000Res*. 2015; 4: 179. doi 10.12688/f1000research.6709.2
54. Lebeaux D, Chauhan A, Rendueles O, Beloin C. From in vitro to in vivo Models of Bacterial Biofilm-Related Infections. *Pathogens*. 2013;2:288-356. doi:10.3390/pathogens2020288.
55. Defraigne V, Fauvart M, Michiels J. Fighting bacterial persistence: Current and emerging anti-persister strategies and therapeutics *Drug Resistance Updates*. 2018;38:12-26.
56. Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B, Navarro F. Procedimientos en Microbiología Clínica [Internet]. 2011. 38. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos ISBN-978-84-615-1530-1SEIMC.
57. Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:O255-266. doi: 10.1111/1469-0691.12373.
58. CLSI. Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document M39-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009.
59. Silley P. Susceptibility testing methods, resistance and breakpoints: what do these terms really mean? *Rev Sci Tech Off Int Epiz*. 2012;31(1):33-41.
60. Cusack TP, Ashley EA, Ling CL, Rattanavong S, Roberts T, Turner P, Wangrangsimakul T. D.A.B. Dance . Impact of CLSI and EUCAST breakpoint discrepancies on reporting of antimicrobial susceptibility and AMR surveillance. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25:910e911.
61. OIE methodology and template for the OIE database on sales of veterinary antimicrobial agents. Paris: World Organization for Animal Health; 2015 Disponible en: http://www.oie.int/fileadminHome/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/SCAD/A_SCAD_Sept2015.pdf , accessed 31 January 2017).
62. Lei Z, Liu Q, Yang S, Yang B, Khaliq H, Li K, et al. PK-PD Integration Modeling and Cutoff Value of Florfenicol against *Streptococcus suis* in Pigs. *Front Pharmacol*. 2018;9:2. doi: 10.3389/fphar.2018.00002.
63. De Briyne N, Atkinson J, Pokludova L, Borriello SP, Price S. Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. *Vet Record*. 2013;173:475.
64. Norris JM, Zhuo A, Govendir M, Rowbotham SJ, Labbate M, Degeling C, et al. Factors influencing the behaviour and perceptions of Australian veterinarians towards antibiotic use and antimicrobial resistance. *PLoS ONE*. 2019;14(10): e0223534.
65. Kohlmann R, Gatermann SG. Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data - The Influence of Different Parameters in a Routine Clinical Microbiology Laboratory. *PLoS ONE*. 2016; 11(1): e0147965. doi: 10.1371/journal.pone.0147965.
66. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline. Fourth Edition. CLSI document M39-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2014
67. Software de la OMS, WHONET 5. Se descarga libre tras rellenar la debida ficha de registro (<http://www.who.int/drugresistance/whonetsoftware/en/>).
68. Mòdol Deltell JM, Álvarez MM, Méndez HM, Giménez PM. Antibiotics policy: The arrival of antimicrobial stewardship programmes. *Med Clin (Barc)*. 2018;150 (11):443-449.
69. Merle E, Olson HC, Douglas WM, Buret AG, Ronald R. Read biofilm bacteria: formation

- and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet.* 2012;66:86-92.
70. Joo HS, Otto M. Molecular basis of in vivo biofilm formation by bacterial pathogens. *Chem Biol.* 2012;19(12):1503-1513.
71. Doring G, Flume P, Heijerman H, Elborn JS. Treatment of lung infection in patients with cystic fibrosis: current and future strategies. *J Cyst Fibros.* 2012; 11(6):461-467.
72. Espinosa I, Báez M, Lobo E, Martínez S, Gottschalk M. Antimicrobial Activity of Penicillin G and N-acetylcystein on Planktonic and Sessile Cells of *Streptococcus suis*. *Polish J Microbiol.* 2016;65(1):105-109.
73. Kraemer JG, Pires J, Kueffer M, Semaani E, Endimiani A, Hilty M, et al. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in pig farms in Switzerland. *Sci Total Environ.* 2017;15:603-604:401-405. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.110.
74. Schürch AC, Arredondo-Alonso S, Willems RJL, Goering RV. Whole genome sequencing options for bacterial strain typing and epidemiologic analysis based on single nucleotide polymorphism versus gene-by-gene based approaches. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(4):350-354. doi: 10.1016/j.cmi.2017.12.016.
75. Moran-Gilad J. Whole genome sequencing (WGS) for food-borne pathogen surveillance and control - taking the pulse. *Euro Surveill.* 2017;22:23.
76. Anholt RM, Klima C, Allan N, Matheson-Bird H, Schatz C, Ajitkumar P, Otto SJG, Peters D, Schmid K, Olson M, McAllister T, Ralston B. Antimicrobial Susceptibility of Bacteria That Cause Bovine Respiratory Disease Complex in Alberta, Canada. *Front Vet Sci.* 2018;4:207.
77. Opriessnig T, Giménez-Lirola LG, Halbur PG. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Anim Health Res Rev.* 2011; 2(2):133-148.
78. Bingzhou Zhang, Xugang Ku, Xuexiang Yu, Qi sun, Hao Wu, Fangzhou Chen, Xiaoqian Zhang, Long Guo, Xibiao tang & Qigai He. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens in Chinese pig farms from 2013 to 2017. *Scientific Reports.* 2019; 9:9908.
79. Nhung NT, Chansiripornchai N and Carrique-Mas JJ. Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A Review. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:126.
80. López-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, R. Amaya-Villar y J. Garnacho-Montero. Puesta al día en medicina intensiva: el enfermo crítico con infección grave. Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Med Intensiva.* 2011;35(1):41-53.
81. Espinosa Ivette, M. Báez, J. Vichi, Siomara Martínez Antimicrobial Resistance and genes associated to the host-microbe interaction of *Pasteurella multocida* isolates from swine in Western Cuba. *Rev. Salud Anim.* 2012; 34 (3): 151-158
82. M. Báez, Ivette Espinosa, J. Vichi, Siomara Martínez Estudio de la sensibilidad in vitro frente a diferentes antimicrobianos en cepas de *S. suis* asociados a neumonía porcina *Rev Salud Anim.* 2012; 34(1): 57-62.
83. Duque-Ortiz A, Anisleidy Pérez-Castillo, Evelyn Lobo-Rivero Resistencia antimicrobiana de aislados cubanos de *Mycoplasma gallisepticum* *Rev Salud Anim.* 2017;39(1).
84. Cano EM, Domínguez AM, Ezpeleta BC, Martínez ML, Padilla OB. Ramírez de Arellano E. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. Recomendaciones de la Sociedad Española de Procedimientos en Microbiología Clínica. 2007; (SEIMC). ISBN-978-84-611-9636-4.
85. Treviño M, Martínez-Lamas L, Romero-Jung P, Varón C, Moldes L, et al. Comparación entre las pruebas para la detección de betalactamasas de espectro extendido de los sistemas Vitek2 y Phoenix. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009. 27(10):566-570.
86. Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, Schink A-K, Kieffer N, Nordmann P, and Schwarz S. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectrum.* 2018;6(4):ARBA-0026-2017.
87. Marrero-Moreno Carelia Martha, Martha Mora-Llanes, Rosa Elena Hernández-Fillor, Michel Báez-Arias, Tania García-Morey,

- Ivette Espinosa-Castaño. Identificación de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) en instalaciones porcinas de la provincia Matanzas. *Rev Salud Anim* .2017; 39(3).
88. Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, Schwarz S, Jurke A. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(12):1241-1250. doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.004.
89. Woodford N, Wareham DW, Guerra B, Teale C. Carbapenemas reproducing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69: 287-291.
90. Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, et al. Global distribution of Pantón-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*. 2007; 13:594-600.
91. Sieber RN, Skov RL, Nielsen J, Schulz J, Price LB, Aarestrup FM, Larsen AR, Stegger M, Larsen J. Drivers and dynamics of methicillin-resistant livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398 in pigs and humans in Denmark. *mBio*. 2018; 9:e02142-18. Disponible en : <https://doi.org/10.1128/mBio.02142-18>.
92. Thomas P, Van Boeckel, João Pires, Reshma Silvester, Cheng Zhao, Julia Song, Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries *Science* 365, eaaw1944 (2019)
93. Hernández-Fillor RE, Brilhante M, Espinosa I, Perreten V. 2019. Complete circular genome sequence of a multidrug-resistant *Escherichia coli* strain from Cuba obtained with Nanopore and Illumina hybrid assembly. *Microbiol Resour Announc* 8:e01269-19.
94. Leiva PO, Stojanov M, Zayas Tamayo AM3, Barreras GG, González Aleman M, Martínez Ceballos L, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from 4 Cuban hospitals *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 81 (2015) 1-3 <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.10.012>
95. Baez M, Collaud A, Espinosa I, Perreten V. MRSA USA300, USA300-LV and ST5-IV in pigs. *Cuba International Journal of Antimicrobial Agents* (2017).
96. Dishon M, Melissa J, Amy BP, Eric MF, Mark EJ. Woolhouse and Bram A.D. van Bunnik Are Food Animals Responsible for Transfer of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* or Their Resistance Determinants to Human Populations? A Systematic Review *Foodborne Pathogens and Disease*. 2018.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Los autores de este trabajo declaran presentar una participación igualitaria en la concepción, ejecución y escritura de la investigación.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)