



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
RESISTENTE A METICILINA EN MICROBIOTA DE EQUINOS
DEL ESTADO DE PUEBLA.

ENERO 2024

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO
DE: LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

PRESENTA

LIZETH GUADALUPE CRUZ GUTIÉRREZ

Director de Tesis

DR. CARLOS GERARDO CASTILLO SOSA

Asesor de Tesis

DRA. MARIANA ALDECO PÉREZ

INDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN	5
I.MARCO TEÓRICO.....	9
1.1 Staphylococcus aureus	9
1.1.1 La epidemiología de <i>Staphylococcus aureus</i>	11
1.1.2 Factores de virulencia de <i>S. aureus</i>	12
1.2 Staphylococcus aureus resistente a meticilina (MRSA)	13
1.2.1 Tratamiento contra MRSA.....	17
1.3 La resistencia a antibióticos en el contexto de la salud animal y la salud pública	18
1.3.1 Tipos de resistencia.....	21
1.3.2 La transferencia horizontal de genes.....	22
1.4 Mecanismos de resistencia a los antibióticos	23
1.4.1 Inactivación de antibióticos.....	23
1.4.2 Disminución de la permeabilidad de la membrana	24
1.4.3 Activación de la bomba de eflujo.....	24
1.4.4 Modificación de la molécula blanco	25
1.5 Métodos para evaluar la susceptibilidad <i>in vitro</i>: el antibiograma o prueba de difusión en disco	25
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
3. JUSTIFICACIÓN	29
4. OBJETIVO GENERAL	31
4.1 Objetivos específicos.....	31
5. MATERIALES Y METODOS	32
5.1 Realizar el aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> a partir de muestras de equinos en el estado de Puebla.....	32
5.2 Identificar <i>Staphylococcus aureus</i> por medio de morfología macroscópica, microscópica y pruebas bioquímicas	32
5.3 Evaluar la susceptibilidad <i>in vitro</i> y la presencia del fenotipo MRSA por medio de difusión en disco	33
6. RESULTADOS.....	34
7. DISCUSIÓN	41
8. CONCLUSIONES.....	43
9. REFERENCIAS	44

RESUMEN

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (MRSA) es una causa importante de infección nosocomial en humanos y se le ha implicado cada vez más como origen de infecciones asociadas a la comunidad. Al poseer una proteína de unión a penicilina alterada (PBP2a), MRSA es resistente a todos los antimicrobianos β -lactámicos y con frecuencia a una amplia gama de clases de antimicrobianos adicionales. Cada vez surgen más reportes de la presencia de MRSA en animales, y de manera particular en caballos, incrementándose la posibilidad de que estas bacterias se transfieran de los animales al humano. El objetivo fue determinar la presencia de MRSA en la microbiota de equinos procedentes de municipios del Estado de Puebla. Se tomaron 40 muestras de hisopado nasal de equinos, los cuales se sembraron en medio sal-manitol. Luego, se identificó a *Staphylococcus aureus* por medio de morfología microscópica, macroscópica, prueba de catalasa y coagulasa. Posteriormente se identificó el fenotipo MRSA por medio de la prueba de difusión en disco, usando discos de oxacilina, además de evaluar susceptibilidad a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, amikacina, trimetoprima/sulfa y vancomicina. De 40 muestras en total, un 75% (30/40) arrojó un aislamiento positivo a *Staphylococcus aureus*. De estas, se obtuvo un 53.3% (16/30) de cepas positivas al fenotipo MRSA; además, dichas cepas mostraron un 60% (18/30) de resistencia a clindamicina y un 36.7% (11/30) de resistencia a eritromicina. El número de cepas MRSA obtenido en el presente trabajo en general es mayor comparado con trabajos similares, donde los valores oscilan desde el 1 al 30%. El sitio anatómico de toma de muestra (piel vs nariz vs heridas), el medio ambiente donde se encuentran los animales (ambiente intrahospitalario vs rancho o vivienda) y la frecuencia del contacto con el humano, son factores por considerar para las variaciones en los porcentajes de aislamiento de MRSA, y tales factores se deben tomar en cuenta adicionalmente para refinar los protocolos de muestreo y monitoreo. Por otra parte, los porcentajes de resistencia a otras familias de antibióticos también se mostraron por encima de la media de estudios similares. Este es uno de los primeros trabajos

que describe la presencia de MRSA en caballos del estado de Puebla. Se debe tomar en cuenta que una variante con potencial zoonótico como MRSA representa siempre una amenaza en la salud pública y es necesario adquirir la mayor cantidad de información con respecto a su diseminación para establecer posibles estrategias de control.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es una bacteria Gram positiva, anaerobio facultativo y coagulasa positivo, es esférica de aproximadamente 1 µm de diámetro que forma racimos parecidos a uvas. (1)

Staphylococcus aureus es un microorganismo de notable versatilidad, que actúa como comensal y como patógeno formidable. Esta adaptabilidad surge de una serie de factores de virulencia, incluidas toxinas, adhesinas e invasinas. A lo largo de la historia, *S. aureus* ha mantenido constantemente su prominencia como agente infeccioso. La capacidad de adaptabilidad de los patógenos sigue siendo una característica definitoria en nuestra era actual, que se caracteriza por el problema de la resistencia a los antibióticos. La transmisión de *S. aureus*, especialmente en entornos sanitarios, plantea una amenaza importante, a menudo facilitada por trabajadores sanitarios, equipos contaminados o fuentes ambientales. La prevención de la transmisión nosocomial requiere medidas sólidas de prevención y control de infecciones (IPAC) guiadas por investigaciones epidemiológicas exhaustiva (2)

Staphylococcus aureus es una de las principales causas de infecciones asociadas a la atención sanitaria (IACS) (3)

S. aureus representa un importante portador de determinantes emergentes y reemergentes de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) que plantean problemas de salud a nivel mundial. La propagación de la resistencia a los antimicrobianos es multifactorial y aumenta significativamente la gravedad de las infecciones zoonóticas transmitidas por alimentos y otras infecciones clínicas en humanos y animales (4)

S. aureus ha sido reconocida como la especie más invasora del género *Staphylococcus* y un agente causante de diversas enfermedades infecciosas en humanos y animales, a menudo mediadas por importantes factores de virulencia en forma de super antígenos estafilocócicos. De especial relevancia son los siguientes genes de virulencia: eta, etb, etd (codifican las exfoliatinas A, B, D; asociado al

síndrome de piel escaldada), luk-S/F-PV. (codifica Panton Valentine Leucocidin, asociado a abscesos); tst (codifica la toxina del síndrome de shock tóxico), y sea, seb, sec, sed, etc. (codifican diferentes exenterotoxinas, asociadas a intoxicaciones alimentarias)(4)

S. aureus es un patógeno oportunista humano y animal que coloniza las fosas nasales anteriores de aproximadamente el 20 al 30% de la población humana sana. Sin embargo, *S. aureus* también causa muchas enfermedades graves, que van desde infecciones locales de la piel y los tejidos blandos hasta infecciones sistémicas potencialmente mortales, como bacteriemia, septicemia, endocarditis, osteomielitis y neumonía necrotizante(5)

La penicilina fue el primer antibiótico producido en masa para uso humano y que anteriormente era muy eficaz contra las infecciones por *S. aureus*. Sin embargo, la mayoría de las cepas humanas de *S. aureus* son ahora resistentes a la penicilina. El gen AMR que codifica la resistencia a la penicilina, blaZ, también se puede encontrar en elementos genéticos móviles (MGEs). Los MGE constituyen aproximadamente el 25% del genoma de *S. aureus*, que también puede codificar varios otros supuestos determinantes de virulencia y RAM que favorecen los procesos de co-selección. Por tanto, los MGE tienen un papel relevante en la adaptabilidad y supervivencia de *S. aureus*. El rasgo de resistencia a la meticilina (mediado por genes mecA y en algunos casos por genes mecC, transportados en los elementos móviles de SCCmec) es la forma más desafiante de *S. aureus* que se ha convertido en un problema de salud global. *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) se ha clasificado en tres grupos epidemiológicos superpuestos, según su nicho frecuentemente adaptado y sus complejos clonales asociados, a saber; MRSA asociado a la atención sanitaria (HA-MRSA), asociado a la comunidad (CAMRSA) y asociado al ganado (LA-MRSA) (4)

La adaptación exitosa de *S. aureus* a varios nichos del huésped requiere cambios en la composición de los factores de virulencia que a menudo están codificados en elementos genéticos móviles (MGE), como profagos, plásmidos e islas de

patogenicidad. Los MGE representan del 15 al 20% del genoma accesorio de *S. aureus* y pueden propagarse rápidamente entre aislados de *S. aureus* debido a la transferencia horizontal de genes (THG). Debido a que la estructura poblacional de *S. aureus* es principalmente clonal, la tipificación de secuencias multilocus (MLST) y la posterior discriminación de tipos de secuencias y complejos clonales (CC) nos permite comprender la dinámica evolutiva con respecto a la resistencia a los antibióticos y el desarrollo de factores de virulencia, así como la adaptación a varios nichos de acogida. (5)

La genómica comparada reveló que *S. aureus* produce factores de virulencia secretados (incluyen enzimas extracelulares, como coagulasa, proteasas, nucleasas, lipasas coagulasa, proteasas, nucleasas, lipasas - y -hemolisinas, leucocidina de Panton Valentine (PVL), Modulinas solubles en fenol (PSM, -hemolisina) y superantígenos (toxina del síndrome de shock tóxico (TSST), enterotoxinas (SE)). y asociados a la superficie muy diversos (incluyen proteínas de la pared celular ancladas covalentemente clasificadas como "componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de matriz adhesiva" (MSCRAMM), así como proteínas unidas no covalentemente). (5)

Proteínas de superficie con dominios de unión específicos a la pared celular con dominios de unión específicos a la pared celular, denominadas "moléculas adhesivas secretables de repertorio expandido" (SERAM). Los MSCRAMM están anclados covalentemente al peptidoglicano a través de mecanismos basados en sortasa, contienen dominios de plegado de IgG y promueven la adhesión a proteínas de la matriz del huésped, como fibrinógeno, fibronectina y colágeno. Los MSCRAMM típicos son factores de agregación (ClfA/B), proteínas que contienen repeticiones de serina-aspartato (SdrC/D/E), proteínas de unión a fibrinógeno (FnBPA/B) y adhesinas de colágeno (Cna, Eap, Emp), la coagulasa (Coa), las hidrolasas y autolisinas de la pared celular (Atl, Sle-1, IsaA), el antígeno secretor (SsaA) y las toxinas secretadas (LukG, LukH), que contienen diversas paredes celulares. dominios de unión (LysM, GW, SH3B y G5). están implicados en la enfermedad endovascular y provocan respuestas de anticuerpos humanos en

pacientes con enfermedad ampollosa genética epidermólisis. Los factores de virulencia unidos a la pared de *S. aureus* contribuyen a la Patogenicidad, colonización, evasión inmune y resistencia. para albergar defensas (5)

Los laboratorios clínicos emplean métodos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana para determinar la eficacia de agentes antimicrobianos contra aislamientos bacterianos clínicos. Estos métodos, han sido estandarizados para proporcionar resultados reproducibles, ya sean cualitativos y/o cuantitativos. Los resultados cualitativos se expresan como susceptible (S), intermedio (I) o resistente (R). Los resultados cuantitativos se expresan como valores de concentración mínima inhibitoria (CMI, mg/mL), acompañados por una designación de S, I o R en el informe de laboratorio (6). Más del 95% de las cepas de CA-MRSA son susceptibles *in vitro* al trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX), y esta combinación de antibióticos es una opción crucial en el manejo ambulatorio de las infecciones de la piel y tejidos blandos (SSTI). (7). La clindamicina pertenece a la clase de antibióticos lincosamidas y está autorizada para su uso en infecciones graves causadas por *S. aureus*. (8). La doxiciclina, un antibiótico tetraciclino autorizado para el tratamiento de las SSTI por *S. aureus* en el contexto de infecciones por MRSA, son limitados, y la resistencia en cepas de CA-MRSA puede existir mediante la asociación con tetK. El gen tet(M) confiere resistencia a todas las tetraciclinas, mientras que la expresión de tet(K) conduce a la resistencia a tetraciclinas, incluida la doxiciclina (9).

I.MARCO TEÓRICO

1.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es un patógeno Gram positivo, anaerobio facultativo y coagulasa positivo perteneciente a la familia *Staphylococcaceae*, es una bacteria esférica de aproximadamente 1 μm de diámetro que forma racimos parecidos a uvas que se puede encontrar con frecuencia en la nariz y en la piel de animales sanos (1). Son quimioorganotrofos catalasa-positivos con un contenido de guanina y citosina en el ADN del 30 al 40 mol%. Los estafilococos tienen una pared celular típica Gram-positiva que contiene peptidoglicano y ácidos teicoicos. El género *Staphylococcus* comprende actualmente 81 especies y subespecie, y la mayoría de los miembros del género son comensales de mamíferos o patógenos oportunistas que colonizan nichos como la piel, las fosas nasales, mucosa urogenital, tracto gastrointestinal y otras membranas mucosas (10) (11).

La temperatura de crecimiento para *S. aureus* varía de 6 a 48°C, con un crecimiento óptimo entre 35 y 41°C. El límite superior de la temperatura de crecimiento puede extenderse en presencia de NaCl y glutamato monosódico. *S. aureus* es facultativamente aeróbico y puede crecer en presencia del 80% de CO₂. La tolerancia al pH varía de 4 a 10, con un crecimiento óptimo a pH 6 a 7. La tolerancia ácida de *S. aureus* disminuye significativamente en presencia de glicerol, sacarosa, sorbato de potasio y NaCl. *S. aureus* es conocido por adquirir resistencia genética a metales pesados y agentes antimicrobianos utilizados en la medicina clínica.

Sin embargo, la resistencia de esta bacteria a los métodos comunes de conservación de alimentos es generalmente insignificante. Una excepción notable es su osmotolerancia, que permite el crecimiento en medios que contienen el

equivalente a 3.5 M de NaCl y la supervivencia a actividades acuáticas inferiores a 0.86. Esto es especialmente problemático porque otras bacterias con las que *S. aureus* no compete eficazmente son probablemente inhibidas bajo estas condiciones (12).

El nombre *Staphylococcus* se deriva de las palabras griegas “staphyle” que designan racimo o racimo mientras que “kokkos” significa uvas, ya que se observa como un “racimo de uvas” al microscopio. Por otro lado, el significado de la palabra “*aureus*” es dorado en latín. El término *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) en general representa “semilla de racimo dorado”. (13)

La historia del descubrimiento de *S. aureus* se remonta a 1880, cuando Alexander Ogston lo aisló de una infección de una herida quirúrgica. El organismo aislado pudo producir abscesos cuando se inyectó en cobayas y ratones. Después de esto, Louis Pasteur inyectó pus de infecciones estafilocócicas humanas, produciendo abscesos en animales. En 1882 Ogston acuñó el término *Staphylococcus* para el género, y en 1884 Rosenbach dividió el género en las especies *S. aureus* y *S. albus*. Estas designaciones se mantuvieron hasta 1939, cuando, basándose en pruebas de coagulasa, Cowan diferenció *S. epidermidis* como una especie separada (14).

S. aureus es uno de los primeros patógenos descritos. Sin embargo, esto no es sorprendente, ya que fue y sigue siendo una de las causas más comunes de infecciones en humanos. Es de gran importancia debido a su capacidad para causar una gran cantidad de infecciones, así como a su capacidad para adaptarse a diversas condiciones ambientales. *S. aureus* es una de las principales causas de infecciones adquiridas en hospitales y en la comunidad, lo que tiene graves consecuencias. Puede afectar el torrente sanguíneo, la piel y los tejidos blandos, y el tracto respiratorio inferior y puede causar infecciones relacionadas con la instrumentación médica, como la infección del torrente sanguíneo asociada a la vía central, así como algunas infecciones graves y profundas, como endocarditis y osteomielitis (15) (16).

A pesar de la prevalencia de la literatura que caracteriza la patogénesis de estafilococos en humanos, *S. aureus* es una causa importante de infección y

enfermedad en una gran cantidad de huéspedes animales, lo que tiene un impacto significativo en la salud pública y la agricultura. Las infecciones en animales son perjudiciales para la salud animal y los animales pueden actuar como reservorio para la transmisión de estafilococos a los humanos. Si bien alrededor del 20 al 30% de la población humana es portadora de *S. aureus*, la prevalencia de *S. aureus* varía de una especie huésped a otra, y hasta el 90% de los pollos, el 42% de los cerdos, el 29% de las ovejas y entre el 14% de los animales son portadores de *S. aureus*. y el 35% de las vacas y novillas son portadoras (17).

1.1.1 La epidemiología de *Staphylococcus aureus*

En animales, como en humanos, *S. aureus* se encuentra en portadores sanos y puede inducir un amplio panel de infecciones que van desde enfermedades superficiales de la piel hasta infecciones profundas y septicemia. Prácticamente cualquier especie de animal de sangre caliente puede ser portadora sana o estar infectada del mismo modo por *S. aureus*. En los caballos, se reportan comúnmente infecciones por *S. aureus*, como abscesos cutáneos y celulitis. Esta bacteria también es un agente causal de la botriomicosis, una inflamación piogranulomatosa de la ubre de yeguas, vacas y cerdas (mastitis) y del cordón espermático en caballos después de la castración (17).

Asimismo, se ha notificado su presencia en animales salvajes (por ejemplo, mapaches). Es una respuesta inusual a la infección por *S. aureus* (y otras bacterias). Los gránulos eosinofílicos que se forman durante la botriomicosis se parecen a los de la infección por especies de *Actinomyces*. La botriomicosis pulmonar es rara en caballos y humanos, y rara vez se ha informado en ganado vacuno (10).

S. aureus es uno de los microorganismos aislados con mayor frecuencia en patología humana y es agente causal de infecciones de piel y estructuras asociadas (PEA), infecciones endovasculares, neumonías, artritis sépticas, osteomielitis, infecciones asociadas a cuerpos extraños y sepsis (18)

1.1.2 Factores de virulencia de *S. aureus*

Una característica notable de *S. aureus* es su vasto arsenal de factores de virulencia, incluidas toxinas y otras moléculas que aumentan el potencial de enfermedades. Las toxinas se dividen en tres categorías: toxinas que dañan las membranas, toxinas que interfieren con los receptores y enzimas secretadas. Muchas toxinas de *S. aureus*, como las enterotoxinas estafilocócicas (SE) y la toxina alfa (toxina α), muestran actividades proapoptóticas. Sin embargo, los tipos exactos de células apoptóticas inducidas por las toxinas de *S. aureus* y los mecanismos subyacentes aun no son del todo claros (19).

Las toxinas que dañan las membranas se pueden dividir en dos, es decir, aquellas que lisan las células dependiendo de la interacción inicial del receptor y aquellas que interfieren con las membranas sin interacción del receptor. Aunque *S. aureus* posee muchas toxinas que dañan la membrana, incluidas hemolisinas, leucocidinas de dos componentes y modulinas fenosolubles, sólo la toxina α (hemolisina α) y la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) fueron capaces de promover la apoptosis. Sin embargo, la toxina α y la PVL tienen diferentes capacidades para inducir la apoptosis (20).

PVL es el representante más infame de las toxinas formadoras de poros de dos componentes de *S. aureus* y se ha reportado su capacidad de lizar a los neutrófilos polimorfonucleares (PMN), monocitos y macrófagos, pero no los eritrocitos. Los estudios epidemiológicos han revelado que la PVL es transmitida principalmente por *S. aureus* resistente a la meticilina adquirida en la comunidad y está estrechamente relacionada con infecciones de la piel y los tejidos blandos (21).

Como factor de virulencia importante de *S. aureus*, es el gen *hla* del cromosoma que codifica la toxina α , que se manifiesta como un monómero secretado hidrosoluble de 33,3 kDa. Tras la unión a las células, la toxina α se oligomeriza en poros heptaméricos en la membrana plasmática de la célula huésped. La perforación de

la membrana plasmática (PM) por H1a provoca un flujo incontrolado de iones y agua. Un pequeño número de poros de toxina ya parece ser suficiente para inducir respuestas celulares complejas, muchas de las cuales dependen de la salida de potasio (22).

1.2 *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA)

MRSA se puede describir como un biovar zoonótico virulento de *S. aureus*, que exhiben criterios específicos de resistencia a cefoxitina y meticilina. Varios patrones fenotípicos y moleculares pueden distinguir entre *S. aureus* susceptible a la meticilina (MSSA) y MRSA. MRSA siempre muestra un patrón de resistencia a múltiples fármacos, no solo para la penicilina, sino también para diversas clases de antimicrobianos, incluyendo β -lactámicos, fluoroquinolonas, aminoglicósidos, tetraciclinas y lincosamidas (23).

Como factores de virulencia, se han descrito a los polisacáridos capsulares. Los polisacáridos capsulares son polímeros de polisacáridos que rodean la pared celular de MRSA. Se ha informado que el 76–90% de los aislamientos clínicos de MRSA producen polisacáridos capsulares y se han identificado 11 tipos serológicamente distintos de polisacáridos capsulares (CP 1-CP11). Los polisacáridos capsulares potencian la virulencia de *S. aureus* al obstaculizar la acción del complemento y los anticuerpos, y al inhibir la fagocitosis (24).

Se ha demostrado que las cepas de MRSA expresan toxinas alfa, beta, gamma y delta, aunque las diferentes cepas pueden variar en su nivel de producción. Entre estas toxinas, la toxina alfa es producida por la mayoría de las cepas patógenas de MRSA y se considera un importante factor de virulencia. La toxina alfa puede inducir necrosis de las glándulas mamarias y tasas de mortalidad más altas entre los animales infectados. Las enterotoxinas producidas por MRSA están principalmente implicadas en intoxicaciones alimentarias tanto en humanos como en animales (20).

El aislamiento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) fue descrito por primera vez en Inglaterra en 1961. En las décadas siguientes, la prevalencia y epidemiología del MRSA han experimentado cambios drásticos, especialmente en

la década de 1990, con un aumento en el número de informes de infecciones asociadas con cepas genéticamente distintas que tienen su origen en la comunidad.

Por lo tanto, el MRSA, que hasta entonces era exclusivamente un agente de infecciones asociadas a la atención médica, comenzó a ser reconocido como el agente causal de enfermedades graves adquiridas en la comunidad, siendo posteriormente denominado *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad (CA-MRSA) (25).

MRSA puede invadir las glándulas mamarias, las membranas mucosas, las membranas serosas, la piel y los órganos internos tanto en humanos como en diferentes animales (ganado, pollos, caballos, perros, cerdos y gatos), causando enfermedades graves que están principalmente asociadas con la resistencia a múltiples antibióticos. El primer aislamiento de MRSA en animales de granja en todo el mundo se informó en la década de 1970, donde las cepas de MRSA se aislaron por primera vez de vacas lecheras con mastitis en Bélgica (26).

El determinante genético de la resistencia a la meticilina en el MRSA, el gen *mecA* (que codifica una proteína de unión a la penicilina con baja afinidad, PBP2a), es transportado por un elemento genético móvil llamado cromosoma de cassette estafilocócico *mec* (SCC*mec*), que, por inferencia, confiere resistencia a todos los demás antibióticos beta-lactámicos, excepto ceftarolina y ceftobiprol. Estos últimos son cefalosporinas de quinta generación indicadas para el tratamiento de infecciones causadas por MRSA (27).

Se han identificado muchos elementos SCC*mec* en diferentes especies de *Staphylococcus*, y hay evidencia de que el alelo *mecA* ha sido movilizado varias veces. Se pensaba que la presencia de un elemento SCC*mec* que contenía *mecA* era la característica definitoria del MRSA. Sin embargo, recientemente se identificó un alelo *mecA* divergente, llamado *mecC*, en aislamientos de ganado y humanos en el Reino Unido, Dinamarca e Irlanda (28).

El gen *mecC* comparte un 70% de identidad de nucleótidos con *mecA* y se encuentra en un elemento SCC*mec* de tipo XI. La presencia de MRSA *mecC*

presenta un problema potencial para el diagnóstico, ya que no se detecta mediante ensayos estándar de PCR para *mecA* o mediante ensayos de aglutinación para PBP2a. El fenotipo de resistencia a los antibióticos de MRSA *mecC* también difiere ligeramente de MRSA *mecA*: los aislamientos que llevan *mecC* son más susceptibles que los aislamientos que llevan *mecA* a la oxacilina pero retienen resistencia a la cefoxitina (29).

La adquisición mediante transferencia horizontal de genes e inserción de SCC*mec* en el cromosoma de cepas susceptibles lleva a la aparición de cepas estafilocócicas resistentes. La alta diversidad en la organización estructural y contenido genético de estos elementos permite rastrear el origen evolutivo de los clones de MRSA (14).

Además de los humanos, la colonización e infección por MRSA también se ha reportado en diversas especies animales en muchos países. Estas cepas, conocidas como cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina asociadas al ganado (LA-MRSA), tienen un origen genético diferente al de las cepas humanas previamente descritas, con aislamientos que pertenecen principalmente al complejo clonal CC398 (30).

La aparición de cepas LA-MRSA también se ha asociado cada vez más con tasas alarmantes de infección y colonización por MRSA entre los humanos en contacto con animales de cría, lo que sugiere un mayor riesgo de transmisión zoonótica. Estas cepas patógenas podrían dispersarse posteriormente en el medio ambiente y a otras especies a través de la cadena alimentaria y el contacto directo. Numerosos estudios han indicado que el aumento en la tasa de incidencia de resistencia antimicrobiana en *S. aureus* en animales es el resultado del uso incorrecto e injustificado de antibióticos en la cría de animales, ya sea con fines terapéuticos, preventivos o como promotores del crecimiento (GPs, por sus siglas en inglés).

La detección de MRSA en seres humanos incluye las fosas nasales, pero es común tomar muestras de múltiples ubicaciones. La práctica de muestrear las narices de los caballos para MRSA probablemente se basa en estudios de *S. aureus* en caballos y en la extrapolación de la medicina humana. Sin embargo, un estudio reciente comparó nueve sitios anatómicos en caballos clínicamente normales y

hospitalizados para la detección de MRSA, y las fosas nasales fueron el sitio más sensible (31).

La decolonización de MRSA sin el uso de antimicrobianos se ha logrado en caballos mediante intervenciones para prevenir la recolonización. Sin embargo, hasta donde sabemos, la decolonización de MRSA en caballos después de una infección no ha sido estudiada. Cuando un brote sueco de infección por MRSA en caballos planteó preguntas sobre el riesgo que representaban los caballos postinfectados para su entorno, se inició un estudio para investigar si y por cuánto tiempo se puede detectar MRSA después de una infección en caballos. Además, se probó la hipótesis de que las fosas nasales son un sitio sensible para la detección del transporte de MRSA en caballos (32).

La aparición de MRSA en hospitales equinos ha destacado la necesidad de implementar estrategias de contención que minimicen el riesgo de transmisión nosocomial, lo que puede resultar en la infección tanto del personal hospitalario como de los pacientes. Para facilitar la introducción de protocolos de contención de MRSA efectivos basados en evidencia, es necesario examinar y analizar los factores que contribuyen a la transmisión nosocomial (33).

Las fuentes de contaminación por MRSA en hospitales equinos incluyen el entorno, los humanos y los caballos. Hasta el 14% del personal hospitalario puede ser portador de MRSA, y los entornos de las clínicas equinas pueden estar ampliamente contaminados. Los caballos hospitalizados también pueden constituir un reservorio de infección sustancial, con tasas de detección nasal de hasta el 10.9% y el 42% al ingreso y durante la hospitalización, respectivamente (34).

Es probable que *S. aureus* colonice la mucosa nasal y la piel de los animales de manera análoga a los humanos. Aunque no se ha demostrado la presencia de MRSA en la piel de los caballos en ausencia de signos clínicos, tal ocurrencia sería importante en la transmisión nosocomial, especialmente cuando los caballos hospitalizados son manipulados con frecuencia (35).

1.2.1 Tratamiento contra MRSA

Más del 95% de las cepas de CA-MRSA son susceptibles *in vitro* al trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX), y esta combinación de antibióticos es una opción crucial en el manejo ambulatorio de las infecciones de la piel y tejidos blandos (SSTI). Es importante tener precaución al recetar TMP-SMX a pacientes ancianos, especialmente en el contexto de enfermedad renal crónica, ya que conlleva un mayor riesgo de hiperpotasemia. Las mujeres embarazadas en su tercer trimestre no deben recibir TMP/SMX (7).

Los datos sobre el uso de la doxiciclina, un antibiótico tetraciclino autorizado para el tratamiento de las SSTI por *S. aureus* en el contexto de infecciones por MRSA, son limitados, y la resistencia en cepas de CA-MRSA puede existir mediante la asociación con tetK. El gen tet(M) confiere resistencia a todas las tetraciclinas, mientras que la expresión de tet(K) conduce a la resistencia a tetraciclinas, incluida la doxiciclina, con la excepción de la minociclina. La minociclina está disponible en preparaciones tanto orales como intravenosas (9).

La tigeciclina, solo disponible en formulación intravenosa, es una glicilciclina (un derivado de las tetraciclinas) y está autorizada para su uso en infecciones agudas de piel y estructuras cutáneas (ABSSSI). La tigeciclina muestra actividad bacteriostática contra el MRSA y, por lo tanto, no se recomienda en pacientes con bacteriemia (36).

La clindamicina pertenece a la clase de antibióticos lincosamidas y está autorizada para su uso en infecciones graves causadas por *S. aureus*. Tiene una mejor susceptibilidad *in vitro* para cepas de CA-MRSA que para cepas de HA-MRSA y se ha utilizado con éxito en niños con CA-MRSA susceptible invasivo (por ejemplo, neumonía, osteomielitis, artritis séptica y linfadenitis). Una ventaja de la clindamicina es su buena biodisponibilidad oral y excelente penetración en tejidos (especialmente en hueso y abscesos) (8).

Debe destacarse la posibilidad de resistencia a la clindamicina en cepas que se informan como susceptibles a la clindamicina pero resistentes a los macrólidos. Este mecanismo de resistencia está regulado por el gen *erm*, que confiere resistencia inducible a los antibióticos macrólido-lincosamida-estreptogramina B. Este potencial mecanismo de resistencia puede demostrarse con una prueba D positiva, que debe utilizarse en el laboratorio antes de informar las susceptibilidades (37).

1.3 La resistencia a antibióticos en el contexto de la salud animal y la salud pública

La mayoría de los antibióticos médicamente relevantes se originan en la naturaleza y son sintetizados por una variedad de especies, en particular bacterias del género *Streptomyces* que habitan en el suelo. Se cree que tanto los antibióticos como los genes de resistencia son antiguos y muy anteriores a la existencia de los humanos. Esto se ha inferido de estudios filogenéticos que sugieren que, por ejemplo, las β -lactamasas de clase A evolucionaron hace miles de millones de años y fueron transferidas a las bacterias Grampositivas hace unos 800 millones de años y que los progenitores de las β -lactamasas, como las CTX-M, divergieron entre 200 y 300 millones de años. hace millones de años (38).

Independientemente de que sean biosintéticos, semisintéticos o totalmente sintéticos, la acción terapéutica de los antibióticos se debe a su capacidad de interferir con componentes estructurales clave y/o funciones de la célula bacteriana, que no están presentes en las células del huésped. La mayoría de las clases de antibióticos con relevancia clínica interfieren con tres tipos principales de objetivos en la célula bacteriana: la síntesis de la pared celular, la síntesis de proteínas y el acceso al ADN, principalmente durante la replicación. Por lo tanto, aunque pueden producirse efectos tóxicos secundarios, los antibióticos atacan selectivamente a las bacterias, cuyas células se destruyen o se inhiben para dividirse, mientras que no se prevé ningún daño en las células del huésped (38)

Los antimicrobianos se utilizan en todo el mundo tanto en humanos como en animales para la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas. Además, en algunos países, se utilizan antimicrobianos en la cría de animales como

promotores del crecimiento. Se ha establecido firmemente una correlación entre el uso de antimicrobianos (AMU) y la resistencia a los antimicrobianos (AMR) en la producción animal a partir de estudios observacionales, datos de vigilancia AMU/AMR a nivel nacional y metaanálisis estadísticos (39).

Niveles elevados de AMR tienen un impacto negativo en la producción ganadera, ya sea reduciendo la productividad de las explotaciones o aumentando los costos del tratamiento de enfermedades. Sin embargo, gran parte del impulso para monitorear AMU/AMR en la producción animal ha surgido de un consenso científico emergente que respalda la contribución del AMU/AMR en la producción animal a la carga general de AMR en los seres humanos. Como consecuencia de esto, se han implementado recientemente varias iniciativas a nivel global, regional y nacional para promover el uso responsable de antimicrobianos y frenar el uso excesivo de antimicrobianos en la producción animal (40).

En los Estados Unidos, se estima que el tratamiento antimicrobiano en animales destinados a la producción de alimentos representa aproximadamente el 80% del uso total anual; se cree que la gran mayoría de estos antimicrobianos incluyen medicamentos esenciales para humanos utilizados en el tratamiento de infecciones comunes, o que son necesarios para realizar cirugías, trasplantes de órganos o quimioterapia en humanos (41).

La resistencia a los antibióticos se define como la capacidad de los microorganismos para contrarrestar la acción de los agentes antimicrobianos y este fenómeno ocurre cuando un antibiótico pierde su eficiencia para inhibir el crecimiento bacteriano (42)

Cuando las bacterias adquieren la capacidad de crecer de forma recurrente en presencia de una dosis de antibiótico utilizada clínicamente, provocan el fracaso del antibiótico como agente terapéutico y, por lo tanto, se denominan bacterias resistentes a los antibióticos.(43)

Si bien los términos "susceptible a antibióticos" y "resistente a antibióticos" parecen evidentes por sí mismos, a menudo hay cierta confusión en su uso. La incertidumbre se hace más evidente cuando se utiliza "tolerancia a antibióticos" en contraste con

"resistencia a antibióticos". Utilizamos "resistencia a antibióticos" para referirnos a que la célula bacteriana continúa replicándose en una concentración dada de fármaco. La resistencia a antibióticos es, por lo tanto, explícitamente relativa a la concentración de fármaco en cuestión. La concentración inhibitoria mínima (CIM) del fármaco es la cantidad más pequeña suficiente para inhibir el crecimiento de una población de bacterias en un intervalo de tiempo definido. Así, una forma más simple de codificar la resistencia a antibióticos es decir que refleja un aumento en la CIM; sin embargo, la magnitud de este aumento no está inherente en la definición (44)

La resistencia a los antibióticos aparece como consecuencia de mutaciones y de presiones de selección por el uso indiscriminado de estos medicamentos y se disemina rápidamente con alcance global. Esta diseminación se facilita por la poca higiene en los hospitales y por la mayor frecuencia en los viajes, el comercio y la transmisión de las enfermedades (43)

Los microorganismos evolucionan, se seleccionan, y se reproducen. Originando nuevos seres vivos de su especie con características diferentes como son, por ejemplo, sobrevivir a las sustancias que podían eliminar a sus predecesores. Se denomina resistencia a la susceptibilidad disminuida o nula de un microorganismo a determinado antimicrobiano. Las circunstancias que facilitan las resistencias pueden ser ambientales (anaerobiosis, cambios de pH, altas concentraciones de cationes, etc.) o microbianas naturales o adquiridas (debida a mutaciones cromosómicas o fenómenos de transferencia genética mediados por plásmidos o transposones).(45)

El inmenso dinamismo de la biología bacteriana, debido a su genética, plasticidad y alta tasa de reproducción, fomenta la continuación aparición y selección de nuevos mecanismos de resistencia a los antibióticos como respuesta a la presión selectiva que implica el uso y abuso de estos fármacos, y por tanto a la creciente aparición de bacterias con resistencia múltiple (MDR, un cepa bacteriana que es resistente a por lo menos 1 antibiótico de 3 familias distintas), e incluso extensiva (XDR, una cepa bacteriana resistente a por lo menos un antibiótico de 5 familias distintas) y

pan- resistencia (PDR, una cepa bacteriana que es resistente a todos los antibióticos) (46).

Para comprender los factores que contribuyen al mecanismo de resistencia, es fundamental comprender el mecanismo de acción de los antibióticos. Generalmente, existen cinco modos principales de acción; interferencia de las enzimas necesarias para 1) la biosíntesis de peptidoglicanos, 2) la síntesis de ácidos nucleicos, 3) la síntesis de proteínas y 4) el metabolismo y, por último, la 5) desorganización de la membrana citoplasmática (42)

Un antibiótico puede actuar mediante uno o más de estos mecanismos. El mecanismo de acción de las principales clases de antibióticos se resume en la Fig. 3 y Kohanski et al. han revisado una revisión detallada de estos mecanismos (42)

Los patógenos adquieren resistencia a los antibióticos a través del modo en que el agente los ha afectado. La aparición de resistencia generalmente depende de la especie, la naturaleza del fármaco y su sitio de destino. Cuando el antibiótico interfiere en una vía particular, el microorganismo activará un mecanismo alternativo sofisticado para evitar la actividad bacteriostática o bactericida del agente (42)

1.3.1 Tipos de resistencia

1.3.1.1 *Resistencia innata*

Los genes que codifican la resistencia antimicrobiana inherente en las bacterias que producen antibióticos confieren resistencia innata. Davies y colaboradores proponen la hipótesis de que la propagación de la resistencia a los antibióticos puede ser consecuencia de genes de resistencia a los antibióticos presentes en estas bacterias, los cuales se extraen durante la preparación de antibióticos, permitiendo una exposición ambiental generalizada a elementos genéticos capaces de impartir resistencia a los antibióticos (47).

Aunque esta teoría puede carecer de un respaldo científico riguroso, los antibióticos ejercen claramente una presión selectiva sobre las bacterias, acelerando la

evolución y permitiendo ajustes simultáneos en la genética y el metabolismo para producir resistencia a múltiples fármacos (48).

1.3.1.2 Resistencia adquirida

La capacidad de las bacterias no solo para sobrevivir en presencia de antibióticos, sino también para adquirir resistencia bajo presiones selectivas de antibióticos, supone que es necesaria una concentración umbral de antibióticos tanto para inducir como para mantener genotipos de resistencia (44).

1.3.2 La transferencia horizontal de genes

La mayoría de la resistencia adquirida a los antibióticos se propaga mediante la transferencia horizontal o lateral de genes entre bacterias, a menudo debido a la naturaleza polimicrobiana de las infecciones y la proximidad de patógenos. La transferencia lateral de genes puede ocurrir de tres maneras:

a) captación de ADN ambiental o transformación;

La transformación de ADN libre o "naked" implica que el ADN es tomado por otras células tanto en condiciones in vitro como del entorno. La transformación natural de ADN requiere un proceso sofisticado que incluye sistemas de secreción de tipo II y tipo IV (T2SS y T4SS), así como pili de tipo IV, mediante los cuales las bacterias toman el ADN desde la superficie hacia el citoplasma a través de un canal altamente conservado en la membrana citoplasmática (49).

b) infección por bacteriófagos o transducción;

En este proceso, se requiere un bacteriófago (un virus) para transferir el ADN entre bacterias, como el *Staphylococcus aureus*. Los bacteriófagos utilizan las células bacterianas para su replicación. Durante este procedimiento, fragmentos de ADN bacteriano (la secuencia de resistencia) pueden introducirse en uno de los bacteriófagos. Además, el bacteriófago portador inyectará su contenido de ADN en otra bacteria para su posterior replicación. De este modo, la secuencia de resistencia puede recombinarse con el ADN de la bacteria y volverse resistente (50).

c) recombinación/intercambio de plásmidos o conjugación

En este proceso, los genes se transfieren horizontalmente a las células receptoras mediante T4SSs (el transferosoma). Además, el inicio de la conjugación requiere un complejo de unión de ADN en el sitio de transferencia de ADN (el relaxosoma) y una conexión (proteína de acoplamiento) para unir estos dos complejos juntos. Como resultado, se produce el intercambio de elementos conjugativos (como plásmidos y transposones) entre las células donantes y receptoras (51).

No obstante la THG resulta ser un mecanismo muy efectivo para la movilización de genes de resistencia, dicho traslado de material genético no ocurre sin un costo evolutivo (52).

Para minimizar este costo evolutivo, las bacterias han desarrollado varias estrategias genéticas como plásmidos, transposones, conglomerados de genes y operones. Aunque todas estas estrategias representan complejidades al tratar la resistencia a los antibióticos, la combinación de un operón o conglomerado rodeado de elementos genéticos móviles es quizás la más ominosa, ya que permite que los elementos genéticos que confieren resistencia a los antibióticos se muevan como un bloque inalterado (53).

La capacidad de intercambiar material genético entre especies podría explicar no solo la transferencia de resistencia a los antibióticos, sino también la expansión de la resistencia más allá de un solo medicamento. La resistencia de alto nivel a menudo produce resistencia de bajo nivel a un antibiótico de la misma clase como subproducto (54).

1.4 Mecanismos de resistencia a los antibióticos

1.4.1 Inactivación de antibióticos

La inactivación de antibióticos es un proceso basado en enzimas en el que la molécula de antibiótico activa quedará inactiva gracias a las enzimas producidas

por las células bacterianas resistentes. Las estrategias para desactivar las moléculas de antibióticos incluyen la hidrólisis, la transferencia de grupos y el proceso redox. Uno de los ejemplos bien estudiados de inactivación por hidrólisis es la destrucción del anillo β -lactámico de penicilina, cefalosporina y carbapenem por bacterias que producen β -lactamasa, como *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Enterobacter spp.* y enzimas como la aciltransferasa, las fosfotransferasas y las tioltransferasas. El proceso redox es una inactivación mediante oxidación o reducción de una molécula de fármaco. Sin embargo, esta vía no se encuentra a menudo en la práctica médica en comparación con la hidrólisis y los mecanismos de transferencia de grupo (55)

1.4.2 Disminución de la permeabilidad de la membrana

Como la mayoría de los antibióticos en la práctica clínica tienen objetivos intracelulares, las bacterias han evolucionado para limitar la penetración de los antibióticos mediante una menor permeabilidad de la membrana celular (42)

La penetración de fármacos hidrófilos depende de los canales de porina y se ha informado que la penetración a través de porina micobacteriana resulta ser más lenta ya que existe en una concentración baja. Por lo tanto, la pared celular de las micobacterias crea una barrera de permeabilidad a los antibióticos que conduce a una resistencia natural a una variedad de antibióticos. Se ha informado que la actividad de las moléculas hidrófilas (es decir, isoniazida) podría mejorarse modificándolas químicamente para convertirlas en un compuesto lipófilo para mejorar la permeación del antibiótico a través de la membrana bicapa lipídica. (42)

1.4.3 Activación de la bomba de eflujo

La modificación del objetivo del antibiótico es un mecanismo común mediante el cual las bacterias desarrollan resistencia a los antibióticos. Los cambios en la disposición y/o cantidad de las proteínas de unión a penicilina (PBPs, por sus siglas en inglés) son uno de los mecanismos de resistencia hacia los fármacos de tipo β -lactámico. La cantidad de fármaco que puede unirse al objetivo se ve afectada por

cambios en el número de PBPs. Una alteración estructural, como el desarrollo del gen *mecA* en *S. aureus*, reducirá o impedirá completamente la unión del fármaco. Otro ejemplo es la familia de genes de la metilasa de ribosomas de eritromicina (*erm*), que metila el ARNr 16S y modifica el sitio de unión del fármaco, bloqueando la unión de macrólidos, estreptograminas y lincosaminas. La resistencia a fármacos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos, como las fluoroquinolonas, está mediada por cambios en la ADN girasa o topoisomerasa IV. Estas mutaciones alteran la composición de la girasa y la topoisomerasa, disminuyendo o excluyendo la capacidad del fármaco de unirse a estos componentes (56).

1.4.4 Modificación de la molécula blanco

Las bacterias producen proteínas alternativas para adoptar el papel de proteína nativa que permite a las células ganar resistencia a un antibiótico. El gen *mecA* codifica una nueva proteína fijadora de penicilina (PBP), PBP-2A, que permite la resistencia a la meticilina en *S. aureus*. Tras la exposición a la meticilina, las PBP de alta afinidad fueron desplazadas hacia abajo mientras que la PBP-2A de baja afinidad asume el papel de estas PBP para que las bacterias se propaguen. El *mecA* también contiene estructuras genéticas, como Tn554, pUB110 y pT181, que están codificadas para la resistencia a antibióticos no β -lactámicos. Aunque se han investigado antibióticos con alta afinidad por PBP-2a para el tratamiento de MRSA, ninguno ha llegado al ensayo clínico. (42)

1.5 Métodos para evaluar la susceptibilidad *in vitro*: el antibiograma o prueba de difusión en disco

Los laboratorios clínicos emplean una variedad de métodos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana para determinar la eficacia de agentes antimicrobianos contra aislamientos bacterianos clínicos. Estos métodos de prueba han sido estandarizados para proporcionar resultados reproducibles, ya sean cualitativos y/o cuantitativos. Los resultados cualitativos se expresan como susceptible (S), intermedio (I) o resistente (R). Los resultados cuantitativos se

expresan como valores de concentración mínima inhibitoria (CMI, mg/mL), acompañados por una designación de S, I o R en el informe de laboratorio (6).

El propósito del antibiograma es evaluar en el laboratorio cómo responde un microorganismo a uno o más antimicrobianos y, en una primera aproximación, interpretar su resultado como un indicador de la eficacia clínica. Las primeras pruebas de sensibilidad se llevaron a cabo en la década de 1920, coincidiendo con el descubrimiento de los antimicrobianos. Sin embargo, las pruebas basadas en la difusión o el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) no se generalizaron hasta la década de 1960 (57).

Más tarde, se identificaron diversas variables que afectaban los resultados, y en las décadas de 1970 y 1980 se establecieron normas para las condiciones bajo las cuales se debían realizar los antibiogramas, con el fin de garantizar su reproducibilidad. Durante este período, también se debatieron los criterios para interpretar los resultados, centrándose principalmente en el análisis de las poblaciones microbianas en relación con los valores de la CMI de los antimicrobianos, su conexión con los mecanismos de resistencia, la farmacocinética de los antimicrobianos (especialmente en el compartimento sérico) y la correlación entre el valor de la CMI y el éxito o fracaso terapéutico potencial (58).

Anualmente, se publican pautas por parte del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) para el rendimiento e interpretación de las pruebas de difusión en disco. Los laboratorios clínicos deben utilizar uno de los métodos de referencia de CLSI o un sistema de prueba comercial que haya sido autorizado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para evaluar aislamientos clínicos (59). La autorización de la FDA indica que los resultados obtenidos con el sistema de prueba comercial han demostrado ser comparables a los generados por un método de referencia de CLSI. Todos los sistemas comerciales para pruebas de susceptibilidad requieren una configuración o paso de inoculación manual, con lectura e interpretación manuales o automáticas (6).

Igualmente, varios grupos han empleado distintas definiciones para las categorías clínicas que aparecen en los informes de sensibilidad. Hasta hace unos pocos años,

la International Organization for Standardization redefinió estas categorías con el propósito de eliminar la confusión existente hasta ese momento, especialmente en relación con la categoría intermedia. Estas categorías ahora se definen en función de la probabilidad de éxito o fracaso en el tratamiento (57):

- Sensible: Cuando una cepa bacteriana no es inhibida in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de éxito terapéutico.
- Intermedio: Cuando una cepa bacteriana no es inhibida in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- Resistente: Cuando una cepa bacteriana no es inhibida in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico.

La interpretación de un antibiograma es mucho más que la categorización de la susceptibilidad y representa un intento de interpretación fenotípica de los mecanismos de resistencia exhibidos por los microorganismos aislados en la práctica clínica. La correlación entre los datos obtenidos in vitro (CMI o zona de inhibición) y la eficacia clínica real del medicamento depende de un conjunto complejo de factores, incluyendo el sitio de la infección y la capacidad de ese medicamento para alcanzar las concentraciones apropiadas en el sitio objetivo. La dosis y la entrega efectiva del medicamento también son obviamente importantes en términos de farmacocinética y farmacodinámica (60).

La lectura y comprensión de un antibiograma, y por lo tanto su interpretación, se basa en el reconocimiento de los posibles mecanismos en la base de la resistencia, que pueden extenderse a medicamentos no probados o que llevan al cambio de categoría obtenido in vitro (como, por ejemplo, la presencia de estafilococos resistentes a la oxacilina determina resistencia a todos los beta-lactámicos, excepto ceftarolina y ceftobiprol).

Para usar correctamente los antibióticos, se deben considerar las características de la actividad microbiológica (susceptibilidad del microorganismo), así como las

características farmacocinéticas y farmacodinámicas, incluso simplemente la penetración del antibiótico en el sitio de la infección (57).

En la interpretación del antibiograma, es crucial procesar la información en función de los fenotipos obtenidos, con el objetivo final de detectar el mecanismo de resistencia. El fenotipo de sensibilidad o resistencia se define como el conjunto de datos obtenidos en el antibiograma para antibióticos de la misma familia o relacionados por mecanismos de actuación comunes o mecanismos de resistencia compartidos (61).

Los fenotipos se clasifican en habituales, raros e imposibles. Los fenotipos habituales recopilan los aislamientos con mecanismos de resistencia cuya presencia es epidemiológicamente normal en el medio donde se realiza el estudio de sensibilidad. Como ejemplo clásico, incluiríamos la resistencia a la penicilina, la sensibilidad a la oxacilina en *S. aureus* por producción de penicilinasa y la resistencia al ácido nalidíxico en las enterobacterias por alteración de la subunidad GyrA de la topoisomerasa II (57).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La creciente resistencia a antibióticos y la prevalencia de MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina) en la actualidad plantean un desafío significativo para la salud zoonositaria. Esta problemática adquiere relevancia ya que la resistencia antibiótica obstaculiza la eficacia de los tratamientos contra enfermedades causadas por microorganismos, tanto en seres humanos como en animales, reduciendo así las opciones terapéuticas disponibles. La amenaza de la falta de tratamientos efectivos para combatir estas infecciones no solo impacta la salud individual, sino que también tiene implicaciones más amplias para la salud pública y la salud animal, haciendo imperativo abordar de manera integral y urgente este problema creciente.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, el uso indiscriminado de antibióticos en la medicina ha adquirido relevancia a nivel mundial, generando un aumento alarmante en la resistencia bacteriana tanto en animales como en humanos. Esta situación es motivo de gran preocupación, ya que las enfermedades emergentes y reemergentes podrían convertirse en un problema zoonosario de envergadura, con escasas opciones terapéuticas efectivas y numerosas limitaciones.

Staphylococcus aureus, una bacteria oportunista, ocasiona enfermedades significativas tanto en humanos como en equinos. Dada su presencia en la microbiota normal, existe el riesgo de que esta bacteria se convierta en una "superbacteria". La transmisión zoonótica o viceversa podría llevar a enfermedades potencialmente mortales, exacerbadas por la falta de antibióticos efectivos. El genotipo de resistencia a la metilina en la microbiota equina representa un peligro, ya que al multiplicarse, las enfermedades que causa podrían volverse letales debido a la resistencia a antibióticos comunes, como los de la familia de betalactámicos.

Es fundamental comprender el comportamiento fenotípico de *Staphylococcus aureus* mediante pruebas de susceptibilidad bacteriana de discos. Estas pruebas ofrecen una visión clara de la resistencia actual de la bacteria a los antibióticos, permitiendo evaluar su nivel de resistencia y determinar si forma parte de la microbiota normal de los equinos en la actualidad.

En el contexto de México y del estado de Puebla, conocer el estado de resistencia de *Staphylococcus aureus* proporciona un punto de referencia importante. Este conocimiento no solo puede servir como fuente de consulta para comparaciones internacionales, sino también como base para evaluar mejoras o retrocesos en la resistencia a los antibióticos en el futuro. Establecer el panorama actual nos brinda la oportunidad de proponer opciones para abordar la resistencia resultante,

asegurando la salud y el bienestar equino y, por ende, la salud pública en humanos. Este enfoque proactivo no solo es esencial para abordar la problemática actual, sino que también sienta las bases para un cuidado continuo y sostenible de la salud equina y humana.

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en microbiota de equinos del estado de Puebla

4.1 Objetivos específicos

- 1) Realizar el aislamiento de *Staphylococcus aureus* a partir de muestras de equinos en el estado de Puebla
- 2) Identificar *Staphylococcus aureus* por medio de morfología macroscópica, microscópica y pruebas bioquímicas
- 3) Evaluar la susceptibilidad *in vitro* por medio de la prueba de difusión en disco e identificar el fenotipo MRSA

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Realizar el aislamiento de *Staphylococcus aureus* a partir de muestras de equinos en el estado de Puebla

El diseño del estudio fue transversal de prevalencia, y se llevó a cabo en el periodo comprendido entre el mes de febrero-mayo del año 2023 en la ciudad de Puebla y Tecamachalco, Puebla. Inicialmente se realizó el examen físico general de cada paciente (estado anímico, estado de alerta, estado nutricional de la escala 1-5, tiempo de relleno capilar, mucosas) así como el TPR (temperatura, pulso y respiración). La toma de muestra consistió en realizar hisopado nasal con hisopos esterilizados en equinos sanos, para el aislamiento de la bacteria *Staphylococcus aureus* en ranchos de la ciudad de Tecamachalco, Puebla y la ciudad de Puebla. Posteriormente, las muestras obtenidas, se trasladaron en hieleras al laboratorio en un lapso menor a una hora, se sembraron en cajas de Petri con agar sal manitol (a las cuales se le adiciono 0.2 ml de ceftriaxona en total), por medio de estría cruzada y se incubaron por 24 hrs en la estufa microbiológica, para su óptimo crecimiento.

5.2 Identificar *Staphylococcus aureus* por medio de morfología macroscópica, microscópica y pruebas bioquímicas

Se realizó la identificación de *Staphylococcus aureus* por medio de método macroscópico y microscópico. El método macroscópico consistió en identificación de la morfología de colonias (las cuales fueron de color amarillo) y el método microscópico consistió en la realización de tinción de Gram (con ayuda del asa bacteriológica, se seleccionó una colonia y se colocó en un porta objetos al cual se le añadió una gota de agua destilada, se mezcla para la preparación del frotis y se le añaden los reactivos para su posterior observación de los cocos gram positivos en el microscopio) prueba de catalasa (en un portaobjetos se colocó una gota de agua oxigenada e igualmente con la ayuda del asa bacteriológica se seleccionó una colonia para mezclarse y observar la reacción positiva de la colonia con el agua oxigenada mediante la formación de burbujas) y prueba de coagulasa. En un portaobjeto, se coloca una gota de solución salina y una gota de plasma de forma

separada, posteriormente se toma con el asa bacteriológica de platino 1 o 2 colonias puras del microorganismo, se mezcla la carga bacteriana en la gota de plasma y se repite la operación en la gota de SSF. Finalmente se observan los resultados de forma inmediata. Un resultado positivo será aquel donde se observe la formación de un aglutinado macroscópico (precipitado blanco) al cabo de un minuto del lado de la gota con plasma. La gota de SSF sirve de control negativo, si se observa aglutinación con la SSF, esto quiere decir que el microorganismo se auto aglutina, pudiendo proporcionar resultados falsos positivos. En este caso se debe corroborar con la prueba en tubo.

5.3 Evaluar la susceptibilidad in vitro y la presencia del fenotipo MRSA por medio de difusión en disco

las muestras identificadas y confirmadas como *staphylococcus aureus*, se sembraron en medio TSA y se incubaron por 24 hrs en la estufa bacteriológica para posteriormente se prepararon inóculos, utilizando tubos con agua destilada estéril a los cuáles se le agregaron colonias seleccionadas para igualarlo con la turbidez del estándar de 0.5 de McFarlan (1×10^8 células por ml). Y estos inóculos se sembraron en placas de medio Mueller Hilton con ayuda de un hisopo estéril, por medio de estriado masivo y así, posteriormente realizarse la prueba de susceptibilidad por medio de discos de difusión con antibiótico (antibiograma): Eritromicina (30 μ), sulfametaxol/trimetripin (25 μ), clindamicina (10 μ) y cefoxitima. (30 μ) vancomicina (30 μ) ciprofloxacino (10 μ) y amikacina (30 μ).

Finalmente, se realizó la lectura de los antibiogramas para confirmar y registrar cada uno de los resultados obtenidos para *staphylococcus aureus* resistente a meticiclina, mediante la susceptibilidad del antibiótico principal en cuestión (cefoxitima).

6. RESULTADOS

De 40 muestras de pacientes equinos en total, un 75% (30/40) arrojó un aislamiento positivo a *Staphylococcus aureus*. En la tabla 1 se muestran las características de los pacientes incluidos en este estudio. De estas, se obtuvo un 53.3% (16/30) de cepas positivas al fenotipo MRSA. El perfil de resistencia de las cepas de *S. aureus* de acuerdo con la prueba fenotípica de susceptibilidad *in vitro* fue el siguiente: se encontró un 60% (18/30) de resistencia a clindamicina y un 36.7% (11/30) de resistencia a eritromicina, 100% (30/30) mostraron sensibilidad a la vancomicina, así como a la amikacina, y un 90% (27/30) fueron sensibles a la ciprofloxacina (Figura 1).

Con respecto al perfil de sensibilidad de las cepas con fenotipo MRSA se obtuvo un 100% (16/16) de las cepas mostraron resistencia a la cefoxina (recordando que la resistencia a este antibiótico en *S. aureus* es predictivo de la presencia del gen *mecA*, y por lo tanto de la resistencia a meticilina), para la eritromicina se obtuvo un 31.2% (5/16) de resistencia; para la clindamicina se encontró un 75% (12/16) de resistencia; con el trimetoprima/sulfametoxazol se encontró un 18.7% (3/16) de resistencia al igual que para el ciprofloxacino; y para la vancomicina y amikacina se halló un 100% (16/16) de sensibilidad (Figura 2). En la figura 3 se registró un comparativo entre los perfiles de resistencia entre las cepas MRSA y no MRSA, observándose en lo general mayor resistencia a las familias de antibióticos probadas por parte de las cepas MRSA.

Se registró, además, la posible presencia de cepas MDR tanto en las muestras positivas a MRSA como en las no MRSA (Figura 4). Se halló que el 37.5% (6/16) cepas MRSA mostraron un perfil de MDR o multirresistencia, no encontrándose ningún aislamiento no MRSA con perfil de multirresistencia.

Caballo	Edad	Raza	Sexo	Color	Fin zootécnico	Castrado
1	5 años	Cuarto de milla	M	Alazán	Charrería	Sí
2	10 años	Cuarto de milla	M	Palomino	Charrería	Sí
3	15 años	Cuarto de milla	M	Alazán	Charrería	Sí
4	8 años	Cuarto de milla	M	Pinto	Charrería	Sí
5	10 años	Cuarto de milla	M	Tinto	Charrería	Sí
6	5 años	Cuarto de milla	M	Colorado	Charrería	Sí
7	9 años	Cuarto de milla	M	Pinto	Charrería	Sí
8	5 años	Cuarto de milla	M	Palomino	Charrería	Sí
9	12 años	Cuarto de milla	M	Alazán	Charrería	No
10	6 años	Cuarto de milla	H	Alazán	Charrería	No
11	11 años	Cuarto de milla	H	Rosillo	Charrería	No
12	5 años	Cuarto de milla	H	Moro	Charrería	No
13	7 años	Cuarto de milla	H	Bayo	Charrería	No
14	8 años	Cuarto de milla	H	Palomino	Charrería	No
15	4 años	Cuarto de milla	H	Bayo lobo	Charrería	No
16	6 años	Cuarto de milla	H	Bayo	Charrería	No
17	10 años	Cuarto de milla	H	Palomino	Charrería	No
18	4 años	Cuarto de milla	M	Retinto	Charrería	No
19	7 años	Cuarto de milla	M	Retinto	Charrería	No
20	13 años	Cuarto de milla	M	Colorado	Charrería	No
21	8 años	Cuarto de milla	M	Alazán	Charrería	No

22	2 años	Frisón	H	Negro	Baile	No
23	5 años	Frisón	M	Negro	Baile	No
24	9 años	Español	H	Tordillo	Cría	No
25	5 años	Frisón	H	Negro	Cría	No
26	7 años	Shetland	M	Alazán	Cría	No
27	8 años	Shetland	M	Pinto	Cría	No
28	9 años	Cuarto de milla	M	Alazán	Charrería	Sí
29	16 años	Cuarto de milla	M	Rosillo	Charrería	Sí
30	5 años	Cuarto de milla	M	Pinto	Charrería	No
31	6 años	Cuarto de milla	H	Negro	Cría	No
32	4 años	Cuarto de milla	M	Palomino	Charrería	No
33	5 años	Cuarto de milla	H	Retinta	Charrería	No
34	6 años	Española	H	Tordilla	Charrería	No
35	5 años	Cuarto de milla	M	Bayo	Charrería	Sí
36	9 años	Cuarto de milla	H	Pinta	Charrería	No
37	4 años	Cuarto de milla	H	Palomina	Charrería	No
38	2 años	Cuarto de milla	M	Retinto	Charrería	Sí
39	2 años	Cuarto de milla	M	Pinto	Charrería	No
40	1 año 8 meses	Cuarto de milla	M	Palomino	Charrería	No
41	3 años 1/2	Cuarto de milla	M	Pinto	Charrería	No
42	6 años	Cuarto de milla	M	Colorado	Charrería	Sí
43	4 años	Cuarto de milla	M	Prieto	Charrería	No

Tabla 1. Registro de los datos de equinos [hembras(H) y machos(M)] a los cuales se les tomaron las muestras de hisopado nasal en los diferentes ranchos de la ciudad de Puebla y la ciudad de Tecamachalco, Puebla para este estudio.

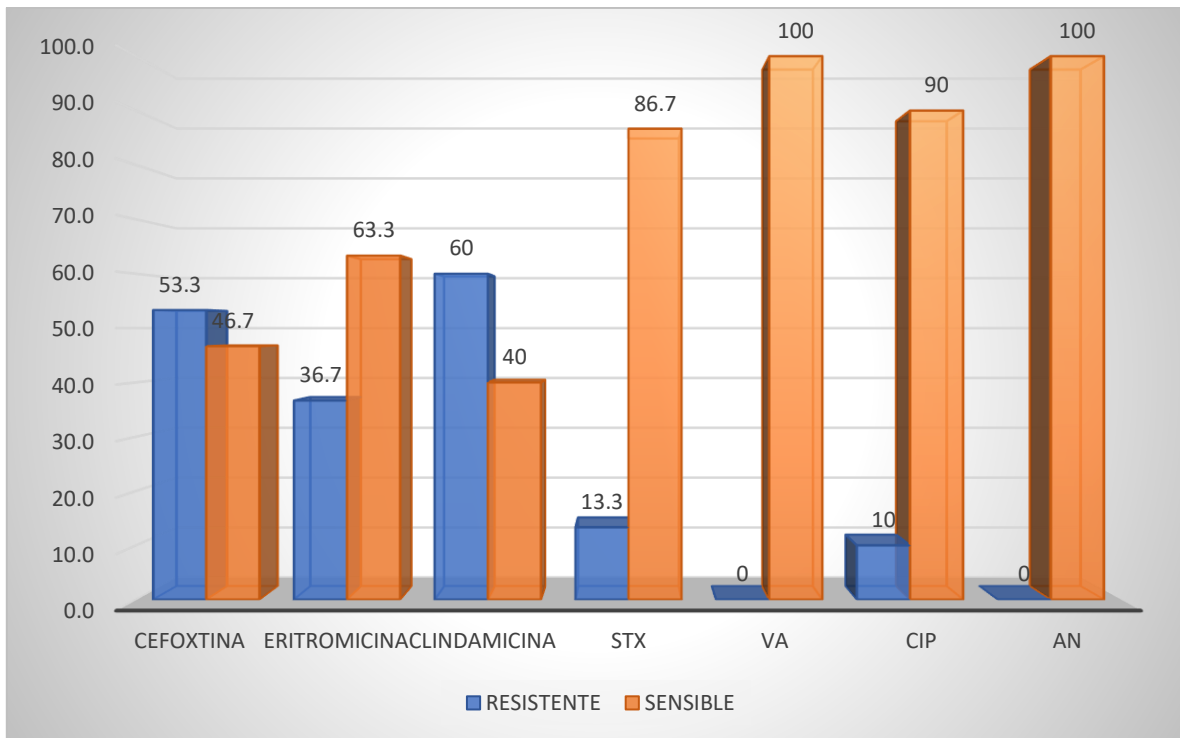


Figura 1. Perfil de susceptibilidad in vitro de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes equinos contra 7 antibióticos. Amikacina (AN), Ciprofloxacino (CIP), Vancomicina (VA), Sulfametoxazol/trimetoprima (STX), Clindamicina (CC), Eritromicina (E) y Cefoxitina (FOX)

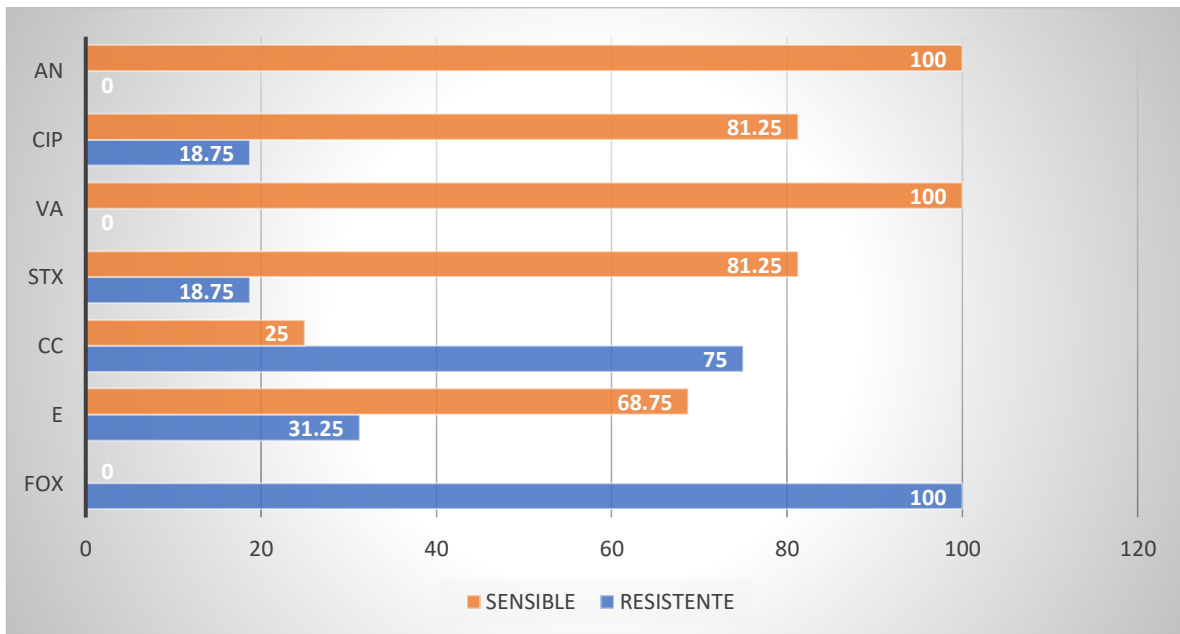


Figura 2. Perfil de susceptibilidad in vitro de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aisladas de pacientes equinos contra 7 antibióticos. Amikacina (AN), Ciprofloxacino (CIP), Vancomicina (VA), Sulfametoxazol/trimetoprima (STX), Clindamicina (CC), Eritromicina (E) y Cefoxitina (FOX)

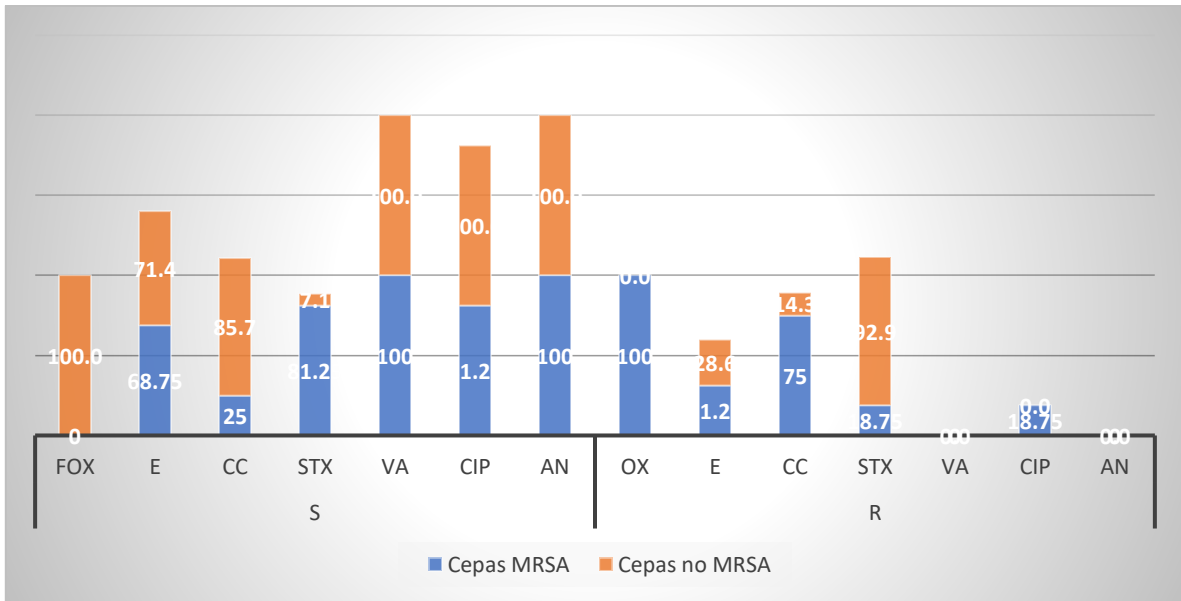


Figura 3. Porcentajes de resistencia de susceptibilidad de las cepas MRSA y no MRSA aisladas de pacientes equinos a 7 antibióticos representativos de 6 familias: Amikacina (AN), Ciprofloxacino (CIP), Vancomicina (VA), Sulfametoazol/trimetoprima (STX), Clindamicina (CC), Eritromicina (E) y Cefoxitina (FOX)

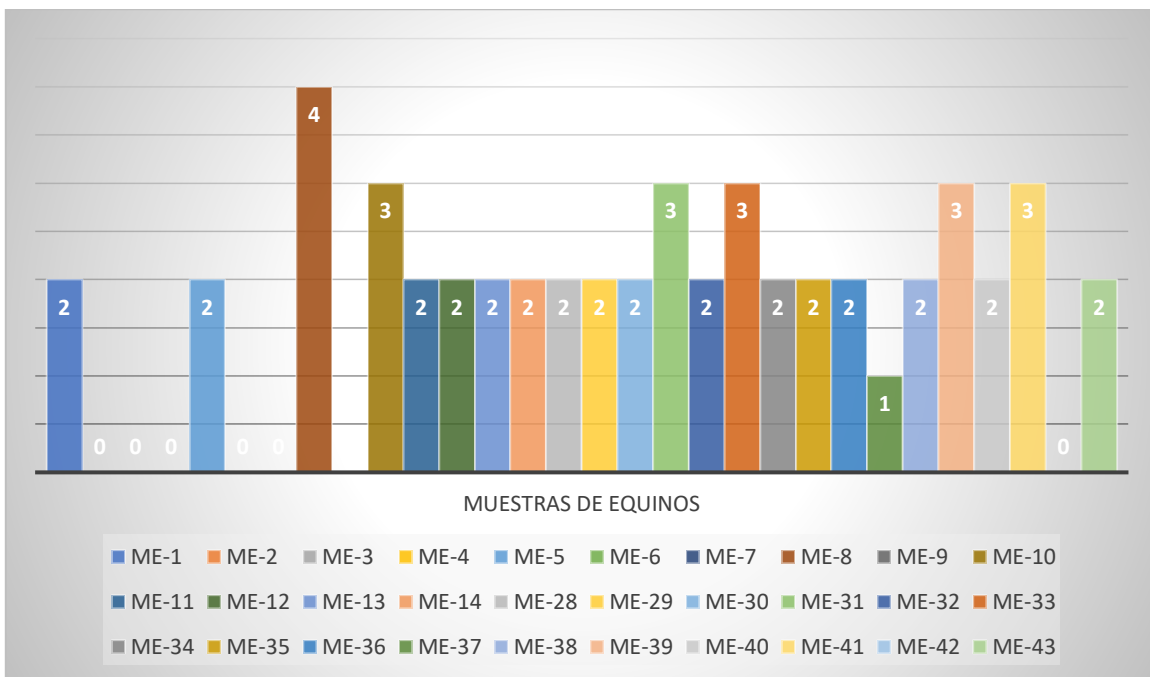


Figura 4. Número de familias de los antibióticos a las que fueron resistentes cada una de las muestras de equinos (ME) tomadas que resultaron positivas a *Staphylococcus aureus*.

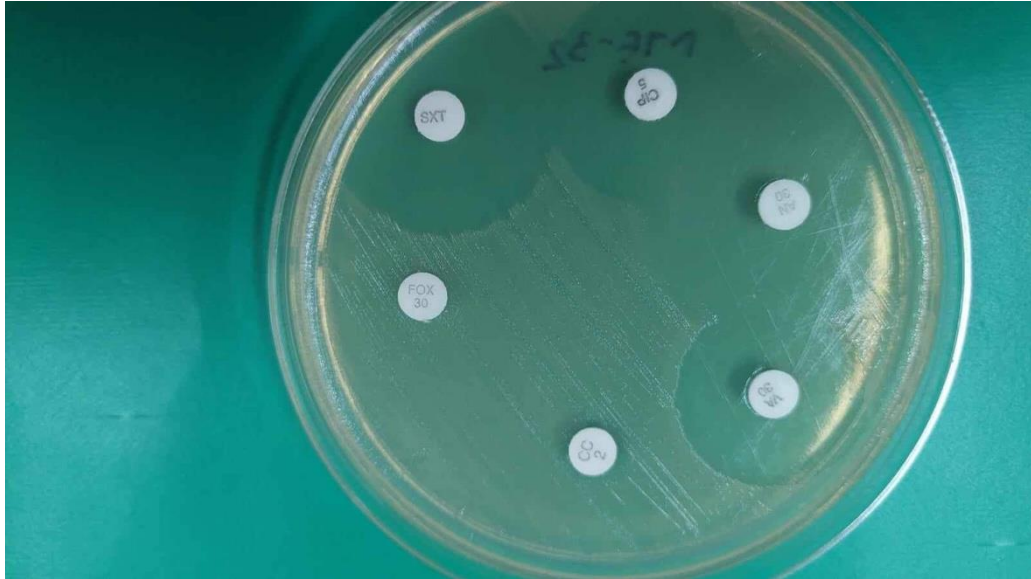


Figura 5. Antibiograma con sensidiscos de antibióticos: Amikacina (AN), Ciprofloxacino (CIP), Vancomicina (VA), Sulfametoxazol/trimetoprima (STX), Clindamicina (CC) y Cefoxitina (FOX), donde se muestra resistencia a CC y FOX.



Figura 6. Antibiograma con sensidiscos de antibióticos: Amikacina (AN), Vancomicina (VA), Sulfametoxazol/trimetoprima (STX), Clindamicina (CC) y Cefoxitina (FOX), donde se muestra resistencia a CC y FOX.



Figura 7. Antibiograma con sensidiscos de antibióticos: Amikacina (AN), Vancomicina (VA), Sulfametoxazol/trimetoprima (STX), Clindamicina (CC), Ciprofloxacino (CIP) y Cefoxitina (FOX), donde se muestra resistencia a CC y FOX.



Figura 8. Cultivo de *Staphylococcus aureus* en agar Sal manitol.

7. DISCUSIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), MRSA se ha convertido en una amenaza significativa y seria, dentro de la lista que estos organismos tienen de microorganismos prioritarios. MRSA fue responsable de más de 100,000 muertes en 2019, según una investigación detallada recientemente publicada en el informe de Lancet (62). En este trabajo se evaluó la presencia de MRSA en la microbiota de equinos del estado de Puebla. Es particularmente destacable que un 53.3% de las cepas positivas exhibieron el fenotipo MRSA, indicando una resistencia a meticilina. Este dato es relevante, ya que la resistencia a meticilina está asociada con la presencia del gen *mecA*, lo que confiere a las cepas una resistencia significativa a varios antibióticos beta-lactámicos. Este porcentaje difiere con el encontrado por Bergstrom y colaboradores, donde se reportó solo un 11% de cepas positivas a MRSA (63). También difiere de los resultados reportados por van Balen, que informó un 5.8% de caballos con MRSA (64). En Bélgica, un trabajo similar buscó en 189 caballos a MRSA, encontrándolo solo en 1 (0.53%) (65).

Sobre el fenotipo de resistencia de las cepas MRSA halladas en esta investigación el número de cepas MRSA obtenido en el presente trabajo en general es mayor comparado con trabajos similares, donde los valores oscilan desde el 1 al 30%. El sitio anatómico de toma de muestra (piel vs nariz vs heridas), el medio ambiente donde se encuentran los animales (ambiente intrahospitalario vs rancho o vivienda) y la frecuencia del contacto con el humano, son factores por considerar para las variaciones en los porcentajes de aislamiento de MRSA, y tales factores se deben tomar en cuenta adicionalmente para refinar los protocolos de muestreo y monitoreo. Sin embargo, se ha demostrado que el sitio anatómico más sensible o propicio para un muestreo de MRSA en equinos sigue siendo las fosas nasales, si bien se recomienda el muestreo de múltiples sitios para aumentar la sensibilidad en el cribado de MRSA en humanos (67). Ahora bien, después de haber definido un sitio anatómico sensible para el muestreo de MRSA en caballos, es importante tener en cuenta que el cultivo no identificará a todos los portadores, ya que algunos

pueden arrojar resultados falsos negativos. El muestreo repetido aumentará, en ese caso, la sensibilidad.

Por otra parte, los porcentajes de resistencia a otras familias de antibióticos también se mostraron por encima de la media de estudios similares, aunque menores al trabajo de Peterson, donde todos los aislamientos positivos a MRSA (obtuvo un 71% de positivos) fueron resistentes a tetraciclina, eritromicina, trimetoprim/sulfametoxazol, penicilina y gentamicina (68).

Existen varias formas en las que el MRSA puede transmitirse entre humanos y animales. Se enumeran como contaminación ambiental, contacto directo y manipulación o consumo de carne contaminada. Los caballos que están colonizados por MRSA son una fuente potencial de transmisión para los humanos que trabajan en estrecho contacto con ellos, tal como lo demuestra el trabajo de Waqar y colaboradores, donde tomo muestras de equinos y humanos, encontrando un porcentaje importante del 54% (81/150) de muestras positivas a MRSA en equinos y el 24% (6/25) en humanos (69).

Este es uno de los primeros trabajos que describe la presencia de MRSA en caballos del estado de Puebla. Es esencial tener datos precisos sobre los perfiles de resistencia locales que permitan realizar modificaciones o ajustes a las terapéuticas ya establecidas contra las infecciones producidas por *S. aureus* y su variante MRSA. Se debe tomar en cuenta que una variante con potencial zoonótico como MRSA representa siempre una amenaza en la salud pública y es necesario adquirir la mayor cantidad de información con respecto a su diseminación para establecer posibles estrategias de control y prevención.

8. CONCLUSIONES

La resistencia a los antibióticos es un tema de relevancia y preocupación mundial, ya que afecta la salud humana y animal, llevándonos a muchas limitantes y pocas opciones terapéuticas en enfermedades sobre todo zoonóticas, o en las que se comparte con los animales, bacterias de microbiota normal. Pudiendo así resultar hasta la muerte y MRSA es una de las preocupaciones actuales en este ámbito, ya que el 53.3% resultante positivo a MRSA en este estudio, es más alto aquí en México. comparado con otros países, teniendo en cuenta que el tiempo de estudio y la cantidad de muestras en comparación con otros países, es menor, lo que podría indicar un mayor porcentaje resultante en mayores muestras de estudio y por un monitoreo de tiempo largo. Sin embargo, aún tenemos opciones terapéuticas para tratar la MRSA, pero no podemos olvidarnos de mantener un cierto cuidado para evitar una resistencia antimicrobiana mayor. Finalmente, se debe considerar el papel de los animales domésticos como un reservorio de MRSA para su diseminación hacia el humano y otros animales, por lo que es crucial mejorar y estandarizar los mecanismos de monitoreo, su implementación y seguimiento.

9. REFERENCIAS

1. Moore-Lotridge SN, Bennett MR, Moran CP, Schoenecker JG, Thomsen IP. MRSA and Virulent MSSA Infections. En: Belthur MV, Ranade AS, Herman MJ, Fernandes JA, editores. Pediatric Musculoskeletal Infections [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022 [citado 26 de octubre de 2023]. p. 95-107. Disponible en: https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-95794-0_6
2. Khatoon A, Hussain SF, Shahid SM, Sidhwani SK, Khan SA, Shaikh OA, et al. Emerging novel sequence types of *Staphylococcus aureus* in Pakistan. J Infect Public Health. enero de 2024;17(1):51-9.
3. Mason E, Nsonwu O, Elmes J, Chudasama D, Pearson C, Hasan L, et al. Increased rates of hospital-onset *Staphylococcus aureus* bacteraemia in National Health Service acute trusts in England between June 2020 and March 2021: a national surveillance review. J Hosp Infect. enero de 2024;143:33-7.
4. Abdullahi IN, Lozano C, Saidenberg ABS, Latorre-Fernández J, Zarazaga M, Torres C. Comparative review of the nasal carriage and genetic characteristics of *Staphylococcus aureus* in healthy livestock: Insight into zoonotic and anthroponotic clones. Infect Genet Evol. abril de 2023;109:105408.
5. Busche T, Hillion M, Van Loi V, Berg D, Walther B, Semmler T, et al. Comparative Secretome Analyses of Human and Zoonotic *Staphylococcus aureus* Isolates CC8, CC22, and CC398. Mol Cell Proteomics. diciembre de 2018;17(12):2412-33.
6. Horvat RT. Review of Antibigram Preparation and Susceptibility Testing Systems. Hosp Pharm. noviembre de 2010;45(11_suppl):6-9.
7. Szumowski JD, Cohen DE, Kanaya F, Mayer KH. Treatment and Outcomes of Infections by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at an Ambulatory Clinic. Antimicrob Agents Chemother. febrero de 2007;51(2):423-8.

8. Khan A, Wilson B, Gould IM. Current and future treatment options for community-associated MRSA infection. *Expert Opin Pharmacother*. 24 de marzo de 2018;19(5):457-70.
9. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Adults and Children. *Clin Infect Dis*. 1 de febrero de 2011;52(3):e18-55.
10. Haag AF, Fitzgerald JR, Penadés JR. *Staphylococcus aureus* in Animals. En: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Braunstein M, Rood JI, editores. *Gram-Positive Pathogens* [Internet]. Washington, DC, USA: ASM Press; 2019 [citado 27 de octubre de 2023]. p. 731-46. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781683670131.ch46>
11. Shoen HRC, Rose SJ, Ramsey SA, De Morais H, Bermudez LE. Analysis of *Staphylococcus* infections in a veterinary teaching hospital from 2012 to 2015. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. octubre de 2019;66:101332.
12. Park JY, Seo KS. *Staphylococcus aureus*. En: Doyle MP, Diez-Gonzalez F, Hill C, editores. *Food Microbiology* [Internet]. Washington, DC, USA: ASM Press; 2019 [citado 23 de noviembre de 2023]. p. 555-84. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555819972.ch21>
13. Singh A, Singh K, Sharma A, Kaur J, Kaur R, Kaur J, et al. Rational utilization of 1,2,3-triazole scaffold in anti-MRSA drug development: Design strategies, structural insights and pharmacological outcomes. *J Mol Struct*. enero de 2024;1295:136557.
14. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. octubre de 2018;31(4):e00020-18.
15. Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12:3-8.

16. Lindsay JA, Holden MTG. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? *Trends Microbiol.* agosto de 2004;12(8):378-85.
17. Peton V, Le Loir Y. *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infect Genet Evol.* enero de 2014;21:602-15.
18. Togneri AM, Podestá LB, Pérez MP, Santiso GM. Estudio de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en un hospital general de agudos (2002-2013). *Rev Argent Microbiol.* enero de 2017;49(1):24-31.
19. Zhang X, Hu X, Rao X. Apoptosis induced by *Staphylococcus aureus* toxins. *Microbiol Res.* diciembre de 2017;205:19-24.
20. Otto M. *Staphylococcus aureus* toxins. *Curr Opin Microbiol.* febrero de 2014;17:32-7.
21. Hu Q, Cheng H, Yuan W, Zeng F, Shang W, Tang D, et al. Panton-Valentine Leukocidin (PVL)-Positive Health Care-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Are Associated with Skin and Soft Tissue Infections and Colonized Mainly by Infective PVL-Encoding Bacteriophages. Forbes BA, editor. *J Clin Microbiol.* enero de 2015;53(1):67-72.
22. Von Hoven G, Qin Q, Neukirch C, Husmann M, Hellmann N. *Staphylococcus aureus* α -toxin: small pore, large consequences. *Biol Chem.* 25 de octubre de 2019;400(10):1261-76.
23. Algammal AM, Hetta HF, Elkelish A, Alkhalifah DHH, Hozzein WN, Batiha GES, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): One Health Perspective Approach to the Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, and Zoonotic Impact. *Infect Drug Resist.* septiembre de 2020;Volume 13:3255-65.
24. Ikawaty R, Brouwer EC, Duijkeren EV, Mevius D, Verhoef J, Fluit AC. Virulence Factors of Genotyped Bovine Mastitis *Staphylococcus aureus* Isolates in The Netherlands. *Int J Dairy Sci.* 15 de marzo de 2010;5(2):60-70.

25. Romero LC, De Souza Da Cunha MDLR. Insights into the epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in special populations and at the community-healthcare interface. *Braz J Infect Dis*. noviembre de 2021;25(6):101636.
26. Persoons D, Van Hoorebeke S, Hermans K, Butaye P, De Kruif A, Haesebrouck F, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry. *Emerg Infect Dis*. marzo de 2009;15(3):452-3.
27. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A New Class of Genetic Element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome *mec* , Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. junio de 2000;44(6):1549-55.
28. García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*. agosto de 2011;11(8):595-603.
29. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*. enero de 2015;13(1):42-51.
30. Guardabassi L, Stegger M, Skov R. Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 in Danish slaughter pigs. *Vet Microbiol*. junio de 2007;122(3-4):384-6.
31. Van Den Eede A, Martens A, Lipinska U, Struelens M, Deplano A, Denis O, et al. High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in equine nasal samples. *Vet Microbiol*. enero de 2009;133(1-2):138-44.
32. Bergström K, Aspan A, Landén A, Johnston C, Grönlund-Andersson U. The first nosocomial outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses in Sweden. *Acta Vet Scand*. diciembre de 2012;54(1):11.

33. Van Den Eede A, Hermans K, Van Den Abeele A, Floré K, Dewulf J, Vanderhaeghen W, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on the skin of long-term hospitalised horses. *Vet J.* agosto de 2012;193(2):408-11.
34. Van Duijkeren E, Moleman M, Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Mullem J, Troelstra A, Fluit AC, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel: An investigation of several outbreaks. *Vet Microbiol.* febrero de 2010;141(1-2):96-102.
35. Tschudin-Sutter S, Pargger H, Widmer AF. Hand hygiene in the intensive care unit: *Crit Care Med.* agosto de 2010;38:S299-305.
36. Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis-Grosse EJ. Serum, tissue and body fluid concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *J Antimicrob Chemother.* 20 de octubre de 2006;58(6):1221-9.
37. Prabhu K, Rao S, Rao V. Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples. *J Lab Physicians.* enero de 2011;3(01):025-7.
38. Andersson DI, Hughes D. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. En: Baquero F, Bouza E, Gutiérrez-Fuentes JA, Coque TM, editores. *Microbial Transmission* [Internet]. Washington, DC, USA: ASM Press; 2019 [citado 28 de octubre de 2023]. p. 117-37. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555819743.ch7>
39. Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *J Antimicrob Chemother.* 1 de marzo de 2014;69(3):827-34.
40. Cuong N, Padungtod P, Thwaites G, Carrique-Mas J. Antimicrobial Usage in Animal Production: A Review of the Literature with a Focus on Low- and Middle-Income Countries. *Antibiotics.* 15 de agosto de 2018;7(3):75.

41. 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*. 5 de mayo de 2015;112(18):5649-54.
42. Pulingam T, Parumasivam T, Gazzali AM, Sulaiman AM, Chee JY, Lakshmanan M, et al. Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *Eur J Pharm Sci*. marzo de 2022;170:106103.
43. Moncayo Medina Á. La resistencia a los antibióticos y la falta de interés de la industria farmacéutica. *Infectio*. abril de 2014;18(2):35-6.
44. Kester JC, Fortune SM. Persisters and beyond: Mechanisms of phenotypic drug resistance and drug tolerance in bacteria. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. marzo de 2014;49(2):91-101.
45. Pastor-Sánchez R. Alteraciones del nicho ecológico: resistencias bacterianas a los antibióticos. *Gac Sanit*. marzo de 2006;20:175-81.
46. Asenjo A, Oteo-Iglesias J, Alós JI. What's new in mechanisms of antibiotic resistance in bacteria of clinical origin? *Enfermedades Infecc Microbiol Clin Engl Ed*. junio de 2021;39(6):291-9.
47. Davies J, Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. septiembre de 2010;74(3):417-33.
48. Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, et al. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nat Rev Microbiol*. mayo de 2015;13(5):310-7.
49. Krüger N, Stingl K. Two steps away from novelty – principles of bacterial DNA uptake. *Mol Microbiol*. mayo de 2011;80(4):860-7.
50. Novick RP, Christie GE, Penadés JR. The phage-related chromosomal islands of Gram-positive bacteria. *Nat Rev Microbiol*. agosto de 2010;8(8):541-51.

51. Abushaheen MA, Muzaaheed, Fatani AJ, Alosaimi M, Mansy W, George M, et al. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Dis Mon.* junio de 2020;66(6):100971.
52. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol.* abril de 2010;8(4):260-71.
53. Rodríguez-Rojas A, Rodríguez-Beltrán J, Couce A, Blázquez J. Antibiotics and antibiotic resistance: A bitter fight against evolution. *Int J Med Microbiol.* agosto de 2013;303(6-7):293-7.
54. Andersson DI, Hughes D. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resist Updat.* junio de 2012;15(3):162-72.
55. Wright G. Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev.* 29 de julio de 2005;57(10):1451-70.
56. Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran TB, et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *J Infect Public Health.* diciembre de 2021;14(12):1750-66.
57. Cantón R. Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* junio de 2010;28(6):375-85.
58. Cantón R, Ignacio Alós J, Baquero F, Calvo J, Campos J, Castillo J, et al. Recomendaciones para la selección de antimicrobianos en el estudio de la sensibilidad in vitro con sistemas automáticos y semiautomáticos. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* julio de 2007;25(6):394-400.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/ National, Committee for Clinical and Laboratory Standards, (NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100. CLSI/NCCLS; 2023.
60. Tascini C, Sozio E, Viaggi B, Meini S. Reading and understanding an antibiogram. *Ital J Med.* 15 de diciembre de 2016;10(4):289.

61. Courvalin P. Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme). *Clin Microbiol Infect.* diciembre de 1996;2:S26-34.
62. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet.* febrero de 2022;399(10325):629-55.
63. Bergström K, Nyman G, Widgren S, Johnston C, Grönlund-Andersson U, Ransjö U. Infection prevention and control interventions in the first outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in an equine hospital in Sweden. *Acta Vet Scand.* diciembre de 2012;54(1):14.
64. Van Balen J, Mowery J, Piraino-Sandoval M, Nava-Hoet RC, Kohn C, Hoet AE. Molecular epidemiology of environmental MRSA at an equine teaching hospital: introduction, circulation and maintenance. *Vet Res.* diciembre de 2014;45(1):31.
65. Van Den Eede A, Martens A, Feryn I, Vanderhaeghen W, Lipinska U, Gasthuys F, et al. Low MRSA prevalence in horses at farm level. *BMC Vet Res.* diciembre de 2012;8(1):213.
66. Soimala T, Lübke-Becker A, Hanke D, Eichhorn I, Feßler AT, Schwarz S, et al. Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from ocular surfaces of dogs and cats suffering from ophthalmological diseases. *Vet Microbiol.* mayo de 2020;244:108687.
67. Bergström K, Bengtsson B, Nyman A, Grönlund Andersson U. Longitudinal study of horses for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* following wound infections. *Vet Microbiol.* mayo de 2013;163(3-4):388-91.
68. Peterson AE, Davis MF, Awantang G, Limbago B, Fosheim GE, Silbergeld EK. Correlation between animal nasal carriage and environmental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at U.S. horse and cattle farms. *Vet Microbiol.* diciembre de 2012;160(3-4):539-43.

69. Waqar N, Amin Q, Munir T, Ikram MS, Shahzad N, Mirza A, et al. A cross-sectional study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at the equine-human interface. *Trop Anim Health Prod.* septiembre de 2019;51(7):1927-33.