

Caracterización y riesgos para la salud pública de la antibiorresistencia de *Staphylococcus aureus* en la cunicultura intensiva

C. Ortega^(1, 2), M.C. Simón^(1, 2), J.L. Alonso⁽¹⁾ & A. Mateo⁽³⁾

1) Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Miguel Server 177, 50013 Zaragoza, España

2) Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Avenida Gómez Laguna 25, 5009 Zaragoza, España

3) Pangea S.A., Av. Ilustración nº 11, 37, 50012 Zaragoza, España

Fecha de recepción: 27 de noviembre de 2008

Fecha de aceptación: 5 de junio de 2009

Resumen

La emergencia de microorganismos antibiorresistentes, tanto en el hombre como en los animales, hace necesario desarrollar nuevas estrategias de administración de antibióticos para controlarlos adecuadamente y, en especial, para prevenir el riesgo de transmisión de bacterias resistentes de los animales a los seres humanos. Uno de esos microorganismos, *Staphylococcus aureus* y, en especial las cepas resistentes a la meticilina, son particularmente peligrosos para la salud pública. Este estudio, realizado en explotaciones de producción intensiva de conejos de España, mostró una prevalencia importante de este microorganismo, así como un 17,2% de cepas resistentes a la meticilina. También se observaron proporciones de resistencia muy elevadas a las quinolonas y algunas penicilinas, fuente de fenómenos de multirresistencia que merecen especial consideración debido a las dificultades que implican para escoger un tratamiento adecuado y al riesgo de transmisión de esa resistencia al hombre, ya sea por contacto directo o a través de la cadena alimenticia.

Palabras clave

Antibiótico – Resistencia – Riesgo – Salud pública – *Staphylococcus aureus*.

Introducción

Este trabajo de campo constituyó una primera caracterización de la distribución de la resistencia a antibióticos en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en conejos de producción y, en particular, en las cepas resistentes a la meticilina (SARM), reconocidas como un riesgo potencial para la salud pública.

El desarrollo de los antibióticos ha sido, y sigue siendo, un desafío para la sanidad ya que, conforme se descubre una molécula efectiva, las bacterias desarrollan rápidamente mecanismos que les permiten hacerse resistentes. Hoy en día se plantea una situación de competencia directa entre las bacterias, que desarrollan mecanismos para resistir a los antibióticos, y la ciencia, que busca nuevas moléculas más

eficaces. Por ese motivo, organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) (<http://www.eurosurveillance.org>) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) consideran que la resistencia a los antibióticos constituye una emergencia sanitaria (1).

Staphylococcus aureus, y muy especialmente las cepas SARM, es una de las bacterias que más problemas de antibiorresistencia causa actualmente a la salud pública. Además de la resistencia a la meticilina, resulta cada vez más frecuente observar cepas de *S. aureus* resistentes a otros antibióticos, por lo que acaban convirtiéndose en microorganismos multirresistentes (32). A consecuencia de esta nueva situación, se han creado iniciativas como el proyecto Antibiotic Resistance Prevention and Control (ARPAC, por sus iniciales en inglés) de la Unión Europea

(http://www.abdn.ac.uk/arpac/ARPAC_ES.pdf), que estudia la situación de diversos antibióticos considerados indicadores de resistencia en microorganismos como *E. coli*, *S. aureus* o *Streptococcus* spp., y los diferentes programas de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) (<http://www.emea.europa.eu>) dedicados a antibióticos como la meticilina, la oxacilina o la vancomicina (21).

Por ese motivo, no sólo muchos países han puesto en marcha programas de vigilancia de la resistencia a antibióticos en medicina humana sino que, también, ha comenzado a plantearse la necesidad de evaluar la antibiorresistencia de microorganismos de origen animal que amenazan tanto la sanidad animal, como la salud pública (20, 23, 24).

En 1961, dos años después de descubrirse la meticilina, se describió por primera vez la resistencia de *S. aureus* a ese antibiótico. Desde entonces, se diagnosticaron con cierta frecuencia infecciones por cepas de *S. aureus* resistente a meticilina en hospitales, que se denominaron SARM nosocomiales (12). Según estudios realizados en centros sanitarios de España, Estados Unidos de América, Francia y Cuba (21), en los últimos 20 años los brotes han aumentado entre el 17% y el 60%.

Sin embargo, en 1990 se modificó la aparente relación entre las infecciones por SARM en seres humanos y los centros sanitarios debido a que se observaron casos en poblaciones humanas que no tenían contacto con ese tipo de centros. Esos patógenos, denominados SARM adquiridos en la comunidad (SARM-AC), se caracterizan por ser más virulentos que los SARM nosocomiales (30).

Desde la aparición de la resistencia a la meticilina en el hombre, se recurre a otros antibióticos para tratar los SARM. Se trata, por ejemplo de penicilinas como la oxacilina, o de glicopéptidos como la vancomicina. Sin embargo, en 1996 se observó por primera vez la pérdida de sensibilidad a la vancomicina y en 2002 se detectó la primera cepa de *S. aureus* totalmente resistente a ese antibiótico (8, 9, 16, 19). Por otro lado, en estudios realizados a partir de 2001 se puso de manifiesto la resistencia de *S. aureus* a la oxacilina, demostrándose además que las cepas resistentes a este antibiótico eran las asociadas a los fenómenos más importantes de multirresistencia en el hombre (21). A partir de ese momento comenzaron a detectarse con frecuencia asociaciones de resistencias a antibióticos y cepas de *S. aureus* con antibiorresistencia múltiple a fármacos tan diversos como el cloranfenicol, las tetraciclinas, los macrólidos, las lincosamidas, los aminoglucósidos (gentamicina) y las quinolonas (4, 11, 19).

Pero la presencia de cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos no concierne únicamente a los seres humanos;

también se ha detectado en poblaciones animales que podrían desempeñar una función clave en la posterior transmisión de resistencia de ese estafilococo, bien a través de la cadena alimentaria, bien por contacto directo (2, 16, 31). De hecho, el papel que desempeñan especies animales portadoras como perros, gatos, caballos, cerdos o bóvidos (5, 12, 18, 33, 34, 35, 36) es uno de los aspectos esenciales que están considerándose en el caso de los SARM-AC. Como la posibilidad de transmisión de la bacteria entre seres humanos y animales podría constituir un riesgo para la medicina humana, es preciso establecer planes de vigilancia para conocer la antibiorresistencia de las cepas de *S. aureus* aisladas en poblaciones animales y determinar la amenaza que supone para la salud pública la transmisión de su resistencia al hombre. Además de la vigilancia, se han propuesto otras iniciativas como la de reservar determinados antibióticos para uso exclusivo en salud pública; la creación de una lista de antibióticos prioritarios para la sanidad animal, y el desarrollo de protocolos de uso prudente de antimicrobianos en medicina humana y veterinaria (1, 3, 14, 15, 22, 25).

Material y métodos

Metodología del estudio

El estudio se llevó a cabo con cepas de *S. aureus* aisladas en muestras procedentes de explotaciones cunícolas, donde los conejos presentaron patologías colectivas, y enviadas a la Facultad de Veterinaria de Zaragoza durante el año 2007. Las muestras procedían de 22 explotaciones de producción intensiva de conejos ubicadas en tres zonas geográficas de la mitad norte de la Península Ibérica. Si bien las tres se encontraban situadas en España (Cataluña, Aragón y Castilla-León), la última incluía muestras de algunas explotaciones de Portugal. Desde el punto de vista del muestreo, el estudio fue representativo de las granjas de producción cunícola del norte de la Península (tamaño determinado con el programa informático WINEPISCOPE, 2.0 para una prevalencia esperada próxima al 50%, una precisión del 10% y un nivel de confianza del 90%). En todas las explotaciones, ante la presencia de procesos patológicos en los que se sospechaba que podían estar implicados microorganismos del género *Staphylococcus* spp., se tomaron muestras a un grupo de cinco animales afectados, pertenecientes por lo general a dos lotes distintos, mediante hisopos estériles con medio de mantenimiento. Al detectarse diferentes brotes de enfermedad, en algunas de las explotaciones se realizaron muestreos en dos, e incluso tres, ocasiones diferentes de modo que el estudio completo contuvo 38 muestreos. En función de la patología observada, se tomaron muestras de aparato digestivo, respiratorio, reproductor, mama o piel. Los hisopos se enviaron al laboratorio y se procesaron en un plazo máximo de 24 h tras su recogida.

Al tomar la muestra, también se recogió información sobre las características del proceso patológico, la situación geográfica de la explotación, las condiciones de cría y los tratamientos administrados. Posteriormente, la información se introdujo en una base de datos creada para organizar y analizar los resultados.

Aislamiento e identificación de las cepas

Las muestras, llegadas al laboratorio en hisopos, se sembraron en medios de cultivo agar sangre para obtener un crecimiento bacteriano y, posteriormente, en agar manitol y sal para el aislamiento selectivo de *S. aureus*. Una vez obtenido un cultivo puro del microorganismo, se procedió a realizar la identificación mediante pruebas bioquímicas y API *Staph*. Tras la identificación, la cepa se congeló a -80°C para conservarla en un banco de microorganismos.

Estudio in vitro de la resistencia a antibióticos

Las características de la resistencia a antibióticos de las cepas aisladas de *S. aureus* se determinaron con el método de difusión en disco de Kirby-Bauer a una concentración bacteriana de $1-2 \times 10^8$ ufc/ml en medio de cultivo Mueller Hilton (6), así como mediante las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) con el sistema MICevaluator.

Todas las cepas de *S. aureus* aisladas se sometieron a la prueba de difusión en disco para los siguientes antibióticos: penicilinas [amoxicilina-ácido clavulánico (30 μg), ampicilina (10 μg), penicilina G (10 IU), oxacilina (5 μg) y meticilina (5 μg)], quinolonas [ciprofloxacina (5 μg), norfloxacina (5 μg), levofloxacina (5 μg) y marbofloxacina (5 μg)], macrólidos [eritromicina (15 μg), clindamicina (2 μg)], tetraciclina (30 μg), aminoglucósidos [estreptomina (10 μg), gentamicina (10 μg)], sulfametoxazol – trimetoprim (23,75 μg – 1,25 μg) y vancomicina (30 μg).

Por otro lado, se determinaron las CMI de los antibióticos considerados alternativos en caso de resistencia a la meticilina en seres humanos: oxacilina (256 – 0,016 $\mu\text{g}/\text{ml}$), vancomicina (256 – 0,016 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y penicilina (256 – 0,016 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Tras la incubación, se valoraron los halos de inhibición, que se interpretaron conforme a los criterios de la norma de la OIE (26), y se clasificaron las cepas aisladas, desde un punto de vista cualitativo, como resistentes, intermedias o sensibles con la prueba de difusión en disco, así como mediante rangos cuantitativos en el caso de las CMI.

Para valorar la influencia de factores extrínsecos a la propia bacteria y el antibiótico en los resultados de las pruebas

realizadas *in vitro*, los ensayos de resistencia se sometieron a valoraciones de homogeneidad, que se repitieron bajo diferentes condiciones de temperatura (30°C y 37°C), tiempo de lectura del resultado (24 h y 48 h) y presencia de diferentes concentraciones de sal en el medio (Mueller Hilton estándar y con un suplemento de cloruro sódico del 2%).

Base de datos y análisis estadístico

La base de datos utilizada para almacenar la información y el posterior análisis estadístico se realizaron con los programas informáticos EXCEL y EPI INFO 2004 (10).

Resultados

A lo largo del periodo de estudio se detectaron 29 cepas de *S. aureus* en el 15,7% de los aislamientos bacterianos obtenidos. Estas cepas, encontradas en todos los órganos o aparatos considerados en el estudio, predominaron en los aislamientos de mama (13 cepas, 44,8%). En el aparato digestivo se aislaron cinco cepas (17,2%), otras cinco (17,2%) en las muestras dermatológicas, tres en el aparato respiratorio y tres en el aparato reproductor (10,3% en ambos casos).

Cinco (17,2%) de las 29 cepas de *S. aureus* aisladas presentaron resistencia a la meticilina; por tanto, se trataba de cepas SARM y su caracterización bioquímica presentó ciertas diferencias respecto de las cepas de *S. aureus* que no eran resistentes a la meticilina (no SARM). Cabe destacar que todas las cepas SARM (100%) dieron resultados negativos en la prueba de la urea, mientras que únicamente el 50% las cepas no SARM fueron negativas y el otro 50% positivas. Ese hecho podría sugerir ciertas características diferenciales entre cepas SARM y no SARM de utilidad en determinados momentos para un diagnóstico y toma de decisiones rápidos.

Respecto a las cepas SARM aisladas, la distribución por patologías fue similar a la distribución global de *S. aureus*, con predominio de patologías de mama.

Las pruebas de homogeneidad para valorar el efecto de los factores extrínsecos en los resultados de laboratorio no pusieron de manifiesto diferencias en función de las concentraciones de sal y los tiempos de incubación utilizados; pero en algunos casos se observaron variaciones significativas respecto de la temperatura de incubación, especialmente con las penicilinas. Así, respecto de la vancomicina, los halos de inhibición tanto en las cepas SARM, como no SARM, eran mayores a 30°C que a 37°C . Sin embargo, en el caso de la oxacilina ocurría lo contrario; los halos de inhibición eran mayores a 37°C que a 30°C en

ambas categorías de cepas. Respecto de las demás penicilinas (ampicilina, amoxicilina y penicilina G), también se observaron diferencias claras; los halos fueron mayores a 30°C con las dos primeras, y a 37°C con la última, en ambas categorías de cepas.

En relación con los demás antibióticos estudiados, los halos de inhibición a 30°C y 37°C fueron iguales o muy similares a ambas temperaturas, tanto en SARM, como no SARM, por lo que se los consideró menores y no significativos. Ante esta variabilidad de los halos de inhibición según la temperatura, se decidió trabajar a 37°C como referencia para analizar los resultados del estudio ya que, por un lado, es la temperatura a la que se trabaja habitualmente *in vitro* en los laboratorios y, por otro, se aproxima más a las condiciones que el antibiótico encontrará posteriormente *in vivo* debido a que también es la temperatura corporal de la especie animal estudiada.

Bajo las condiciones indicadas, se encontró un 17,2% de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina. Considerando que se trataba de poblaciones animales de producción sin contacto con centros de salud públicos o veterinarios, se las identificó como cepas SARM-AC. Sólo una de las 29 cepas aisladas presentó resistencia a la oxacilina, así como a la meticilina. Los resultados fueron más variables respecto de las demás penicilinas estudiadas, ya que un 37,9% de las cepas presentaron resistencia a la penicilina G, un 34,5% a la ampicilina y un 31% a la amoxicilina clavulánica.

Únicamente tres de las 29 cepas de *S. aureus* aisladas, de las cuales sólo una era SARM, presentaron resistencia a la vancomicina, antibiótico que en algunos casos se utiliza como alternativa contra cepas SARM resistentes también a la oxacilina y otras penicilinas.

Respecto a los demás antibióticos estudiados, la resistencia a los macrólidos osciló en torno al 50% (55,2% a la eritromicina y 44,8% a la clindamicina). Los aminoglucósidos dieron resultados más variables, desde el 13,8% al cotrimoxazol (SxT), hasta el 62,1% a la estreptomina, y pasando por valores intermedios como el 20,7% a la gentamicina. La mayor proporción de cepas resistentes se encontró respecto de las tetraciclinas (79,3% de *S. aureus* aislados resistentes).

Finalmente, en el caso de las quinolonas se observaron proporciones de resistencias medias o bajas, siendo menores conforme más moderna era la molécula probada. Los resultados variaron entre el 37,9% de cepas resistentes a la ciprofloxacina, el 31% a la norfloxacina, el 17,2% a la marbofloxacina y el 13,8% a la levofloxacina (Fig. 1).

Cuando se compararon los resultados de la distribución de la resistencia a los antibióticos en cepas SARM y no SARM

no aparecieron diferencias significativas a nivel individual. Tan sólo cabe destacar que se observó que dos de las cinco cepas SARM eran resistentes a la penicilina G y la ampicilina, mientras que sólo una lo era a la amoxicilina. Además, la única cepa resistente a la oxacilina fue resistente a la penicilina G y la ampicilina (además de la meticilina), aunque sensible a la amoxicilina.

Sin embargo, el análisis de la resistencia conjunta a varios antibióticos, que determinaría el carácter de multiresistencia, mostró que su prevalencia era menor en las cepas SARM – sólo se observó en una de las cinco cepas aisladas, sensible únicamente a la marbofloxacina y levofloxacina –, y mayor en las cepas no SARM – el 50% fue resistente a más de tres antibióticos de diferentes familias. No obstante, esta característica diferencial entre cepas SARM y no SARM, que podría indicar una tendencia, debe interpretarse con precaución debido al bajo número aislado de las primeras (Fig. 2).

Se procuró completar el estudio con la caracterización de los perfiles de resistencia de las cepas SARM y no SARM aisladas. Para ello, se valoraron las diferencias de CMI de tres antibióticos de interés en salud pública, a saber, la vancomicina, la oxacilina y la penicilina. La primera diferencia importante apareció respecto de la oxacilina, antibiótico que presentó una CMI superior a 0,5 µg/ml para más del 60% de las cepas SARM, así como superior a 0,094 µg/ml para el 100% de las cepas. Por el contrario, la CMI para más del 70% de las cepas no SARM fue inferior a 0,094 µg/ml (la media para las cepas SARM fue de 0,456 µg/ml y para las cepas no SARM de 0,135 µg/ml).

Con la vancomicina no aparecieron estas diferencias; las CMI oscilaron entre 1,5 µg/ml y 6 µg/ml tanto en el caso de las cepas SARM, como de las no SARM, y se obtuvieron valores muy dispares en las distintas cepas de un mismo grupo. Algo similar sucedió respecto a la penicilina G; se observó una gran variabilidad en las distintas cepas de un mismo grupo, así como rangos muy amplios de CMI, que oscilaron entre 0,006 µg/ml y 12 µg/ml en las SARM y 0,006 µg/ml y 6 µg/ml en las no SARM.

También se valoró la correlación existente entre los tres antibióticos para definir cómo variaba la CMI de uno de ellos en función de la variación del otro. En todos los casos se obtuvo un coeficiente de correlación (r^2) positivo, es decir que el aumento de la CMI de uno correspondía siempre al aumento de la CMI del otro. No obstante, el valor r^2 sólo fue claramente significativo respecto de la relación oxacilina-penicilina en cepas SARM (0,81), que en el caso de las cepas no SARM fue de 0,54. En el resto del estudio, el valor r^2 siempre fue inferior a 0,5 en ambas categorías de cepas.

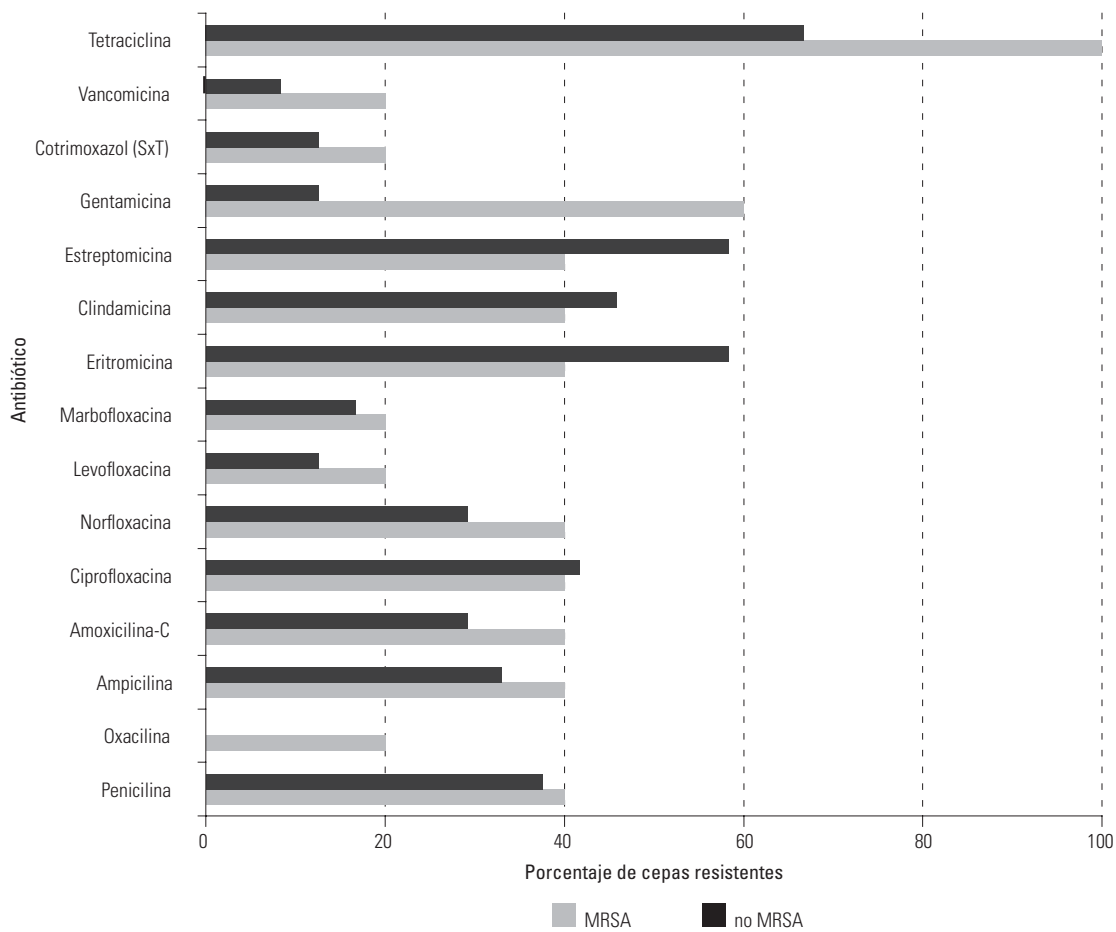


Fig. 1
Proporción de resistencia a antibióticos en cepas resistentes a la meticilina (SARM) y no SARM aisladas

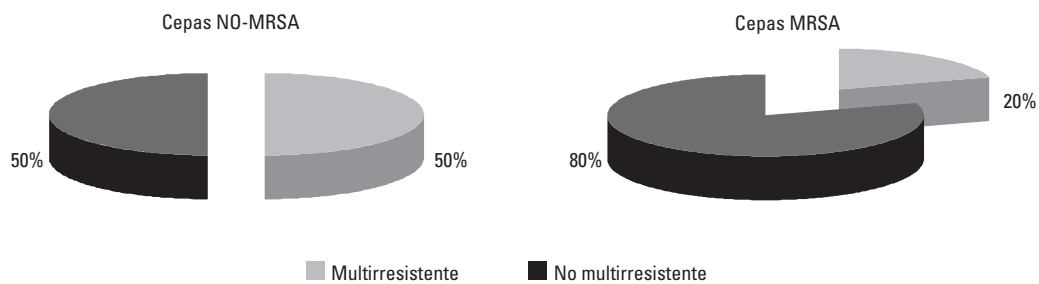


Fig. 2
Proporción de cepas resistentes a la meticilina (SARM) y no SARM multirresistentes

Finalmente, y desde un punto de vista puramente descriptivo, siempre que fue posible se estudió la relación entre las características de resistencia a los antibióticos *in vitro* y los tratamientos administrados a animales *in vivo* antes de tomarse las muestras. Según información fiable disponible sobre una de las cepas SARM, los animales habían recibido gentamicina y enrofloxacina en los 15 días anteriores al muestreo. Las pruebas de laboratorio habían puesto de

manifiesto una gran resistencia de esa cepa a ambos antibióticos, pero una gran sensibilidad a las penicilinas estudiadas.

Respecto de las cepas no SARM, se dispuso de un buen historial de tratamientos sobre 10 casos en los que se habían administrado diversas penicilinas, pero sólo una de esas cepas aisladas resultó resistente *in vitro* a las penicilinas estudiadas (penicilina G, ampicilina y amoxicilina).

Discusión

Los resultados del estudio pusieron de manifiesto una proporción elevada de *S. aureus* asociado a procesos patológicos en explotaciones de cría intensiva de conejos de la zona estudiada, predominante en casos de mama y que, por tanto, merece una especial atención desde el punto de vista sanitario. Al hecho de que *S. aureus* es un microorganismo potencialmente patógeno, tanto para las poblaciones animales, como para el hombre, hay que añadir que en este caso las cepas aisladas presentaron un importante nivel de resistencia a diversos antibióticos estudiados que podría repercutir posteriormente en la sanidad animal y la salud pública.

Distintos autores señalaron que el aumento de la resistencia a diferentes antibióticos de *S. aureus* de origen humano también ha empezado a observarse en algunos estudios realizados en animales. Así, se presentaron proporciones muy elevadas de resistencia a la penicilina (71,4%) y a aminopenicilinas como la ampicilina (57,1%) en cepas procedentes de vacunos lecheros. Esos resultados son mucho más elevados que los obtenidos en este estudio sobre conejos, en el que las cepas resistentes a las penicilinas nunca superaron un 38% (27). A pesar de la importancia que se da a la resistencia de *S. aureus*, algunos autores consideran que la resistencia de los estafilococos coagulasa negativos a las penicilinas es todavía mayor (21).

La metilicina, una de las penicilinas de referencia para el tratamiento de *S. aureus* en salud pública, es un antibiótico al que presentaron resistencia el 17,2% de las cepas aisladas. Desde el punto de vista de la salud pública, ese hecho sugiere que la presencia de cepas SARM empieza a ser un elemento a considerar en las poblaciones de los productores cunícolas. Teniendo en cuenta que se trataba de animales de producción intensiva, sin contacto alguno con centros de salud pública o veterinaria que pudiera hacer sospechar una infección por SARM nosocomiales, en este estudio se las identificó como infecciones adquiridas en la comunidad (SARM-AC). Los trabajos de otros autores han demostrado la existencia de cepas SARM-AC en especies de abasto, como cerdos (34), y en animales de compañía, como caballos (35), perros y gatos (17, 33). La existencia de cepas de *S. aureus* de origen animal resistentes a la metilicina adquiere especial importancia cuando está asociada a resistencias a la oxacilina y la vancomicina, utilizadas en salud pública como alternativa contra *S. aureus*.

De estos dos antibióticos, las cepas de *S. aureus* aisladas seguían siendo muy sensibles a la oxacilina, ya que sólo una de ellas, que también era resistente a la metilicina, presentó resistencia. Estos resultados sugieren que, por el momento, el riesgo de transmisión de las poblaciones cunícolas al hombre de la resistencia a este antibiótico es

bajo o nulo. Para poder mantener su eficacia en medicina humana, una buena opción consistiría en restringir al máximo su uso veterinario y utilizarlo únicamente en los casos en que sea indispensable, de conformidad con las normas y recomendaciones de organismos internacionales como la OMS y la OIE. Respecto de la vancomicina, otro de los antibióticos alternativos a la metilicina contra cepas SARM, y si bien sólo una de ellas lo era, la prevalencia de la resistencia fue más elevada (10,3%) por lo que parecería que la situación requiere una mayor vigilancia aunque el riesgo para la salud pública sea igualmente bajo.

Por otro lado, el comportamiento de las CMI para cepas SARM y no SARM podría estar determinando perfiles de resistencia diferentes que definirían una menor efectividad de la oxacilina en las primeras y, por tanto, un problema añadido a su uso como alternativa en infecciones por *S. aureus* resistente a la metilicina. Esta situación, que no se observó para la penicilina ni la vancomicina, requiere no obstante estudios más amplios y con mayor número de cepas.

En lo que respecta a las quinolonas, se detectó una gran variabilidad en la prevalencia de la resistencia a los distintos antibióticos de esa familia, pero siempre en proporciones inferiores al 50% y con rangos que oscilaban entre el 13% (levofloxacina) y el 40% (norfloxacina). En cualquier caso, las prevalencias fueron más elevadas que las obtenidas por Panagiota y col. (27). Sin embargo, al comparar los datos de este estudio con los resultados de Phuong (28), se observó que ese autor detectó proporciones de resistencia a la norfloxacina superiores al 50% en aislados de rumiantes. Asimismo, obtuvo valores de resistencia a la norfloxacina todavía más elevados en aislados de porcinos, llegando a detectar resistencia al flumequine en todos los aislados de cerdos (100%) (28).

Lo observado en el caso de las quinolonas, tanto en este estudio, como en los trabajos de los autores citados, hace pensar que el riesgo de transmisión al hombre de la resistencia a estos antibióticos puede ser elevado debido a su frecuente administración para tratar infecciones de origen animal, que es uno de los factores desencadenantes de esa resistencia.

Al problema de la resistencia a antibióticos de uso habitual en medicina humana, se añade que esta última suele estar asociada a la resistencia a otros antibióticos, por lo que se enfrentan cepas multirresistentes que dificultan aún más el tratamiento. Los aislamientos realizados en este estudio pusieron de manifiesto una prevalencia elevada de cepas multirresistentes, aunque mayor en las cepas no SARM (50%), que en las SARM (20%). No obstante, debe recordarse que como el número de cepas SARM aisladas fue bajo, la diferencia observada no puede considerarse determinante. Existe una proporción importante de cepas de *S. aureus* resistentes simultáneamente a varias familias

de antibióticos, así como una correlación entre la resistencia a distintos antibióticos (de una o diferentes familias); por consiguiente, la posible transmisión de la resistencia de una misma cepa bacteriana de origen animal al hombre no se limitaría a un único antibiótico, sino a varios a la vez, dificultando todavía más la elección de un tratamiento posterior. Así, diversos estudios sobre estafilococos de origen humano, tanto *S. aureus* como estafilococos coagulasa negativos resistentes a meticilina, mostraron una asociación entre la resistencia a la meticilina y la resistencia a otros antibióticos, incluso de otras familias, como los aminoglucósidos, diversas quinolonas, o macrólidos como la clindamicina o la eritromicina (4). Autores como Nodarse encontraron una mayor sensibilidad de las cepas SARM a las cefalosporinas y las quinolonas (21), mientras que otros indican que las cefalosporinas son poco efectivas en estafilococos resistentes a la meticilina (13). En poblaciones animales, se observó una situación similar respecto de macrólidos, como la clindamicina (29).

El estudio de la multiresistencia de las cepas aisladas a los tres antibióticos de uso en medicina humana (meticilina, oxacilina y vancomicina), resultó negativo. Sólo una cepa SARM resistió a la oxacilina, pero no a la vancomicina, así como tres a la vancomicina, pero no a la oxacilina, por lo que se consideró que en cunicultura, y por el momento, los bajos niveles de resistencia a la vancomicina y la oxacilina implican un bajo riesgo de transmisión de esta multiresistencia de origen animal al hombre.

No obstante, siempre debe tomarse en consideración ese riesgo. Diversos trabajos sobre cepas SARM aisladas en la especie humana pusieron de manifiesto que, en muchos casos, las cepas resistentes a la oxacilina, también presentaban multiresistencia a todas las demás penicilinas estudiadas (21). Pero fue poco frecuente que además resultasen resistentes a la vancomicina; por ese motivo, hoy en día se lo considera el antibiótico de elección para tratar procesos causados por SARM (7), pese a que ya en 2001 Nodarse observara un número importante de esas cepas con cierta resistencia a la vancomicina (21) y a que en el año 2002 se encontraran las primeras cepas SARM con resistencia total a la vancomicina (9). En nuestro trabajo, la única cepa aislada de *S. aureus* resistente a la vancomicina también resultó resistente a la meticilina. ■

Por el momento, los tratamientos previos *in vivo* con penicilina no parecieron desencadenar resistencia a esos antibióticos en los animales tratados y muestreados. No obstante, la resistencia a la gentamicina y la enrofloxacin en una de las cepas aisladas en conejos que habían recibido esos antibióticos previamente sugiere la posibilidad de que, a medio plazo, aparezca ese fenómeno y, por tanto, hace necesario vigilar la evolución de los tratamientos y plantearse un uso más racional de los antibióticos.

En función de los resultados obtenidos con la muestra utilizada, y teniendo en cuenta que los métodos y el sistema de producción cunícola de la zona de estudio son similares en todo el país, debería empezar a considerarse que el problema de la resistencia a los antibióticos es un hecho presente en la cunicultura industrial y, por tanto, comenzar a tomarse medidas para combatirla, especialmente en el caso de algunos antibióticos como las quinolonas, aunque esa resistencia todavía sea baja en el caso de la meticilina, la oxacilina y la vancomicina, referentes importantes para la lucha frente a *S. aureus* en medicina humana. Es preciso empezar a evaluar el riesgo que representa para la salud pública la existencia de resistencia en la cunicultura intensiva.

Los resultados obtenidos reflejan una situación que parece bastante generalizada en sanidad animal ya que, a las observaciones de este estudio sobre los conejos, se suman otros trabajos que indican la existencia de altas proporciones de cepas resistentes y multiresistentes a la mayoría de los antibióticos que se administran sistemáticamente a las poblaciones animales de muchas otras especies diferentes (12, 17, 27, 28, 29, 34, 35, 36).

Por tanto, es preciso establecer una vigilancia epidemiológica de la resistencia a antibióticos mucho más completa y reforzar las normas de uso prudente de los mismos y, especialmente, la aplicación de las recomendaciones de la OIE, que como se indica en diversos trabajos publicados por la Organización y en su propio *Código Sanitario para los Animales Terrestres* (http://www.oie.int/esp/normes/es_mcode.htm), contribuirían a controlar las situaciones de resistencia que cada vez se observan con mayor intensidad (1, 2, 3, 15).

Characterisation and public health risks of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in intensive rabbit breeding

C. Ortega, M.C. Simón, J.L. Alonso & A. Mateo

Summary

The emergence of antimicrobial-resistant microorganisms, in both humans and animals, calls for the development of new strategies for administering antibiotics in order to bring these microorganisms under control and, most importantly, to prevent the risk of resistant bacteria being transmitted to animals and humans. One such microorganism, *Staphylococcus aureus*, especially its methicillin-resistant strains, is particularly hazardous to public health. This study, conducted in intensive rabbit farms in Spain, has demonstrated a high prevalence of *S. aureus* strains, 17.2% of which were found to be methicillin-resistant. The study also unveiled very high resistance to quinolones and to some forms of penicillin. This source of multidrug resistance merits special attention in view of the problems it poses for choosing suitable treatment and the risk of this resistance being transmitted to humans, either from direct contact or via the food chain.

Keywords

Antibiotic – Resistance – Risk – Public health – *Staphylococcus aureus*.



Caractérisation de la résistance aux antibiotiques des *Staphylococcus aureus* présents en cuniculture intensive, et risques pour la santé publique

C. Ortega, M.C. Simón, J.L. Alonso & A. Mateo

Résumé

L'émergence de micro-organismes résistants aux antibiotiques, aussi bien chez l'homme que chez les animaux, a conduit à développer de nouvelles stratégies d'administration des antibiotiques visant à mieux maîtriser leur utilisation, notamment pour prévenir le risque de transmission de bactéries antibiorésistantes des animaux à l'homme. L'un de ces micro-organismes, *Staphylococcus aureus*, et surtout les souches de cet agent résistantes à la méticilline sont particulièrement dangereux pour la santé publique. L'étude conduite par les auteurs dans des établissements de production cunicole intensive en Espagne a révélé une prévalence importante de ce micro-organisme, qui présentait 17,2 % de souches résistantes à la méticilline. Les auteurs ont également constaté une proportion très élevée de souches résistantes aux antibiotiques quinolones et à certaines pénicillines, ce qui est susceptible de générer des phénomènes de multirésistance. La multirésistance doit faire l'objet d'une très grande vigilance, en raison des difficultés qu'elle entraîne lors du choix d'un traitement thérapeutique adéquat et du risque de transmission de cette résistance à l'homme, par contact direct ou via la chaîne alimentaire.

Mots-clés

Antibiotique – Résistance – Risque – Santé publique – *Staphylococcus aureus*.



Bibliografía

1. Acar J. & Rostel B. (2003). – Antimicrobial resistance: an overview. En OIE International Standards on Antimicrobial Resistance. OIE, París, 45-68.
2. Andrews B. (2003). – Antimicrobial use in animal husbandry and its relationship to resistant bacteria in human health. En OIE International Standards on Antimicrobial Resistance. OIE, París, 85-88.
3. Anthony F, Acar J., Franklin A., Grupta R., Nicholls T., Tamura Y., Thompson S., Threlfall E.J., Vose D., Van Vuuren M. & White D.G. (2003). – Antimicrobial resistance: responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine. En OIE International Standards on Antimicrobial Resistance. OIE, París, 249-267.
4. Aubry-Damon H., Legrand P., Brun-Buisson C., Astier A., Soussy C.J. & Leclercq R. (1997). – Reemergence of gentamicin-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Role of an infection control program and changes in aminoglycoside use. *Clin. infect. Dis.*, **25**, 647-653.
5. Bagcigil F.A., Moodley A., Baptiste K.E., Jensen V.F. & Guardabassi L. (2007). – Occurrence, species distribution, antimicrobial resistance and clonality of methicillin-resistant staphylococci in the nasal cavity of domestic animals. *Vet. Microbiol.*, **121** (3-4), 307-315.
6. Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C. & Turck M. (1966). – Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. clin. Pathol.*, **45**, 493-496.
7. Camarena J.J. & Sánchez R. (2006). – Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Disponible en: http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pdf/sarm.pdf (consultado el 21 de marzo de 2007).
8. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2000). – *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. Illinois, 1999. *MMWR*, **48**, 1165-1167.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2002). – *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin. USA. *MMWR*, **51**, 565-567.
10. Centres for Diseases Control and Prevention (CDC) (2004). – What's Epi Info? Disponible en: www.cdc.gov/epiinfo/ (consultado el 29 de marzo de 2004).
11. Cercenado E., Sánchez-Carrillo C., Alcalá L. & Bouza E. (1997). – Grupo de trabajo para el estudio de estafilococos. Situación actual de la resistencia a *Staphylococcus* en España. Cuarto estudio nacional. *Rev. clín. esp.*, **197**, 12-18.
12. Duquette R. & Nutatall T.J. (2004). – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? *J. small Anim. Pract.*, **45**, 591-597.
13. Fluit A.C., Wielders C.L.C., Verhoef J. & Schmitz F.J. (2001). – Epidemiology and susceptibility of 3051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY. *J. clin. Microbiol.*, **39**, 3727-3732.
14. Franklin A., Acar J., Anthony F, Grupta R., Nicholls T., Tamura Y., Thompson S., Threlfall E.J., Vose D., Van Vuuren M., White D.G., Wegener H.C. & Costarrica M.L. (2001). – Resistencia a los antimicrobianos: armonización de programas nacionales de seguimiento y vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en animales y alimentos de origen animal. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **20** (3), 859-870.
15. Franklin A., Acar J., Anthony F, Grupta R., Nicholls T., Tamura Y., Thompson S., Threlfall E.J., Vose D., Van Vuuren M., White D.G, Wegener H.C. & Costarrica M.L. (2003). – Antimicrobial resistance: harmonisation of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and in animal-derived food. En OIE International Standards on Antimicrobial Resistance. OIE, París, 181-199.
16. Gobernado M. (2002). – Resistencia a *Staphylococcus aureus*. Ahora a la vancomicina. *Rev. esp. Quimioter.*, **15**, 211-214.
17. Guardabais L., Baptiste K.L. & Lloyd D.H. (2005). – Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) in companion animals Anthropozoonosis, zoonosis or both? Conference of the European College of Veterinary Public Health. Glasgow, 25-26 de noviembre de 2005.
18. Hanselman B.A., Kruth S. & Weese J.S. (2008). – Methicillin-resistant staphylococcal colonization in dogs entering a veterinary teaching hospital. *Vet. Microbiol.*, **126** (1-3), 277-281.
19. Hiramatsu K., Hanaki H., Ino T., Yabuta K., Oguri T. & Tenover F.C. (1997). – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains with reduced vancomycin susceptibility. *J. antimicrob. Chemother.*, **40**, 135-136.
20. Martel J.L. (2003). – Resistant bacteria and their impact on therapy in veterinary medicine. En OIE International Standards on Antimicrobial Resistance. París.
21. Nodarse Hernández R. (2001). – Estafilococos multirresistentes: uso del disco de oxacilín como marcador de resistencia a antibióticos. *Rev. cubana Med. militar*, **30** (1), 7-10.
22. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (2000). – Joint FAO/WHO Expert Consultation on risk assessment of microbiological hazards in foods. *FAO Food Nutr. Pap.*, **71**, 54.
23. Organización Mundial de la Salud (OMS) (1997). – The medical impact of the use of antimicrobials in food animals. En Report of WHO meeting, 13-17 de octubre, Berlín. OMS, Ginebra.

24. Organización Mundial de la Salud (OMS) (1998). – Use of quinolones in food animals and the potential impact of human health. *En Report of WHO, OMS, Ginebra.*
 25. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (1999). – The use of antibiotics in animals. Ensuring the protection of public health. Proceedings of the European Scientific Conference, 24-26 de marzo de 1999. OIE, Paris.
 26. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (2003). – Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing. *En International Standards on Antimicrobial Resistance.* OIE, Paris, 29-39.
 27. Panagiota G., Chrissanthy P., Vangelis E., Stamatina L. & Anestis M. (2005). – Antibiotic resistance of bacterial strains isolated from milk and meat. *En Conference of the European College of Veterinary Public Health.* Glasgow, 25-26 de noviembre de 2005.
 28. Phuong T.T.T. (2003). – Cases of antimicrobial resistance to some pathogens in Vietnam. *En International Standards on Antimicrobial Resistance.* OIE, Paris, 211-215.
 29. Rich M., Roberts L. & Deighton L. (2005). – Clindamycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from animals. *Vet. Rec.*, **24** (7), 156-157.
 30. Roseneberg J. (1995). – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the community: who's watching? *Lancet*, **348**, 132-133.
 31. Smith D.L. & Johnson J.A. (2003). – Antibiotic use in animals and the emergence of antibiotic resistance in human commensal microbes and zoonotic pathogens. *En OIE International Standards on Antimicrobial Resistance.* OIE, Paris.
 32. Sopena N. & Sabria M. (2002). – *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. *Med. clin. (Barcelona)*, **118**, 671-676.
 33. Van Duijkeren E., Houwers D.J., Schoormans A., Broekhuizen-Stins M.J., Ikawaty R., Fluit A.C. & Wagenaar J.A. (2008). – Transmission of methicillin resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Vet. Microbiol.*, **18** (1-2), 213-215.
 34. Vose F, Loeffen F, Bakker J., Klaassen C. & Wulf M. (2005). – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg. infect. Dis.*, **11** (12), 1965-1966.
 35. Weese J.S., Archambault M., Willey B.M., Hearn P., Kreiswirth B.N., Said-Salim B., McGeer A., Likhoshvay Y., Prescott J.F. & Low D.E. (2005). – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel 2000-2002. *Emerg. infect. Dis.*, **11** (12), 430-435.
 36. Weese J.S., Dick H., Willey B.M., McGeer A., Kreiswirth B.N., Innis B. & Low D.E. (2006). – Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Vet. Microbiol.*, **115** (1-3), 148-155.
-