

Circulación de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y multirresistente, en granjas de cría porcina de Argentina

Circulation of multiresistant methicillin resistant Staphylococcus aureus in pig farms from Argentina

Giacoboni, Gabriela Isabel; Nievas, Hernán Darío; Nievas, Victorio Fabio; Pérez, Estefanía Marisol; Armocida, Alberto Domingo; Moredo, Fabiana Alicia; Ggetti, Paula

 **Gabriela Isabel Giacoboni ***

gigiacoboni@gmail.com

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Hernán Darío Nievas

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Victorio Fabio Nievas

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Estefanía Marisol Pérez

Laboratorio Microvet, partido de General Madariaga, provincia de Buenos Aires, Argentina

Alberto Domingo Armocida

Cátedra de Medicina Porcina. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

 **Fabiana Alicia Moredo**

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

 **Paula Ggetti**

Servicio Antimicrobianos INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires Argentina, Argentina

ANALECTA VETERINARIA

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1514-2590

Periodicidad: Semestral

vol. 42, e063, 2022

analecta@fcv.unlp.edu.ar

Recepción: 10 Noviembre 2021

Revisado: 03 Enero 2022

Aceptado: 15 Febrero 2022

Resumen: Se describe el resultado de la búsqueda de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) en la cavidad nasal de cerdos de cría intensiva, durante los años 2019 y 2021, con el objetivo de dar a conocer si existe circulación, en Argentina, de este patógeno relevante en la salud pública. Se procesaron 64 muestras obtenidas en 5 granjas de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe y San Luis. Se aislaron 19 (29,7%) SARM, confirmados por la presencia del gen *mecA* y con resistencia múltiple (3 o más familias de antibióticos). Todos los SARM fueron sensibles a rifampicina, nitrofurantoína y linezolid y resistentes a cloranfenicol, tetraciclina y ciprofloxacina. La resistencia a eritromicina fue del 68,4% (13/19), a clindamicina del 78,9% (15/19) y la no sensibilidad a gentamicina del 57,9% (11/19). Las edades de los animales portadores fueron de 27, 80, 120 y 154 días y, en todas las granjas muestreadas, se identificó SARM. Los aislamientos del año 2019 se caracterizaron como complejo clonal 1 (SARM de la comunidad) prevalentes en la población humana. Estos hallazgos demuestran la circulación de SARM en cerdos de producción intensiva y resaltan la necesidad de implementar su control para tomar medidas apropiadas que eviten su diseminación.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, resistencia a meticilina, SARM, multirresistencia, cerdos.

Abstract: In the present work, the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was evaluated in the nasal cavity of pigs from intensive farms during 2019 and 2021, with the aim to report MRSA circulation of this relevant public health pathogen in Argentina. A total of 64 samples obtained from 5 farms in Buenos Aires, Santa Fe and San Luis provinces were studied. Nineteen (29.7%) MRSA were isolated, confirmed by the presence of the *mecA* gene; all isolates were multidrug resistant (3 or more families of antibiotics). All MRSA were susceptible to rifampin, nitrofurantoin, and linezolid and resistant to chloramphenicol, tetracycline, and ciprofloxacin. Resistance to erythromycin, to clindamycin and non-susceptibility to gentamicin was 68.4% (13/19), 78.9% (15/19), and 57.9% (11/19), respectively. Carrier animals were 27, 80, 120 and 154 days old, and MRSA was identified in all the sampled farms. The isolates from 2019 were characterized as clonal complex 1 (community MRSA), which is prevalent in the human population. These findings show the circulation of MRSA in pigs from intensive farms and highlight the need for surveillance to take appropriate measures to prevent its spread.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistance, MRSA, MDR, pigs.

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/25/253057005/>

DOI: <https://doi.org/10.24215/15142590e063>

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.



Introducción

Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM) es un patógeno zoonótico emergente de gran importancia en la salud pública y una de las principales causas de infecciones hospitalarias (HA-SARM) y de la comunidad (CA-SARM) en humanos. La OMS lo catalogó dentro de las 12 familias bacterianas de patógenos prioritarios resistentes a los antimicrobianos que representan una amenaza para la salud humana (OMS, 2017). En 2005, se detectó una nueva línea genética de SARM asociada al ganado (SARM ST398) y se constituyó un nuevo grupo denominado livestock associated MRSA (LA-SARM). Algunos otros secuenciotipos, tales como ST9 y ST97, también se asocian al ganado y se notificaron especialmente en Europa (Crombé *et al.* 2013). De esta manera, todos los animales de granja comenzaron a ser considerados reservorios de SARM.

A pesar de la clasificación epidemiológica en los grupos HA-SARM, CA-SARM y LA-SARM, se hace cada vez más difícil considerar a sus integrantes como miembros de un solo grupo, pues suelen compartir genes y los clones pueden pertenecer a más de un grupo (Crespo-Piazuelo & Lawlor 2021).

El LA-SARM se aísla con mayor frecuencia a partir de la especie porcina. Habita la cavidad nasal del cerdo y constituye una fuente de contaminación, tanto para otros animales como para el hombre (Wettstein Rosenkranz *et al.*, 2014). La circulación de LA-SARM y la diseminación a personas que trabajan en granjas porcinas y a miembros de la comunidad, está registrada desde los primeros reportes en Alemania (Voss *et al.*, 2005) y en Francia (Armand-Lefevre *et al.* 2005) hasta la actualidad (Crespo-Piazuelo & Lawlor, 2021). Desde su identificación, LA-SARM se diseminó rápidamente y se detectó en numerosos países del continente europeo, norte de América, Asia (China, Corea y Singapur) y Perú (Crombé *et al.*, 2013). Actualmente, algunos países de Europa lo incluyen en los programas de vigilancia y monitoreo de resistencia a los antimicrobianos en animales de producción y alimentos.

Dada la importancia que tienen los estafilococos con estas características en la salud pública, se inició la toma de muestras para conocer si los mismos eran detectados en los animales de granjas porcinas de cría intensiva y, además, para continuar con estudios previos en los que solo se registró resistencia a la meticilina en estafilococos coagulasa negativos (Giacoboni *et al.*, 2016).

El objetivo de este trabajo es dar a conocer la información obtenida respecto a la circulación de SARM en cerdos sanos de diferentes etapas de producción, en granjas de cría intensiva de Argentina, durante los años 2019 y 2021.

Materiales y métodos

Para detectar la presencia de SARM se tomaron hisopados de la cavidad nasal. La toma de muestra se realizó de la zona profunda del cornete ventral, de ambos lados, con hisopos de algodón estéril de 15 cm de largo.

En el año 2019 se procesaron 42 hisopados de cerdos de 25, 77, 100, 110 y 154 días de edad, pertenecientes a 2 granjas de la provincia de Buenos Aires. Durante el año 2021, se procesaron 8 muestras de animales postdestete (27 días de vida) de un establecimiento de la provincia de Santa Fe, 8 muestras de animales de 80 días de una granja de la provincia de Buenos Aires y 6 muestras de animales de 120 días de la provincia de San Luis.

Todos los hisopos se colocaron en caldo tripticasa soya (Laboratorio Britania, Buenos Aires, Argentina) con el agregado de NaCl al 6,5 % y se incubaron 12 horas a 37 °C. Posteriormente se repicaron en CHROMagar™ MRSA (CHROMagar™, París, Francia) y se dejaron en estufa a 37 °C durante 24 horas. Las colonias sospechosas se confirmaron como *S. aureus* mediante pruebas bioquímicas convencionales. Se determinó la sensibilidad antimicrobiana frente a cefoxitina (FOX) como predictor de resistencia a meticilina mediada por el gen *mecA*, eritromicina (ERY), clindamicina (CLIN), gentamicina (GEN), ciprofloxacina (CIP), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CMP), nitrofurantoína (NIT), rifampicina (RIF) y linezolid (LNZ) (Laboratorio Britania S. A, CABA, Argentina) mediante la prueba de difusión con disco. Los resultados de FOX, ERY, CLIN, GEN, CIP, TET y CMP se interpretaron acorde a las normas del CLSI (2020) para aislamientos de origen veterinario mientras que NIT, RIF Y LNZ se interpretaron con los puntos de corte para aislamientos de humanos (CLSI, 2021). Para confirmar la resistencia a la meticilina se realizó la detección del gen *mecA* mediante la técnica de PCR para aislamientos de *Staphylococcus* spp, de acuerdo con el protocolo estándar del Servicio Antimicrobianos INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Se consideraron no sensibles los aislamientos correspondientes a las categorías intermedia y resistente.

Las dos cepas aisladas en el año 2019 fueron estudiadas mediante *multilocus sequence typing* (MLST), utilizando las condiciones recomendadas en el sitio web PubMLST.org (Jolley *et al.*, 2018).

Resultados

En las 5 granjas provenientes de las 3 provincias se encontraron animales portadores de SARM.

Se aislaron SARM portadores del gen *mecA* en 19 de las 64 muestras procesadas (29,7 %) de animales de 27, 80, 120 y 154 días de edad. Todos mostraron sensibilidad frente a RIF, NIT y LNZ y resistencia a FOX, CMP, TET y CIP. En cuanto al comportamiento frente a ERY/CLIN y GEN se observó resistencia a ERY en el 68,4 % (13/19), a CLIN en el 78,9 % (15/19) y no sensibilidad a GEN en el 57,9 % (11/19). Los perfiles de resistencia en las diferentes categorías de animales se consignan en la Tabla 1.

Los dos aislamientos del año 2019, que provenían de animales de 154 días de edad y de una misma granja, resultaron pertenecer al complejo clonal 1 (CC1) ST 6458, mientras que los restantes continúan en estudio.

Discusión y conclusiones

La emergencia de la aparición de SARM en animales de producción alerta sobre su posible diseminación, tanto en la cadena alimentaria como también entre los trabajadores de contacto estrecho en los establecimientos de cría.

Crombé *et al.* (2013), describen la diseminación de LA-SARM en los países que lo reportaron y las diferentes rutas de transmisión directa e indirecta entre cerdos, así como de cerdos a humanos. Si bien el CC predominante es el CC398, también se encuentran otros clones asociados a LA-SARM capaces de adquirir genes de resistencia y virulencia.

Edad*		27	80	120	154
Cantidad de animales		4	7	6	2
Cefoxitina	R	100**	100	100	100
	I	0	0	0	0
	S	0	0	0	0
Eritromicina	R	71,4	100	100	33,3
	I	0	0	0	0
	S	28,6	0	0	66,7
Clindamicina	R	100	100	100	33,3
	I	0	0	0	0
	S	0	0	0	66,7
Ciprofloxacina	R	100	100	100	100
	I	0	0	0	0
	S	0	0	0	0
Gentamicina	R	71,4	0	0	66,7
	I	0	0	0	33,3
	S	28,6	100	100	0
Cloranfenicol	R	100	100	100	100
	I	0	0	0	0
	S	0	0	0	0
Tetraciclina	R	100	100	100	100
	I	0	0	0	0
	S	0	0	0	0
Nitrofurantoína	R	0	0	0	0
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	100
Rifampicina	R	0	0	0	0
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	100
Linezolid	R	0	0	0	0
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	100

Tabla 1: Perfiles de resistencia de SARM aislados de fosas nasales de cerdos en granjas porcinas según edad de los animales.

* Edad expresada en días; ** Valores expresados en porcentaje; S: sensible; I: intermedio; R: resistente

En nuestro país, hasta el momento no se habían reportado SARM en la especie porcina. La caracterización molecular de dos aislamientos en animales de 154 días reveló la presencia de CC1 (CA-SARM). Este mismo CC fue aislado en monitoreos de cerdos de Dinamarca (DANMAP, 2016) e Italia (Alba *et al.* 2015).

Rossi *et al.* (2016) describen a las infecciones causadas por *S. aureus* entre hombres y animales como "anfixenosis" o infecciones que se mantienen tanto en el hombre como en los animales vertebrados y se transmiten en cualquier dirección. La presencia de CC1, que habita comúnmente en el hombre (CA-SARM), alienta la presunción que la colonización en los cerdos podría haberse producido a partir del hombre.

En los aislamientos de SARM se evidenció multirresistencia a diferentes drogas que se utilizan para tratar las infecciones causadas por *S. aureus*. Al perfil de resistencia predominante ERY, CLIN, TET, CMP y CIP se sumaron 11 cepas no sensibles a GEN. El incremento de la resistencia a los antimicrobianos en SARM de origen porcino fue observado por Abreu *et al.* (2019) en un estudio longitudinal realizado en España en el período 2009-2018, con emergencia de resistencia a GEN. Estos resultados contrastan con lo hallado previamente en un estudio longitudinal en cerdos de establecimientos de granjas localizadas en la provincia de Buenos Aires, en el cual no se detectó resistencia a meticilina en *S. aureus* sino en 29/34 (85,3 %) de estafilococos coagulasa negativos, siendo el perfil de resistencia ERY, CLIN, GEN y CIP el más frecuente y hallado en el 38,2 % de los aislados estudiados (Giacoboni *et al.*, 2016). La circulación de estafilococos coagulasa negativos resistentes a meticilina se registró también en granjas porcinas del norte de Italia (Bonvegna *et al.*, 2021) y sugieren que el gen *mecA* podría transferirse horizontalmente de estafilococos coagulasa negativos resistentes a la meticilina a especies bacterianas más relevantes para la salud humana, como *S. aureus*.

Este trabajo confirma la circulación de SARM multirresistentes en cerdos de diferentes etapas de producción intensiva. Debido a que el tamaño de la muestra fue pequeño y no permitió realizar un análisis estadístico, sería de interés realizar estudios en mayor escala para poder correlacionar la presencia de SARM con diversos factores relacionados con la producción porcina. Además, se demostró que los primeros aislamientos se asociaron a clones de CA-SARM prevalentes en la población humana. Este hallazgo alerta sobre la necesidad de vigilancia de SARM en cerdos en nuestro país, para implementar medidas apropiadas que eviten su diseminación.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por el subsidio otorgado por la Universidad Nacional de La Plata en el marco del Programa de Proyectos de I+D2019(V265).

Conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses, incluyendo entre estos últimos las relaciones financieras, personales o de otro tipo con otras personas u organizaciones que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo.

Bibliografía

- Alba P, Feltrin F, Cordaro G, Porrero MC, Kraushaar B, Argudín MA, Nykäsenoja S, Monaco M, Stegger M, Aarestrup FM, Butaye P, Alessia F., Battisti A. 2015. Livestock-associated methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* sequence type (CC)1 in European farmed animals: high genetic relatedness of isolates from Italian cattle herds and humans. PLoS ONE 10(8):e0137143. <https://doi.org/10.1371/journal.p one.0137143>
- Armand-Lefevre L, Ruimy R, Andreumont A. 2005. Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. Emerging Infectious Diseases 11(5):711-4. <https://doi.org/10.3201/eid 1105.040866>

- Abreu R, Rodríguez-Álvarez C, Lecuona M, Castro B, González JC, Aguirre-Jaime A, Arias Á. 2019. Increased antimicrobial resistance of MRSA strains isolated from pigs in Spain between 2009 and 2018. *Veterinary Sciences*. 6(2):38. <https://doi.org/10.3390/vetsci6020038>
- Bonvegna M, Grego E, Sona B, Stella MC, Nebbia P, Mannelli A, Tomassone L. 2021. Occurrence of methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci (MRCoNS) and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from pigs and farm environment in Northwestern Italy. *Antibiotics*. 10(6):676. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060676>
- Crespo-Piazuelo D, Lawlor PG. 2021. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) prevalence in humans in close contact with animals and measures to reduce on-farm colonisation. *Irish Veterinary Journal*. 74:21. <https://doi.org/10.1186/s13620-021-00200-7>
- Crombé F, Argudín MA, Vanderhaeghen W, Hermans K, Haesebrouck F, Butaye P. 2013. Transmission dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Frontiers in Microbiology*. 4:57. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00057>
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2020. VET01S ED5: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, 5th edition. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2021. M-100-31 Ed.: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standard - 31st Edition. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- DANMAP. 2016. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. ISSN 1600-203 European Food Safety Authority. 2021. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSA Journal* 19(4):6490. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6490>
- Giacoboni GI, Gagetti P, Pasterán F, Cappuccio J, Vigo GB, Perfumo CJ, Corso A. 2016. Staphylococcus resistentes a meticilina y multiresistentes en cerdos de cría intensiva: estudio longitudinal en un establecimiento de la provincia de Buenos Aires. XIV Congreso Argentino de Microbiología, Rosario, Santa Fe, p.304.
- Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. 2018. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Research*. 3:124. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
- Organización Mundial de la Salud (OMS) 2017. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [En línea]. [Consultado 04/11/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Rossi G., Cerquetella M., Attili AR (2016) Aspectos anfitenóticos de la infección por *Staphylococcus aureus* en el hombre y los animales. En: Bagnoli F., Rappuoli R., Grandi G. (eds) *Staphylococcus aureus*. Temas Actuales en Microbiología e Inmunología, vol 409. pp 297-323 Springer Cham. [Consultado 04/11/2021]. https://doi.org/10.1007/82_2016_2
- Servicio Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr Carlos G. Malbrán”. Protocolo para detección del gen mecA por PCR. [En línea]. [Consultado 05/01/2022]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/01/Detecci%C3%B3n-mecA1.pdf>
- Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging Infectious Diseases*. 11(12):1965-6. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050428>

Wettstein Rosenkranz K, Rothenanger E, Brodard I, Collaud A, Overesch G, Bigler B, Marschall J, Perreten V. 2014. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among Swiss veterinary health care providers: detection of livestock- and healthcare-associated clones. Schweizer Archiv Tierheilkunde.156(7):317-25. <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000601>