

# Epidemiología molecular de bacterias con resistencia a los antimicrobianos en un contexto “One Health”

opina



**Autora:** SOLA, Claudia.

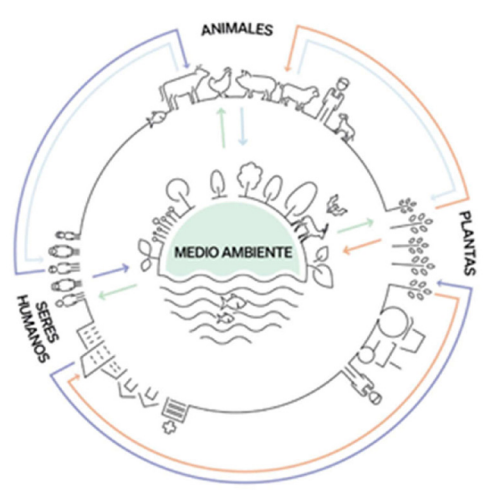
**Filiación Institucional:** Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. CIBICI-CONICET. Córdoba- Argentina.

**Contacto:** csola@unc.edu.ar

## Introducción: contexto “One Health” o Una Salud

Existe una sólida evidencia del creciente aumento de los fracasos terapéuticos de los antimicrobianos para tratar infecciones. Al mismo tiempo, se observa una escasez de investigaciones sustanciales sobre nuevos antimicrobianos que puedan reemplazarlos. En consecuencia, la resistencia a los antimicrobianos (RAM) representa una amenaza global para la salud humana, animal y vegetal, así como para la seguridad alimentaria. Se requieren investigaciones exhaustivas de los mecanismos subyacentes que impulsan este fenómeno.<sup>5 12 14</sup>

La RAM entre las bacterias comensales y patógenas es un problema prototípico de UNA SALUD o "One Health", y su abordaje exige una colaboración laboral multisectorial y transdisciplinaria a nivel local, regional, nacional y global. El objetivo es lograr resultados de salud óptimos reconociendo la interconexión entre personas, animales, plantas y el ambiente compartido, entendido como una sola salud (CDC 2023, <https://www.cdc.gov/onehealth/index.html>) (Figura 1).

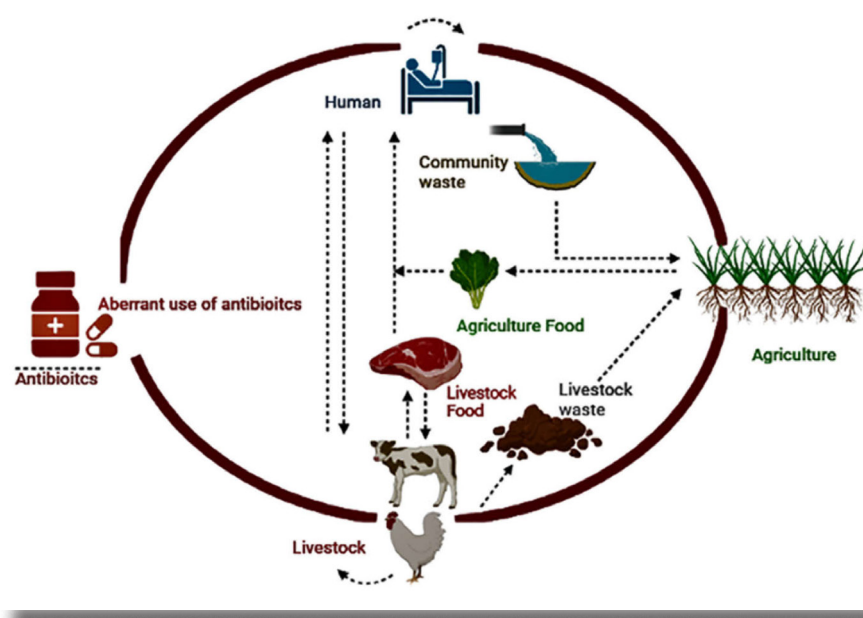


**Figura 1.** Enfoque “One Health” o Una Salud.

Figura adaptada de la pag. Web de la Organización Mundial de Sanidad Animal <https://www.woah.org/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/una-sola-salud>

El uso indebido y excesivo de antimicrobianos, junto con otros factores estresantes como metales pesados y contaminantes, en la medicina humana, la agricultura y la ganadería, seleccionan y contribuyen al surgimiento y propagación de bacterias con RAM, así como de los determinantes de resistencia dentro y entre los sectores humano, animal y ambiental<sup>3 11 13</sup>. La aparición de estas bacterias con RAM puede tener lugar en el tracto digestivo de humanos y animales o en el medio ambiente (por ejemplo, agua, aguas residuales, suelo y aire)<sup>4 5</sup>. Posteriormente, pueden propagarse y transmitirse a los humanos, animales comestibles, plantas y vida silvestre debido a las complejas interconexiones en el entorno ambiental<sup>3 8</sup>.

Múltiples reservorios ambientales contribuyen a la diseminación de la RAM, incluyendo el suelo, el agua, los hospitales, los residuos industriales y agrícolas, así como varios nichos ecológicos contaminados (Figura 2). Por lo tanto, para controlar la diseminación de la RAM, se requiere un enfoque más amplio que considere el movimiento de bacterias entre hospedadores humanos y animales, así como los diferentes nichos donde las bacterias y sus elementos de resistencia puedan existir<sup>3 13 14</sup>.



**Figura 2.** Transmisión de la RAM en el contexto ONE HEALTH

Esta Figura es adaptada de la Figura 1 de la ref. 3: Aslam B et. al., *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2021. doi: 10.3389/fcimb.2021.771510

## Epidemiología Molecular y Bases genéticas de la resistencia a los antimicrobianos

En referencia a los patógenos bacterianos asociados más frecuentemente a muertes relacionadas con la RAM, seis de ellos se destacaron a nivel mundial en 2019: *Escherichia coli*, seguido de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeru-*

*ginosa*<sup>2</sup>. Además, otro estudio identificó los cinco principales patógenos responsables de muertes por infecciones bacterianas en general, independientemente de la RAM: *S. aureus*, *E. coli*, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*<sup>7</sup>. Estos resultados avalan el éxito epidemiológico de estos patógenos, re-

lacionado tanto con su virulencia y capacidad de transmisión como con su habilidad para adquirir y transmitir la RAM, todo respaldado en un contexto genómico o "background" genético. La epidemiología molecular de las bacterias con RAM y/o con alta transmisibilidad en el contexto "One Health" implica el estudio de los mecanismos y factores genéticos que contribuyen al surgimiento y propagación de las mismas en diferentes compartimientos o ambientes, incluyendo humanos, animales y medio ambiente. Entre los aspectos claves se destaca el conocimiento de las bases genéticas de la RAM. La misma se produce a través de varios mecanismos, incluyendo mutaciones genéticas o la adquisición de genes de resistencia <sup>3 15</sup>. La transmisión de la RAM puede ocurrir de dos maneras:

- i) por la transferencia horizontal de los determinantes de resistencia, principalmente alojados en elementos genéticos móviles (EGM: plásmidos, transposones, integrones y otros), entre diferentes bacterias dentro de una sola especie y/o entre diferentes especies, y
- ii) por la diseminación clonal de las bacterias con RAM entre diferentes nichos o ambientes <sup>6 9</sup>.



En referencia a la RAM, ha surgido el concepto de resistoma, que abarca al conjunto de genes asociados a la RAM, incluyendo genes de resistencia adquirida e intrínseca, precursores y algunos mecanismos de resistencia potenciales dentro de las comunidades microbianas que requieren evolución o alteraciones en el contexto de expresión para conferir resistencia <sup>9</sup>. En consecuencia, el enfoque "One-Health" implica el análisis del resistoma y su interconexión entre los diferentes sectores: humano, ambiente y animal como las interfaces entre ellos <sup>9</sup>. Entre los innumerables factores que contribuyen a la RAM, la aparición y diseminación

de clones de alto riesgo (CARs) o "high-risk clones" (HRCs) en diferentes géneros bacterianos es uno de los más relevantes. Este término surgió alrededor del año 2011 y se utiliza para describir grupos dentro de una población bacteriana que mejoran la propagación de la RAM. Los CARs se caracterizan por poseer la mayoría de las siguientes características: **1)** alta transmisibilidad, relacionada a i) alta infectividad, ii) persistencia por largo tiempo en individuos colonizados, y iii) presencia en múltiples fuentes (especies animales, población humana y fuentes ambientales) y **2)** presentar resistencia a múltiples ATM y **3)** causar frecuentemente infecciones severas <sup>6</sup>.

Estos CARs representan una gran preocupación no solo por el desafío que plantean al tratamiento de pacientes, sino también porque poseen una composición genética específica que les permite ser vehículos altamente eficientes para transportar los EGM junto a los genes de resistencia a ATM, promoviendo así su propagación <sup>1 6 10 13</sup>.

En el marco "One Health", las estrechas interacciones entre humanos, animales y el medio ambiente brindan numerosas oportunidades para la transmisión de estos genes de RAM entre especies bacterianas <sup>3 9</sup>. Los reservorios ambientales, incluyendo agua, aire y suelo, sirven como puntos críticos para la acumulación e intercambio de genes de resistencia a los antimicrobianos. La influencia de actividades antropogénicas, como prácticas agrícolas y eliminación de desechos farmacéuticos e industriales, intensifica la presión de selección para la RAM. Comprender la dimensión ambiental de la RAM es fundamental para diseñar estrategias integrales de mitigación <sup>3</sup>.

En resumen, la investigación de las bases genéticas de la RAM implica identificar y caracterizar a los genes específicos y variantes genéticas que confieren la RAM, a los EGM que los

transportan (plataforma genética) como así también al contexto o "background" genético de los CARs donde están alojados. Para llevar a cabo este análisis, se emplean diversas técnicas de biología molecular, desde la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) hasta la secuenciación del genoma completo, con diferentes variantes<sup>1-9</sup>. Los avances en la vigilancia molecular genómica junto a la bioinformática han revolucionado nuestra capacidad para rastrear el movimiento de genes de resistencia en diferentes poblaciones microbianas y en diversas regiones del mundo. La secuenciación de alto rendimiento ("High-throughput sequencing") y la genómica comparativa permiten la identificación de características genéticas específicas asociadas a los CARs y a los EGM, ayudando a predecir su impacto potencial en la salud humana y animal<sup>1</sup>. La detección de los CARs en una población bacteriana y el conocimiento de sus características genéticas relacionadas a la transmisibilidad, adaptación a diferentes nichos ecológicos, virulencia y multi-RAM, es de suma importancia para el control de su diseminación y, así, de la RAM<sup>1 10 13</sup>. Estudiar las trayectorias evolutivas de los CARs es crucial para predecir su comportamiento futuro e idear intervenciones específicas. Estos clones experimentan una rápida microevolución para adaptarse a las condiciones ambientales cambiantes y a las presiones antimicrobianas. Al investigar las presiones de selección que impulsan estas adaptaciones, se pueden descubrir mutaciones genéticas o la adquisición de genes que confieren resistencia mientras se mantiene o mejora la capacidad o aptitud ("fitness") para sobrevivir y transmitirse.

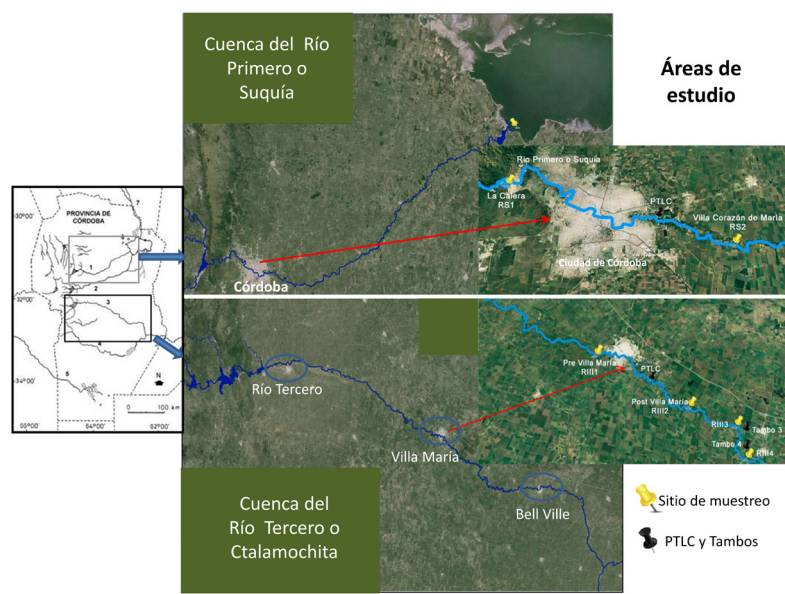
El conocimiento que surge de la vigilancia molecular brindará información para abordar nuevos enfoques terapéuticos que aprovechen las vulnerabilidades en vías específicas de los CARs. Además, también será crucial para preservar la eficacia de los antibióticos existentes y guiar el desarrollo de agentes antimicrobianos de

próxima generación. La integración de estas estrategias en los ámbitos humano, animal y ambiental en un enfoque "One Health" es esencial para un control eficaz<sup>3</sup>.

Existen recientes reportes en diferentes partes del mundo que abordan la investigación de la transmisión de los principales patógenos bacterianos, los genes de resistencia a ATM y los CARs asociados, en los diferentes sectores "One Health"<sup>4 6 8 13 15</sup>.

Si bien el problema de la RAM es global, las características y los factores involucrados en cada sector "One Health" (humano, animal y ambiente) son muy diversos y variables según los diferentes países o regiones. Consecuentemente, es necesario el desarrollo de estudios a nivel regional para poder abordar este problema global. En Argentina, el enfoque "One Health" en el estudio de la RAM ambiental es aún incipiente y está liderado por varios grupos de investigadores de diferentes puntos del país, que se han interesado en el tema y realizan su labor principalmente en universidades y centros de investigación del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MinCyT) y de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) perteneciente al Ministerio de Salud (<https://bancos.salud.gob.ar/recursos/enfoque-una-salud-estudios-ambientales-de-la-resistencia-los-antimicrobianos>).

En referencia a este tema nuestro grupo de investigación, de forma interdisciplinaria, está estudiando la transmisión de CARs de *S. aureus* y de *Enterococcus* con resistencia a vancomicina (ERV) con un abordaje "One Health": humano, animal (bovinos) y ambiente (ríos de Córdoba y Laguna Mar Chiquita). Brevemente se muestran algunos resultados (Figura 3).



**Figura 3.** Áreas de estudio en la provincia de Córdoba y sitios de muestreo.

En colaboración con la Dra. Valeria Amé (CIBICI) se analizó la presencia junto a la caracterización molecular y sensibilidad a los ATM de cepas de *S. aureus* y de ERV en la cuenca del río Primero o Suquía (RS) y en la del río Tercero o Calamuchita o Ctalamochita (RIII).

**a)** El río Suquía (RS), comienza en la represa San Roque y su desembocadura está en la Laguna Mar Chiquita. El mismo atraviesa la ciudad de Córdoba donde recibe escorrentía urbana, aportes pluviales y efluentes de una planta de tratamiento de líquidos cloacales o aguas residuales/(PTLC o PTAR). Se muestreó en un punto (PM) antes de la ciudad de Cba (RS1: La Calera) y en un PM después de la ciudad de Córdoba y de la PTAR (RS2: Corazón de María). En el RS2 el río ya recibió escorrentía urbana difusa, probables descargas clandestinas de aguas residuales no tratadas en el sistema de drenaje pluvial y el efluente de la PTAR. También se tomaron muestras del agua de la Laguna Mar Chiquita en la desembocadura del río Suquía.

**b)** El río Tercero (RIII), nace en proximidades del cerro Champaquí y atraviesa una región de la Pampa Húmeda (cuenca lechera), la ciudad de Villa María (VM) y otras poblaciones cercanas y junto con el río Cuarto son afluentes indirectos del río Paraná. Por lo tanto el río recibe descargas de residuos de las actividades indus-

triales y agrícolas desarrolladas a lo largo de la cuenca, pero también asociadas a importantes asentamientos urbanos. Se tomaron muestras dos días separados por 5 semanas en 4 PM: antes/(RIII1) y después (RIIIP2) de la Ciudad de Villa María incluyendo efluentes de la PTAR, en una zona de tambos lecheros (RIIIP3) y luego de los mismos (RIIIP4). En el río Suquía se evidenció un efecto espacial, debido a que sólo se detectaron CARs con RAM de *S. aureus* y VRE en el PM después de la ciudad de Córdoba. Lo que demuestra el efecto antropogénico de la ciudad de Córdoba con impacto sobre la RAM. En el río Tercero, se evidenció un efecto temporal, debido a que identificamos la propagación de un linaje predominante en los diferentes puntos de muestreo en diferentes períodos de tiempo. En conclusión los ríos de Córdoba facilitan la propagación de CARs de *S. aureus* con RAM tanto de origen humano como animal. (González MJ-Sola C, Poster Congreso AAM 2022, Blasko E-Sola C, PO SAIB 2023).

En colaboración con el Dr. en Veterinaria Cesar Boneto y la Dra. Carina Porporato (Medicina Veterinaria UNVM, IMITAB) se analizó la prevalencia de portación, resistencia a ATM y epidemiología molecular de *S. aureus* en bovinos lecheros criados en la pampa húmeda, principal área agrícola y ganadera de Argentina,



región Villa María, como posible reservorio de CARs. Se identificó un CAR con RAM como el más prevalente, posiblemente relacionado a humanos, en el 73% de los animales colonizados. No se detectó VRE en ninguno de los animales. Estos resultados demuestran la importancia del ganado Bovino como reservorio de estos clones CARs de *S aureus*. (Perillo Cill F-Sola C, PO SADI 2022, González M J-Sola C SAIB 2022). En colaboración con la Microbióloga Carolina del Bo (Unidad de Microbiología. CEPROCOR), se analizaron cepas de *S aureus* recuperadas de alimentos contaminados. El análisis molecular reveló la presencia de diferentes tipos de CARs con y sin RAM, lo que implica que los alimentos pueden actuar como vehículos de estos CARs (Bosio D D-Sola C PO SADI 2021, Barcudi D-Sola C SAIB 2021). Además se evaluó la epidemiología molecular de las infecciones por *S aureus* en 11 hospitales de Córdoba en el mismo período (González MJ-Sola C SADI 2023). Estos estudios se continuarán con el análisis de las secuencias de los genomas completos de las cepas provenientes de los diferentes sectores “One Health” (ambiente, humano y ambiente) para evaluar las rutas de transmisión de los CARs detectados. Estos resultados brindarán información para orientar las estrategias de control de transmisión tanto a nivel regional como global.

## Conclusión

La relación estrecha entre los clones bacterianos de alto riesgo y la resistencia a los antimicrobianos requiere esfuerzos de investigación integrales en un contexto “One Health” para dilucidar sus mecanismos de persistencia, diseminación y adaptación entre diferentes hospedadores/ecosistemas (humano, animal, ambiente). Al analizar las dimensiones genética, evolutiva y ecológica de estos clones, se podría anticipar su comportamiento e idear intervenciones específicas que aborden el desafío global de la RAM, salvaguardando la salud de los humanos, los animales y los ecosistemas por igual.

## Bibliografía

1. Aanensen DM, Feil EJ, Holden MT, Dordel J, Yeats CA, Fedosejev A, et al. Whole-Genome Sequencing for Routine Pathogen Surveillance in Public Health: a Population Snapshot of Invasive Staphylococcus aureus in Europe. *MBio* 2016; 7.
2. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet* 2022; 399:629-655.
3. Aslam B, Khurshid M, Arshad MI, Muzammil S, Rasool M, Yasmeen N, et al. Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 11:771510.
4. Baquero F, Coque TM, Martinez JL, Aracil-Gisbert S, Lanza VF. Gene Transmission in the One Health Microbiosphere and the Channels of Antimicrobial Resistance. *Front Microbiol* 2019; 10:2892.
5. CDC. COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance. Special Report 2022, Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC 2022.
6. de Lagarde M, Vanier G, Arsenault J, Fairbrother JMM. High Risk Clone: A Proposal of Criteria Adapted to the One Health Context with Application to Enterotoxigenic Escherichia coli in the Pig Population. *Antibiotics (Basel)* 2021; 10.
7. GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 2022; 400:2221-48.
8. Graham DW, Bergeron G, Bourassa MW, Dickson J, Gomes F, Howe A, et al. Complexities in understanding antimicrobial resistance across domesticated animal, human, and environmental systems. *Ann N Y Acad Sci* 2019; 1441:17-30.
9. Kim DW, Cha CJ. Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Exp Mol Med* 2021; 53:301-309.
10. Matuszewska M, Murray GGR, Harrison EM, Holmes MA, Weinert LA. The Evolutionary Genomics of Host Specificity in Staphylococcus aureus. *Trends Microbiol* 2020; 28:465-477.
11. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr* 2018; 6.
12. O'Neill J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report And Recommendations. The Review On Antimicrobial Resistance 2016; Abstract.
13. Park S, Ronholm J. Staphylococcus aureus in Agriculture: Lessons in Evolution from a Multispecies Pa hogen. *Clin Microbiol Rev* 2021; 34.
14. Scott HM, Acuff G, Bergeron G, Bourassa MW, Simjee S, Singer RS. Antimicrobial resistance in a One Health context: exploring complexities, seeking solutions, and communicating risks. *Ann N Y Acad Sci* 2019; 1441:3-7.
15. Velazquez-Meza ME, Galarde-Lopez M, Carrillo-Quiroz B, Alpuche-Aranda CM. A.

opina

