

New information about the study of
reservoir of antibiotic
Resistance Network (ROAR)

Nueva información acerca del estudio de reservorios de Resistencia (ROAR)

Fecha de aceptación: diciembre 2009

El proyecto de Reservorios de Resistencia a los Antibióticos (ROAR, por sus siglas en inglés) fue iniciado por la APUA (Alianza Para el uso Prudente de Antimicrobianos) en 1997, para documentar la investigación global y recopilar información genotípica y fenotípica sobre bacterias comensales que sirven como reservorios potenciales de determinantes de resistencia antibiótica para patógenos humanos. Este acuerdo de cooperación de varios años con los Institutos Nacionales de Alergia y Enfermedades Infecciosas representa el primer esfuerzo sistemático para compilar y divulgar información sobre reservorios de bacterias y para examinar el flujo de genes de resistencia de comensales a patógenos. La aparición de resistencia antibiótica en comensales podría servir como marcador o factor de predicción de surgimiento en patógenos.

Los estudios del consorcio subcontratado ROAR trabajaron en diversas áreas, reflejando así la enormidad del tema de la iniciativa, pero desarrollaron ideas con implicaciones para todo el campo (Cuadro 1, ver página 80).

Como resultado del desenlace del estudio, así como de otros datos solicitados de forma independiente, hay un total de 14 series de datos en la base de datos de aislamientos de ROAR, lo que representa 3352 aislamientos: 2892 *E. coli*, 169 *Streptococcus*, 182 *Staphylococcus*, 35 *Enterococcus*, 33 *Neisseria*, 32 *Leuconostoc* y 11 otros.

Más recientemente, se concibió y desarrolló el concepto de desarrollo de un método estandarizado (GETEC, tipificación habilitada por genoma de *E. coli*) en la APUA. Los datos sobre tipificación de secuencias multiloci generadas por el proyecto ROAR (Dr. D.M. Gordon) sirven ahora como base de un esfuerzo de colaboración entre APUA y el Centro de Secuenciación Microbiana del Instituto Broad. Se envió para la revisión de un informe oficial a la NIAID para secuenciar 103 genomas comensales *E. coli*, con el fin de crear un recurso comunitario que proporcione las bases para una amplia variedad de intereses de investigación incluyendo, pero no limitándose a los mecanismos genéticos de la patogénesis, resistencia antibiótica y adaptación del huésped.

Este proyecto también permitirá la determinación de las firmas de las enfermedades infecciosas emergentes. El método estandarizado resultante, atribuible a ROAR por su inicio e ideación, será una gran contribución al campo de la investigación.

Recursos disponibles para la comunidad científica

Bases de datos de la página web del ROAR

La base de datos interactiva del ROAR (www.ROARproject.org), con información detallada sobre fenotipos y genotipos de resistencia de reservorios de bacterias, está abierto al público y a la comunidad científica con las dos bases de datos ligadas y de calidad controlada administradas en línea en un área protegida por contraseña: **1)** una librería, anotada y sintetizada, excepcional, de referencias

sobre resistencia antibiótica en flora comensal; y **2)** una base de datos de aislamientos de información genómica solicitada de múltiples fuentes para facilitar los análisis cruzados de los juegos de datos.

La biblioteca de la base de datos de la literatura ROAR, actualmente contiene más de 1800 citas con 1100 artículos comentados, enfocados específica-

mente en la resistencia en bacterias comensales. Las anotaciones están en curso y consisten en 53 posibles variables, incluyendo especies, fuentes, pruebas y métodos de susceptibilidad a antibióticos, evaluaciones de transferencia de resistencia, factores de virulencia y genes de resistencia.

La base de datos de aislados ROAR consta de información sin procesar, aislamiento por aislamiento incluyendo susceptibilidad a antibióticos, genotipo, fenotipo, rasgos de virulencia y otra información. Actualmente contiene información de 3352 aislamientos, que incluyen toda la información generada por los consorcios en los años 1-5 (vea el Cuadro 1). Además, se adquirieron y agregaron los datos para *E. coli* del Sistema Nacional de Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana (NARMS, por sus siglas en inglés; <http://www.fda.gov/NARMS>), que nos fueron proporcionados por David White, miembro del Comité Directivo y anterior director del programa NARMS.

Red Listserv del ROAR

La red listserv (N. del T., nombre de un software que gestiona todo tipo de listas de correo electrónico) del ROAR (<https://elist.tufts.edu/www/info/roar>) tiene un número creciente de más de 350 miembros. Comprendido por investigadores interesados de diversos campos científicos, el listserv actúa como un foro activo para la discusión oportuna de resistencia en comensales y ha sido un valioso recurso para la divulgación de noticias relacionadas con el ROAR, solicitudes de información y anuncios y deliberaciones sobre preguntas acerca de políticas científicas controversiales tales como uso de antibióticos en la comida animal. Las discusiones se archivan por fecha y tema. Para unirse al listserv ROAR, contacte en APUA@tufts.edu.

Trabajo en progreso

Recientemente, se presentó un simposio titulado Proyectos Globales de la APUA sobre resistencia Antimicrobiana en ASM 2008, Boston. La APUA actualmente está involucrada en un proyecto financiado por el Instituto de Investigación Médica para Enfermedades Infecciosas de Estados Unidos (USAMRIID, por sus siglas en inglés) para reunir y analizar cepas bacterianas comensales importadas de países del grupo afiliado a la APUA. Para más información sobre el ROAR, por favor visite nuestra página web o contacte a Kathleen Young o Bonnie Marshall en la APUA. www.apua.org

El CDC ofrece lineamientos para la prevención de resistencia antibiótica / antimicrobiana en infección asociada con el cuidado de la salud, malaria, tubercu-

losis, infección de transmisión sexual. <http://www.cdc.gov/DRUGRESISTANCE/clinical.htm>

- a. Lineamiento para higiene de manos en entornos de cuidado de salud
<http://www.cdc.gov/handhygiene/>
- b. Prevención de resistencia antimicrobiana en entornos de cuidado de salud
<http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/default.htm>
- c. Contiene herramientas para los médicos que tratan a Adultos hospitalizados:
http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/ha/12steps_HA.htm
- d. Pacientes de diálisis
http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/dialysis/12steps_dialysis.htm
- e. Pacientes quirúrgicos
http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/surgery/12steps_surgery.htm
- f. Niños hospitalizados
http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/children/12steps_children.htm
- g. Residentes de cuidado a largo plazo
http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/ltc/12steps_ltc.htm

Recursos de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana Multinivel (MASTER)

<http://wwwn.cdc.gov/dls/master/default.aspx>

Esta página web contiene información sobre temas de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana relacionados con la práctica de laboratorio de microbiología clínica. Este sitio se actualiza y ofrece:

- a. Un estudio de caso que aborda un tema contemporáneo sobre pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.
- b. Preguntas y Respuestas a cinco o más preguntas hechas por usted u otros visitantes a nuestra página web.
- c. Documentos de divulgación: lista de características de documentos recientes relacionados con pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.
- d. Noticias importantes: incluye nueva información y próximos cursos de educación continua sobre pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.
- e. Materiales de referencia: listas de información de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (principalmente libros y ligas a otras páginas web).
- f. Lineamientos de la Cámara Nacional de Compensación (NGC).

<http://www.guideline.gov/>

Los lineamientos de la Cámara Nacional de Compensación

sación son un recurso público para los lineamientos de la práctica clínica con base en evidencia, incluyendo enfermedades infecciosas. La característica más notable de esta página web interactiva es la capacidad para generar una comparación simultánea de cualesquiera dos o más lineamientos. La comparación despliega el (los) objetivo (s) de los lineamientos, los principales resultados considerados y la descripción de los métodos utilizados para reunir / seleccionar la evidencia. Además, la guía califica la contundencia de la evidencia, confirma la validación, ofrece un algoritmo clínico y brinda las principales recomendaciones. <http://www.guideline.gov/compare/compare.aspx>

Recurso Nacional para el Control de la Infección, UK.

El NRIC es un proyecto desarrollado por los profesionales del cuidado de la salud, que busca ser un punto de acceso único a los recursos existentes dentro del control de infecciones, tanto para el personal de Control de Infección como para otros sitios de cuidado de la salud. http://www.nric.org.uk/IntegratedCRD.nsf/NRIC_Policy_AniimicrobialPrescribing?OpenForm

Para personal veterinario

Asociación Americana Médica-Veterinaria sobre el uso terapéutico sensato de antimicrobianos <http://www.avma.org/issues/jtua/default.asp>

Documento de posición de la Sociedad Americana de Epidemiología y Comité Conjunto de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas sobre la Prevención de Resistencia Antimicrobiana: lineamientos para la prevención de resistencia antimicrobiana en hospitales. www.shea-online.org/assets/files/position_papers/AntimicroResist97.PDF

Estrategia global de la OMS para la contención de resistencia antimicrobiana http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/WHO_CDS_CSR_DRS_2_001_2_EN/en/

Información general de la OMS sobre resistencia antimicrobiana <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>

Protección de Salud en Escocia – página web de resistencia antimicrobiana.

<http://www.hps.scot.nhs.uk/haiic/amr/index.aspx>
Instituto Nacional de Alergia y Enfermedad Infecciosa - sobre resistencia antimicrobiana <http://www3.niaid.nih.gov/topics/antimicrobialresistance/>

Para médicos comunitarios

Póngase listo: Campaña de Información: "Conozca cuándo trabajan los antibióticos." <http://www.cdc.gov/drugresistance/community/healthcare-provider.htm>

Cuadro 1. Estudios del Consorcio ROAR APUA

IP	Título del Proyecto	Hallazgos / Meta del Proyecto
Susan Hollingshead Universidad de Alabama	<i>Streptococcus mitis</i> biovar 1 y su potencial como reservorio para <i>Streptococcus pneumoniae</i> .	Se inició una exploración sistémica de la contribución sospechada por largo tiempo de flora bucal comensal al complemento del gen de resistencia de <i>Streptococcus pneumoniae</i> . Se desarrollaron sistemas MLST para elaborar la estructura de la población de colecciones de <i>Streptococcus mitis</i> y delinear sus genes de resistencia. ^{1,2}
Lisa Nolan y Timothy Johnson Universidad del Estado de Iowa	Posible surgimiento de reservorio mediado por plásmido de genes de resistencia entre <i>Escherichia coli</i> de aves de corral.	Se diseñaron múltiples paneles multiplex PCR para buscar virulencia plásmida y rastros de resistencia en más de dos mil aislados de <i>Escherichia coli</i> , y para observar el presunto flujo de estos entre los aislados comensales y patogénicos de las diferentes fuentes de las colecciones, incluyendo aves de corral y humanos distantes. Mientras que la <i>E. coli</i> aviar patogénico tuvo más genes de resistencia que las de otras fuentes, la investigación reveló que todas las poblaciones compartían algunos genes de resistencia.
Anne Summers Universidad de Georgia	Alta producción de genotipificación molecular de estafilococos humanos y ambientales portadores de integrones clase I.	Se desarrolló una batería de métodos para discriminar a las cepas de estafilococos, incluyendo huella genética y perfil de plásmidos, fenotipificación y genotipificación, microarreglo planar y secuenciación de plásmidos por apalancamiento, este último generó más trabajo para explicar los mecanismos de movilidad de los elementos genéticos de los estafilococos.
David Gordon Universidad Nacional de Australia	Resistencia antibiótica y relación genética de <i>E. coli</i> de Australia.	Se desarrolló una clasificación de <i>E. coli</i> para comprender más su estructura poblacional, lo que es necesario para entender su rol principal en la propagación de resistencia por los patógenos comensales. Se comparó un nuevo y rápido método con base en PCR para identificar los grupos filo de <i>E. coli</i> con los anteriores métodos, más laboriosos, que estaba en uso. ⁴
James Tiedje Universidad del Estado de Michigan	Exploración de transferencia, diversidad y distribución de genes resistentes a antibióticos que residen en la tierra.	Se hallaron cuatro clases de genes de resistencia a tetraciclina, así como genes de resistencia a aminoglicósidos y amonio cuaternario en el ADN extraído de la tierra, pero sólo en tierra abonada por cerdos alimentados con tetraciclina. Sin embargo, se encontraron numerosos integrones en todas las tierras, lo que indica que mientras que los genes de resistencia podrían concentrarse en los sitios de selección, los elementos genéticos para diseminarlos están extendidos.
Marilyn Roberts Universidad de Washington	Perfil de genes con resistencia <i>mef</i> y <i>erm</i> en aislamientos orales pediátricos.	Se identificó a una variedad de cada uno de los dos tipos principales de genes que expresan resistencia a macrólidos, mucho de ellos vinculados con genes de resistencia a mercurio, en muchos géneros de flora oral comensal de niños con amalgamas dentales de mercurio. De esta forma, las trazas de mercurio podrían co-seleccionar una mayor persistencia de los genes resistentes a macrólidos y la posibilidad de su transferencia a patógenos vecinos.
Betsy Foxman Universidad de Michigan	Prueba la tipificación del arreglo de hibridación: un método de tipificación de <i>E. coli</i> de alta producción	Se desarrolló la Prueba la Tipificación de Arreglo de Hibridación (PHAT, por sus siglas en inglés) para ser un método más rápido y fácil de digitalizar que se correlacionará con la tipificación MLST mientras también detecta de forma más veloz los cambios evolutivos para monitorear mejor los eventos en la propagación y transferencia en el mundo real de los genes de resistencia. ⁷
Erick Denomur; Andre Andreomontl, David Skurnik, Sylvain Brisse INSERM U722, Instituto Pasteur, Universidad de París	Análisis filogenético de resistencia antibiótica en <i>Escherichia coli</i> comensal.	Se examinó mediante MLST una colección de 444 aislados comensales <i>E. coli</i> expuestos a diferentes niveles de presión selectiva antibiótica (animales domésticos y salvajes, mascotas, humanos) para: 1) evaluar la transferencia de genes de resistencia entre aislado; 2) comparar la virulencia en cepas sensibles y resistente; y 3) intento de correlacionar el mecanismo de resistencia a tetraciclina con huésped del aislado y filogenia de la cepa.
Carlos F. Amábile Cuevas Fundación IUSARA México	Resistencia antibiótica en estreptococos comensales oral de mexicanos y cubanos sanos: el predominio de la resistencia no refleja el uso de antibióticos.	No se encontró diferencia en el predominio de la resistencia entre los estreptococos orales entre los grupos presuntamente con exposición alta y baja a antibióticos, aunque la primera tiene más cepas con resistencia múltiple. Los futuros trabajos sugieren una presión selectiva en el ambiente, que favorezca el surgimiento de resistencia de bajo nivel a las fluoroquinolonas (ROAR). ⁶
David White Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos	Caracterización de resistencia a cloranfenicol y florfenicol en <i>Escherichia coli</i> asociada con diarrea bovina.	Se examinaron los mecanismos de resistencia a cloranfenicol y florfenicol en <i>Escherichia coli</i> en 48 <i>E. coli</i> de terneros con diarrea. Se determinaron los ensayos y perfiles de AST para los genes de eflujo relacionados flo y cmlA. Los análisis de secuencia de ADN mostraron una alta homología con los genes flo del patógeno <i>Salmonella Typhimurium</i> DT104 y el comensal ambiental, <i>Photobacterium piscida</i> , lo que sugiere una transferencia horizontal del gen desde estos organismos. Los hallazgos demostraron una distribución más amplia del gen flo de lo que antes se creía, lo que pudiera indicar que la resistencia emergente a cloranfenicol en <i>E. coli</i> bovino se debe al gen flo (ROAR 1). ⁸

1. Payne DB, Beall B, Coan PA, et al. "Persistence of *Streptococcus pneumoniae* clones over two decades, murM alleles, and the gradual development of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae*" (en revisión por J. *Clinical Microbiology*)

2. Hollingshead. SK, Northrup M, Coan P, et al. "Characterization of oral streptococci as a reservoir of fluoroquinolone resistance and cell wall changes contributing to penicillin resistance for *Streptococcus pneumoniae*". (En preparación)

3(a). Johnson TJ, Wannemuehler YM, Johnson SJ, et al. "Plasmid replicon typing of commensal and pathogenic *Escherichia coli* isolates". *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73: 1967-83. PMID: 17277222.

3(b). Johnson TJ, Wannemuehler YM, Doetkott C et al. "Emergence of class 1 integrons in *Escherichia coli* / isolates from clinical and environmental origins". *Microbiol* 2008; 154:94-102. PMID 18174129

4. Gordon DM, Clermont O, Tolley H, et al. "Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method". En prensa: *Environmental Microbiol.*

5(a). Ojo KK, Ulep C, Van Kirk N, et al. "The *mef*(A) gene predominates among seven macrolide resistance genes identified in gram-negative strains representing 13 genera, isolated from healthy Portuguese children. *Antimicrob Agents Chemother*". 2004 Sep; 48(9):3451-6 PMID: 15328110.

5(b). Ojo KK, Tung D, Luis H et al. "Gram-positive *merA* gene in Gram-negative oral and urine bacteria FEMS". *Microbiol Lett.* 2004; 238:111-6 PMID: 15358.127

6. Diaz-Mejia JJ, Carbajal-Saucedo A, Amábile-Cuevas CF. "Antibiotic resistance in oral commensal streptococci from healthy Mexicans and Cubans: resistance prevalence does not mirror usage. *FEMS Microbiol Lett.* 2002. 217: 173-17. PMID: 12480100.

7. McNamara S, Srinivasan U, Zhang L, et al. "Comparison of probe hybridization array typing to multilocus sequence typing for pathogenic *E. coli*". (En preparación)

8. White DG, Hudson C, Maurer JJ, et al. "Characterization of chloramphenicol and florfenicol resistance in *Escherichia coli* associated with bovine diarrhea". *J Clin Microbiol.* 2000; 38(12):4593-8 PMID: 11101601 (del proyecto ROAR) Guías para el Control de Resistencia a los Antibióticos.