



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional
Asignatura: Proyecto de Investigación



**Presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina en muestras nasales
de caballos sanos del estado Guárico**

Autoras:

García C, Yari M.

García Y, Bárbara

Gómez G, María G.

Tutora:

Dra. Gaerste D, Yosainix C.

Cotutora

Lcda. Padrón, Gladiel.

Tutora Metodológica:

Lcda. De Contreras Raymi

Valencia, marzo 2021

ACTA DE EVALUACION

Quienes suscriben, profesores integrantes del Personal Docente y de Investigación de la Universidad de Carabobo y miembros del Jurado designado para evaluar el trabajo titulado: Presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina en muestras nasales de caballos sanos del estado Guárico 2019-2021, realizado por los estudiantes García C, Yari M; García Y, Bárbara y Gómez G, María G. Hacemos constar que hemos actuado como jurado evaluador del informe escrito, presentación y defensa del trabajo de grado titulado.

Luego de su evaluación, consideramos que reúne los requisitos de mérito para su aprobación, obteniendo la siguiente calificación: *Aprobado*.

Nombre:

Narciso Rivas

C.I: 11271318

Nombre:

Felipe

C.I: 4467668

Nombre:

Rafael

C.I: 7.144.947.

Observaciones: _____

Valencia, marzo 2021





Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional
Asignatura: Proyecto de Investigación



ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Quien suscribe **Dra. Gaerste D, Yosainix C.** título de la cédula de identidad N° **V-9.887.925**, en mi carácter de tutor científico del trabajo titulado: ***Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina en muestras nasales de caballos sanos del Estado Guárico, 2018-2019.** El cual es presentado por los bachilleres: **García C, Yari M. CI: 25.602.090, García Y, Bárbara CI: 25.132.985, Gómez G, María G. CI: 24.643.349,** para aprobar la asignatura trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evolución por parte del jurado designado.

Dra. Gaerste D, Yosainix C.

V-9.887.925



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional
Asignatura: Proyecto de Investigación



ACEPTACIÓN DEL CO-TUTOR

Quien suscribe **Lcda. Padrón, Gladiel** título de la cédula de identidad N° **V-12.368.844**, en mi carácter de Co-tutor científico del trabajo titulado: ***Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina en muestras nasales de caballos sanos del Estado Guárico, 2018-2019**. El cual es presentado por los bachilleres: **García C, Yari M. CI: 25.602.090**, **García Y, Bárbara CI: 25.132.985**, **Gómez G, María G. CI: 24.643.349**, para aprobar la asignatura trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evolución por parte del jurado designado.

Lcda. Padrón, Gladiel.

V-12.368.844

DICATORIA

Al Gran Poder de Dios y a la Santísima Virgen quienes nos brindan día a día fortaleza, sabiduría, y espíritu de trabajo para alcanzar las metas que nos tracemos a lo largo de nuestra vida profesional.

A nuestros padres por su inmenso cariño, dedicación, constancia y buena educación que nos han bridado en todo momento.

A todos nuestros familiares y demás seres queridos que de una u otra manera nos han apoyado.

En estas páginas queremos dar a conocer el deseo de superación en nuestra vida personal y profesional.

A todos GRACIAS.

AGRADECIMIENTO

Deseamos a través de este trabajo expresar nuestro más profundo y sincero agradecimiento y gratitud a todas y cada una de las personas, que contribuyeron a este logro, especialmente.

A la Dra. Gaerste D, Yosainix C. por su profesionalismo, asesoramiento, constancia y apoyo en la realización de la investigación.

A la Lcda. Padrón, Gladiel. Por su valiosa orientación y profesionalismo para el logro de la investigación.

A la Lcda. De Contreras Raymi por su contribución en el desarrollo de la investigación a través asesoramiento y apoyo en la investigación.

A la Msc. Gonzalez Vilma por su profesionalismo y orientaciones en el desarrollo de la investigación.

Al Sr Delgado Juan por su valiosa colaboración y ayuda, facilitándonos los caballos para llevar a cabo la presente investigación.

A el Laboratorio CIMA-UC por prestarnos su recinto y el apoyo brindado por el personal para la presente investigación.

A la Universidad de Carabobo por abrirnos las puertas para el desarrollo profesional.

A todos los directivos y profesores de la Faculta de Ciencias de la Salud por contribuir en nuestra formación personal y profesional.

ÍNDICE

	Página
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Tablas.....	viii
Resumen.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General.....	3
Objetivo Especifico.....	3
MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
Recolección De Las Muestras	4
Aislamiento Y Caracterización Fenotípica De Saro.....	4
Prueba de susceptibilidad a antibióticos β -lactámicos y detección de resistencia inducible a clindamicina (prueba D).....	5
Análisis Estadísticos.....	5
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	6
CONCLUSIONES.....	11
BIBLIOGRAFÍA.....	12

ÍNDICE DE FIGURA

Número de figura	Descripción	Páginas
1	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2	Prueba de susceptibilidad en cepas SARO aisladas de fosa nasal equina.....	7
3	Prevalencia de SARO en muestras nasales de caballos sanos.....	8

ÍNDICE DE TABLA

Número de tabla	Descripción	Página
1	Fenotipos de resistencia en cepas SARO.....	9

RESUMEN

PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A OXACILINA EN MUESTRAS NASALES DE CABALLOS SANOS DEL ESTADO GUÁRICO.

Autoras: García C, Yari M; García Y, Bárbara y Gómez G, María G.

Tutora: Dra. Gaerste D, Yosainix C.

Cotutora: Lcda. Padrón, Gladiel.

Tutora Metodológica: Lcda. De Contreras Raymi

Realizado en Valencia- Edo Carabobo en el Laboratorio de CIMA-UC y Financiado por integrantes de la investigación.

El *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (SARO) se ha convertido en uno de los patógenos de importancia tanto en humanos como en animales. Se planteó detectar *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (SARO) en muestras nasales de caballos sanos del Estado Guárico 2019-2021. Se analizaron 234 muestra, extraídas de cada fosa nasal derecha e izquierda pertenecientes a 117 caballos sanos, con edades comprendidas entre 5-8 años de raza cuarto de milla seleccionados de manera aleatoria, las cuales fueron transportadas y analizadas en el laboratorio de CIMA-UC. De las muestras analizadas se detectaron 3 cepas SARO (3/234) generando un frecuencia de 1,28%, donde una cepa SARO (1/3) que equivale al 33,33% presento fenotipo MLI resistencia a macrólidos/ susceptibilidad a clindamicina con achatamiento del halo (D-test positivo). Se demostró resistencia a otras familias entre las cepas SARO.

Palabras clave: SARO, equinos, resistencia.

ABSTRACT

PRESENCE OF OXACYLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* IN NASAL SAMPLES FROM HEALTHY HORSES IN GUÁRICO STATE.

Authors: García C, Yari M; García Y, Barbara and Gómez G, María G.

Tutor: Dr. Gaerste D, Yosainix C.

Co-tutor: Lcda. Padrón, Gladiel.

Methodological Tutor: Lcda. De Contreras Raymi

Carried out in Valencia - Edo Carabobo in the CIMA-UC Laboratory and financed by the same members of the research.

Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (SARO) has become one of the most important pathogens in both humans and animals. It was proposed to be detected oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (SARO) in nasal samples of healthy horses from Guárico State 2019-2021. 234 samples were analyzed, extracted from each right and left nostril belonging to 117 healthy horses, aged between 5-8 years of American Quarter breed selected randomly, which were transported and analyzed in the CIMA-UC laboratory. Of the analyzed samples, 3 SARO strains (3/234) were detected, generating a frequency of 1.28%, where one SARO strain (1/3) equivalent to 33.33% presented the MLI phenotype resistance to macrolides/susceptibility to clindamycin with halo flattening (positive D-test). Resistance to other families was demonstrated among the SARO strains.

Keywords: SARO, horses, resistance.

Introducción

En equinos, así como en otros animales, *S. aureus* es considerado microbiota comensal de piel y mucosas, que se comporta como un patógeno oportunista cuando existen factores predisponentes ⁽¹⁾. Las infecciones en heridas, celulitis, pielonefritis, traqueitis, metritis, linfangitis, cruz fistulosa, pleuritis y meningitis se cuentan entre las infecciones más frecuentes ocasionada por esta bacteria en los caballos ⁽²⁾ y entre las condiciones predisponentes se pueden mencionar la administración de esteroides, acciones abrasivas, malnutrición, estrés físico o emocional y procedimientos quirúrgico ⁽³⁾. Aunque la presencia de *S. aureus* no implica el desarrollo de infecciones clínicas, se considera un factor de riesgo para el desarrollo de posteriores infecciones por *S. aureus* resistente a oxacilina (SARO) en los caballos ⁽¹⁾.

El tratamiento de las infecciones equinas ocasionadas por estafilococos (*S. aureus* y estafilococos coagulasa negativos) se basan principalmente en antibióticos β -lactámicos y como otra opción terapéutica los macrólidos. Sin embargo, la eficacia de los β -lactámicos, se ha visto disminuida por la elevada prevalencia de cepas de estafilococos resistentes debido a la producción de β -lactamasa y más recientemente, a la proteína fijadora de penicilina 2A (PBP2A) que es codificada por el gen *mec* (*mecA*, *mecC* y sus variantes), que determina resistencia a toda la familia de antibióticos β -lactámicos, reduciendo las alternativas terapéuticas en animales como en el humano ⁽⁴⁾.

La prevalencia de *S. aureus* SARO en animales pecuarios, mascotas y de vida libre es muy variable entre los países y factores como la metodología, tiempo de toma de muestra, edad de los animales, el uso de estos y la interrelación humano-animal pueden incidir en las diferencias reportadas entre las investigaciones. En relación a los caballos, son animales que pueden desempeñar diferentes funciones dependiendo del sistema socio-cultural (medio de transporte, fines militares, empresas agrícolas y comerciales, producción de carne, deporte, protección y recreo). Los datos sobre la colonización de SARO en caballos no son muy abundantes, no obstante grupos de investigadores de Europa, Estados Unidos y Canadá han reportado cifras entre 0-12 % ^(6,7,8,9,10,12) De América Latina, se tiene menos información, sin

embargo, Giacoboniet *al.* (2018) realizó un estudio con caballos sanos en Buenos Aires, encontrado 5% de prevalencia de SARO ⁽¹¹⁾.

La presencia de SARO entre los animales se ha convertido en tema de salud relevante, ya que representan importantes reservorios y matrices que puede contribuir con el intercambio de cepas y genes entre las bacterias de los animales y humanos (dueños, veterinarios y otros empleados), considerando que entre estos hospederos se han descrito relaciones estrechas e incluso humanización en el trato hacia los animales ⁽¹²⁾.

En este contexto, Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) convergen en la necesidad de la vigilancia de la resistencia a los antibióticos considerando el ambiente, los animales y el humano como estrategia de contención de la resistencia en estafilococos y otras bacterias de interés veterinario y humano ⁽¹³⁾.

Cabe destacar que en Venezuela, no hay muchos estudios en el área veterinaria relacionados con la resistencia a los antibióticos, así como programas de vigilancia en este sector, motivo por el cual es necesario llevar a cabo estudios donde se determine la prevalencia SARO en caballos sanos, por ser estos utilizados con mayor frecuencia en actividades agrícolas, recreativas, y domésticos.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Detectar *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (SARO) en muestras nasales de caballos sanos del Estado Guárico, 2019-2020.

Objetivos Específicos

- Aislar *Staphylococcus aureus* con resistencia a oxacilina (SARO).
- Evaluar resistencia a eritromicina y clindamicina por el método de difusión del disco.
- Establecer la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (SARO) en muestras de fosa nasal de caballos sanos

Materiales y Métodos

El tipo de investigación fue descriptiva, con diseño de campo no experimental y de corte transversal ⁽¹⁴⁾.

Recolección de las Muestras

Durante el periodo comprendido entre marzo a mayo de 2019, de los 300 caballos de la Agropecuaria La Guarida (edo. Guárico), se seleccionaron de manera aleatoria, 117 caballos sanos con edades comprendidas entre 5-8 años de raza cuarto de milla, a los cuales se les tomaron muestras de ambas fosas nasales (234 muestras) empleando hisopos estériles con la colaboración de profesionales veterinarios y en cumplimiento que otorga el normativo legal vigente de la Ley para la Protección de Fauna Doméstica Libre y en Cautiverio referida a la utilización de animales domésticos y de compañía vivos necesarios para llevar a cabo la investigación ⁽¹⁵⁾; así como lo regido por la normas de bioéticas establecidas por la OMS. Las muestras fueron transportada en tubos con agar cerebro corazón (ACC) semisólido BD (52 g/1250 ml de agua destilada) a temperatura de 4°C hasta el laboratorio del Centro de Investigación Microbiológica Aplicada de la Universidad de Carabobo (CIMA-UC)).

Aislamiento y caracterización fenotípica de SARO

Las muestras se cultivaron en caldo cerebro corazón (Oxoid) suplementado con 6,5% de NaCl (Merck) (CHS) e incubado a 35°C ±1 durante 24 h. A partir del crecimiento obtenido en el CHS, se procedió a sembrar las placas de Agar Vogel-Johnson (Oxoid) suplementado con oxacilina 4 ug/ml, (AVJO), las cuales se incubaron a 35°C ±1 durante 24- 72 h con la finalidad de recuperar cepas de estafilococos resistentes a oxacilina.

De las placas AVJO que presentaron colonias sugestivas de *S. aureus* (colonias negras brillantes fermentadoras de manitol), se reaislaron en agar nutritivo (Oxoid) y se les practicaron pruebas como tinción de Gram, prueba de la catalasa, prueba de la coagulasa y prueba de DNAsa para la confirmación de *S. aureus*. Las cepas SARO se mantuvieron en ACC para mantenerlas viables hasta la realización

del antibiograma.

Prueba de susceptibilidad a antibióticos betalactámicos y detección de resistencia inducible a clindamicina (prueba D)

La susceptibilidad a los antibióticos se realizó por el método de difusión del disco bajo las recomendaciones del CLSI⁽¹⁶⁾. Los antibióticos que se evaluaron fueron oxacilina (1ug), cefoxitin (30ug), eritromicina (15ug), y clindamicina (2ug), lo cuales son empleados en medicina veterinaria y humana⁽¹⁷⁾.

La detección de la resistencia inducible a clindamicina se realizó por medio de la prueba D, siguiendo las recomendaciones de la CLSI⁽¹⁶⁾. De manera breve, los discos de clindamicina y eritromicina se colocaron a una distancia de 10 mm sobre placas con agar Mueller-Hinton y tras una incubación a $35^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 24 h, las cepas SARO con achatamiento del halo de inhibición entre los dos discos (forma D), se considera un resultado positivo de resistencia inducible a la clindamicina. La cepa *S. aureus* CIMA se empleó como control positivo de susceptibilidad a los antibióticos empleados en esta investigación

Análisis estadísticos

Los datos se analizaron bajo la estadística descriptiva, utilizando la frecuencia absoluta y relativa. Estos resultados obtenidos se presentaron y se analizaron por medio de tablas y gráficos de frecuencia y porcentaje.

Resultados y Discusión

De la agropecuaria, se seleccionaron de forma aleatoria, 117 caballos adultos sanos con edades comprendidas entre 5-8 años, de la raza cuarto de milla (117/300, 39%) y se obtuvieron 234 muestras de fosas nasales (una muestra por casa fosa nasal por caballo). El aislamiento de SARO en las muestras equinas implicó el crecimiento en medios selectivos como CHS y AVJO para facilitar la recuperación de SARO. La identificación de SARO se realizó por medio de pruebas bioquímicas básicas (tinción de Gram, catalasa, fermentación del manitol, coagulasa y DNAsa) (Fig. 1).

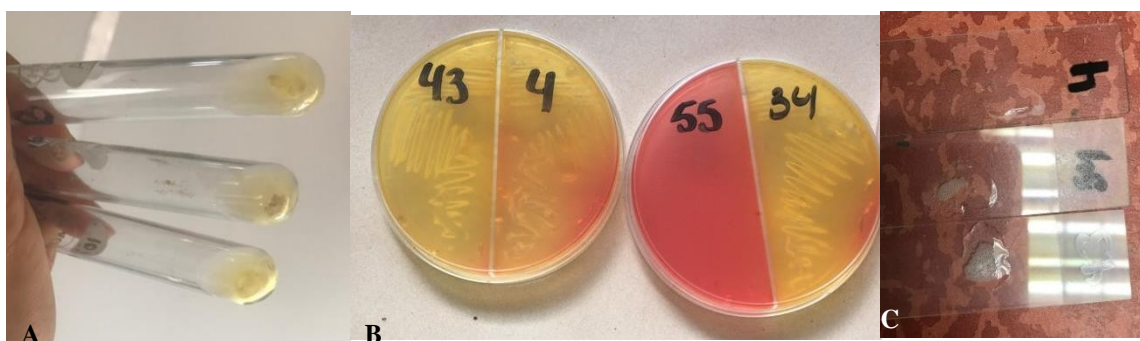


Fig 1. Identificación de *Staphylococcus aureus*. a Prueba de coagulasa. b Fermentación del manitol. c Prueba de la catalasa.

De las 234 muestras nasales analizadas, 3 fueron positivas para SARO (3/234, 1.28%) lo que representa el 3% de los caballos colonizados con SARO (Fig. 2). *Staphylococcus aureus* es un colonizador patógeno oportunista de mucosas y de piel de hospederos de sangre caliente. Dada las implicaciones de esta especie en medicina humana, el estado de portación de *S. aureus* y de SARO (desde su emergencia) ha sido ampliamente estudiado en humanos y es bien conocido los patrones de colonización en este hospedero [portadores (intermitentes y permanentes) y no portadores]⁽¹⁸⁾. Aunque en medicina veterinaria, es un patógeno relevante, no se conoce mucho sobre la colonización y sus patrones de portación en animales sanos.

Sin embargo, con la emergencia en el año 2005, del complejo clonal 398 en cerdos y humanos ⁽⁵⁾, los animales pecuarios y posteriormente animales con otros usos (domésticos y silvestre), fueron reconsiderados relevantes, acuñándose la terminología LA-MRSA por sus siglas en inglés (Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*)⁽⁵⁾.

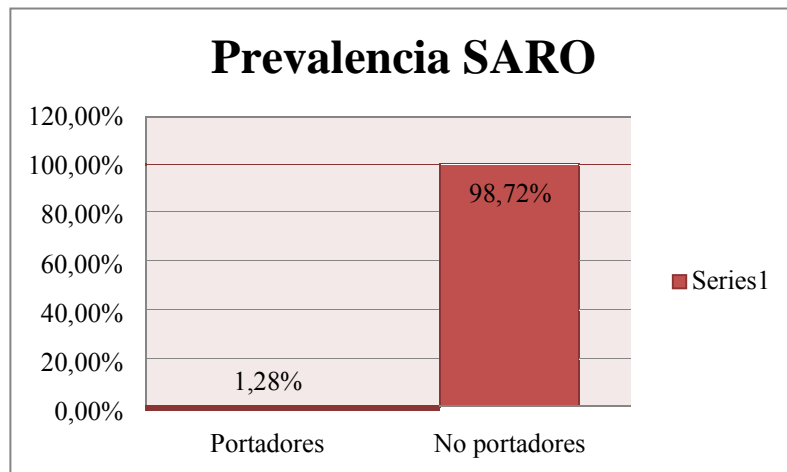


Figura 2 Prevalencia de SARO en muestras nasales de caballos sanos

La presencia de *S. aureus* y SARO entre los animales es muy variable debido a varios factores entre los que se menciona la especificidad de hospedero (es menos frecuente en perros y gatos), la relación humano-animal y el estado de salud. SARO representa un patógeno emergente frecuente en animales con antecedentes de infecciones, tratamientos antibióticos, cirugías y en hospitales veterinarios, constituyendo un reto en medicina veterinaria en relación al tratamiento ya que con frecuencia es resistente a otros antibióticos además de los antibióticos β -lactámicos (con excepción de las nuevas cefalosporinas anti-SARO, que son para uso en humanos)^(1,5,19). En este trabajo, la prevalencia de SARO en caballos sanos fue del 3% que es similar a lo que otros investigadores han reportado ^(1,4,9,11,20, 21,22). La circulación de SARO en caballos y en humanos en estrecho contacto con ellos debe considerarse un problema emergente de salud pública y representa un riesgo potencial para las personas que en estrecho contacto con los caballos.

La investigación de SARO en animales, sin importar el uso de estos, es relevante porque contribuye con implementación de prácticas de higiene tanto en el personal veterinario, cuidadores y dueños ya que representan reservorios para nuevas cepas SARO con un fondo genético particular.

La expresión fenotípica de la resistencia a los antibióticos β -lactámicos heterogénea en los estafilococos⁽²³⁾, por tal motivo a las 3 cepas SARO se les evaluó la susceptibilidad a oxacilina, cefoxitin además de clindamicina y eritromicina por el método de difusión del disco. Las 3 cepas SARO demostraron resistencia homogénea a oxacilina y cefoxitin, bajo los criterios de CLSI 2019 la resistencia a oxacilina es $\leq 21\text{mm}$ y para cefoxitin $\leq 24\text{mm}$ que indica la presencia del gen *mecA* (Fig 3).



Fig 3. Prueba de susceptibilidad en cepas SARO aisladas de fosa nasal equina. **Resistencia homogénea a antibióticos beta-lactámicos** (flecha negra). **Fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas** (flecha roja). **a** Fenotipo M (resistencia a macrólidos/ susceptibilidad a clindamicina). **b** Fenotipo susceptible a ML (susceptibilidad a eritromicina y clindamicina). **c**Fenotipo MLi (resistencia a macrólidos/ susceptibilidad a clindamicina conachataamiento del halo) .

En cuanto a la resistencia a macrólidos y lincosamidas (ML) y el fenotipo asociado⁽²⁴⁾. de las 3 cepas SARO, la cepa SARO4 demostró el fenotipo M (resistencia a macrólidos y susceptibilidad a clindamicina), SARO34 con el fenotipo susceptible a ML (susceptibilidad a eritromicina y clindamicina) y el fenotipo MLi

(resistencia a macrólidos/ susceptibilidad a clindamicina con achatamiento del halo) la cepa SARO43, lo que representa el 33,33%, con este fenotipo (Fig 3 y Tabla 1). De los antibióticos evaluados en este trabajo, los que pertenecen a la familia de β -lactámicos son frecuentemente utilizados en la terapia antibacteriana en infecciones equinas y son considerados los de primera línea de elección. Los antibióticos en equinos son relativamente limitados y factores relacionados a la especie impiden el uso de algunos de ellos, especialmente macrólidos inyectables, como espiramicina, tilosina (con excepción de macrólidos en potrillos) o de lincosamidas como lincomicina que pueden provocar reacciones locales o generales que constituyen un riesgo vital. Las causas de estas reacciones no parecen haber sido aclaradas.

Tabla 1. Fenotipos de resistencia en cepas SARO.

Cepa SARO	Eritromicina	Clindamicina	Fenotipo	Cepas Saro	Porcentaje
SARO 34	S	S	Ninguno	1/3	33.33%
SARO 43	R	R/S	<i>iMLS_B</i>	1/3	33.33%
SARO 4	R	S	<i>M</i>	1/3	33.33%

Al determinar la relación entre la resistencia a oxacilina y los patrones de resistencia a clindamicina y eritromicina, se evidenció en este estudio que del total de 234 muestras analizadas solo se detectaron 3 cepas SARO (3/234), donde solo una cepa presento fenotipo MLi. Entre cepas SARO es frecuente encontrar resistencia a otras familias, como ha sido demostrado en este trabajo y como otras investigaciones lo han descrito ^(1,4,9,11,20, 21,22), no obstante, en esta investigación no se determinó la

multiresistencia en las cepas SARO, debido a una limitación económica para la adquisición de otros discos de sensibilidad.

La detección del fenómeno de resistencia inducible a la familia de lincosamidas es muy importante para la medicina veterinaria, debido a que la clindamicina puede ser usada en infecciones estafilocócicas en otros animales diferentes a los caballos, pero hay riesgo de fracaso terapéutico cuando se emplea también macrólidos.

Más allá de la terapia equina, las dos familias de antibióticos empleados en este trabajo representan un ejemplo de solapamiento entre las estrategias antibióticas entre humanos y animales y ha quedado bien establecido que el mayor consumo de los antibióticos ha ocurrido en animales pecuarios y de alguna manera han contribuido con la emergencia de cepas resistentes que se han descrito en humanos y animales. ^(17, 25).

La diseminación de SARO presenta desafíos para los profesionales de la salud tanto humana como animal. Por lo que la información obtenida de este trabajo de investigación enfatiza la necesidad de continuar estudios con la mirada de una salud sobre la emergencia de la resistencia antimicrobiana para monitorear la aparición y diseminación.

Conclusiones

- De 117 Caballos sanos del estado Guárico que abarca un total de 234 muestra de fosa nasal derecha e izquierda, se detectó la presencia de SARO en 3 muestras que representa 1,28% perteneciente al 3 caballos colonizados, siendo un resultado similar a lo reportado en otros estudios.
- Se observó el fenotipo de resistencia homogénea a oxacilina y cefoxitin en las 3 cepas SARO bajo los criterios de CLSI 2019.
- Se evidenció resistencia a otras familias (macrolidos y lincosamidas) donde solo una cepa presento fenotipo MLI que corresponde 33,33% de las muestras SARO.

Referencias Bibliográficas

1. Tirosh-Levy S, Steinman A, Carmeli Y, Klement E, Navon-Venezia S. Prevalence and risk factors for colonization with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and other staphylococci species in hospitalized and farm horses in Israel. *Prev Vet Med.* 2015; 122:135-44.
2. Pérez D. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf. Ter. Sist. Nac. Salud.* 1998; 22: 57 – 67.
3. Weese J S. Staphylococcal infections In: Sellon D and Long MT editors. *Equine infectious diseases.* St. Louis, Missouri: Elsevier. 2014; p 278-283.
4. van Balen, J, Mowery, J, Piraino-Sandoval, M. *et al.* Molecular epidemiology of environmental MRSA at an equine teaching hospital: introduction, circulation and maintenance. *Vet Res.* 2014; 45:31.
5. Aires-de-Sousa M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(6):373-380.
6. Haenni M, Châtre P, Dupieux-Chabert C, *et al.* Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses, cats, and dogs over a 5-year period in France. *Front Microbiol.* 2017; 8:2493.
7. Van den Eede A, Martens A, Feryn I, *et al.* Low MRSA prevalence in horses at farm level. *BMC Vet Res.* 2012; 8:213.
8. Walther B, Klein K-S, Barton A-K, Semmler T, Huber C, Merle R, Tedin K, Mitrach F, Lübke-Becker A and Gehlen H. Equine methicillin-resistant sequence type 398 *Staphylococcus aureus* (MRSA) harbor mobile genetic elements promoting host adaptation. *Front. Microbiol.* 2018; 9:2516.
9. Tokateloff N, Manning ST, Weese JS, *et al.* Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in horses in Saskatchewan, Alberta, and British Columbia. *Can Vet J.* 2009; 50:1177-1180.
10. Boyle AG, Rankin SC, Duffee LA, Morris D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from equine nasopharyngeal and guttural pouch wash samples. *J Vet Intern Med.* 2017; 31:1551-1555.

11. Giacoboni G, Gagetti P, Kienast M, López C, Fancone D. Corso. Equinos sanos de la provincia de Buenos Aires colonizados con *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. Rev. med. vet. (B. Aires) 2018; 99: 06 – 10.
12. Walther B, Klein K-S, Barton A-K, Semmler T, Huber C, Merle R, *et al.* Equine methicillin-resistant sequence type 398 *Staphylococcus aureus* (MRSA) harbor mobile genetic elements promoting host adaptation. Front. Microbiol.2018; 9:2516.
13. Oie.int [Internet] Paris: OMS (Organización Mundial de la Salud), OPS (Organización Panamericana de la Salud), OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal), FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura); 2003 [última actualización 29-31 de octubre de 2018; citado noviembre 2018] Disponible en:<http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/productos-veterinarios/antimicrobianos/>
14. Sampieri R, Collado C, Lucio P. Metodología de la investigación, 5 edición, México. McGraw-Hill-Interamericana Editores; 2008.
15. UNICANINA [Internet]Venezuela: Asamblea Nacional de la República Bolivariana de Venezuela;2003 [última actualización 4 de enero de 2010; citado noviembre 2020] Disponible en:<https://www.unicanina.com/ve/download/Venezuela%20-%20Ley%20para%20la%20Proteccion%20de%20la%20Fauna%20Domestic a%20Libre%20y%20en%20Cautiverio.pdf>.
16. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100.Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
17. Oie eci. Lista de agentes antimicrobianos importantes para la medicina veterinaria (julio de 201) [Internet]. Oie.int. [citado el 28 de febrero de 2021]. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/E_OIE_Lista_antimicrobianos_Julio2019.pdf.
18. Brown AF, Leech JM, Rogers TR, McLoughlin RM. Staphylococcus aureus colonization: Modulation of host immune response and impact on human

vaccine design. *Front Immunol.* 2014;4:507.

19. Walther B, Monecke S, Ruscher C, Friedrich AW, Ehricht R, Slickers P *et al.* Comparative molecular analysis substantiates zoonotic potential of equine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2009; 47:704-10.
20. Burton S, Reid-Smith R, McClure JT, Weese JS. *Staphylococcus aureus* colonization in healthy horses in Atlantic Canada. *Can Vet J.* 2008;49:797-9.
21. Dastmalchi Saei, H., Safari, E. Methicillin resistance and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from nasal samples of healthy horses in Iran. *Ann Microbiol.* 2019; 69, 923–931.
22. Parisi A, Caruso M, Normanno G, Latorre L, Miccolupo A, Fraccalvieri R *et al.* High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses at slaughterhouses compared with those for recreational activities: ¿A professional and food safety concern? *Foodborne Pathog Dis.* 2017;14(12):735-741.
23. Kim C, Mwangi M, Chung M, Milheirão C, de Lencastre H *et al.* The Mechanism of heterogeneous beta-lactam resistance in MRSA: key role of the stringent stress response. *PLoS ONE* 8(12): e82814.
24. Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28:541–553.
25. Kadlec, K, Feßler, A, Hauschild T, Schwarz, S. Novel and uncommon antimicrobial resistance genes in livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* (2012); 18:745–755.