

Presencia de *Enterococcus* spp. resistentes a metales pesados y antimicrobianos en aves silvestres y de corral de la provincia de Chubut, Argentina

Presence of *Enterococcus* spp. Resistant to Heavy Metals And Antimicrobials In Wild And Poultry Birds In The Province of Chubut, Argentina

Débora L. Andoro¹, Franco M. Sosa², Emilio R. Marguet³, Marisol Vallejo^{4*}

[Recibido: 2 de julio de 2024, Aceptado: 7 de febrero de 2025, Corregido: 18 de febrero de 2025, Publicado: 30 de mayo de 2025]

Resumen

[**Introducción**]: En la región latinoamericana, la gestión deficitaria de efluentes industriales, así como el uso masivo de antibióticos en medicina y ganadería son problemas que afectan la salud humana y animal. Las aves silvestres y de corral pueden actuar como un reservorio natural de enterococos resistentes a los productos químicos liberados en el ambiente, lo cual contribuye a su propagación. [**Objetivo**]: Evaluar la resistencia a antimicrobianos y metales pesados en enterococos aislados de aves silvestres y de cría en la comarca Valle Inferior del Río Chubut, Península Valdés, Patagonia, Argentina. [**Metodología**]: Las bacterias se aislaron a partir de 250 muestras de heces frescas recolectadas desde marzo de 2019 a febrero de 2020, luego se identificaron mediante técnicas fenotípicas y genotípicas. La resistencia a metales pesados y a los antimicrobianos se determinó por el método de dilución en agar. [**Resultados**]: Entre los 163 aislamientos no se observó resistencia contra cadmio y mercurio, mientras que se detectó resistencia contra níquel, cobre y zinc (99 %), cromo (98 %) y plomo (95.7 %). La vancomicina y la gentamicina fueron los antimicrobianos más efectivos en comparación con el resto, solo 2 cepas exhibieron resistencia en ambos casos. La resistencia más frecuente fue a ampicilina (96.9 %), seguida por estreptomicina (49.1 %) y tetraciclina (21.5 %). [**Conclusión**]: Nuestros datos sugieren que la presencia de *Enterococcus* resistentes a los antimicrobianos y metales pesados en aves de corral y silvestres en el ámbito urbano puede convertirlas en un reservorio, hecho que contribuye a su propagación y, en consecuencia, esto afecta la salud pública.

Palabras clave: corresponsidad; reservorio; resistencia cruzada; salud pública.

- 1 Especialista en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Cs. de la Salud (Sede Trelew), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut, Argentina. deboraandoro@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0002-8087-640x>
- 2 Especialista en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Cs. de la Salud (Sede Trelew), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut, Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. franco.m.sosa94@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5093-7796>
- 3 Especialista en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Cs. de la Salud (Sede Trelew), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut, Argentina. emarguet@yahoo.com.ar; <http://orcid.org/0000-0002-9790-8511>
- 4 Especialista en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Cs. de la Salud (Sede Trelew), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut, Argentina. soltrelew@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-4393-3615>



Abstract 

[Introduction]: In Latin America, poor management of industrial effluents and the massive use of antibiotics in medicine and livestock farming are problems that affect human and animal health. Wild and poultry birds can act as a natural reservoir of enterococci resistant to chemicals released into the environment, contributing to their spread. **[Objective]:** To evaluate resistance to antimicrobials and heavy metals in enterococci isolated from wild and farmed birds in the Valle Inferior del Río Chubut region, Peninsula Valdés, Patagonia, Argentina. **[Methodology]:** The bacteria were isolated from 250 fresh stool samples collected from March 2019 to February 2020 and then identified by phenotypic and genotypic techniques. Resistance to heavy metals and antimicrobials was determined by the agar dilution method. **[Results]:** Among the 163 isolates, no resistance against cadmium and mercury was observed, while resistance was detected against nickel, copper, and zinc (99 %), chromium (98 %), and lead (95.7 %). Vancomycin and gentamicin were the most effective antimicrobials compared to the rest; only 2 strains exhibited resistance in both cases. The most frequent resistance was to ampicillin (96.9 %), followed by streptomycin (49.1 %) and tetracycline (21.5 %). **[Conclusion]:** Our data suggest that the presence of *Enterococcus* resistant to antimicrobials and heavy metals in poultry and wild birds in urban areas can become a reservoir, contributing to its spread and consequently affecting public health.

Keywords: co-resistance; cross-resistance; public health; reservoir.

Introducción

La resistencia a antimicrobianos (RAM) es un problema mundial, el principal factor de riesgo para el aumento de esta situación es el uso extensivo de antibióticos, tanto en veterinaria como en medicina humana. Las aves, silvestres y de corral, se han postulado como centinelas, reservorios o posibles organismos propagadores de bacterias resistentes a antibióticos (Beleza *et al.*, 2024). Las primeras bacterias multirresistentes de *Escherichia coli* observadas en la vida silvestre fueron aisladas en palomas, en la década de 1970 (Sato *et al.*, 1978). Posteriormente, diversos estudios han documentado el aislamiento de bacterias Gram negativas y especies de enterococos, provenientes tanto de aves silvestres como de cría, resistentes a antimicrobianos (Da Silva *et al.*, 2012; Dolka *et al.*, 2020; Radhouani *et al.*, 2012; Smith *et al.*, 2019; Stępień-Pyśniak *et al.*, 2021).

Los enterococos resultan de particular interés, debido a su condición de organismos ubicuos y tolerantes a condiciones ambientales extremas, además de su plasticidad genética, mediante la cual pueden intercambiar material genético (García-Solache y Rice, 2019). Generalmente, se les considera bacterias comensales, aunque algunas especies son patógenas oportunistas, causan diferentes tipos de infecciones en humanos; así también pueden ser agentes causales de bacteriemias, meningitis y endocarditis (Cercenado, 2011).

Los organismos vinculados con la salud pública han observado, con creciente preocupación, que los contaminantes antropogénicos originados por la liberación de metales pesados (MP) al ambiente, como resultado de los procesos industriales y la producción de desechos, principalmente urbanos, ha ido incrementando de forma constante. La mayor fuente de contaminación proviene de las emisiones de automóviles, la manufactura de pigmentos, pesticidas o herbicidas, minería, químicos, entre otros (Rebelo *et al.*, 2021). Todo esto ha generado una



perturbación en el ambiente, no solo en organismos superiores, sino que también contribuyó a la aparición de microorganismos resistentes a antimicrobianos. En años recientes, diversos estudios sugieren que la aparición de bacterias resistentes a antimicrobianos podría surgir en el entorno por un fenómeno de corresponsabilidad cruzada con MP (Aarestrup y Hasman, 2004; Fard *et al.*, 2011; Rebelo *et al.*, 2021). Ambas resistencias estarían enlazadas a los mismos elementos genéticos móviles (plásmidos, transposones e integrones). Los agentes antimicrobianos o sales de MP ejercen una presión selectiva sobre el microbiota, fenómeno que provoca la prevalencia de cepas resistentes (Aarestrup y Hasman, 2004).

En la región de América Latina y el Caribe, la gestión deficitaria de efluentes industriales y cloacales de grandes centros urbanos, más el uso masivo e indiscriminado de antibióticos tanto en clínica como en producción animal y agrícola intensiva, son factores que contribuyen a la aparición de microorganismos resistentes. Adicionalmente, deben considerarse los ámbitos de la agricultura familiar campesina, ya que en dicha región esta actividad representa cerca del 81 % de las explotaciones agrícolas, lo que provee entre un 27 y un 67 % del total de la producción de alimentos y entre un 57 y un 77 % del empleo agrícola (Medina Pizzali *et al.*, 2021). Todo este contexto contribuye a generar ambientes muy propicios para la diseminación de RAM. Sin embargo, es mucho lo que se desconoce aún respecto de las rutas de transmisión a través del ambiente, en particular, en países de ingresos bajos y medianos, como la Argentina.

Las aves, específicamente las silvestres, por su capacidad de trasladarse a grandes distancias y su vinculación con núcleos urbanos, son consideradas potenciales reservorios y dispersoras de bacterias patógenas, al igual que de sus determinantes genéticos. El objetivo de este estudio fue evaluar la RAM y MP en cepas de *Enterococcus* spp. provenientes de hisopados fecales de aves de corral y silvestres de la comarca Valle Inferior del Río Chubut y Península Valdés (VIRCh-Valdés) de la provincia de Chubut, Patagonia, Argentina.

Metodología

Zona geográfica y recolección de muestras

Las muestras se recolectaron en la región geográfica denominada Comarca VIRCh-Valdés, noreste de la provincia de Chubut (Patagonia, Argentina), desde marzo de 2019 a febrero de 2020. En la ciudad de Trelew, se tomaron muestras en zonas residenciales y en el área recreativa “Laguna Cacique Chiquichano”, así como en tres establecimientos avícolas situados en la región rural de Treorki. Las muestras recolectadas en la ciudad de Rawson provinieron de las áreas costeras denominadas playas Unión y Magagna; también de sitios residenciales. Además, se realizaron muestreos en zonas rurales de la ciudad de Gaiman y en el Área Natural Protegida Península de Valdés (Cuadro 1).



Cuadro 1. Aves, localidades, cantidad de muestras recolectadas y aislados de *Enterococcus* spp.
Table 1. Birds, localities, number of samples collected, and *Enterococcus* spp. isolated.

Nombre científico	Nombre vulgar	Cantidad de muestras recolectadas	Cantidad de aislados	Zona geográfica
<i>Chloephaga rubidiceps</i>	Cauquén colorado	4	3	Área rural (Trelew)
<i>Columba livia</i>	Paloma	34	32	Área residencial (Trelew)
<i>Gallus gallus</i>	Gallina	45	32	Área rural (Trelew)
<i>Mimus patagonicus</i>	Calandria patagónica	28	14	Playa Unión (Rawson) / área residencial (Trelew)
<i>Spatula versicolor</i>	Pato capuchino	38	21	Laguna Cacique Chiquichano (Trelew)
<i>Lophonetta specularioides</i>	Pato crestón	6	2	Área rural (Gaiman)
<i>Rhea pennata</i>	Choique	6	2	Área rural (Trelew)
<i>Passer domesticus</i>	Gorrión	27	23	Playa Unión (Rawson) / área residencial (Trelew)
<i>Larus dominicanus</i>	Gaviota cocinera	43	25	Playa Unión (Rawson)
<i>Zenaida auriculata</i>	Torcaza	2	1	Área residencial (Trelew)
<i>Leucocarbo atriceps</i>	Cormorán imperial	6	2	Área Natural Protegida Península de Valdés
<i>Vanellus chilensis</i>	Tero	9	5	Área residencial (Trelew)
<i>Turdus falcklandii</i>	Zorzal patagónico	2	1	Área residencial (Trelew)
Total de muestras		250	163	

Las muestras de materia fecal se tomaron individualmente para cada animal, mediante hisopos estériles, tanto de aves silvestres como de corral. Todos los hisopados se conservaron en medio de transporte Stuart (Merck, Alemania) a 4 °C hasta el momento de su procesamiento. El tiempo transcurrido entre la colecta y su procesamiento no fue superior a 6 h.



Aislamiento de enterococos, conservación e identificación preliminar

Cada hisopado fecal se sembró en caldo púrpura de bromocresol-azida (Merck, Alemania). Luego de 24 h de incubación a 37 °C los cultivos se repicaron a agar bilis esculina (Merck, Alemania) y se suplementaron con nistatina (10 µg/mL) y ácido nalidíxico (20 µg/mL). Todas las muestras se incubaron a 37 °C durante 24-48 h y se realizaron repiques sucesivos, con el propósito de obtener aislamientos puros (1 por muestra). Los microorganismos aislados se conservaron a -70 °C en una suspensión de caldo Man, Rogosa y Sharp (MRS) (Biokar, Francia) suplementado con glicerol al 30 % v/v (Horie *et al.*, 2018). Las colonias obtenidas en los aislamientos se identificaron presuntivamente, por medio de coloración de Gram, morfología celular, presencia de catalasa y oxidasa, hidrólisis de la esculina en presencia de sales biliares (40%) y actividad de pirrolidonil aminopeptidasa (PYR) (Britania, Argentina), según las recomendaciones de Manero y Blanch (1999).

Identificación genética de los microorganismos aislados

Los microorganismos conservados se repicaron a agar MRS y, posteriormente, se incubaron a 37 °C en caldo MRS durante 20 h. La extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Millar *et al.* (2000). Los cultivos se centrifugaron a 13 000 g durante 3 min; los pellets se resuspendieron en 500 µL de buffer TE (10 mM Tris-HCl y 1 mM EDTA a pH 8) y se incubaron a 95 °C durante 30 min. Después, se centrifugó y el sobrenadante que contenía el ADN extraído se almacenó a -20 °C.

La identificación de la especie se llevó a cabo mediante el protocolo descrito por Jackson *et al.* (2004). Como controles, se utilizaron las cepas de referencia *E. faecium* ATCC 19434, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. avium* ATCC 14025, *E. columbae* ATCC 51263, *E. gallinarum* ATCC 49573 y las pertenecientes al Cepario del Laboratorio de Biotecnología Bacteriana (FCNyCS-UNPSJB): *E. mundtii* Tw278 (KY689401), *E. hirae* Tw463 (MH588158) y *E. durans* S22 (FJ892743). Para cada ensayo, se efectuó un control negativo que contenía todos los reactivos, excepto el ADN. La reacción de PCR se ejecutó en un termociclador Ivema T18 (Ivema Desarrollos, Argentina). La electroforesis de los productos de la amplificación genética se realizó en geles de agarosa (1.2-1.8 %), a 70 V durante 1 h en buffer TAE (tris, ácido acético, EDTA, pH 8). Luego de finalizada la electroforesis, el gel se colocó durante 15 min en una solución de buffer TAE y bromuro de etidio (0.5 µg/mL); posteriormente, se visualizó con luz UV en un transiluminador (MaestroGen Inc., Taiwán).

Resistencia a metales pesados

Los microorganismos aislados se sometieron a la evaluación de resistencia a MP, utilizando el método de dilución en agar propuesto por De Niederhäusern *et al.* (2013). Se empleó el agar Mueller-Hinton (Britania, Argentina) al cual se le adicionaron 5 mM de Pb(NO₃)₂, 1 mM de CuSO₄·5H₂O, de ZnSO₄·7H₂O y NiSO₄, 0.5 mM de CdCl₂, 0.2 mM de CrO₃ y 0.01 mM de HgCl₂, concentraciones sugeridas por Nies (1999). Todas las soluciones se prepararon en agua destilada, se esterilizaron mediante filtración por membrana (0.22 µm) y se conservaron a 4 °C hasta su uso. Las placas se inocularon con 5 µl de cultivos bacterianos ajustados a 0.5 en la escala de McFarland y se incubaron a 37 °C durante 24 h.



Sensibilidad a antibióticos

En todos los microorganismos que exhibieron resistencia a 1 o más MP, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) para los siguientes antimicrobianos: vancomicina (4-32 µg/L), ampicilina (8-16 µg/L), tetraciclina (4-16 µg/mL), gentamicina (500 µg/mL) y estreptomomicina (1024 µg/mL), mediante el método de las diluciones seriadas, según las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLS, 2022).

La sensibilidad a los antibióticos se evaluó por el método de dilución en agar Mueller-Hinton. Las placas se incubaron durante 20-24 h a 37 °C y se utilizaron las cepas de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 29213 y *E. faecalis* ATCC 29212, como microorganismos de control. La CIM se definió como la menor concentración de antibiótico que produjo la inhibición completa del microorganismo y se interpretó cada resultado como sensible, intermedio o resistente, de acuerdo con los puntos de corte estipulado para cada antibiótico, según el CLSI. Los ensayos de resistencia a MP y sensibilidad a antimicrobianos se realizaron por duplicado.

Resultados

A partir de 250 muestras procesadas de hisopados fecales de aves de corral y silvestres de la zona del VIRCh y costera del noreste de la provincia de Chubut (Patagonia, Argentina), se logró aislar un total de 163 microorganismos, que presentaron los rasgos compatibles con el género *Enterococcus* (Cuadro 1).

Usando los cebadores específicos para especie, se identificaron 65 aislados como *E. faecium*, 32 como *E. faecalis*, 11 como *E. hirae*, 6 como *E. mundtii*, 4 como *E. columbae*, 2 como *E. avium* y 1 como *E. durans*, mientras que 42 no pudieron identificarse por PCR.

161 de los aislamientos (99 %) resultaron resistentes a níquel, cobre y zinc, mientras que 160 (98 %) y 156 (95.7 %) exhibieron resistencia a cromo y plomo, respectivamente. Ninguno de los microorganismos evaluados presentó resistencia a cadmio y mercurio (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resistencia a metales pesados evaluados en los *Enterococcus* spp. (n = 163) aislados de aves silvestres y de cría.
Table 2. Resistance to heavy metals evaluated in *Enterococcus* spp. (n = 163) isolated from wild and farmed birds.

Especies (n)	Resistencia a metales pesados						
	Pb ⁺²	Cd ⁺²	Cu ⁺²	Ni ⁺²	Hg ⁺²	Cr ⁺⁶	Zn ⁺²
<i>Enterococcus faecium</i> (65)	62	0	65	65	0	65	65
<i>E. faecalis</i> (32)	32	0	32	32	0	32	32
<i>E. hirae</i> (11)	10	0	11	11	0	11	11
<i>E. mundtii</i> (6)	6	0	6	6	0	6	6
<i>E. columbae</i> (4)	4	0	4	4	0	4	4
<i>E. avium</i> (2)	2	0	2	2	0	2	2
<i>E. durans</i> (1)	1	0	1	1	0	1	1
<i>Enterococcus</i> sp. (42)	39	0	40	40	0	39	40





Los resultados de los ensayos de RAM se muestran en el **Cuadro 3** y se presentan según la CIM como sensible, intermedio o resistente, según los puntos de corte estipulados. La vancomicina y gentamicina resultaron los antibióticos más efectivos, si los comparamos con el resto, solo 2 aislados exhibieron resistencia en ambos casos. Del total de microorganismos evaluados, se observó resistencia a ampicilina en 158 (96.9 %), 81 aislados presentaron resistencia a estreptomicina (49.7 %), mientras que 35 (21.5 %) resultaron resistentes a tetraciclina y solo 5 (3.1 %) mostraron un fenotipo de resistencia intermedia.

Cuadro 3. Resistencia a antimicrobianos evaluados en *Enterococcus* spp. (n = 163) aislados de aves silvestres y de cría.
Table 3. Resistance to antimicrobials evaluated in *Enterococcus* spp. (n = 163) isolated from wild and farmed birds.

Resistencia a antimicrobianos (µg/mL)		Especies (n)							
		<i>Enterococcus faecium</i> (65)	<i>E. faecalis</i> (32)	<i>E. hirae</i> (11)	<i>E. mundtii</i> (6)	<i>E. columbae</i> (4)	<i>E. avium</i> (2)	<i>E. durans</i> (1)	<i>Enterococcus</i> sp. (42)
Vancomicina ¹	S	65	31	11	6	4	2	1	42
	I								
	R		1						
Ampicilina ²	S	2		1				1	1
	R	63	32	10	6	4	2		41
	S	47	22	9	6	3	1	1	34
Tetraciclina ³	I	2	1						2
	R	16	9	2		1	1		6
	S	65	31	11	6	4	2	1	42
Gentamicina ⁴	R		1						
	S	30	12	6	3	3	2		26
	R	35	20	5	3	1		1	16

S: sensible; I: intermedio; R: resistente. Puntos de corte, según CLSI (2022). ¹ ≤ 4: sensible, 8-16: intermedio, ≥ 32: resistente; ² ≤ 8: sensible, ≥ 16: resistente; ³ ≤ 4: sensible, 8: intermedio, ≥ 16: resistente; ⁴ ≤ 500: sensible, > 500: resistente; ⁵ ≤ 512: sensible, > 1024: resistente.

En el **Cuadro 4**, se presentan los resultados fenotípicos de distribución de RAM y MP, los cuales indican para cada especie la frecuencia y el porcentaje. A partir de lo obtenido, puede observarse una alta frecuencia de elementos resistentes a ampicilina, sola o combinada con otros antibióticos, y los MP evaluados.



Cuadro 4. Distribución de resistencia a antimicrobianos y metales pesados en *Enterococcus* spp. (n = 163) aislados de aves silvestres y de cría.

Table 4. Distribution of antimicrobial and heavy metal resistance in *Enterococcus* spp. (n = 163) isolated from wild and farmed birds.

Especies (n)	Fenotipo		Frecuencia	
	RAM	MP	n	%
<i>Enterococcus faecium</i> (65)	Amp, Tet, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	11	17.1
	Amp, Tet	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	3	4.6
	Amp, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	27	41.5
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	20	30.8
	Amp	Cu, Ni, Cr, Zn	2	3.0
	Susceptibles a todos	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	1.5
	Susceptibles a todos	Cu, Ni, Cr, Zn	1	1.5
	<i>E. faecalis</i> (32)	Amp, Tet, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	8
Amp, Van, Gen,		Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	3.1
Amp, Tet		Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	3.1
Amp, Est		Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	12	37.5
Amp		Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	10	31.3
<i>E. hirae</i> (11)		Amp, Tet, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1
	Amp, Tet	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	9.1
	Amp, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	4	36.4
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	4	36.4
	Susceptibles a todos	Cu, Ni, Cr, Zn	1	9.1
<i>E. mundtii</i> (6)	Amp, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	3	50.0
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	3	50.0
<i>E. columbae</i> (4)	Amp, Tet	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	25.0
	Amp, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	25.0
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	2	50.0
<i>E. avium</i> (2)	Amp, Tet	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	50.0
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	50.0
<i>E. durans</i> (1)	Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	1	100
<i>Enterococcus</i> sp. (42)	Amp, Tet, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	6	14.3
	Amp, Est	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	10	23.8
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	20	47.6
	Amp	Pb, Cu, Ni, Cr, Zn	3	7.1
	Amp	Cu, Zn	1	2.4
	Amp	Ni	1	2.4
	Susceptibles a todos	Susceptibles a todos	1	2.4

RAM: resistencia a antimicrobianos; MP: metales pesados; Amp: ampicilina; Tet: tetraciclina; Est: estreptomycin; Gen: gentamicina; Van: vancomicina.



Discusión

Analizando los resultados sobre la identificación molecular de los aislados, se observa que las especies más frecuentes fueron *E. faecium*, seguida de *E. faecalis*, tanto en aves de cría como silvestres. Estudios previos también fueron coincidentes con estos hallazgos, reportaron estas especies como las más frecuentes en animales de cría y silvestres (Rodríguez *et al.*, 2013; Sharifi *et al.*, 2015), y, particularmente, en aves silvestres (Cagnoli *et al.*, 2022; Radhouani *et al.*, 2012; Stępień-Pyśniak *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2018). Sin embargo, estos resultados son contrarios a los obtenidos por Da Silva *et al.* (2012) y Dolka *et al.* (2020), quienes hallaron a *E. columbae* como la especie predominante en aislamientos provenientes de palomas.

Los microorganismos frecuentemente se encuentran expuestos a metales en sus hábitats y esta interacción puede ser beneficiosa o perjudicial. Basados en la utilidad que presentan para los organismos, los MP pueden clasificarse como “micronutrientes esenciales” y “metales no esenciales”. El cromo, calcio, zinc, cobre, manganeso, hierro, potasio, magnesio, níquel, sodio y cobalto son considerados esenciales, porque están involucrados en diferentes procesos metabólicos fundamentales para los microorganismos. Estos metales juegan un papel importante en las reacciones redox, como cofactores de enzimas y estabilizadores, al igual que tienen un papel en la regulación osmótica celular. En cambio, otros metales, como oro, plata, antimonio, cadmio, arsénico, plomo, aluminio y el mercurio no tienen ninguna función crucial en los procesos biológicos y, por lo tanto, se categorizan como no esenciales y extremadamente tóxicos para los microorganismos (Vats *et al.*, 2022).

La resistencia a MP y antimicrobianos es una característica esencial para la supervivencia de las bacterias en ambientes contaminados. En la mayoría de los casos, los genes que se relacionan con la resistencia a MP y algunos antibióticos comparten elementos genéticos móviles, como plásmidos, transposones e integrones (Da Silva *et al.*, 2012) y pueden intercambiarse entre microorganismos que conviven en ambientes contaminados. Trabajos previos han sugerido que la corresponsabilidad no es un fenómeno fortuito, sino que está directamente enlazada a la presencia de estos elementos contaminantes en el ambiente (Rebelo *et al.*, 2021; Vats *et al.*, 2022). En consecuencia, la presión selectiva natural impuesta por los MP puede seleccionar, de modo directo, la resistencia a diversos antimicrobianos (Aarestrup y Husman, 2004; Vats *et al.*, 2022). Por otra parte, en la naturaleza, los MP, además, pueden actuar coseleccionando la RAM en bacterias, mediante la superposición de mecanismos fisiológicos, con lo cual se genera una resistencia cruzada (Rebelo *et al.*, 2021; Vats *et al.*, 2022). Este mecanismo generalmente está conferido por bombas de eflujo, que no solo expulsan antibióticos, sino que también eliminan MP fuera de la célula bacteriana.

En la actualidad, hay abundante literatura sobre resistencia/tolerancia a MP en microorganismos provenientes de diversos hábitats; sin embargo, no existe una metodología estandarizada ni puntos de cortes consensuados para evaluar la susceptibilidad, como sí ocurre con los antimicrobianos. En consecuencia, se utilizó el procedimiento metodológico propuesto por el



CLSI (2022), para la evaluación de lo dicho, y los puntos de corte planteados por Nies (1999), con el fin de definir la resistencia.

En este estudio, 161 microorganismos resultaron resistentes a níquel, cobre y zinc, y más del 95 % al cromo y plomo, resultados similares a los obtenidos por Da Silva *et al.* (2012) en palomas de zonas urbanas brasileñas. Tanto el zinc como el cobre se utilizan bajo la forma de óxidos o sales, por sus propiedades antimicrobianas y efectos favorables para el crecimiento en animales de cría (Aarestrup y Hasman, 2004). Estos metales, como se mencionó, son considerados oligoelementos esenciales; no obstante, se incorporan a las dietas en exceso y la mayor parte no es retenida por el organismo, por lo que se acumula en suelos y aguas subterráneas (Vats *et al.*, 2022). Como iniciativa para mitigar los efectos negativos que provoca, tanto al rendimiento animal como al medio ambiente, la Unión Europea (UE) decidió prohibir el óxido de zinc a partir del 2022.

En ninguno de los microorganismos aislados se observó resistencia al mercurio y cadmio, a diferencia de lo obtenido por Da Silva *et al.* (2012), quienes hallaron una baja tolerancia en *Enterococcus* sp. y relacionaron el fenómeno con ambientes contaminados por el uso de estas sustancias en la industria, agricultura, medicina, etc.

A partir del 2020, la UE, a través del grupo de expertos en asesoramiento antimicrobiano, ha elaborado una guía con la clasificación de ciertos antibióticos sobre la base de posibles consecuencias para la salud pública cuando se utilizan en medicina veterinaria. Con este propósito, los antibióticos se dividen en 4 categorías: 1) los que deben evitarse administrar y no están autorizados para medicina veterinaria (categoría A); 2) los que deben limitarse en su uso, debido a que tienen una importancia trascendental en la medicina humana (categoría B); 3) los que deben administrarse con precaución, ya que existen alternativas en la medicina humana (categoría C); y 4) los que deben administrarse con prudencia, al emplearse como tratamientos de primera línea, siempre que sea posible (categoría D).

Los glicopéptidos (vancomicina) son utilizados como la última opción para el tratamiento de infecciones nosocomiales causadas por enterococos, cuando las penicilinas no resultan eficaces, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. En la UE, este tipo de antimicrobiano no está autorizado (categoría A) como medicamento veterinario en animales productores de alimentos y en animales de compañía se recomienda en circunstancias excepcionales. Los enterococos resistentes a múltiples fármacos, en particular a la vancomicina, son una causa importante de preocupación para la comunidad médica. El porcentaje de infecciones causadas por enterococos resistentes a vancomicina (ERV) se ha multiplicado por 20 durante la última década en los Estados Unidos (Torres *et al.*, 2018).

En Argentina, se han llevado a cabo numerosos estudios orientados a la caracterización de ERV; sin embargo, es poca o nula la información sobre la presencia de este grupo microbiano en aves de corral y silvestres. Coincidente con trabajos previos en aves silvestres de Brasil, Italia, Túnez y Portugal (Cagnoli *et al.*, 2022; Da Silva *et al.*, 2012; Yahia *et al.*, 2018), este estudio solo reveló resistencia a vancomicina en un aislado de *E. faecalis* y otro sin identificar en el nivel de



especie, proveniente de calandria y gallina, respectivamente. Estos resultados contrastan con lo hallado por [Onaran et al. \(2019\)](#) en investigaciones llevadas a cabo en granjas turcas de engorde de pollos, quienes determinaron una alta frecuencia de ERV (van A y van B).

Los aminoglucósidos (categoría C, según la UE), como la gentamicina y estreptomina, están autorizados en medicina veterinaria, tanto en Argentina como en otros lugares del mundo. Son un grupo de antibióticos que contienen aminoazúcares, detienen el crecimiento bacteriano mediante la acción sobre sus ribosomas y provocan la producción de proteínas anómalas. Su espectro terapéutico es muy amplio, pero, se ha limitado su uso por su potencial nefrotoxicidad y ototoxicidad.

Los resultados obtenidos de resistencia a gentamicina (alto nivel de resistencia) fueron bajos (1.2 %), a diferencia de lo hallado por [Da Silva et al. \(2012\)](#) y [Radhouani et al. \(2012\)](#), quienes encontraron un 58.8 % de resistencia en palomas de regiones urbanas de Brasil y 20 % en *E. faecium* aislados de buitres de Portugal, respectivamente. Como contrapartida a lo anterior, el 50 % de los aislamientos de este trabajo exhibió un alto nivel de resistencia a estreptomina, datos mayores si los comparamos con los de [Radhouani et al. \(2012\)](#) y [Cagnoli et al. \(2022\)](#). La resistencia a este antimicrobiano en los enterococos se produce por cambios en la subunidad ribosómica 30S, que deriva en una baja de la unión de la estreptomina. En general, la resistencia a altas concentraciones de estreptomina implica resistencia solamente a este antimicrobiano, mientras que la resistencia a altas concentraciones de gentamicina implica también resistencia al resto de los aminoglucósidos más frecuentemente utilizados en clínica, con la excepción de la estreptomina ([Cercenado, 2011](#)).

La resistencia a ampicilina está ampliamente extendida en microorganismos de origen clínico, fenómeno detectado en diferentes partes del mundo ([García-Solache y Rice, 2019](#); [Torres et al., 2018](#)). En Argentina, [Rodríguez et al. \(2013\)](#) evaluaron la RAM, entre 1996 y 2010, de 1873 enterococos aislados, provenientes de infecciones intrahospitalarias y detectaron un 95 % de resistencia a ampicilina en *E. faecium*, especie que, además, ha aumentado su presencia desde el 2007, en estos ambientes.

Los resultados de esta investigación demuestran una elevada frecuencia de resistencia a ampicilina en los aislados de enterococos (98 %) y son coincidentes con lo hallado por [Radhouani et al. \(2012\)](#) y [Zhao et al. \(2020\)](#) en *Enterococcus* sp. provenientes de buitres comunes de Portugal y aves silvestres (patos, cuervos y gaviotas) de Houston, EUA, respectivamente. Sin embargo, estos datos contrastan con lo observado por [Cagnoli et al. \(2022\)](#), [Dolka et al. \(2020\)](#) y [Smith et al. \(2019\)](#), quienes detectaron un 13 % de resistencia a ampicilina en aves silvestres de Australia, 100 % de cepas sensibles provenientes de palomas mensajeras de Polonia y 5.83 % en avifauna de Italia, respectivamente.

Actualmente, los antibióticos pertenecientes a la familia de las tetraciclinas (categoría D) no se utilizan para el tratamiento de infecciones en humanos, pero este antimicrobiano, junto con la clortetraciclina, doxiciclina y oxitetraciclina, se utiliza para combatir enfermedades en animales de cría y como promotor del crecimiento, práctica que aumenta la resistencia ([Torres](#)



et al., 2018). En este estudio, se detectaron 35 aislados resistentes a tetraciclina, de los cuales 20 provienen de aves de cría, mientras que solo 5 presentaron una resistencia intermedia. Estos resultados son coincidentes con indagaciones efectuadas en microorganismos que provienen de aves silvestres de diferentes lugares (Da Silva *et al.*, 2012; Dolka *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020).

A partir del análisis fenotípico de los patrones de resistencia a tetraciclina y MP (Cuadro 4), se observa una alta frecuencia en los aislados pertenecientes a las especies *E. faecium* y *E. faecalis*, resultados similares a los obtenidos por Da Silva *et al.* (2012). Por otra parte, en trabajos previos como el de Sharifi *et al.* (2015), se demostró que el 100 % de las cepas de *E. faecalis* aisladas de fuentes humanas y ganaderas exhibieron patrones de resistencia a 2 o más antibióticos (entre ellos ampicilina) y metales como zinc, cobre, níquel, datos que coinciden con los obtenidos en este trabajo.

El cobre, junto con el arsénico y el mercurio, se encuentran entre los principales contaminantes metálicos históricos y contemporáneos, vinculados a actividades antropogénicas globales (Rebelo *et al.*, 2021). A diferencia del arsénico y el mercurio, el cobre es un cofactor esencial en reacciones enzimáticas intracelulares, sin embargo, es extremadamente reactivo y resulta tóxico en altas concentraciones. En consecuencia, los microorganismos han desarrollado diferentes mecanismos de detoxificación codificados genéticamente para mantener la homeostasis, entre ellos, proteínas transmembrana encargadas de su transporte (Rebelo *et al.*, 2021). Estos mecanismos están regulados por operones cromosomales, no obstante, en diferentes estudios se ha descrito resistencia adquirida a sales de cobre mediada por un plásmido (*tcrB*), con una alta presencia en especies de enterococos provenientes de animales de cría (Da Silva *et al.* 2012; Vats *et al.* 2022). Si bien en este trabajo no se ejecutó la caracterización genética de los aislados, por los resultados obtenidos podemos inferir una elevada resistencia a cobre y los antibióticos evaluados, particularmente, ampicilina, estreptomycin y tetraciclina. Durante años, se ha considerado que los enterococos son indicadores de contaminación fecal y resistencia a los antibióticos, pero su metaloma, en gran medida poco explorado, impide comprender también su papel como bioindicador de contaminación por metales de origen antropogénico (Rebelo *et al.*, 2021).

La RAM en Latinoamérica es un problema de salud pública y motivo de alarma; las vías de transmisión se conocen parcialmente, debido a que la mayor parte de la labor investigativa se concentra en el ámbito hospitalario urbano. Por otro lado, la contribución a la resistencia de los factores ambientales, generalmente, solo se menciona en la producción animal a gran escala (Medina-Pizzali *et al.*, 2021). Si bien hay normas sobre el uso de los antimicrobianos en el campo clínico, la agricultura e incluso la cría de animales, no existe un marco regulatorio que considere o cuantifique los riesgos de la presión selectiva de los antibióticos en bacterias del ambiente. En parte, esto se debe al desconocimiento de cuáles son las concentraciones ambientales de los contaminantes emergentes, para estimular dicho proceso en bacterias resistentes (Barrantes-Jiménez *et al.*, 2022).

En la provincia de Chubut, se encuentra el VIRCh, considerado como uno de los sitios más importantes de la Patagonia, debido a sus características climáticas, número de productores,



superficie cultivada y producción agrícola. Las principales actividades y complejos económicos de la región incluyen pesquería, turismo y ganadería ovina cuyo producto es el procesamiento de la lana, insumo primordial para el desarrollo de la actividad textil. La industria lanera en la Argentina comenzó a gestarse durante la primera mitad del siglo XX y se realiza mayormente en la ciudad de Trelew, donde existen lavaderos y peinadurías, aunque en otras épocas también existían establecimientos textiles en más ciudades de la comarca. La producción textil es una de las líderes en el mundo, en términos de contaminación. Este sector emplea una gran cantidad de productos químicos, que contienen MP como plomo, cromo y cobre, utilizados en la producción de pigmentos para tintes textiles. Antiguamente, no había un organismo estatal que se encargara del control de estas industrias en la zona del VIRCh; por años, los desechos sin tratamientos previos se volcaron en lagunas denominadas de estabilización, cercanas a la ciudad de Trelew. En la actualidad, existe una mayor regulación y un control ambiental de los residuos o desechos generados; sin embargo, aún se produce el volcado de efluentes de manera clandestina.

Todos los microorganismos aislados se evaluaron mediante técnicas fenotípicas para determinar su RAM, sin embargo, en un futuro se debería hacer un estudio molecular para determinar el tipo de resistencia (adquirida o intrínseca). De esta manera, sería posible abordar los orígenes de los determinantes de la resistencia a los antibióticos o MP, incluso, se podría rastrear la propagación de bacterias del ambiente nosocomial.

Conclusiones

La RAM es considerada por la OMS una de las 10 principales amenazas globales contra la salud pública, por lo que es necesario multiplicar los esfuerzos para enfrentar este problema, que impacta en los ámbitos humano, animal y ambiental. Los resultados de este trabajo muestran que existe evidencia de perturbación antrópica generada en áreas nosocomiales, industriales o establecimientos de cría de animales. El uso indiscriminado de antimicrobianos o la inclusión de antibióticos o metales como el cobre y el zinc en las dietas animales ejercen una presión selectiva sobre la población microbiana. En consecuencia, las aves pueden constituirse en un reservorio o agentes de dispersión de microorganismos resistentes. Los países latinoamericanos tienen diferencias socioeconómicas, existen disparidades en las condiciones de vida, como la falta de infraestructura y educación o el fácil acceso a los antibióticos, por lo que resulta perentorio abordar este asunto desde una perspectiva global que integre a múltiples sectores y disciplinas.

Ética y conflicto de intereses

Las personas autoras declaran que han cumplido totalmente con todos los requisitos éticos y legales pertinentes, tanto durante el estudio como en la producción del manuscrito; que no hay conflictos de intereses de ningún tipo; que todas las fuentes financieras se mencionan completa y claramente en la sección de agradecimientos; y que están totalmente de acuerdo con la versión final editada del artículo.



Agradecimientos

Se agradece el financiamiento a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco y a la Secretaría de Ciencia, Tecnología, Innovación Productiva y Cultura de la Provincia de Chubut.

Referencias

- Aarestrup, F. M. y Hasman, H. (2004). Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Veterinary Microbiology*, 100(1-2), 83-89. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.01.013>
- Barrantes Jiménez, K., Chacón Jiménez, L. y Arias Andrés, M. (2022). El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. *Población y Salud en Mesoamérica*, 19(2). <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.01.013>
- Beleza, A. J. F., Maciel, W. C, Carreira, A. S., Marques, A. R., Lima, B. P., Nogueira, C. H. G., Freitas, C. M. P., Silva, I. N. G., Ribeiro, L. R., Melo, L., Pascoal, F. N. M., Teixeira, R. S. C. y Vasconcelos, R. H. (2024). Wild birds as reservoirs of multidrug-resistant enterobacteria in Mulungu, Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 26(1), 001-0014. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2022-179>
- Cagnoli, G., Bertelloni, F., Interrante, P., Ceccherelli, R., Marzoni, M. y Ebani, V. V. (2022). Antimicrobial resistant *Enterococcus* spp. in wild avifauna from central Italy. *Antibiotics*, 11, 852. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070852>
- Cercenado, E. (2011). *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(5), 59-65. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(11\)70045-3](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(11)70045-3)
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). Performance standards for antimicrobial Susceptibility testing; 23th informational supplement. CLSI document M100-S17. Table 2D. *Enterococcus* spp. M7-A7-MIC Testing Wayne (PA): Clinical and Laboratory St. (n. d.).
- Da Silva, V. N., Cândido Caçador, N., Dos Santos Fernandes Da Silva, C., Oliveira Fontes, C., Duarte Garcia, G., Nicoli, J. R. y Galuppo Diniz, C. (2012). Occurrence of multidrug-resistant and toxic-metal tolerant enterococci in fresh feces from urban pigeons in Brazil. *Microbes and Environments*, 27(2), 179-185. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me11296>
- De Niederhäusern, S., Bondi, M., Anacarso, I., Iseppi, R., Sabia, C., Bitonte, F. y Messi, P. (2013). Antibiotics and heavy metals resistance and other biological characters in enterococci isolated from surface water of Monte Cotugno Lake (Italy). *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(8), 939-946. <http://dx.doi.org/10.1080/10934529.2013.762739>



- Dolka, B., Czopowicz, M., Chrobak-Chmiel, D., Ledwoń, A. y Szeleszczuk, P. (2020). Prevalence, antibiotic susceptibility and virulence factors of *Enterococcus* species in racing pigeons (*Columba livia* f. *domestica*). *Veterinary Research*, 16(7). <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2200-6>
- García-Solache, M. y Rice, L. B. (2019). The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(e). <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-18>
- Horie, M., Sato, H., Tada, A., Nakamura, S., Sugino, S., Tabei, Y., Kato, M. y Toyotome, T. (2018). Regional characteristics of *Lactobacillus plantarum* group strains isolated from two kinds of Japanese post-fermented teas, Ishizuchi-kurocha and Awa-bancha. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 38(1), 11-22. <https://doi.org/10.12938/bmfh.18-005>
- Jackson, C. R., Fedorka-Cray, P. J. y Barrett, J. B. (2004). Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(8), 3558. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.8.3558-3565.2004>
- Manero, A. y Blanch A. R. (1999). Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4425-4430. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.10.4425-4430.1999>
- Medina-Pizzali, M. L., Hartinger, S. M., Salmon-Mulanovich, G., Larson, A., Riveros, M. y Mäusezahl, D. (2021). Antimicrobial resistance in rural settings in Latin America: A scoping review with a One Health Lens. *I International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 9837. <https://doi.org/10.3390/ijerph18189837>
- Millar, B. C., Jiru, X., Moore, J. E. y Earle, J. A. P. (2000). A simple and sensitive method to extract bacterial, yeast and fungal DNA from blood culture material. *Journal of Microbiological Methods*, 42(2), 139-147. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00174-3](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00174-3)
- Fard, R. M., Heuzenroeder, M. W. y Barton, M. D. (2011). Antimicrobial and heavy metal resistance in commensal enterococci isolated from pigs. *Veterinary microbiology*, 148(2-4), 276-282. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.09.002>
- Nies, D. H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(6), 730-750. <https://doi.org/10.1007/s002530051457>
- Onaran, B., Göncüoğlub, M. y Bilir Ormanci, F. S. (2019). Antibiotic resistance profiles of vancomycin resistant enterococci in chicken meat samples. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66, 331-36. <https://doi.org/10.33988/auvfd.451328>
- Radhouani, H., Poeta, P., Goncalves, A., Pacheco, R., Sargo, R. e Igrejas, G. (2012). Wild birds as biological indicators of environmental pollution: antimicrobial resistance patterns of



- Escherichia coli* and enterococci isolated from common buzzards (*Buteo buteo*). *Journal of Medical Microbiology*, 61, 837-843. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.038364-0>
- Rebelo, A., Mourão, J., Freitas, A. R., Duarte, B., Silveira, E., Sánchez-Valenzuela, A., Almeida, A., Baquero, F., Coque, T. M., Peixe, L., Antunes, P. y Novais, C. (2021). Diversity of metal and antibiotic resistance genes in *Enterococcus* spp. From the last century reflects multiple pollution and genetic exchange among phyla from overlapping ecosystems. *Science of the Total Environment*, 787, 1475-48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147548>
- Rodríguez, C. H., García, S., Barberis, C., Saposnik, E., Weyland, B., Nastro, M., Losada, M., Perazzi, B., Almuzara, M., Foccoli, M., Vay, C. y Famiglietti, A. (2013). *Enterococcus* spp.: resistencia antimicrobiana en infecciones intrahospitalarias. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 47(1), 155-60. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572013000100017
- Sato, G., Oka, C., Asagi, M. e Ishiguro, N. (1978). Detection of conjugative R plasmids conferring chloramphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from domestic and feral pigeons and crows. *Zentralbl Bakteriolog Orig A*, 241, 407-417. PMID: 366994.
- Sharifi, Y., Abedzadeh, A., Salighe, A., Kalhor, N., Motlagh, M. K. y Javadi, A. (2015). Antibiotics and heavy metals resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *faecium* bacteria isolated from the human and the livestock sources. *Environmental Health Engineering and Management*, 2(4), 199-202. <http://ehemj.com/article-1-125-en.html>
- Smith, H. G., Rohan, H., Larkins, J. A., Bean, D. C. y Greenhill, A. R. (2019). Wild Australian birds and drug-resistant bacteria: characterization of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. *Emu - Austral Ornithology*, 119(4), 384-390. <https://doi.org/10.1080/01584197.2019.1591162>
- Stępień-Pyśniak, D., Hauschild, T., Kosikowska, U., Dec, M. y Urban-Chmie, R. (2019). Biofilm formation capacity and presence of virulence factors among commensal *Enterococcus* spp. from wild birds. *Scientific Reports*, 9, 11204. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47602-w>
- Stępień-Pyśniak, D., Hauschild, T., Dec, M., Marek, A., Brzeski, M. y Kosikowska, U. (2021). Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Enterococcus faecalis* from yolk sac infections in broiler chicks. *Poultry Science*, 100(12), 101491. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101491>
- Torres, C., Alonso, C. A., Ruiz-Ripa, L., León-Sampedro, R., del Campo, R. y Coque, T. M. (2018). Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. of animal origin. *Microbiology Spectrum*, 6(4), ARBA-0032-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0032-2018>
- Yahia, H. B., Chairat, S., Hamdi, N., Gharsa, H., Ben Sallem, R., Ceballos, S., Torres, C. y Slama, K. B. (2018). Antimicrobial resistance and genetic lineages of faecal enterococci of wild birds:





Emergence of vanA and vanB2 harboring *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 54(6), 936-41. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.05.005>

Vats, P., Jit Kaur, U. y Rishi, P. (2022). Heavy metal-induced selection and proliferation of antibiotic resistance: A review. *Journal of Applied Microbiology*, 132(6), 4058-76. <https://doi.org/10.1111/jam.15492>

Zhao, H., Sun, R., Yu, P. y Álvarez, P. J. J. (2020). High levels of antibiotic resistance genes and opportunistic pathogenic bacteria indicators in urban wild bird feces. *Environmental Pollution*, 266, 115200. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115200>

