



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

Programa de Posgrados

**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN LOS DIFERENTES SISTEMAS
PRODUCTIVOS BOVINOS DEL URUGUAY: ESTIMACIÓN DE LA
PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN DE FACTORES ASOCIADOS.**

MOREIRA OLMOS, CYNTIA

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

URUGUAY

2022



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

Programa de Posgrados

**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN LOS DIFERENTES SISTEMAS
PRODUCTIVOS BOVINOS DEL URUGUAY: ESTIMACIÓN DE LA
PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN DE FACTORES ASOCIADOS.**

MOREIRA OLMOS, CYNTIA

Andrés Gil
Director de Tesis

Federico Fernández
Co-director

2022

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

Edgardo Giannechini; DMV, MS

Departamento de Ciencias Microbiológicas,
Área de Bacteriología, Facultad de Veterinaria
Universidad de la República – Uruguay

María Teresa Correa Gutiérrez; PhD, MS

Population Health, and Pathobiology – College of Veterinary Medicine
North Carolina State University – NCSU – Estados Unidos

Pablo Zunino; DMV, MS, PhD

Departamento de Microbiología,
Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)
Universidad de la República – Uruguay

ACTA DE DEFENSA DE TESIS



ACTA DE TESIS DE MAESTRÍA

ORIENTACIÓN: Salud Animal

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: Aula..., 16/06/2022

TRIBUNAL: Pablo Zunino, María Teresa Correa y Edgardo Giannechini.

CI	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
3122601-5	MOREIRA OLMOS, CYNTIA BEATRIZ	SSS	12

NOTA: La calificación mínima para aprobar la defensa es B.B.B (6)

La Tesis de Maestría "Resistencia antimicrobiana en los diferentes sistemas productivos bovinos del Uruguay: estimación de la prevalencia e identificación de factores asociados", defendida por la Dra. Cynthia Moreira Olmos en el día de la fecha, trata un problema de relevancia para los ámbitos productivos y de salud pública, de creciente impacto a nivel nacional e internacional. La información presentada en la Tesis es voluminosa y de importante valor para el país.

El documento escrito se consideró correcto, aunque se sugiere revisar aspectos como el contexto del estudio, hipótesis, métodos microbiológicos, síntesis y referencias bibliográfica, entre otros.

La exposición oral fue muy adecuada y realizada en forma muy clara, cuya estructura puede ser una base adecuada para el ajuste del texto escrito. La estudiante demostró solidez en sus conocimientos y solvencia para responder las preguntas de los integrantes del Tribunal.

En base a todas estas consideraciones, el Tribunal resuelve otorgar la calificación de "Aprobada con Mención".

TRIBUNAL

Dra. María Teresa Correa

FIRMA

Dr. Edgardo Giannechini

Dr. Pablo Zunino

AGRADECIMIENTOS

Fue mucho el tiempo dedicado y lo aprendido, este trabajo me rodeó de infinidad de personas que me dieron su cariño y apoyo para esta etapa así que imposible listarlos.

Especialmente le agradezco a mis tutores Andrés y Federico que fueron guía en lo académico y personal en este proceso de formación, me gustó mucho integrarme a sus equipos y así iniciarme en la investigación. Mucho tiempo y conocimientos me han brindado y espero esto no sea un fin.

A todos los compañeros del equipo del proyecto que son parte en este trabajo, a mis compañeros de la UNEPI que me acompañaron y apoyaron siempre.

A los integrantes del tribunal por brindarme su tiempo y conocimientos para con sus aportes mejorar este trabajo en la etapa final.

A mi familia y amigos por el apoyo incondicional, por compartir esta etapa y perdonarme las ausencias.

Finalmente, a la ANII como fuente de financiación del proyecto FSA_I_2017_1_139542 del fondo sectorial Innovagro, con beca POS_FSA_2018_1_1008123.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	ix
SUMMARY	x
CAPÍTULO 1- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
1.1- Resistencia Antimicrobiana.....	1
1.2- Importancia e impacto de la resistencia antimicrobiana	2
1.3- Susceptibilidad a los ATM.....	8
1.4- Vigilancia en resistencia antimicrobiana	11
1.5- Antecedentes de vigilancia y estudios epidemiológicos en el país.....	14
1.6- Aislamiento bacteriano en medios selectivos.....	16
1.7- Otros antecedentes de resistencia antimicrobiana en <i>E. coli</i> en el país.....	17
1.8- Estudios de prevalencia usando punto de corte clínico en otros países.....	19
1.9- Estudios de prevalencia usando punto de corte epidemiológico en otros países	21
1.10- Estudios de caracterización de las explotaciones en el país	23
CAPÍTULO 2- CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA	25
CAPÍTULO 3- OBJETIVOS	27
3.1- Objetivo general:.....	27
3.2- Objetivos específicos	27
CAPÍTULO 4- MATERIALES Y MÉTODOS	28
4.1- Diseño del muestreo.....	28
4.2- Diseño de la encuesta predial.....	31
4.3- Análisis de laboratorio	33
4.4- Análisis estadístico	35
CAPÍTULO 5 - RESULTADOS	37
5.1 - CARACTERIZACIÓN DE LOS PREDIOS PRODUCTORES DE CARNE BOVINA DEL URUGUAY EN LA ETAPA DE TERMINACION.....	37
5.2 - RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN EL GANADO Y LOS PREDIOS PRODUCTORES	46

5.2.1- ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS UTILIZANDO EL PUNTO DE CORTE CLÍNICO (PCC) Y LAS CATEGORÍAS SEGÚN EXPERTOS.....	48
5.2.2- COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS CON EL ESTUDIO NACIONAL DE REFERENCIA DEL AÑO 2006.....	59
5.2.3- ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS UTILIZANDO EL PUNTO DE CORTE EPIDEMIOLÓGICO (ECOFF).....	65
5.3- FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA	71
CAPÍTULO 6- DISCUSIÓN	77
6.1- CARACTERIZACIÓN DE LOS PREDIOS PRODUCTORES DE CARNE BOVINA DEL URUGUAY EN LA ETAPA DE TERMINACION.....	77
6.2- RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN EL GANADO Y LOS PREDIOS PRODUCTORES	80
6.3- FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA	84
CAPÍTULO 7- CONCLUSIONES	88
CAPÍTULO 8- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
CAPÍTULO 9- ANEXOS.....	97
ANEXO 1- FORMULARIOS PARA TOMA DE MUESTRAS Y ENCUESTA:	97

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

<i>Figura 1: Interpretación de la sensibilidad antimicrobiana según los diferentes puntos de corte. (Fuente: adaptado de Tascini, C. 2016)</i>	10
<i>Cuadro I: Resumen de resultados de sensibilidad antimicrobiana.</i>	15
<i>Cuadro II: Reporte EFSA 2017 -Resistencia a los ATM (%)</i>	22
<i>Figura 2: Distribución de los establecimientos del marco de muestreo por estratos</i>	28
<i>Cuadro III: Diseño del muestreo y su proyección</i>	29
<i>Figura 3: Mapa con la distribución por estratos de los predios seleccionados para el muestreo</i>	30
<i>Cuadro IV: Resumen de preguntas de la encuesta predial para la caracterización de los predios productores de carne bovina en Uruguay</i>	32
<i>Cuadro V: Clasificación y valores de punto de corte de los antimicrobianos</i>	34
<i>Cuadro VI: Establecimientos muestreados y marco de muestreo</i>	37
<i>Figura 4: Relación del entrevistado por estrato en porcentaje</i>	37
<i>Figura 5: Registros productivos/ reproductivos por estrato (%)</i>	38
<i>Figura 6: Persona al cuidado de los animales por estrato (%)</i>	38
<i>Figura 7: Fuente de agua y efluentes por estrato (%)</i>	38
<i>Figura 8: Razas predominantes por estratos (%)</i>	39
<i>Figura 9: Dotación ganadera por estratos</i>	39
<i>Figura 10: Intensificación ganadera (%)</i>	39
<i>Cuadro VII: Dotación y bovinos/hectárea</i>	40
<i>Figura 11: Asistencia técnica veterinaria</i>	40
<i>Figura 12: Certificación de establecimientos por estratos</i>	40
<i>Cuadro VIII: Categorización de antimicrobianos según importancia de la OMS</i>	41
<i>Cuadro IX: Declaración de uso de antimicrobianos (% sobre los establecimientos que declaran algún ATM)</i>	41
<i>Figura 13: Declaración de uso de antimicrobianos (peor condición) según criterios de importancia de la OMS (%)</i>	42
<i>Figura 14: Categorización de enfermedades del predio por importancia</i>	43
<i>Cuadro X: Enfermedades por importancia</i>	44
<i>Figura 15: Categorización de enfermedades del predio por importancia por estratos</i>	45

<i>Cuadro XI: Tiempo previsto para faena del lote muestreado (días)</i>	47
<i>Figura 16: Distribución temporal de las muestras por semana y estación</i>	47
<i>Cuadro XII: Diagrama de resultados de MIC con interpretación usando punto de corte clínico.</i>	49
<i>Cuadro XIII: Cuadro con los antimicrobianos y categorías para el análisis usando lo puntos de corte clínicos</i>	51
<i>Cuadro XIV: Patrones de resistencia a los antimicrobianos comparadas</i>	52
<i>Figura 17: Patrón de resistencia por categorías en establecimientos según criterio de peor condición (%)</i>	53
<i>Cuadro XV: Resistencias categorizadas según criterio de importancia de la OMS.</i>	53
<i>Figura 18: Resistencia en animales según criterios de importancia de la OMS (PC)</i>	54
<i>Figura 19: Resistencia a nivel de establecimientos según criterio de importancia de la OMS, peor condición (%)</i>	54
<i>Cuadro XVI: Resistencias por categorías a nivel animal y establecimiento</i>	55
<i>Figura 20: Prevalencia de resistencias por categorías organizados por criterio de importancia de la OMS (nivel animal)</i>	55
<i>Cuadro XVII: Resistencias por antimicrobianos individualmente a nivel animal y de establecimiento.</i>	57
<i>Cuadro XVIII: Patrones de resistencia a nivel animal</i>	58
<i>Figura 21: Distribución de la resistencia a los antimicrobianos con respecto al punto de corte (valores ≤ 0 indican establecimiento resistente)</i>	60
<i>Cuadro XIX: Patrones de resistencia comparada considerando 7 antimicrobianos</i>	60
<i>Figura 22: Resistencias de los 7 ATM categorizadas según criterio de importancia de la OMS</i>	61
<i>Cuadro XX: Patrón de resistencias para los 7 antimicrobianos.</i>	61
<i>Cuadro XXI: Cuadro comparativo de la susceptibilidad a los antimicrobianos con el muestreo del año 2006</i>	62
<i>Cuadro XXII: Cuadro comparativo con el muestreo del año 2006, resistencias individuales</i>	63
<i>Figura 23: Resistencias a nivel animal tomando valor medio en muestreo de 2006</i>	63
<i>Figura 24; Resistencias nivel animal tomando valor medio en muestreo de 201963</i>	63

<i>Figura 25: Resistencias nivel establecimiento tomando valor medio en muestreo de 2019</i>	64
<i>Cuadro XXIII: Diagrama de resultados de MIC con interpretación usando el punto de corte epidemiológico</i>	65
	67
<i>Cuadro XXIV: Resultados de RAM usando ECOFF para 15 y 7 ATM en orden decreciente de prevalencia a nivel animal</i>	67
<i>Figura 26: Resistencias para los 15 ATM según criterio OMS</i>	68
<i>Cuadro XXV: Resistencias usando criterio EFSA</i>	69
<i>Cuadro XXVI: Cuadro comparativo resultados usando ECOFF.</i>	70
<i>Cuadro XXVII: Análisis de regresión logística: al menos una resistencia (univariable y multivariable)</i>	72
<i>Figura 27: Análisis de regresión al menos una resistencia univariable con $p < 0.05$</i>	73
<i>Cuadro XXVIII: Intensificación ganadera</i>	73
<i>Cuadro XXIX: Análisis de regresión logística: multiresistencia (univariable y multivariable)</i>	74
<i>Figura 28: Análisis de regresión MDR univariable con $p < 0.05$</i>	75

LISTA DE ABREVIATURAS

- AGISAR – Grupo Asesor para la Vigilancia Integrada en RAM de OMS
- ANII - Agencia Nacional de Investigación e Innovación
- ATM- antimicrobiano
- AUA - al menos un animal / aislado resistente
- CIPARS – Programa Canadiense para la vigilancia integrada en resistencia antimicrobiana
- CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute
- DANMAP - Programa Danés para la vigilancia del consumo de antimicrobianos y la resistencia en bacterias de animales destinados a la alimentación, alimentos y seres humanos
- DGSG- Dirección General de Servicios Ganaderos
- DICOSE - División de Contralor de Semovientes
- DILAVE - Dirección de Laboratorios Veterinarios “Miguel C. Rubino”
- *E. coli* - *Escherichia coli*
- ECOFF – punto de corte epidemiológico
- EFSA - European Food Safety Authority
- ESBL- beta lactamasa de espectro extendido
- EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
- FDA – Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
- GLASS – Sistema Global de vigilancia en RAM de OMS
- LATU – Laboratorio Tecnológico del Uruguay
- MDR - multiresistencia
- MGAP- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
- MIC – concentración inhibitoria mínima
- NARMS – Sistema Nacional de Vigilancia en Resistencia Antimicrobiana de Estados Unidos
- NS – no significativo
- OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal
- OMS / WHO – Organización Mundial de la Salud

- OR - odds ratio
- PC - peor condición
- PCC -punto de corte clínico
- PNCRA - Plan Nacional de Contención de la Resistencia Antimicrobiana
- PS – pansensible
- R- resistente
- RAM- resistencia antimicrobiana
- SDE – sin diferencia entre estratos
- VAST - Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema mundial que está siendo abordado desde el concepto de Una Salud con importantes impactos.

Se estudió la susceptibilidad a los agentes antimicrobianos (ATM) a nivel nacional en bovinos para carne usando *Escherichia coli* como bacteria indicadora. Se estimó la prevalencia de resistencia y se estudiaron los patrones de sensibilidad fenotípica, evaluando la multiresistencia y su evolución temporal. Se caracterizaron los sistemas productivos de la cadena cárnica del Uruguay previo a faena e identificaron factores asociados con RAM.

El estudio se realizó a partir de un muestreo bietápico, seleccionando primero establecimientos (120 entre ganadería, lechería y corral); y luego animales (hasta 10) de la categoría novillos. Para la caracterización se utilizó un formulario de encuesta predial. 1180 muestras individuales de materia fecal fueron analizadas para determinar la RAM con un equipo automatizado, se interpretaron usando un punto de corte clínico y otro epidemiológico.

Para estimar las prevalencias en función del diseño del muestreo se utilizó la rutina de muestreos complejos del software STATA 15[®].

La caracterización predial mostró importantes diferencias entre estratos, con alta frecuencia de asesoramiento veterinario, buenos niveles de registros, buenas prácticas de uso y bajo nivel de uso de ATM.

El 90.4% de los animales fueron pansensibles; un 8.3% de las resistencias fueron simples y un 1.3% múltiples; la clase con mayor resistencia fue la de las tetraciclinas. A nivel de establecimientos los valores de resistencia fueron mayores por la dispersión; un 51.6% presentaron alguna resistencia, y un 1.82% multiresistencia (MDR). Estos resultados indican que la situación para los establecimientos de la cadena cárnica previo a la faena, es de un nivel de prevalencia de RAM muy baja y con una distribución a nivel establecimiento dispersa compatible con un uso de ATM limitada.

Mediante modelos de regresión logística multivariable se identificaron factores asociados a la RAM. La intensificación se asoció con al menos una resistencia; y la administración de ATM y bovinos/ha se asociaron con MDR. Se identificaron otras asociaciones estadísticamente significativas mediante regresiones logísticas univariadas. Aunque se ha demostrado que ciertos factores se asocian a la presentación de resistencias, la epidemiología de la RAM es claramente multifactorial, y deben estudiarse con mayor profundidad.

La vigilancia en RAM sobre animales para consumo es necesaria para generar un sistema de alerta temprana, poder rastrear su emergencia y diseminación. La actualización de la situación sirve de base para comparaciones en el tiempo y estimar tendencias. La información es indispensable para los tomadores de decisión en políticas públicas, a los efectos de dar soporte y evaluar el impacto sobre las acciones implementadas.

SUMMARY

Antimicrobial resistance (AMR) is a global problem that is being addressed from the One Health concept with significant impacts.

Susceptibility to antimicrobial agents (ATM) was studied at the national level in beef cattle using *Escherichia coli* as indicator bacteria. The prevalence of resistance was estimated and the patterns of phenotypic sensitivity were studied, evaluating multiresistencia and its temporal trends. The farms of the Uruguayan food chain were characterized prior to slaughter and factors associated with AMR were identified.

The study was carried out from a two-stage random sampling, first selecting farms (120 between grass beef, dairy and feed lots); and then animals (up to 10) of the steers category. For the characterization of the farms a survey form was used. 1180 individual fecal samples were analyzed for AMR with automated equipment, interpreted using a clinical and epidemiological cut-off point.

To estimate the prevalences based on the sampling design, the complex sampling routine of the STATA 15® software was used.

The farm characterization showed important differences between strata, with a high frequency of veterinary advice, good levels of records, good practices of use and low level of ATM use.

90.4% of the animals were pansensitive; 8.3% of the resistances were simple and 1.3% multiple; the class with the greatest resistance was the tetracycline. At the farm level, the resistance values were higher due to dispersion; 51.6% presented some resistance, and 1.82% multi-resistance. Our results indicate that the situation for farms in the food chain prior to slaughter is of a very low level of prevalence of AMR and with a spread distribution at the farm level compatible with limited ATM use.

Using multivariable logistic regression models some associated factors were identified. Intensification was associated with some resistance; and ATM administration and bovine/hectare were associated with multiresistencia. Other statistically significant association were identified using univariable logistic regressions. Although certain factors were shown to be associated with the presentation of AMR, the epidemiology of AMR is clearly multifactorial, and they should be studied in greater depth.

Surveillance in AMR on animals for consumption is necessary to generate an early warning system, to be able to track its emergence and dissemination. The update of the situation serves as a basis for comparisons over time and to estimate trends. The information is essential for decision makers in public policies, to support and evaluate the impact on the implemented actions.

CAPÍTULO 1- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1.1- Resistencia Antimicrobiana

Los antimicrobianos (ATM) son compuestos que eliminan o inhiben el crecimiento de microorganismos, tales como bacterias, hongos o parásitos. Han revolucionado la lucha contra las infecciones no solo en el ser humano sino que también en los animales y vegetales siendo esenciales para la prevención, control y tratamiento de las infecciones (OIE, 2016).

La resistencia antimicrobiana (RAM) es la habilidad del microorganismo para resistir a la acción de los agentes ATM, por lo que sobreviven y se multiplican en presencia del agente que normalmente inhibía o mataba a este microorganismo.

Las estrategias de resistencia de las bacterias a los ATM las clasificamos en naturales o adquiridas, y se encuentran codificados genéticamente en los llamados determinantes de resistencia antimicrobiana. La resistencia natural o intrínseca está naturalmente codificada y expresada por todas las cepas de la misma especie bacteriana; es una característica permanente, conocida y predecible y no correlacionada con la dosis del ATM (Darai & Sonntag, 2009; Jian et al., 2021).

La resistencia adquirida es una característica específica de algunas cepas de especies bacterianas naturalmente sensibles, en los cuales el genotipo ha sido modificado por mutación o adquisición horizontal de genes entre especies relacionadas o diferentes (Jian et al., 2021); por lo tanto es una característica no conocida, variable, que evoluciona y justifica el testeo.

Clasificamos la resistencia adquirida según la vía de adquisición del material genético en endógena o exógena: la vía endógena está dada por mutaciones que son cambios espontáneos en la secuencia del ADN; y la vía exógena es la que se produce por la transferencia horizontal de genes que funcionan como vectores en la transferencia entre bacterias contemporáneas de la misma o de otra especie (plásmidos, fagos, trasposones o integrones) (Darai & Sonntag, 2009; Vignoli & Seija, 2006).

Las herramientas que cuenta la bacteria para resistir a los ATM son los llamados mecanismos de resistencia, y a la mayoría se los pueden agrupar en tres categorías: inactivación enzimática; modificaciones en el sitio blanco; o alteraciones de la permeabilidad (por alteración de la membrana bacteriana, alteración en la entrada de antibiótico, o aumento de la salida del antibiótico) (Vignoli & Seija, 2006).

Consideran estos autores tres perspectivas de la RAM según se refiera a mecanismos: de resistencia individual; de resistencia poblacional; o resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección.

La resistencia individual se refiere a la interacción molecular entre una célula bacteriana con todo su arsenal genético y metabólico y un antibiótico determinado. Ya mencionamos las herramientas que cuentan las bacterias para resistir a los

ATM, pero no siempre es suficiente la sola presencia del gen que codifica dicho mecanismo, deben ser expresados en cantidad y calidad suficiente y a veces interactuar con distintos mecanismos para alcanzar la sobrevida bacteriana.

La resistencia poblacional representa el comportamiento in vitro de una población bacteriana frente a determinada concentración y tiempo de exposición a un antibiótico. Se corresponden con los estudios que se hacen a nivel de laboratorio que informan un resultado para la orientación terapéutica.

La resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección refiere a la eficacia o éxito terapéutico, y aquí intervienen otros factores como el sitio de infección, severidad de la infección, farmacocinética, estado inmunitario del paciente y comorbilidades.

Estas tres perspectivas se deben tener en cuenta dado que en la interacción antibiótico-microorganismo considerado para la práctica clínica también interviene la microbiota normal o comensal que actúa de reservorio, dado su potencial para intercambiar y diseminar estos determinantes de resistencia antimicrobiana (Oudessa Kerro, 2020).

Las rutas de diseminación de la resistencia antimicrobiana incluyen: al medio ambiente vía aguas residuales, excretas humanas y animales contaminando cultivos y cursos de agua (fertilización con excretas animales y tratamientos en vegetales); a los animales y el hombre en convivencia con portadores de resistencia; a la cadena alimenticia por el consumo de productos contaminados; el tránsito en general vía comercio y turismo que acelera y expande la transmisión globalmente (Aarestrup, 2015; Camou et al., 2018; Jian et al., 2021; OIE, 2016)

Al considerar la diseminación de la RAM, se la integra epidemiológicamente en una interface animal-hombre-vegetal-ambiente como un todo. Conocer el funcionamiento de los mecanismos de resistencia, su desarrollo y transmisión resulta de gran importancia como herramienta en la toma de decisión, para la prevención y el control.

1.2- Importancia e impacto de la resistencia antimicrobiana

Las poblaciones bacterianas con el tiempo desarrollan la RAM, por lo que la disponibilidad y el uso de ATM son fundamentales para la salud y la productividad, y contribuyen a la seguridad alimentaria, la inocuidad de los alimentos y el bienestar animal. Médicos, Odontólogos, Veterinarios y otros actores de la salud tienen la responsabilidad en Salud Pública de asegurar y promover un uso apropiado y prudente de los ATM para preservar la eficacia de los mismos (Aarestrup, 2015; Steele, 1949; Van Boeckel et al., 2015; WHO, 2017).

El uso de los fármacos ATM ha revolucionado la medicina siendo una práctica muy utilizada. La falta de regulación, control y supervisión favorece un uso inadecuado que favorece el desarrollo de cepas resistentes en bacterias patógenas y no

patógenas (Silbergeld et al., 2008). El uso de ATM ha sido claramente asociado con el aumento de la RAM, la exposición tiene efecto sobre la presión de selección y se acelera el proceso de adquisición de resistencia (Camou et al., 2018; WHO, 2017).

Aarestrup (2015) clasifica el uso de los ATM en animales de producción en: terapéutico (tratamiento de animales enfermos); metafiláctico (se tratan animales sin síntomas clínicos que comparten con animales con signos clínicos); profiláctico (uso preventivo en animales sanos); o como promotores de crecimiento (inclusión de dosis bajas y mantenidas de ATM en el agua o alimento para mejorar la ganancia de peso).

Se debate en torno al impacto que producen sobre la RAM estos diferentes usos y su conveniencia, principalmente sobre los promotores de crecimiento. Se argumenta que la limitación en el uso podría traer consecuencias negativas en la producción animal, la salud y bienestar, relacionándose con fallas en el manejo, falta de higiene y control de enfermedades (Aarestrup, 2015; Van Boeckel et al., 2015). Los promotores de crecimiento mejoran en 1 a 10 % la ganancia de peso y la calidad de las carnes (FAO, 2016). 26% de los países miembros de la OIE notificaron el uso de promotores de crecimiento, algunos países ya los han prohibido, pero aún falta regulación en ese tema (OIE, 2021).

Se ha cuestionado también el riesgo de RAM asociado al uso de ionóforos (monensina y lasalósidos entre otros). Si bien son una clase de ATM, tienen un modo de acción muy diferente a los convencionales y son únicamente de uso animal. Se los utiliza como coccidiostático y como mejoradores de la fermentación ruminal, estando en la clasificación de ATM de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) dentro de los de importancia elevada.

En 2018 un grupo ad-hoc RAM-monensina en Argentina analizó el tema y considerando que: se elimina en forma inactiva dejando escasos residuos en tejidos, como así también que el tipo de resistencia es adaptativa y transitoria; concluyeron en que las consecuencias potenciales de la resistencia en bacterias de interés para la salud pública, serían muy poco probables (Gitleman, 2014).

El uso de ATM no es una información que esté fácilmente disponible, y se suele estimar a través de las ventas. Esta estimación tiene el sesgo de que: no todo lo que se vende se administra, no se sabe la especie destino, el tipo de uso, y tampoco la dosis, frecuencia y duración del tratamiento.

El uso de ATM en animales a nivel mundial se estima en más de 57.000 toneladas y con una proyección de un 67% de aumento para el año 2030; o de 45 mg/UPC (Unidades de Población Corregida) si se toma en cuenta la biomasa en el cálculo; pero siempre es mucho mayor al uso en humanos (Cameron & McAllister, 2016). La producción de carne bovina a nivel mundial es la tercera más importante, luego de la suina y aviar, por tanto, debemos analizar la contribución de los bovinos a este consumo. La biomasa de bovinos en las Américas es superior (55%) al resto

de las regiones (37%), y además para Uruguay los datos de cerdos y aves seguramente representen un menor porcentaje del reportado (38%) (OIE, 2021).

White (2019) reportó que los ATM más utilizados en animales para consumo y de compañía son de las clases: betalactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos y sulfonamidas. Los países miembros de la OIE reportan sus datos y se informan por regiones (OIE, 2021), siendo para Las Américas las clases de ATM más importantes (en porcentaje de las cantidades de antimicrobianos usadas en animales), la tetraciclinas, las penicilinas y los macrólidos. A nivel nacional según el registro oficial de los kilogramos de ATM inyectables importados en 2018 para animales de producción son en orden decreciente: aminoglucósidos, tetraciclinas, penicilinas y sulfonamidas (dato remitido para informe de OIE, aportado por MGAP sin publicar).

A nivel nacional tenemos regulaciones generales en específicos veterinarios para bovinos, y especiales sobre los ATM. La Dirección General de Servicios Ganaderos (DGSG) del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) es la autoridad competente para el registro y control de los productos veterinarios incluyendo los ATM. La normativa reglamenta la autorización del uso, rotulación y responsabilidad profesional. Exige buenas prácticas de fabricación (Resolución DGSG 48/11 de 2011) y promueve las buenas prácticas de uso de medicamentos veterinarios (MGAP, 2015).

Por la Resolución DGSG 193A/015 de 2015 se regulan las condiciones de comercialización y uso de ATM. Se dispone su comercialización bajo receta extendida por médico veterinario, y se establecen las responsabilidades del veterinario (recetar sólo siendo necesario y con análisis clínico) y del productor al frente de la explotación (registrar el uso de ATM en planilla sanitaria con identificación individual, tiempo de espera, específico utilizado).

Se prohibió la importación, fabricación, venta y uso de medicamentos veterinarios utilizados para la promoción del crecimiento o engorde en bovinos, ovinos, cerdos, equinos y aves (Decreto N° 915/988). Posteriormente, se agregó la prohibición sobre los alimentos que contienen antibióticos con la finalidad de promover el crecimiento en bovinos y ovinos (Decreto N° 98/011).

Desde 1986 se establecieron prohibiciones del uso de ciertos ATM como cloranfenicol (Resolución MGAP 11/27/1986), nitrofuranos y carbadox-olaquinox para bovinos y ovinos (Decreto presidencial 215/013) y prohibición total en todas las especies para la colistina (Decreto presidencial 141/019).

Las organizaciones Internacionales que encabezan esta visión en RAM son la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la OIE y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Establecieron una alianza tripartita ya que el aumento de la RAM es una responsabilidad compartida entre los sectores de la salud humana, la sanidad animal y el ambiente, y por tanto requiere una respuesta multisectorial, global y coordinada con el enfoque en “Una Salud”.

La alianza reconoce las necesidades de cada sector y promueve el desarrollo de herramientas y políticas que ayuden a sus Países Miembros. En 2015 la OMS publicó un “Plan de Acción Mundial sobre la RAM” con cinco objetivos estratégicos y proporciona el marco para que los países elaboren sus propios planes de acción nacionales para combatir la RAM (WHO, 2017).

Como ejemplo de otras acciones en este ámbito, la OIE elaboró en 2016 la “Estrategia de la OIE sobre la RAM y su uso prudente”, donde se recopila y consolidan todas las acciones para combatir la RAM en una estrategia de la OIE (OIE, 2016). La OMS además establece un grupo asesor para la vigilancia integrada de RAM (AGISAR), un sistema global de vigilancia de la RAM (GLASS) y en 2017 publica una guía para la vigilancia integrada de RAM en bacterias de origen alimenticio (AGISAR, 2017).

En cuanto a los ATM específicamente, en 2003 se les solicitó a la OMS y la OIE que elaboraran una lista de ATM de importancia crítica para medicina humana y veterinaria respectivamente. Se fijaron criterios de clasificación de los ATM en función de su importancia en cada sector y se arman listas de ATM las que se actualizan periódicamente. El objetivo es contribuir a gestionar la RAM y garantizar que todos los ATM se utilicen de forma prudente. Hay ATM que son sólo de uso médico o veterinario, pero hay otros de uso compartido, y de superponerse las listas indica que debe alcanzarse un equilibrio adecuado entre las necesidades zoonositarias y las consideraciones de salud pública (OIE, 2015; OMS, 2018). En esta situación destacan los ATM de las clases fluoroquinolonas, las cefalosporinas de 3º y 4º generación y la colistina (FAO/OMS/OIE, 2007).

La RAM produce importantes consecuencias, directas e indirectas. En el ámbito productivo determina menor productividad a causa de enfermedades, pudiéndose comprometer el bienestar animal, el comercio internacional, la inocuidad y la seguridad alimentaria (Steele, 1949). Al reducirse la eficacia de los antimicrobianos:

Aumenta la morbilidad: las cepas resistentes tienen más sobrevida en presencia del ATM que las susceptibles.

Aumenta la mortalidad: debido a fallas en el tratamiento empírico y al aumento de la tasa de letalidad en presencia de cepas resistentes.

Aumentan los costos en salud: resultan tratamientos más prolongados, con necesidad de un ATM diferente, o más estudios colaterales; demandan el desarrollo de nuevos medicamentos y vacunas (Oudessa Kerro, 2020).

El control y la prevención de la resistencia a los antimicrobianos es un problema global de la salud pública, la RAM es un fenómeno natural que difunde a las poblaciones afectando países desarrollados y no desarrollados. Para ser eficientes se necesita un enfoque basado en el concepto de Una Salud, implica trabajar creando redes de trabajo conjunto con una aproximación multidisciplinaria, colectivas y coordinadas, apostando a incluir además a todos los sectores involucrados y agentes internacionales, en particular, medicina humana,

veterinaria, medioambiente, agricultura, finanzas y consumidores (Camou et al., 2018; WHO, 2017).

Actualmente se calcula que 70 mil personas/año mueren en el mundo por RAM, pero en el 2050 se estima que llegue a 10 millones y sea la principal causa de muerte. Esta crisis no sólo es importante en la salud, es una cuestión económica también, donde es crucial actuar pronto, ya que los beneficios serán importantes y de largo alcance (O'Neill, 2016).

Desde el ámbito de la producción animal se puede abarcar ampliamente la RAM, considerando desde el uso de los ATM y la sanidad animal hasta las intervenciones en prácticas de manejo, regulaciones y extensión con este enfoque. En este sentido múltiples esfuerzos se realizan para identificar los posibles factores asociados a la RAM y destacaremos algunos trabajos son insumos para la discusión de los resultados:

El tamaño del rodeo y el contacto estrecho entre animales está asociado positivamente con el incremento de la RAM (Aarestrup, 2005; Burow & Käsbohrer, 2017; Duse et al., 2015; Hille et al., 2018; Murphy et al., 2016) impactando en la transferencia de bacterias resistentes entre los animales.

La edad y el tipo de producción es un factor diferencial que se asocia diferentemente con el riesgo de RAM (Berge et al., 2010) y los corrales de engorde interesan porque son animales de menor edad que en los otros tipos de producción, donde coexisten animales de diferentes procedencias, y tienen una permanencia mínima en los corrales con altas dotaciones.

Asociando factores que podrían indicar riesgo de introducción o de diseminación extra predial de cepas resistentes está el personal atendiendo los animales, las prácticas de cuarentena y mezcla de animales, la higiene y limpieza de las instalaciones, y la cercanía a otros tipos de explotaciones (Berge et al., 2010; Burow & Käsbohrer, 2017; Eguiguren & Rojas, 2018; Hille et al., 2018).

Considerando las rutas de diseminación ya citadas, en producción se enfatiza la importancia de la diseminación y contaminación ambiental vía efluentes, por el drenaje hacia fuentes de agua o su uso para el riego y fertilización de pasturas (Cameron & McAllister, 2016; Silbergeld et al., 2008). Massé et al. (2021) estudiaron en tambos muestras de terneros, vacas y piletas, y encontraron que el perfil de RAM encontrado en las piletas era más parecido al de las vacas que al de los terneros y lo justifican por el efecto dilución en cuanto a número de animales de cada categoría y efluente generado que aporta para esas piletas.

Existen certificaciones de predios que implican restricciones o condiciones sobre el uso de ATM como el Programa de Carne Natural Certificada, la certificación Never-Ever 3, carne orgánica y otras certificaciones particulares. Berge et al. (2010) usando un punto de corte epidemiológico (ECOFF) encontraron que los tambos de tipo convencional presentaron mayor multiresistencia (MDR) que los orgánicos (odds ratio (OR) 2.58), y atribuyen la

diferencia a una mayor presión de selección por el uso de ATM en los convencionales, teniendo efecto en el ambiente debido al uso histórico y reciente de los ATM.

En cuanto a las buenas prácticas en el uso de los ATM, interesa la población y específicamente la persona a cargo de la aplicación del ATM y de su elección y/o toma de decisión. Esta persona debería estar bien informada y capacitada en el tema, conocer los conceptos de carencia y resistencia antimicrobiana, controlar el vencimiento y conservación de los biológicos, y las buenas prácticas de aplicación y uso (MGAP, 2015).

Murphy et al. (2016) en una revisión sistemática evalúan factores no antimicrobianos (diferentes a uso o exposición a ATM) que puedan afectar la presentación de la RAM como ser: densidad animal, tamaño rodeo, dieta con riesgo de producir acidosis, dieta con silo o granos, o con cobre o zinc por encima de recomendación, higiene, y tipo de producción. Explican que la mayoría de las veces no hubo asociación estadísticamente significativa con RAM, y tampoco presentó siempre la misma dirección, por lo cual no consideran ninguno de estos factores o intervenciones para hacer una recomendación sin hacer un estudio más exhaustivo.

En cuanto a la suplementación de las dietas con metales pesados, otros autores plantean ejercen una presión de selección con potencial para promover los determinantes de RAM y ejemplo de esto son el cobre y el zinc en exceso que puede co-seleccionar para RAM (Cameron & McAllister, 2016; Jian et al., 2021).

Algunos estudios reportan efectos de la temperatura o la estación del año sobre la RAM, pero no siempre son consistentes en el tiempo (Burow & Käsbohrer, 2017; Massé et al., 2021).

Son múltiples los factores que pueden influir en la aparición de la resistencia, y además la falta de normas y fiscalización del uso lleva a un uso indebido y abusivo de las drogas, usándose como profiláctico y promotores de crecimiento. Además, influyen la falta de control al momento de la selección y del cumplimiento de la terapia antimicrobiana, venta sin prescripción y falta de control de calidad de las drogas.

Enmarcado en esta visión, se podría resumir el control de la RAM en los siguientes puntos clave (Bengtsson & Greko, 2014; OIE, 2016; Oudessa Kerro, 2020; WHO, 2017):

Prevención de infecciones: mejorando la bioseguridad, los programas sanitarios y estimulando el desarrollo de nuevas drogas, vacunas y otros recursos para el combate; mejora en el diagnóstico de las enfermedades y promoción de la vacunación como forma de prevención.

Mejora de la higiene y el manejo animal: con prescripción médica y agronómica bajo diagnóstico; mejora en cantidad y calidad de los servicios veterinarios;

implementación de medidas de bioseguridad a nivel de granjas y promoción de circuitos all-in all-out.

Optimización y promoción de un uso de ATM prudente y adecuado en todos los sectores: regulación de la normativa definiendo prohibiciones o restricciones de uso, condiciones de calidad y distribución; estandarización y armonización de protocolos.

Fortalecimiento y apoyo a la investigación: generación de conocimiento acerca de los principales factores de riesgo, genes involucrados, formas de emergencia y diseminación, para el desarrollo e innovación de nuevas alternativas y estrategias de intervención.

Apoyo en la vigilancia y monitoreo de la resistencia y del uso de ATM: la sistematización de registros, con armonización de protocolos y técnicas, serán la base para la generación de información para los tomadores de decisión en políticas públicas, permitirá evaluar estrategias definidas, medir el efecto de las intervenciones, hacer los análisis de riesgos y detectar emergencias de RAM.

Concientización: educación, promoción, entrenamiento y extensión acerca del consumo de ATM y la RAM. Debe abarcar desde el público general hasta los distribuidores y servicios de salud, de forma de crear una red de actores que co-construyan entorno a la concientización y la reducción de uso de los ATM.

1.3- Susceptibilidad a los ATM

El desarrollo de la resistencia ocurre y se propaga a velocidades alarmantes, velocidad mayor que el surgimiento de nuevas drogas, con reportes de bacterias patógenas multiresistentes donde pueden estar actuando diferentes mecanismos de resistencia a la vez. El incremento de la RAM obliga a los clínicos a solicitar no sólo la identificación del patógeno actuante, sino que también un test de susceptibilidad a los ATM para no fallar en el tratamiento (Tascini, Sozio, Viaggi, & Meini, 2016; Wernli et al., 2017).

Cada ATM se caracteriza por su espectro natural de actividad antibacteriana. Este espectro es la lista de especies bacterianas que en su estado salvaje (wild type) ven su crecimiento inhibido a una concentración conocida del ATM.

Según la finalidad para la cual realizó el testeo de sensibilidad, se pueden considerar los siguientes abordajes:

En la clínica: sirve para dirigir/corregir la terapia ATM empírica y predecir el éxito terapéutico en un paciente.

En epidemiología: la información sirve para generar bases de datos para la terapia empírica.

En Vigilancia: sirve para la detección de nuevos mecanismos de resistencia y de brotes; también para monitorear la emergencia y difusión de la RAM en la población.

Los métodos de testeo de susceptibilidad a los ATM son procedimientos in vitro que miden la sensibilidad de los microorganismos a los ATM, detectando la resistencia de los agentes aislados al antimicrobiano seleccionado basados en su habilidad de crecer en presencia del mismo. Son técnicas de laboratorio que están desarrolladas bajo métodos estandarizados, recomendaciones internacionales, y con procedimientos de control de calidad (Tascini et al., 2016).

Existen variados métodos para medir la susceptibilidad a los antimicrobianos (Darai & Sonntag, 2009), entre los que destacamos los métodos fenotípicos (difusión o dilución) y los genotípicos.

Los fenotípicos se clasifican en métodos de difusión y dilución, y se basan en los mecanismos de resistencia. Consisten en exponer un cultivo del microorganismo ante el ATM y observar el crecimiento bacteriano luego de su incubación.

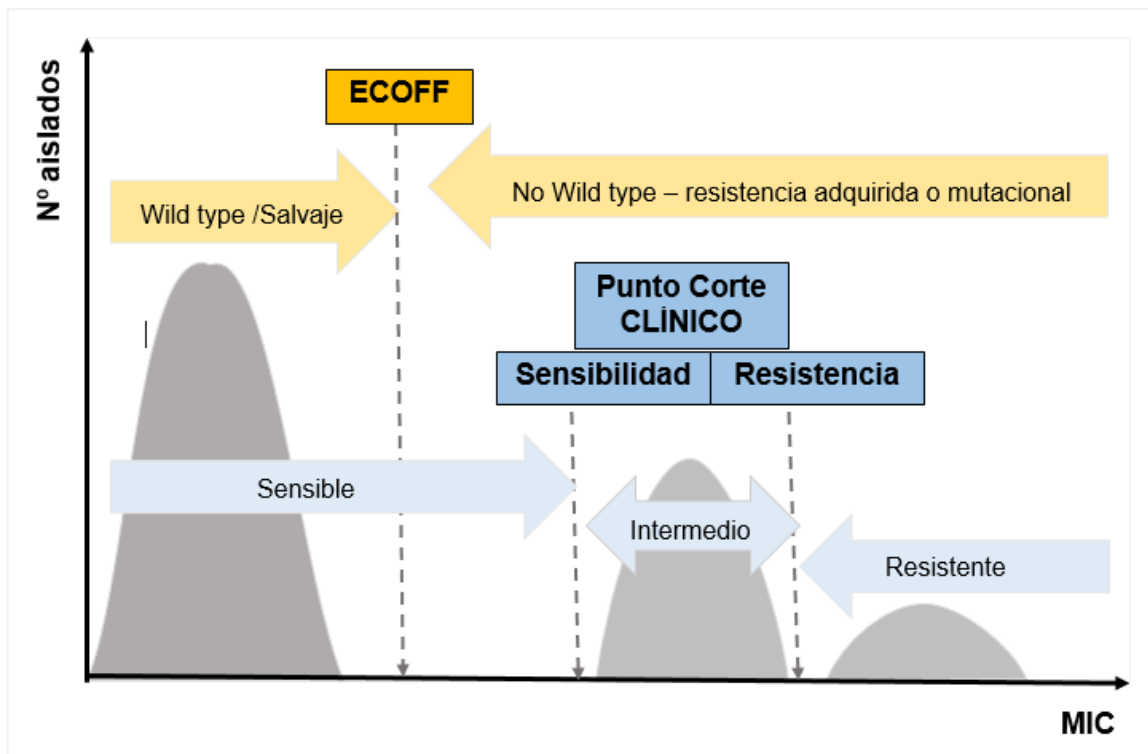
En los métodos de dilución (macro dilución en caldo y micro dilución) se inocula el microorganismo en caldos con concentración creciente de un ATM y se determina la MIC (concentración inhibitoria mínima) por turbidez, que es la concentración más baja del ATM a la cual se inhibe el crecimiento visible del microorganismo.

En los métodos de difusión se siembra el microorganismo en un medio agar y el ATM está impregnado en un disco (difusión en disco) o una tira (e-test). Luego de incubar, el ATM difunde en el agar y produce una inhibición en el crecimiento bacteriano, que se medirá como el halo de inhibición sobre el crecimiento de las colonias (Darai & Sonntag, 2009; Tascini et al., 2016).

Para interpretar los test diagnósticos estandarizados se establecen los puntos de corte que categorizan los resultados a modo interpretativo (Tascini et al., 2016). Las dos grandes fuentes de datos internacionales en el tema son EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) y CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), que regularmente actualizan la información. Para la elaboración de las tablas se basan en datos de múltiples fuentes internacionales de: MIC y su distribución, datos de resistencia y sus mecanismos, farmacocinética y farmacodinamia de los ATM y datos de éxito terapéutico.

En base a estos datos se elaboran entonces las tablas con los puntos de corte clínicos (PCC) de sensibilidad y resistencia; y puntos de corte epidemiológicos (ECOFF) para las diferentes bacterias y ATM (EUCAST, 2015, 2016). Las tablas tienen los puntos de corte en milímetros (para difusión en disco) y en concentración para métodos de dilución), existiendo en la mayoría de los casos concordancia entre ambos lo que permite establecer comparaciones.

Siguiendo el siguiente esquema de la figura 1, según cuál sea el objetivo de estudio se va a usar el punto de corte clínico o epidemiológico, e interpretar los resultados del test de sensibilidad.



ECOFF: Punto de corte epidemiológico.

Figura 1: Interpretación de la sensibilidad antimicrobiana según los diferentes puntos de corte. (Fuente: adaptado de Tascini, C. 2016)

Si se usa el PCC se categorizan los resultados fenotípicos en: sensible (MIC menor o igual, o diámetro mayor o igual al PCC de sensibilidad; resistente (MIC mayor o diámetro menor al PCC de resistencia); o intermedio (valores intermedios). Se habla de resistencia clínica cuando los aislados no son inhibidos por el ATM a las concentraciones logradas con las dosis normales y/o hay probablemente un mecanismo de resistencia presente que determina una baja probabilidad de suceso terapéutico.

Si se usa el ECOFF se categorizan los resultados en: salvaje o wild type (MIC es menor o igual al ECOFF); o no salvaje / resistencia epidemiológica (MIC es mayor al ECOFF). Hablamos de resistencia epidemiológica cuando los aislados son definidos como no-wild type (no salvaje) por la presencia (por expresión fenotípica) de algún mecanismo de resistencia al ATM (por mutación o adquirido); que podrán o no responder clínicamente al tratamiento ATM (EUCAST, 2019).

En los métodos genéticos se detecta la presencia o ausencia de un determinado gen que se sabe codifica para la resistencia a un ATM (diferenciar presencia de resistencia, dado que existen los factores de expresión génica) (Vignoli & Seija, 2006). Dentro de estos métodos destacamos la técnica de (PCR) reacción en cadena de la polimerasa y la secuenciación.

El MADIT-TOF (desorción/ionización láser asistida por una matriz con detección de masas por tiempo de vuelo) es una nueva técnica de espectrometría que se puede aplicar para identificar ciertas resistencias.

También se han desarrollado técnicas cromogénicas basadas en la detección de una actividad enzimática asociada a la presencia de determinada enzima en la bacteria (ej. para detección de ESBL (betalactamasas de espectro extendido) y carbapenemasas).

1.4- Vigilancia en resistencia antimicrobiana

Ante un aumento global de la incidencia y prevalencia de la RAM, se está adquiriendo conciencia acerca de la importancia de monitorear la emergencia y dispersión de resistencia en las poblaciones como un primer paso para su control.

Como ya mencionamos, en 2017 la OMS publicó una “guía para la vigilancia integrada de RAM en bacterias transmitidas por alimentos” (AGISAR, 2017) la aplicación es con el enfoque en una salud para asesorar a los países miembros a establecer y desarrollar programas de vigilancia integrada.

Orienta en la colección, validación, análisis y reporte de información microbiológica y epidemiológica en RAM en humanos, animales y alimentos de origen animal. Debe brindar información que pueda ser usada para estimar la prevalencia de RAM; identificar tendencias en el tiempo y región; describir la diseminación de cepas resistentes (R); evaluar la asociación entre el uso y la RAM, entre otros.

Se deben considerar los siguientes elementos:

Origen de las muestras: humano, animales de producción de alimentos y mercado. Dependiendo de los recursos de cada país y de la producción más importante para el consumo, se puede ir priorizando las especies a muestrear en el año. Se debe priorizar animales sanos. En función de la especie animal seleccionada se elige luego el lugar de toma de muestras (granja, frigorífico, puesto de venta) y estos a su vez van a definir el tipo de muestra a tomar (materia fecal, leche, hisopado cloacal, carne).

Bacterias blanco: Se seleccionan dependiendo de las prioridades en salud pública, las prácticas de uso de ATM y la estimación de la prevalencia. Lo ideal sería sobre bacterias patógenas y comensales. Las comensales son importantes porque sirven como microorganismos indicadores, se consideran un potencial peligro de RAM porque son reservorio de mecanismos de resistencia en las poblaciones animales que pueden ser transferidas a patógenos que transitan el tracto digestivo. Las patógenas más importantes son *Salmonella* y *Campylobacter* spp.; y dentro de las comensales *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Enterococcus* spp. *E. coli* como bacteria indicadora es representativa de las bacterias Gram negativas, se usa para monitorear determinantes de

resistencia por su facilidad en la adquisición de estos genes y por su elevada frecuencia de aislamientos e identificación en laboratorios de sanidad animal.

Diseño del muestreo: Definidos los sujetos a muestrear, se define qué información relevar (fecha, lugar, origen de muestra, tipo de muestra, especie, status clínico, uso de ATM, otra información), la estrategia de muestreo y el cálculo del tamaño muestral. Puede ser un muestreo activo o pasivo; con selección de individuos no probabilístico (de conveniencia, centinelas) o probabilístico (aleatoria, sistemática, estratificada). Cuando es probabilístico se pueden proyectar los resultados de la muestra hacia la población objetivo. En cuanto a la temporalidad lo ideal es que se haga sistemático sobre una base anual cubriendo las diferentes estaciones. En la fase productiva lo ideal es lo más próxima posible a la faena, que es cuando el consumidor tendrá más chances de quedar expuesto. Para determinar el número de muestras necesarias, se necesita saber la tasa de recupero de la bacteria (el inverso de la prevalencia de la bacteria), establecer la prevalencia de diseño (literatura o basarse en estudios anteriores), el nivel de precisión y el nivel de confianza deseado. En el caso de *E. coli* la tasa de recupero es de un 95 a 100% por lo que se debe aumentar poco el número de muestras para lograr la cantidad calculada de aislados a testear (EFSA, 2019a).

Metodología de laboratorio: cultivo y aislamiento; testeo de susceptibilidad ATM; selección de ATM; caracterización de los aislados. Se usan protocolos y técnicas armonizadas para permitir la comparación de los resultados en el tiempo y entre regiones diferentes (con sus limitaciones). Se debe diferenciar claramente cuando se usan medios selectivos para RAM que darán porcentajes de recuperación de bacterias bien diferente al medio no selectivo (ejemplo cuando se siembra en placas con ATM cefotaxima para forzar el crecimiento y selección de una colonia R en busca de algún mecanismo o gen de resistencia específico como ESBL). Si se realiza la interpretación de resultados usando el punto de corte epidemiológico se podrán hacer comparaciones entre especies. Los métodos de sensibilidad más usados son la difusión en disco y la micro dilución. Los ATM a seleccionar dependerán de la bacteria blanco y del propósito, se sugieren los ATM más adecuados para cada especie y bacteria en cuestión.

Manejo de datos, validación, análisis y reporte: se reporta a nivel de aislado, con información microbiológica y epidemiológica de la muestra.

En 2012 un grupo internacional de expertos en RAM proponen terminología estandarizada a nivel internacional para describir los perfiles de resistencia adquirida; mejora la comparabilidad de la información, su interpretación y comprensión en términos de vigilancia y de salud pública. Crean listas de categorías (clases, subclases o grupos de ATM) y ATM que consideran epidemiológicamente significativos para la vigilancia en RAM en las diferentes especies bacterianas basados en información disponible de CLSI, EUCAST, la FDA

(Food and Drug Administration) y la de los expertos convocados (Magiorakos et al., 2012). Sostienen que estas listas sirven de guía, y para que estas definiciones sean válidas, se deberán someter a testeos un número similar de ATM de los propuestos de cada categoría. Se debe prestar atención además a los diferentes perfiles de resistencia que puedan surgir y su significado cuando se usan para vigilancia.

En el reporte científico de European Food Safety Authority (EFSA) sobre especificaciones en el análisis y reporte de datos (EFSA b, 2012) revisan varios temas sobre vigilancia, y entre estos remarcan la importancia del reporte de datos a nivel de aislado porque luego permitirá evaluar los patrones de resistencia y con estos estudiar otros temas como la co-selección y factores de riesgo asociados.

En cuanto a la selección de ATM y concentraciones sugieren la elección de rangos de concentraciones que abarquen ambos puntos de corte (clínico y epidemiológico) para poder comparar y analizar tendencias entre humanos y animal, ambiente y demás. Teóricamente el ECOFF se mantiene independiente de la especie, origen geográfico y otras variaciones biológicas; además brinda una mayor sensibilidad que el PCC para la detección de resistencias adquiridas, lo que lo hace ideal para vigilancia.

En el reporte y análisis usualmente se categoriza el resultado en forma binaria perdiendo información, se debe mantener el dato del valor de MIC puntual, porque pequeños cambios son importantes para ver en ciertos casos cuando se dan pérdidas parciales de resistencia que generan subpoblaciones intermedias antes de llegar al PCC (como es el caso de la resistencia en fluoroquinolonas) y una detección temprana es importante desde un punto de vista de la salud pública.

La ocurrencia de RAM se puede definir como la proporción de aislados R sobre el total de aislados testeados para susceptibilidad antimicrobiana de un número representativo de aislados. Por otro lado, la prevalencia de una bacteria en una población animal o alimento es la proporción de unidades investigadas que dan positivo para la detección de esa bacteria. Por tanto, la prevalencia de bacterias R es la yuxtaposición de estas anteriores definiciones y se corresponde con la proporción de unidades que posean la bacteria R (EFSA b, 2012).

Si el diseño del muestreo para una bacteria comensal es probabilístico y el aislado proviene de una selección aleatoria de un medio no selectivo, si bien tendremos menor sensibilidad que sobre uno selectivo, es apropiado para la inferencia acerca del riesgo para el consumidor asumiendo la transferencia de los determinantes de resistencia a lo largo de la cadena alimenticia en una forma aleatoria (EFSA a, 2012).

En las actividades de vigilancia se puede muestrear en las diferentes etapas de la cadena alimenticia (establecimiento productor, frigorífico o en el mercado) pero cada una impacta diferentemente sobre el riesgo potencial al que se ve expuesto el consumidor final. Es por tanto importante los hallazgos de RAM en los animales desde un enfoque global, pero se debe interpretar correctamente el riesgo directo

al consumidor final, principalmente porque en el proceso de faena se realizan acciones específicas y bajo estrictos controles para mitigar cualquier posible escape de contaminación cruzada y son efectivas en minimizar el riesgo de pasar un gen de RAM a través de la cadena alimenticia (Cameron & McAllister, 2016).

1.5- Antecedentes de vigilancia y estudios epidemiológicos en el país

Como importante antecedente en la vigilancia de la RAM en Uruguay, en 2006 se realizó un estudio denominado "Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en el ganado para carne del Uruguay" (Fernandez, 2006) en *E. coli*. El objetivo fue identificar la presencia y estimar la prevalencia de resistencia, además de determinar el perfil de susceptibilidad a los ATM.

El estudio se llevó a cabo con abordaje nacional, sobre la categoría de novillos de engorde de más de 3 años de edad, en establecimientos bovinos de producción de carne bajo los tres principales sistemas de producción (engorde tradicional a pasto, lecherías y corrales de engorde).

Se realizó sobre materia fecal y el microorganismo seleccionado como indicador para determinar la RAM fue *E. coli*, siendo el análisis llevado a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Dirección de Laboratorios Veterinarios Miguel C. Rubino (DILAVE) por el método de difusión en disco y clasificado en 3 grupos: susceptible, intermedio y resistente.

Se analizaron 10 ATM, cuya selección se realizó en base a la opinión de expertos, los más utilizados en el país y la facilidad para desarrollar RAM. Se hizo el muestreo en 133 establecimientos, tomando 50 muestras en pool de a 5 animales en cada uno, resultando cerca de 1500 muestras analizadas.

Los niveles de resistencia encontrados se resumen en el cuadro I y fueron los esperados en una población con baja exposición a estos agentes.

Fueron 85 los aislados R a algún ATM. La sensibilidad a los ATM a nivel animal fue superior al 90% en el 90% de los fármacos estudiados, siendo el mayor porcentaje de resistencia de 8% en estreptomina. Un 3,9% presentó resistencia a un sólo ATM, y un 1,6% a más de un ATM.

Se caracterizaron los aislados R en 23 fenotipos diferentes. Las resistencias más frecuentes fueron para estreptomina (en el 47% de los aislados R), ampicilina (38%) y tetraciclina (32%).

La gran mayoría de los establecimientos no tuvieron presencia de cepas R.

Cuadro I: Resumen de resultados de sensibilidad antimicrobiana.

Antimicrobiano	Aislados	Resist. Aislados (%)	Resist. Establecim. (media) (%)			Resist. Establecim. (al menos uno) (%)
			corral	pastura	leche	
Ampicilina	1547	4	7.69	1.11	0.00	10.16
Amoxilina	1506	1				3.45
Ceftiofur	1578	0				1.48
Estreptomicina	1549	8	0.00	1.11	0.00	16.81
Gentamicina	1545	0				0.00
Sulphasoasola	1547	0				1.20
Trimetoprin/Sulph	1536	1				3.36
Ac.Nalidixico	1535	3				3.32
Tetraciclina	1545	4	15.38	0.00	0.00	9.13
Cloranfenicol	1538	2				2.28

Resistencia Establecimiento (media) (%): porcentaje de establecimientos categorizados como resistentes cuando se considera la media de los valores en milímetros de los animales del establecimiento con respecto al punto de corte para ese antimicrobiano

Resistencia Establecimiento (al menos uno) (%): porcentaje de establecimientos categorizados como resistentes cuando al menos un animal del establecimiento es resistente para ese antimicrobiano

Fuente: adaptado de (Fernandez, 2006)

Se categorizó al establecimiento como resistente (R) cuando la media de los valores de los animales del establecimiento estaba por debajo del punto de corte para ese ATM, sólo para tres ATM se identificaron establecimientos R (ampicilina, estreptomicina y tetraciclina).

Se categorizó al establecimiento como resistente cuando al menos un animal del establecimiento presentaba resistencia para el ATM, sólo para gentamicina no se identificaron establecimientos R.

Solo para la resistencia en tetraciclina se encontró asociación significativa con el tipo de producción, siendo mayor el porcentaje de resistencia observado en corrales.

El otro hito importante para el país lo constituye la aprobación del Plan Nacional de Contención de la Resistencia Antimicrobiana (PNCRA) en 2017 (MGAP, 2017). Este plan está diseñado bajo el marco del Plan de Acción Mundial de la OMS (WHO, 2017) con sus 5 objetivos estratégicos, también alineado con las normas y directrices establecidas por las organizaciones intergubernamentales como la Comisión del Codex Alimentarius, la FAO y la OIE.

El Plan Nacional fue diseñado como parte de una de las políticas públicas y bajo el concepto "Una Salud", con un enfoque interdisciplinario e interinstitucional. El objetivo general del Plan es prevenir: enfermedades, muertes causadas por infecciones producidas por microorganismos resistentes a los antimicrobianos y el desarrollo de nuevas resistencias.

Los objetivos específicos son: desarrollar una vigilancia bajo el concepto de "Una Salud" sobre la RAM y el uso coordinado de los antimicrobianos a nivel nacional; disminuir la aparición de bacterias resistentes y prevenir la propagación de infecciones resistentes; promover la investigación nacional en el diagnóstico, prevención y manejo de la RAM; generar conciencia y promover acciones para contrarrestar RAM; y comprometer a las instituciones relacionadas a dirigir los esfuerzos hacia una mayor capacidad de respuesta y restricción de RAM.

Como contribución al PNCRA se elaboró un proyecto de investigación multidisciplinario que es financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) a través del Fondo Sectorial Innovagro, titulado: "Estudio de la susceptibilidad a agentes antimicrobianos en los sistemas de producción primaria de carne bovina" (Fernandez, 2017), dentro del cual se enmarca el desarrollo de esta Maestría.

El proyecto tiene la intención de medir la evolución de las RAM en referencia a los antecedentes del 2006, con el fin de tener una visión actualizada del uso de ATM, el estado de la RAM en la producción ganadera para la producción de carne y el perfil de susceptibilidad a los agentes ATM.

Los cambios que el Uruguay ha tenido en los modelos tradicionales de producción ganadera desde el 2006 a la fecha seguramente repercutieron en los niveles de exposición a los antimicrobianos, y como consecuencia en la situación con respecto a la RAM. La RAM es un tema que probablemente se convertiría en una restricción para el acceso comercial, porque la información asociada con la política de salud, la vigilancia y la prevención es lo que cada vez más requieren los mercados. La información que se genere permitirá prever la aparición de riesgos potenciales y agregar valor a la cadena de la carne (Fernandez, 2017).

1.6- Aislamiento bacteriano en medios selectivos

Como ya mencionamos en la sección de vigilancia en RAM, al momento de diseñar un muestreo en el laboratorio se puede usar un medio selectivo en el aislamiento bacteriano. Generalmente el objetivo es la detección (presencia/ausencia) de ciertas resistencias por fenotipo que luego se podrán confirmar por algún otro método (secuenciación, PCR, otros) (EFSA, 2019b).

Consiste básicamente en diluir el ATM en el agar en una concentración superior al valor de ECOFF y los aislados recuperados luego son testeados para sensibilidad ATM al igual que en los protocolos sin ATM.

Destacamos un valor diferente de la información obtenida en este caso, estadísticamente es un muestreo sesgado ya que las bacterias susceptibles no tienen probabilidad de ser seleccionadas, ya que crecerán en el medio sólo las que superen la inhibición que supone al crecimiento el ATM del agar.

Cuando el objetivo del estudio es la detección de cierta característica, y la misma se ve favorecida por cierta condición; resulta más eficiente sesgar el muestreo hacia los individuos que cumplen con la condición para detectar la característica buscada. El objetivo que se busca con esta estrategia es incrementar la sensibilidad para la detección de R.

1.7- Otros antecedentes de resistencia antimicrobiana en *E. coli* en el país

En el Uruguay hay otros estudios de RAM en *E. coli* en bovinos que aportan al conocimiento del tema, pero por algunas características de su diseño (aislamiento sobre medios selectivos, o muestreos por conveniencia o muestras de animales enfermos), no permiten determinar prevalencias y observar tendencias.

Claramente con este sesgo, los resultados de RAM pueden no ser característicos de aislados de animales sanos, pero nos alertan de la presencia de determinantes de resistencia que están presentes y circulando en nuestro ecosistema.

Anteriormente ya comentamos la asociación entre la exposición de un animal al ATM y el aumento de la RAM; los antibióticos son según Oudessa (2020) de los usuarios de ATM más grandes incluyendo los de importancia en medicina humana (betalactámicos, amino glucósidos, macrólidos, y otros). Son frecuentemente utilizados en casos de: mastitis, metritis, retenciones de placenta, patologías podales, diarreas, neumonías y terapias del secado.

Un tratamiento parenteral o intra mamario tiene impacto significativo para otros comensales del tubo digestivo o del medio ambiente, aumenta la presión de selección en los microbios del tubo digestivo (como la *E. coli*) para volverse resistente. Se debe promover un uso prudente especialmente en los tambos ya que preocupa no solo la RAM, sino que también la inocuidad de los productos por los residuos del ATM en leche (la pasteurización reduce bastante la carga bacteriana pero no degrada completamente el residuo),

Monitorear los patrones de RAM de aislados de casos de mastitis y de muestras ambientales podrá contribuir en la toma de decisión para un tratamiento, además nos permitirá detectar la emergencia de resistencias con potencial riesgo de pasaje a una bacteria patógena, al ambiente o al hombre.

Considerando ahora a *E. coli* como patógeno en las mastitis, citamos otro trabajo (Giannechini et al., 2014) enmarcado en 53 establecimientos de la cuenca lechera sur del Uruguay donde estiman: la prevalencia de mastitis subclínica en un 54%, y la incidencia de mastitis clínica en 11,8 casos cada 100 vacas/año en riesgo. En ambos casos el patógeno más frecuentemente aislado en leche es el *Staphylococcus aureus* en un 27%; y la *E. coli* aparece en un 1,5% de los aislados solamente (de un total de 341). Hay un bajo porcentaje de aislamientos

medioambientales que estiman pueda explicarse por las condiciones de producción a pasto extensivas de nuestro país.

También el estudio tenía el objetivo de estudiar la RAM; destacan el alto porcentaje de aislamientos R a penicilina y reducida sensibilidad sobre otros ATM alternativos a la penicilina como los macrólidos y la amoxicilina con ácido clavulámico. Plantean que este uso de ATM pueda explicar el aumento de la resistencia de los enterococos (bacteria indicadora para los Gram positivos) a la penicilina y eritromicina con respecto al trabajo del año 2002 del mismo autor.

Destacamos un trabajo nacional bien reciente (Coppola et al., 2020) sobre resistencias transferibles de ATM de importancia crítica en medicina humana con el objetivo de detectar aislados de *E. coli* con resistencia a oximino-cefalosporinas, quinolonas y colistina. Las muestras de materia fecal fueron obtenidas de un muestreo por conveniencia de animales de producción, entre las cuales estudiaron 100 terneros provenientes de 5 establecimientos diferentes.

Se usaron medios selectivos con ciprofloxacima, ceftriaxona y colistina; la susceptibilidad a los ATM se hizo con difusión en discos usando 7 ATM y con interpretación según CLSI.

De las 100 muestras de terneros: en placa con colistina no hubo crecimiento; en placa con ceftriaxona sólo de 1 muestra hubo crecimiento; y de la placa con ciprofloxacima hubo 55 muestras con crecimiento. La mayor frecuencia de resistencia se encontró para las fluoroquinolonas, estando presentes en los 5 establecimientos y en un 55 % de los animales estudiados.

334 aislados de *E. coli* recuperaron, y de estos seleccionaron 73 con fenotipo o genotipo diferente. Un 30% de los genotipos recuperados estaba relacionado con genes de resistencia transferibles (valor en terneros fue menor que en cerdos y pollos). Presentan estos hallazgos de resistencias a ATM de importancia crítica en bacterias comensales como una alerta, pudiéndose considerar una zoonosis silente, por lo cual consideran los autores que el uso de estos ATM en veterinaria debiera limitarse drásticamente.

Destacamos otro trabajo nacional (Umpiérrez et al., 2017) cuyo objetivo fue la identificación de genes de virulencia, estudiar la diversidad genética y los mecanismos de RAM asociados con diarrea neonatal en terneros en el Uruguay. El muestreo se realizó sobre terneros (con sintomatología y sanos), y el análisis de susceptibilidad a los ATM se realizó con 14 ATM por el método de difusión en disco e interpretación por CLSI y Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing (VAST). Se planteó hacer un screening en placas con medios selectivos para detectar aislados con cierto grado de resistencia a fluoroquinolonas (usando ciprofloxacima en el medio) y oximino-cefalosporinas (usando cefotaxima), y los aislados que crecieron fueron testeados para susceptibilidad a los ATM con los discos. De 264

aislados de *E. coli*, crecieron en medio selectivo y fueron analizados 115 (112 aislados crecieron en medio selectivo con ciprofloxacina, 42,4%; 6 en cefotaxima, 2%; incluyendo 3 en ambos, 1%).

De los 115 testeados, 96 fueron R fluoroquinolonas (36%) y 6 fueron R a oximinocefalosporinas, con un 63% global de multiresistencia. Los autores también concluyen que hay una alta heterogeneidad genética entre los aislados (diferentes variantes dentro de un mismo establecimiento), lo que sumado a los resultados de RAM significan un riesgo potencial.

1.8- Estudios de prevalencia usando punto de corte clínico en otros países

Son citados reportes de otros países que fueron realizados a partir de muestras que fueran representativas del país o una zona, usando *E. coli* como bacteria indicadora en muestras de materia fecal de animales sanos, analizadas sin la utilización de métodos selectivos en el aislamiento e interpretando los resultados con un punto de corte clínico.

En una revisión sistemática prospectiva de estudios de RAM de cepas aisladas de animales de granja para consumo que tomó artículos originales del 2000 al 2012 (Cota-rubio et al., 2014), concluyen que hay un bajo número de estudios de prevalencia en estos años en animales asintomáticos (de 865 artículos finalmente analizan 10 y sólo 1 refería a bovinos).

En Estados Unidos cuentan con un sistema nacional de vigilancia de salud pública (NARMS) que monitorea sistemáticamente la RAM en humanos, animales para consumo y carne de éstos. En el reporte de 2015 (NARMS, 2015) la R en bovinos muestreados en frigoríficos con diseño proporcional al volumen de faena y usando interpretación CLSI (325 aislados de ganado lechero y 566 de carne) es la menor comparando con las otras especies (cerdos, pavos y gallinas), con un porcentaje de aislados sensibles a los 15 ATM testeados de 59% y una MDR de 17% en ganado de carne; destacándose los valores de R para tetraciclina de 39%; ampicilina de 6.5% y cloranfenicol de 6.4%. Para 2018 (NARMS, 2018) en ganado de carne se aisló casi el doble de muestras y los valores se mantuvieron muy parecidos con 62% de aislados sensibles y 14% de MDR.

Otro estudio muy interesante de Estados Unidos del año 2002 (Lundin et al., 2008) evaluó 1450 muestras de 97 tambos de 21 estados, se testearon 16 ATM e interpretaron por CLSI. Se muestrearon 15 vacas por tambo, y resultó un 85% de aislados sensibles que a nivel de establecimientos fueron de un 23%. En cuanto a las R individuales, fueron menores de 6.4% a excepción de tetraciclina, y los ATM R más frecuentes fueron tetraciclina, cefalotina, estreptomina y sulfametoxazol.

Un estudio de la región metropolitana de Chile en 2005 (San Martín et al., 2005) utilizó dilución en placa y comparó 2 grupos de 100 muestras cada uno: novillos de carne muestreados en frigorífico y vacas lecheras muestreadas en el establecimiento. Los resultados arrojaron en los establecimientos de carne: sensibilidad 89%, MDR <3%, 10% de aislados R a sulfa/trimetoprim y 4% a oxitetraciclina; en los establecimientos de leche cambia diametralmente a un 14% de sensibilidad y 46% de MDR, con 86% de los aislados R a oxitetraciclina, 54% R a enrofloxacin, ciprofloxacina y ceftiofur. Los autores plantean que esta diferencia según el sistema productivo se deba a las condiciones de manejo más intensivo, con confinamiento, mayor carga animal, y mayor edad promedio en los tambos que suponen una probabilidad mayor de exponerse a los ATM lo que presionaría a favor de la selección de la RAM.

Otro estudio, de Australia de 2013 (Barlow et al., 2015) se realizó en matadero en dos estaciones del año con ganado de carne (alimentados en base a pasturas o granos), de leche y terneros. De 800 aislados analizados para 17 ATM interpretados por CLSI, en ganado de carne (469 aislados) obtuvieron 92% de muestras pansensibles y 0% de MDR; las prevalencias de R de los ATM individualmente fueron menores del 5% a excepción de la tetraciclina que fue de un 6.4% (además fue significativamente mayor en los novillos alimentados con granos que a pasto) y no hubo R a quinolonas ni cefalosporinas. Los valores de R no mostraron diferencias entre estaciones y fueron en general menores para ganado lechero y terneros (muestras pansensibles en el 97% y 93% respectivamente) que, para ganado de carne, pero los autores no atribuyen esta diferencia a las prácticas específicas de producción de los diferentes sistemas productivos.

Finalmente citamos datos de Canadá, que cuenta con el CIPARS, un programa integrado de vigilancia en RAM que en la versión de 2018 dentro de la vigilancia en animales a nivel de granja se analizaron 119 aislados de feedlot (con más de 120 días de ocupación), en los cuales se testearon 14 ATM e interpretaron por CLSI. Los aislados pansensibles fueron de un 35%, los que presentaron solo 1 R fueron 34% y 2 o más R 30%; las R más frecuentes fueron 60% para tetraciclina, y 24% para estreptomycin (Government of Canada_CIPARS 2018, 2020).

Para completar la situación de Canadá presentamos el trabajo de Massé et al., (2021) que estudia la RAM en 101 tambos (muestra vacas en lactación, terneros y piletas) con 70% de aislados pansensibles, con menos de 3% de R a ATM de importancia crítica y con predominio de R a tetraciclina, sulfametoxazol y estreptomycin. Resistencias a nivel establecimientos fueron mayores que a nivel animal, y el número de R estuvo asociado con el tipo de muestra (en terneros mayor R que en vacas o piletas). MDR de 82%; R sin diferencias por estación.

1.9- Estudios de prevalencia usando punto de corte epidemiológico en otros países

Citamos ahora reportes de otros países con interpretación de los resultados con un punto de corte epidemiológico (ECOFF). Aquí están principalmente los muestreos que se realizan para vigilancia en RAM como ya se mencionó anteriormente.


En la Comunidad Europea existe una Directiva que plantea la implementación de una vigilancia armonizada integrada en RAM obligatoria para los Países Miembros desde 2014. Diversas publicaciones (EFSA, 2019a; EFSA a, 2012; EFSA b, 2012) detallan las especificaciones técnicas para esta actividad y publican anualmente los resultados con análisis de tendencia y clúster.

Consiste básicamente en un monitoreo de vigilancia activa que abarca el monitoreo y reporte de muestras en humanos, en animales para consumo de las especies más relevantes del país y de sus carnes en el mercado. La selección de las especies a monitorear cada año se hacía por especie y actualmente por tipo de producción. El muestreo es probabilístico con selección aleatoria de muestras con representatividad sobre la población y busca abarcar las diferentes estaciones del año.

A nivel de establecimiento se seleccionan animales sanos, tomando solo una muestra por unidad epidemiológica (grupo de animales de igual edad criados juntos bajo las mismas condiciones y expuestos a los mismos factores de riesgo). Las muestras son de materia fecal (tomadas en el establecimiento o en los frigoríficos) y el análisis fenotípico de sensibilidad a los ATM se hace sobre bacterias zoonóticas y comensales, con interpretación de resultados con punto de corte clínico en humanos y ECOFF en el resto de las muestras. Utilizan un primer panel con 14 ATM, y en caso de resultar R a cefotaxima, ceftazidima o meropenem usan un segundo panel para hacer la caracterización fenotípica de ESBL, AmpC y carbapenemasas.

En el reporte de 2017 que presenta datos de bovinos de los 28 estados miembros reportan 10 países que representan el 95% de las exportaciones y los resultados por país se pueden observar en el cuadro II.

Cuadro II: Reporte EFSA 2017 -Resistencia a los ATM (%)



EUSR on AMR in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food 2017

Table 33: Occurrence of resistance (%) to selected antimicrobials in indicator *Escherichia coli* from calves under 1 year of age, using harmonised ECOFFs, 10 EU MSs, 2017

Country	N	GEN	CHL	AMP	CTX	CAZ	MEM	TGC	NAL	CIP	AZM	COL	SMX	TMP	TET
Austria	181	0.6	6.1	8.8	1.1	0	0	0	2.8	3.9	0	0	17.7	7.2	24.3
Belgium	185	4.9	27.6	56.8	2.7	2.2	0	0	10.3	20	4.3	1.1	56.2	53.5	64.9
Croatia	85	1.2	5.9	14.1	0	0	0	0	7.1	8.2	0	0	31.8	8.2	31.8
Denmark	181	0.6	5.5	6.1	0.6	0.6	0	0	0	0	0	0	6.6	2.2	7.7
France	200	4	19	44	0	0	0	0	8	9.5	7	1	53	33	65.5
Germany	242	3.3	7.4	36	2.1	2.1	0	0	7	9.1	5	2.5	31	26.4	37.2
Italy	170	13.5	31.8	63.5	5.3	5.3	0	0	22.9	47.6	1.8	2.9	68.8	63.5	77.6
Netherlands	301	3.3	16.6	22.9	0	0	0	0	3	3.7	0	0	29.2	21.3	47.2
Portugal	181	1.7	4.4	9.9	3.3	3.3	0	0	3.3	3.3	0	0	13.3	7.7	23.2
Spain	167	5.4	16.8	21	1.2	1.2	0	0	5.4	6.6	0.6	0	39.5	17.4	52.7
Total (10 MSs)	1893	3.9	14.4	29	1.6	1.4	0	0	6.7	10.6	2	0.8	34.4	24.7	43.8
Norway	296	0.3	0.7	1.7	0.7	0.7	0	0	0	0	0	0	4.4	0	3.4
Switzerland	194	4.6	9.8	38.7	0	0	0	0	3.6	3.6	0	0	46.9	19.1	41.2

ECOFFs: epidemiological cut-off values; MSs: Member States; N: number of isolates tested; GEN: gentamicin; CHL: chloramphenicol; AMP: ampicillin; CTX: cefotaxime; CAZ: Ceftazidime; MEM: meropenem; TGC: tigecycline; NAL: nalidixic acid; CIP: ciprofloxacin; AZM: azithromycin; COL: colistin; SMX: sulfamethoxazole; TMP: trimethoprim; TET: tetracycline.

Fuente; EFSA, 2019b

La muestra para *E. coli* fue tomada en frigorífico, seleccionando sólo 1 ternero menor al año de edad por unidad epidemiológica según el diseño (faena anual de cada frigorífico) en las diferentes estaciones del año.

A partir de los 1893 aislados de bovinos concluyen que la ocurrencia de R es similar al anterior reporte de 2015 o un poco menor; y son menores que en cerdos. Globalmente, un 56.7% de los aislados fueron pansensibles; un 15.7% con 1 o 2 clases R, y un 27.3% (variación de 0.7 a 70.6% según país) MDR; los ATM que presentaron mayor R fueron las tetraciclinas, sulfametoxazole, ampicilina y trimetoprim. Tetraciclinas y sulfametoxazole estuvieron presentes en el 90.6% de los aislados MDR.

Un trabajo del oeste de los Estados Unidos de Berge et al., (2010) presenta resultados de susceptibilidad a los ATM usando el método de difusión en disco e interpretación ECOFF para 12 ATM. Analizaron 1736 muestras de materia fecal tomadas en 38 granjas (con 1 o 2 visitas), siendo los estratos: establecimientos de cría en ganado de carne (cerca y lejos de cuenca lechera) y de leche (tambos convencional y orgánico) (22 terneros y 10 vacas); recrias (32 terneros); corral (con 10 días alimentación y 16 con 30 días) (16 novillos).

Categorizan los resultados por número de ATM resistentes y MDR. Obtuvieron un 44% de aislados pansensibles y un 8% con resistencia a 1 ATM. La R más frecuente fue para las tetraciclinas en un 55% del total de aislados, y estaba asociado con R a estreptomocina y sulfas en el 41% del total de los aislados. Los tambos convencionales obtuvieron mayor MDR que los orgánicos. Las crías cerca de la cuenca lechera tuvieron mayor MDR que las lejanas. Los novillos con 30 días de alimentación a corral tuvieron mayor MDR que los de 10 días. Concluyen que la

MDR está influenciada por factores no directamente asociados al uso de ATM como ser la edad y tipo de producción.

Kaesbohrer et al., (2012) reporta datos de Alemania de 2009 a partir de un monitoreo sistemático que se realiza en las diferentes especies y cadenas productivas, usando 13 ATM y 170 muestras como objetivo. En mataderos (que se realiza cada 3 años en bovinos) se tomaron muestras de materia fecal de ternero de carne blanca y se analizaron 361 aislados.

Hubo en terneros R a ATM de uso frecuente en veterinaria (tetraciclinas, amino penicilinas y sulfonamidas). R a algún ATM fue de 73% y de más de 1 R fue de 69%. Los ATM con R más frecuentes fueron: tetraciclina (66%), sulfametoxazol (65%), ampicilina (59%), trimetoprim (56%) y estreptomycin (52%).

Finalmente referimos a los datos de Dinamarca (Agersø et al., 2012; Bager et al., 1999; Doyle, 2006; Risum, Hare, & Arendrup, 2020) y nos basamos en el DANMAP que es un programa de investigación y monitoreo integrado de RAM de Dinamarca que presenta la ocurrencia de R en animales, el hombre y los alimentos a través de un monitoreo en diferentes especies y bacterias usando el ECOFF.

En cuanto a las muestras de bovinos tomadas en frigoríficos que representan el 80% de la faena anual, en 1998 de 101 aislados obtuvieron 23% de R a sulfas, 12% a tetraciclinas, 3% para trimetoprim, 2% para ampicilinas y 0% para cloranfenicol; en 2019 estos porcentajes resultaron en 9, 12, 1, 6 y 6% respectivamente.

1.10- Estudios de caracterización de las explotaciones en el país

En el 2015 el MGAP realizó un estudio referido a enfermedades reproductivas y el mismo por su diseño permitió proyectar los resultados a la población. Los estratos comprendieron establecimientos dedicados a la ganadería de carne y producción de leche según tamaño del rodeo (624 establecimientos). Contaba con una encuesta para relevar características generales del predio, estrategias y características sanitarias, y estrategias y características reproductivas.

Del análisis de las encuestas resulta que el propietario como entrevistado estaba en un 57,8% en predios lecheros y en un 65,1% en predios ganaderos. La asistencia técnica veterinaria fue del 93,8% en los predios ganaderos y del 95,6% en los lecheros (Macchi, Fernandez, Gil, & Suanes, 2018; Suanes et al., 2021).

Otro trabajo, de Vidart, (2021) (comunicación personal, sin publicar), pero presentado en el marco de una capacitación en el marco del proyecto “Residuos de antibióticos en leche: impacto tecnológico en la elaboración de productos lácteos y soluciones para su mitigación”. Presentan resultados de 27 encuestas prediales en

lechería abarcando 11 departamentos y reportan que el porcentaje de registros de enfermedades es mayor en los estratos más grandes y generalmente es en formato electrónico.

Un 25% de los predios chicos separa el animal tratado con ATM y un 75% lo identifica; pero en los grandes estas cifras se van al 95 y 100% respectivamente; y en la gran mayoría de las veces es el tambero quién suministra los ATM.

CAPÍTULO 2- CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

Uruguay es un país proveedor de alimentos de alta calidad, con colocación en los destinos más exigentes del mundo, es el 8º país exportador de carne mundial y exporta el 70% de su producción. Las exportaciones equivalen a casi 17% de la producción mundial de carne vacuna, donde Uruguay da cuenta del 4% del mercado. La faena se ubica en torno a 2,37 millones de cabezas y muestra una tendencia creciente desde 2014 (OPYPA, 2018).

Con un excelente estatus sanitario de reconocimiento mundial se logra el acceso a los mercados, brindando respaldo a la inocuidad de los productos para hacer la diferencia en los mercados exigentes.

El sistema productivo nacional bovino es básicamente pastoril con 65% de campo natural y 12 millones de bovinos ocupando el 93% del territorio (DIEA, 2019). El 90% de los establecimientos tienen producción con base pastoril a campo; tienen baja densidad animal y menor frecuencia e intensidad de enfermedades infecciosas que requieren el uso de ATM, lo que implicaría menor presión en el desarrollo y difusión de la RAM.

La producción ganadera del Uruguay se ha diversificado y han aparecido sistemas más intensivos con densidades ganaderas mayores, incluyendo los engordes a corral (feedlot).

La faena de animales de corral representa el 13% de los animales faenados anualmente (OPYPA, 2018). Son animales de menor edad que están un mínimo de 100 días en los corrales, con alta dotación y muchas veces coexistiendo animales de diferentes procedencias en el mismo establecimiento.

La hipótesis de estudio que se plantea se basa en que estos cambios puedan determinar un mayor nivel de exposición a los agentes infecciosos y consecuentemente a los antimicrobianos para combatir dichos agentes, y por tanto estas transformaciones en los sistemas productivos posiblemente afecten los patrones de RAM en la producción ganadera del Uruguay. Además, siendo que estos cambios en los modelos de producción de carne vacuna sugieren un mayor uso de antimicrobianos y que el sector de producción animal utiliza el 80% del volumen de los ATM producidos, se plantea como una necesidad conocer la situación nacional actual en el tema.

El uso de los ATM en bovinos en Uruguay está restringido a fines terapéuticos, el uso como promotor del crecimiento prohibido. Se hacen básicamente tratamientos individuales, y en lechería es de uso corriente el uso profiláctico en el secado de ubre. Existen a nivel nacional otras regulaciones referentes a los ATM para promover un uso prudente y racional como prohibiciones de uso, exigencia de receta profesional para su venta, y la incorporación de los antimicrobianos en el Manual de Buenas Prácticas de uso de medicamentos Veterinarios del MGAP (MGAP, 2015).

La información que se genere en este proyecto no sólo agregará valor a la producción de carne vacuna dando un respaldo científico a la inocuidad, sino que también son indispensables para la vigilancia y monitoreo, siendo el punto de partida para analizar la evolución y dimensión del problema. Al utilizar protocolos armonizados estas estimaciones serán comparables con otras regiones y la evolución en el tiempo, permitirán evaluar estrategias y medir el impacto de las intervenciones.

Específicamente el análisis de la encuesta permite caracterizar los establecimientos productores de carne bovina, relacionar y categorizar los resultados de la RAM con las diferentes variables relevadas y finalmente identificar factores asociados a su presentación.

CAPÍTULO 3- OBJETIVOS

3.1- Objetivo general:

Caracterizar los diferentes sistemas productivos de la cadena cárnica del Uruguay en la etapa previa a la faena. Estimar la resistencia a los antimicrobianos e identificar factores asociados a la misma.

3.2- Objetivos específicos

- a) Caracterizar los diferentes predios productores de carne bovina del Uruguay en la etapa de terminación.
- b) Estimar la prevalencia de resistencia antimicrobiana en el ganado y los predios productores, estableciendo los patrones de sensibilidad fenotípica a los antimicrobianos, evaluando la multiresistencia y la evolución temporal de estos indicadores.
- c) Identificar factores asociados con la resistencia antimicrobiana que nos permitan conocer mejor su comportamiento en las condiciones productivas del Uruguay.

CAPÍTULO 4- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1- Diseño del muestreo

El estudio se realizó a partir de un muestreo transversal a nivel nacional; el diseño fue bietápico, seleccionando primero establecimientos de los diferentes modelos productivos en ganadería de carne, y luego animales de la categoría novillos en forma aleatoria simple.

Los establecimientos fueron estratificados considerando los diferentes sistemas productivos asumiendo que estos están asociados a usos diferenciales de los antimicrobianos, los estratos fueron: feedlot o engorde a corral intensivo (corral), engorde de la ganadería tradicional con base pastoril (ganadería) y engorde de novillos en establecimientos lecheros (lechería).

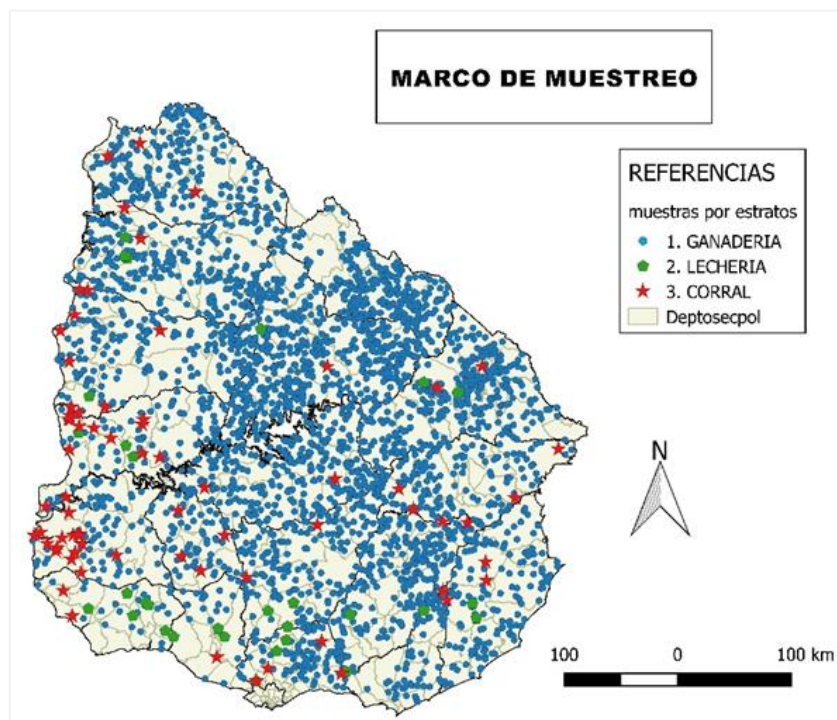


Figura 2: Distribución de los establecimientos del marco de muestreo por estratos

Como marco del muestreo se utilizó la base de datos de la declaración jurada anual de existencias en DICOSE (División de Contralor de Semovientes) de 2018. De los 40.561 establecimientos con bovinos, se excluyeron giros con fines diferentes a la producción ganadera y se tomaron en cuenta aquellos que tenían más de 30 novillos mayores o igual a los 3 años para pasturas y lechería, y mayores o igual a 1 año para feedlot. La distribución de los establecimientos por estratos se observa en la figura 2.

Como se puede observar en el cuadro III el universo incluyó 3.209 establecimientos, de los cuales 3.105 establecimientos son representativos de la explotación tradicional ganadera a pastura con 438.130 novillos; 31 predios dedicados a la lechería que tienen 2.632 novillos; y 73 establecimientos de engorde a corral con 75.056 novillos mayores de 1 año. Con esta selección se cubrió el 7.9% del total de los establecimientos con bovinos.

Cuadro III: Diseño del muestreo y su proyección

Estrato	Predios a seleccionar	Muestra	% (muestreado/marco)
Ganadería	3105	84	2.7
Lechería	31	12	38.7
Corral	73	24	32.9
Total	3209	120	3.7

Estrato	Novillos a seleccionar	Muestra	% (muestreado/marco)
Ganadería	438130	840	0.19
Lechería	2632	120	4.56
Corral	75056	240	0.32
Total	515818	1200	0.23

	Establecimientos	Bovinos totales	Novillos > 3 ganadería y lechería	Novillos corral	Novillos muestreo total
total país DJ 18	40561	11434564	478144	75127	553271
marco muestreo	3209	2676884	440762	75056	515818
% (marco/DJ)	7.9	23.4	92.2	99.9	93.2

Para el cálculo del tamaño de muestra se consideró: prevalencia estimada 5% (basado en el estudio nacional realizado en el 2006), error máximo 2%, intervalo de confianza del 95% y efecto del diseño de 2,5; resultando en 1.150 animales necesarios por lo que se tomaron 1.200 para cubrir algún inconveniente.

Se seleccionaron aleatoriamente un total de 120 establecimientos (tomando establecimientos de cada estrato y dando más peso a la lechería y los feedlot donde se supone mayor uso de ATM) de forma de cubrir todo el territorio nacional como se observa en la figura 3 y se muestrearon hasta 10 novillos dentro del establecimiento. Las muestras fueron individuales, de materia fecal tomadas de la ampolla rectal.

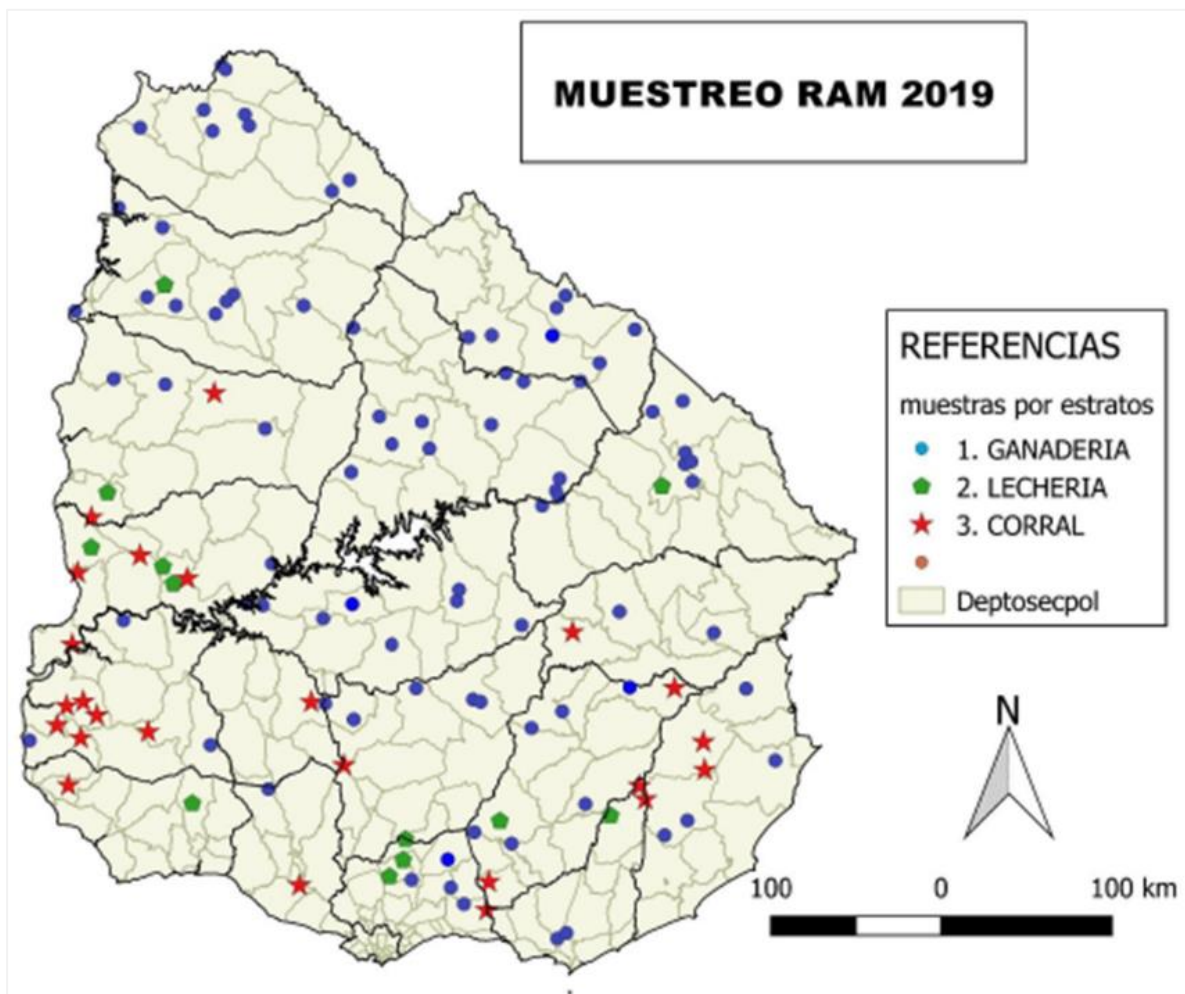


Figura 3: Mapa con la distribución por estratos de los predios seleccionados para el muestreo

Para controlar los efectos estacionales, se planificó muestrear 10 predios por mes (1 predio de lechería (12 establecimientos), 2 de feedlot (24 establecimientos) y 7 de pasturas (84 establecimientos)); y en base a esto se organizó un calendario de envío de muestras por semanas en coordinación con el laboratorio.

El muestreo se realizó según el manual establecido, por funcionarios oficiales debidamente capacitados del Servicio Veterinario del Departamento de Campo de la División Sanidad Animal del MGAP. Las muestras acondicionadas se enviaron refrigeradas al laboratorio dentro de las 24 horas de extraídas y fueron procesadas por parte del equipo del Departamento de Microbiología del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU).

4.2- Diseño de la encuesta predial

Se diseñó un formulario de encuesta predial por un equipo multidisciplinario con el fin de recabar información adicional que pudiera aportar al análisis de los resultados; el formulario fue validado por veterinarios oficiales responsables de la encuesta. La misma se hizo bajo la modalidad de entrevista personal en formato papel; posteriormente se ingresó a una planilla Excel® para su procesamiento.

La encuesta constó de 40 preguntas referidas a: datos generales del establecimiento, población ganadera, prácticas sanitarias, uso de ATM, alimentación, manejo y otros (ver anexo 1 con todos los formularios de campo para toma de muestras, formulario de encuesta predial e instructivo).

Al ser un muestreo que por su diseño es estadísticamente representativo del universo representado en el marco de muestreo nos permite proyectar los resultados a esta población objetivo que son novillos próximos a ser embarcados a faena (se tomó la referencia del estudio anterior del 2006) que son predios con un mínimo de 30 novillos igual o mayor de 3 años para ganadería y lechería, y se modificó para corrales con novillos igual o mayor de 1 año de edad (que es la característica actual de los mismos).

De los 3209 establecimientos definidos en el marco de muestreo se tomaron muestras de materia fecal y se realizó la encuesta predial a una selección de 120 predios cuya distribución se observó en la figura 3.

En el cuadro IV, a modo de resumen se agruparon las principales preguntas que se utilizaron para caracterizar los establecimientos en secciones basado en supuestos o hipótesis planteadas, o a riesgos observados en otros estudios.

Cuadro IV: Resumen de preguntas de la encuesta predial para la caracterización de los predios productores de carne bovina en Uruguay

SECCIÓN	PREGUNTAS	RIESGO / HIPÓTESIS
CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL PREDIO Y MANEJO	relación del entrevistado	confiabilidad información
	registros productivos y reproductivos	profesionalismo en el manejo del establecimiento
	persona al cuidado y manejo de los animales	diseminación extrapredial / introducción
	cuarentena ingresos; mezcla orígenes	
	limpieza e higiene del predio	
	establecimientos cercanos criadores de cerdos o aves; o a un corral, tambo o frigorífico	
	origen de la fuente de agua y manejo de efluentes	diseminación intrapredial
	tamaño rodeo, intensificación	
	invernada comparte pastoreo con tambo	
	razas principales de bovinos	susceptibilidad diferencial / confundente tipo producción
	asistencia técnica veterinaria	uso prudente drogas
ANTIMICROBIANOS	certificación predial	factores influyen en el grado y patrón de RAM
	ATM mas frecuentemente utilizados en el manejo general del establecimiento; uso de ionóforos; planilla sanitaria al día	
	buenas prácticas de uso de ATM (conoce concepto de carencia y RAM; revisa vencimientos; quién aplica los ATM; criterio de selección de ATM)	
	falla eficacia de ATM	
	lote muestreado con tratamiento ATM	
ALIMENTACIÓN	Dieta usual de animales en terminación y del lote muestreado	dieta afecta RAM
ENFERMEDADES	ponderación de principales enfermedades por importancia	relación con uso ATM

RAM: resistencia antimicrobiana; ATM: antimicrobianos

Para dimensionar y estimar el grado de intensificación de los establecimientos de la declaración jurada se tomó el dato de: hectáreas dedicadas a la ganadería, cantidad de bovinos y de novillos bajo estudio y calculó el indicador bovinos/hectárea y la distribución del total de bovinos y novillos.

Para el análisis de los ATM que declaran usar y los analizados en el test de susceptibilidad a los ATM, se categorizó según las clases de la OIE (OIE, 2015). Para ponderar según importancia en la salud humana se categorizó también según la referencia del criterio de importancia de la OMS (OMS, 2018) (OMS 1: Máxima prioridad de los de importancia crítica; OMS 2: Resto de ATM de importancia crítica; OMS 3: Muy importantes; OMS 4: Importantes). Cuando se categoriza por la

clasificación de OMS con la peor condición (PC), se toma como tal cuanto menor sea el número de OMS (siendo que OMS1 es la peor condición de todas).

En la entrevista se le solicitó al entrevistado que asignara el peso de la importancia en el predio de una serie de enfermedades ordenando del 1 al 7. Las enfermedades listadas fueron: digestivas, respiratorias, parasitarias, reproductivas, podales, de ubre, u otras. No se especificó si la importancia es desde el punto de vista económico, productivo, o de manejo, pero se obtuvieron valores mediante la ponderación de la asignación de valores a cada enfermedad (sobre un valor máximo de 28 puntos), y se ajustó cuando no se adjudicó valor a todas las enfermedades o cuando se repiten valores de importancia.

4.3- Análisis de laboratorio

A nivel de laboratorio, se trabajó sobre *E. coli* como bacteria indicadora, representativa de las enterobacterias de la microbiota intestinal (comensal). Los protocolos utilizados se basaron en los recomendados por la EFSA.

Se preenriqueció la muestra individual con agua peptonada buferada y luego se sembró en una placa de Agar Mac Conkey sin antibiótico. Se seleccionó una colonia al azar con el fenotipo típico de *E. coli*, se la cultivó en medio TSA (Trypteína Soya Agar) y se le realizó la prueba de Indol.

Finalmente, a partir del aislado se hizo el test de susceptibilidad a los antimicrobianos, para lo cual se utilizó un equipo automatizado autoSCAN-4 (MicroScan®). Este equipo devuelve el resultado expresado como una estimación de la Concentración Inhibitoria Mínima en mg/L para cada antimicrobiano presente en el panel seleccionado; además cuenta con un software que devuelve una interpretación cualitativa de los resultados y exporta los resultados en formato CSV.

El panel seleccionado “NEG MIC 44” (Microscan, 2019) tiene 33 ATM en diferentes concentraciones, y fue elegido contemplando el enfoque del proyecto en Una Salud, considerando: el listado crítico de OMS y de importancia de la OIE, la utilización de ATM en el país y la opinión de expertos.

La interpretación de los resultados de sensibilidad antimicrobiana (en valores de MIC) se hizo considerando los valores de puntos de corte clínico (PCC) y epidemiológico (ECOFF) de los estándares del EUCAST principalmente (EUCAST, 2015, 2016), según sea el análisis en cuestión. La clasificación y los valores de puntos de corte utilizados se muestran en el cuadro V.

Destacamos una consideración en la interpretación con PCC para tigeciclina, dado que el valor del PCC de sensibilidad tiene menor valor que el pocillo de menor concentración y por tanto la interpretación es indeterminada ya que puede ser tanto sensible como resistente, pero para este análisis lo asumimos como sensible.

Cuadro V: Clasificación y valores de punto de corte de los antimicrobianos

Abreviatura	Antimicrobiano	Código OMS imp. crítica	Clase según OIE	Categorías según expertos	PCC EUCAST para enterobacterias		ECOFF EUCAST para E.coli	Concentración ATM en placa	
					MIC S (\leq)	MIC R ($>$)	ECOFF ($>$)	Mínima	Máxima
Fos	Fosfomicina	2	Ac. Fosfónico	Ac fosfónico	32	32	4	≤ 32	> 64
Ak	Amicacina	2	Aminoglucósidos	Aminoglucósidos	8	16	8	≤ 8	> 32
Gm	Gentamicina	2	Aminoglucósidos	Aminoglucósidos	2	4	2	≤ 2	> 8
To	Tobramicina	2	Aminoglucósidos	Aminoglucósidos	2	4	4	≤ 2	> 8
C	Cloranfenicol	3	Anfenicol	Fenicoles	8	8	16	≤ 8	> 16
Cfx	Cefoxitin	3	Cefaloporinas 1-2	Cefamicina	SD {8}	SD {16}	8	≤ 8	> 16
Crn	Cefuroxima	3	Cefaloporinas 1-2	Cefaloporinas 1-2	8	8	8	≤ 4	> 16
Cf	Cefalotina	3	Cefaloporinas 1-2	SD	SD {8}	SD {16}	32	≤ 8	> 16
Cpe	Cefepima	1	Cefaloporinas 3-4	Cefaloporinas 3-4	1	4	0.125	≤ 1	> 16
Cft	Cefotaxima	1	Cefaloporinas 3-4	Cefaloporinas 3-4	1	2	0.25	≤ 1	> 32
Caz	Ceftazidima	1	Cefaloporinas 3-4	Cefaloporinas 3-4	1	4	0.5	≤ 1	> 16
CftCA	Cefotaxime/ Ac. Clavulámico	1	Cefaloporinas 3-4	SD	SD	SD	0.25	≤ 0.5	> 4
CazCA	Ceftazidime/ Ac. Clavulámico	1	Cefaloporinas 3-4	SD	SD	SD	0.5	≤ 0.25	> 2
Fd	Nitrofurantoin	4	Nitrofuranos	SD	64	64	64	≤ 32	> 64
Aug	Amoxicilina/ Ac. clavulámico	2	Penicilinas	penicilina+inhibidor r Blactamasa	8	8	SD {8}	$\leq 8/4$	$> 16/8$
Am	Ampicilina	2	Penicilinas	Penicilinas	8	8	8	≤ 8	> 16
AS	Ampicilina/ Sulbactam	2	Penicilinas	penicilina+inhibidor r Blactamasa	8	8	8	$\leq 8/4$	$> 16/8$
Azt	Aztreonam	2	Penicilinas	Monobactámico	1	4	0.25	≤ 1	> 16
Dor	Doripenem	2	Penicilinas	Carbapenemes	.- {1}	.- {4}	0.125	≤ 1	> 4
Etp	Ertapenem	2	Penicilinas	Carbapenemes	0.5	0.5	SD {0.06}	≤ 0.5	> 1
Imp	Imipenem	2	Penicilinas	Carbapenemes	2	4	0.5	≤ 1	> 8
Mer	Meropenem	2	Penicilinas	Carbapenemes	2	8	0.125	≤ 1	> 8
Pi	Piperacilina	2	Penicilinas	SD	8	16	8	≤ 8	> 64
PT	Piperacilina/ Tazobactam	2	Penicilinas	Penicilinas antipseudomona	8	16	8	≤ 8	> 64
Cl	Colistina	1	Polipéptido cíclico	Polimixina	2	2	2	≤ 2	> 4
Cp	Ciprofloxacina	1	Quinolonas	Fluoroquinolona	0.25	0.5	0.064	≤ 0.5	> 2
Lvx	Levofloxacina	1	Quinolonas	SD	0.5	1	0.25	≤ 1	> 4
NA	Acido Nalidixico	1	Quinolonas	SD	NA {16}	NA{16}	8 {16}	≤ 16	> 16
Nxn	Norfloxacina	1	Quinolonas	SD	0.5	1	0.25	≤ 0.5	> 1
TS	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	3	Sulfonamidas + diaminoprimidina	Inhibidor de síntesis de folatos	2	4	0.25	$\leq 2/38$	$> 4/76$
Min	Minociclina	3	Tetraciclinas	Tetraciclinas	.- {4}	.- {8}	4	≤ 4	> 8
Te	Tetraciclinas	3	Tetraciclinas	Tetraciclinas	.- {4}	.- {8}	8	≤ 4	> 8
Tgc	Tigecyclina	2	Glicicilina	Glicicilina	0.5	0.5	0.5 {1}	≤ 1	> 2

SD: sin datos; NA: no aplicable; -: test no recomendado; {valor}: valor usado para análisis
 ATM: antimicrobiano; PCC: punto corte clínico; ECOFF: punto de corte epidemiológico
 EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; MIC S (\leq): concentración
 inhibitoria mínima para categorizar aislado sensible si es menor o igual al valor de la columna; MIC
 R ($>$): concentración inhibitoria mínima para categorizar aislado resistente si es mayor al valor de la
 columna.

Variando los ATM y los puntos de corte considerados se realizaron diversas interpretaciones de resultados según los objetivos en cada caso y/o para establecer comparaciones con datos de referencia.

Como se describió en el capítulo 1, un grupo de expertos propone terminología estandarizada para describir los perfiles de resistencia adquirida y crean listas de

categorías (clases, subclases o grupos de ATM) y ATM que consideran epidemiológicamente significativos para la vigilancia en RAM en las diferentes especies bacterianas basados en criterios de inclusión y exclusión, información disponible de CLSI, EUCAST, la FDA y la de los expertos convocados. Tomamos esta referencia de base (Magiorakos et al., 2012) para hacer el análisis de los resultados usando el punto de corte clínico, considerando las categorías y ATM propuestos y la definición de MDR.

Tomamos de estos autores la definición de multiresistencia (MDR) cuando es R a al menos un ATM de 3 o más clases / categorías de ATM diferentes de consideración para la especie bacteriana en cuestión (EFSA, 2019b; EFSA b, 2012; Magiorakos et al., 2012), y pansensible (PS) cuando no presenta resistencia a ninguna clase de ATM. Se prestará especial atención a los patrones que involucren ATM de importancia crítica como las cefalosporinas y fluoroquinolonas.

En cuanto a la clasificación del establecimiento en relación al resultado de los animales que lo integran, va a variar en función del análisis y de su objetivo, y en algunos casos será para hacerlo comparable con definiciones de otros estudios de referencia. En cada caso se irá definiendo su clasificación, pero en general se tomó como establecimiento R: para cierto ATM o categoría de ATM cuando al menos un animal (AUA) resultó R; o en clasificaciones que agrupa diferentes categorías se toma la peor condición (PC) cuando cuenta con resistencia en al menos un animal con la peor / más relevante categoría. Otras menos usadas son: establecimiento con más de un determinado porcentaje de animales con cierta condición, o la media de los valores de los animales comparada con el valor de referencia.

Se clasificó cada animal según lo anterior en función del número de diferentes categorías de resistencias que presentó fenotípicamente (ver categorización cuadro V) en: pansensible (100% sensibilidad); una categoría de resistencia; dos categorías; o tres o más categorías (MDR). Luego clasificamos a los establecimientos de la misma forma cuando al menos un animal del predio presentó esa condición, y además se tomó la peor condición por establecimiento y la proporción de animales dentro de cada establecimiento con esa condición.

Para realizar el análisis comparativo con EFSA utilizando ECOFF se consideró solamente un animal por establecimiento.

Los controles de calidad con patógenos estándares se realizaron periódicamente con resultados satisfactorios.

4.4- Análisis estadístico

Los datos de sensibilidad ATM y de la encuesta predial se exportaron al software STATA 15® para su inicial depuración, validación y corrección. Se agregan datos de las declaraciones juradas de DICOSE para la caracterización de los predios.

Para el análisis de la encuesta y para estimar las prevalencias en función del diseño del muestreo se utilizaron las rutinas de muestreos complejos del software STATA 15®, para lo cual se ponderó en función de la probabilidad de ser seleccionada cada unidad muestreada en cada estrato y etapa del muestreo (el diseño permite estimar los resultados proyectados a la población objetivo). Los resultados fueron estimados con niveles de confianza del 95%.

Se generaron distribuciones y estadísticas descriptivas para cada variable, y se tomó un nivel de significación menor al 5% ($p < 0.05$) para tomar decisiones en las pruebas de hipótesis.

Al momento de evaluar la prevalencia de resistencias de los ATM a nivel de animales y establecimientos en relación a otros factores (estrato, prácticas de manejo, otras) se realizaron análisis univariados usando Chi^2 .

Para el análisis a nivel de establecimientos, en la dicotomización de resultados se hicieron diferentes consideraciones para definir un establecimiento positivo (al menos una muestra del establecimiento cumple con la condición para la característica en estudio, la peor condición posible, o considerar la media de los valores del establecimiento).

Para la caracterización de los predios y la identificación de factores asociados con la presentación de RAM se realizaron análisis de regresión logística univariados para luego incluir dichas variables en un modelo de análisis multivariado.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética en el Uso de Animales (CEUA-DILAVE) de los Servicios Ganaderos del MGAP.

CAPÍTULO 5 - RESULTADOS

5.1 - CARACTERIZACIÓN DE LOS PREDIOS PRODUCTORES DE CARNE BOVINA DEL URUGUAY EN LA ETAPA DE TERMINACION.

Como ya se mencionó para caracterizar estos establecimientos se utilizó la encuesta de predio realizada al momento de la visita al mismo y datos complementarios tomados de la declaración jurada de DICOSE.

En el cuadro VI se puede observar la distribución de predios por estratos en el marco de muestreo y en la muestra seleccionada. El peso diferencial en la adjudicación de predios a los estratos de lechería y corral de engorde se puede observar claramente, donde el estrato ganadería representa en el marco de muestreo el 97% de los predios y en la muestra representa el 70%. Esta asignación permite tener mejores estimaciones de los errores en estratos pequeños que si las muestras fueran proporcionales a sus tamaños.

Cuadro VI: Establecimientos muestreados y marco de muestreo

estrato	establecimientos			animales	
	marco muestreo	(% proyectado)	muestreados	marco muestreo	(% proyectado)
Ganadería	3105	96.76	84	438130	84.9
Lechería	31	0.97	12	2632	0.5
Corral	73	2.27	24	75056	14.6
total	3209	100	120	515818	100

Características generales del predio y manejo:

Los entrevistados en la encuesta fueron las personas a cargo del establecimiento que en el $43.3 \pm 5.2\%$ fueron los propietarios, siendo esta condición menos frecuente en los corrales ($p < 0.05$), donde aparecen más los veterinarios aportando los datos (figura 4).

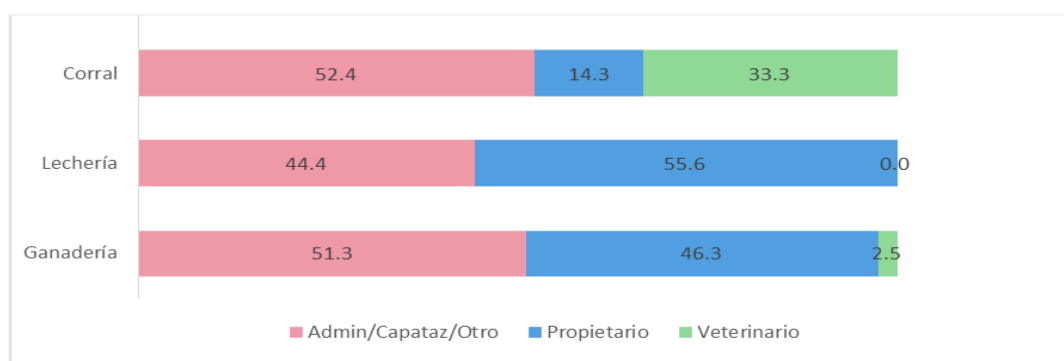


Figura 4: Relación del entrevistado por estrato en porcentaje

Un $60.8 \pm 5.2\%$ de los predios llevan registros productivos/reproductivos, y el $46.8 \pm 6.7\%$ es en computadora, habiendo diferencias entre estratos ($p < 0.05$) y siendo estos porcentajes menores en ganadería y lechería que en corral como se ve en la figura 5.

Estos resultados no resultaron asociados al nivel de intensificación del predio (NS) pero si al tamaño (en función del número de bovinos total clasificado en terciles), siendo mayor el porcentaje de predios con registros a medida que aumenta el tamaño ($p < 0.05$).

En el $57.4 \pm 5.2\%$ de los establecimientos se realiza el cuidado y manejo de los animales por el productor, y en el $5.7 \pm 2.2\%$ por el veterinario. Hay distribución diferencial por estratos según la figura 6 ($p < 0.05$).

La práctica de cuarentena (de hasta 15 días o mayor tiempo) es realizada por el $34.3 \pm 5.1\%$ de los establecimientos (sin diferencias entre estratos (SDE); y mantienen separados los animales de diferentes orígenes un $47.7 \pm 5.4\%$ de los establecimientos.

La higiene y limpieza de las instalaciones en un $10.6 \pm 3.4\%$ se la calificó de regular y en el resto como buena (SDE).

Un $4.9 \pm 2.2\%$ de los establecimientos tienen predios criadores de cerdos o aves a menos de 1km de distancia (SDE), y un $22.6 \pm 4.3\%$ de predios tiene un frigorífico, tambo o corral dentro del radio de los 5 km, siendo menor este porcentaje en la ganadería que en corral de engorde y lechería ($p < 0.05$).

En cuanto al uso del agua y manejo de efluentes, tuvo una distribución diferencial por estratos ($p < 0.05$), siendo más frecuente el uso de pozos y represas, y el manejo de efluentes (estercolero, piletas o riego con los mismos) en lechería y corrales con los porcentajes que se observan en la figura 7.

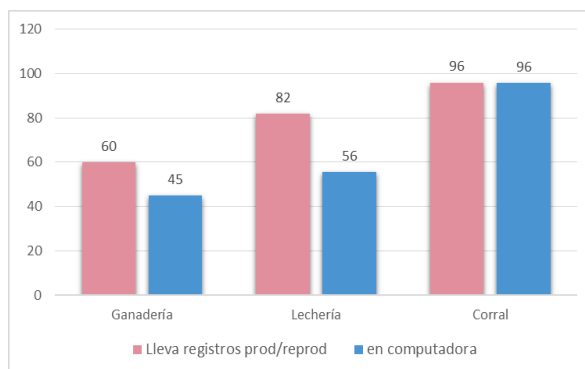


Figura 5: Registros productivos/reproductivos por estrato (%)

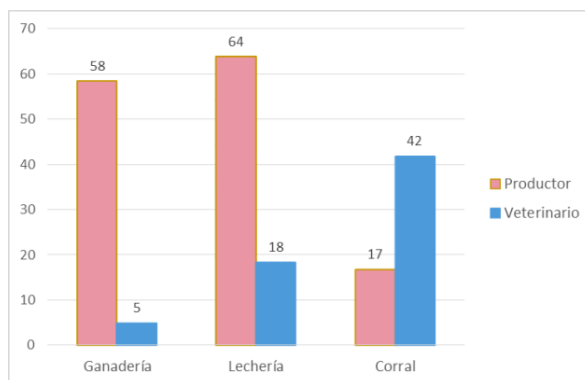


Figura 6: Persona al cuidado de los animales por estrato (%)

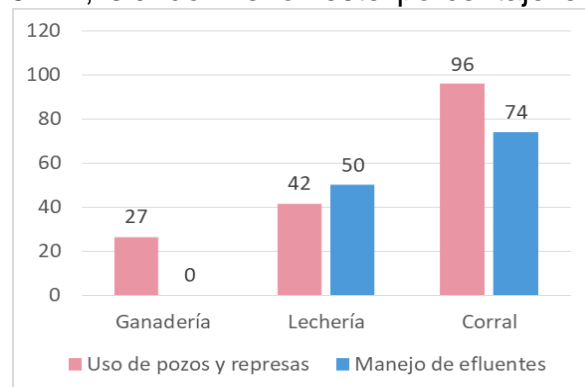


Figura 7: Fuente de agua y efluentes por estrato (%)

En cuanto al manejo de los animales de engorde (invernada) con respecto a los animales del tambo, resultó que en el $20 \pm 10.9\%$ de los predios lecheros los novillos comparten pastoreo con vacas secas o en ordeño.

Las razas prioritarias de los novillos en los establecimientos (tienen al menos 30 novillos) abarcan principalmente Hereford, Aberdeen Angus y cruzas para los tipos carniceros; y Holstein para los lecheros.

El 98% de estos predios tienen novillos de razas tipo carniceras, con diferencias según estrato

($p < 0.05$, figura 8), este porcentaje está sesgado por los corrales y predios ganaderos con novillos de razas de carne. Por otra parte, en el 64% de los predios lecheros predominan los novillos de raza lechera, pero en el resto, en una mitad predominan novillos de carne y en otros de carne y leche en igual proporción.

Para dimensionar y estimar el grado de intensificación de los establecimientos se estudió la distribución de los valores por estratos del total de bovinos, total de novillos y bovinos/hectárea ganadera (figura 9 y 10 y cuadro VII). Se observó que hay una gran dispersión en los valores de total de bovinos, pero no es tan amplia para la cantidad de novillos bajo estudio a excepción de los corrales, donde se correlacionan mejor la dotación total con la de novillos.

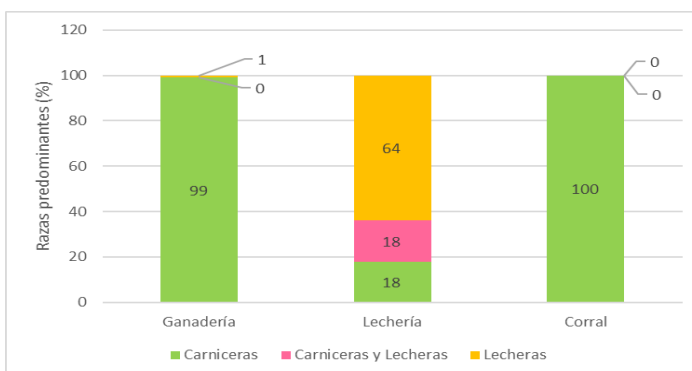


Figura 8: Razas predominantes por estratos (%)

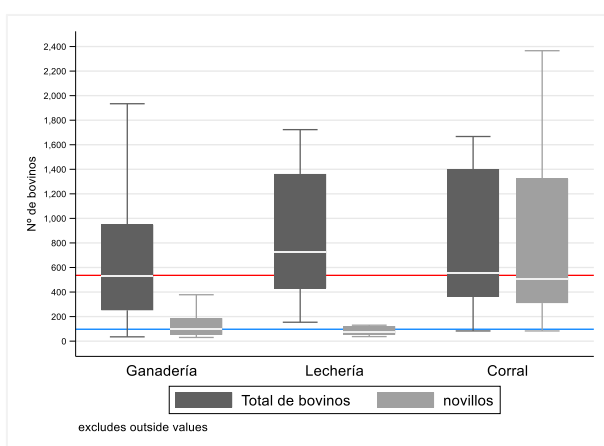


Figura 9: Dotación ganadera por estratos

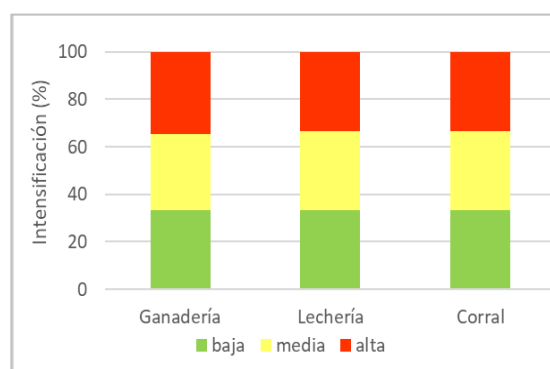


Figura 10: Intensificación ganadera (%)

En el gráfico de la figura 9 la línea roja horizontal representa el valor de la mediana global (sin considerar estratos) del total de bovinos (536), y la azul de la mediana global de los novillos (97).

Los bovinos/hectárea ganadera son mucho mayor en corrales (77 bov/ha) que en el resto (menor de 1.3). Los bovinos/hectárea estratificados se muestran en la figura 10 y aquí se ve claramente la igual proporción entre estratos. Otra consideración debe hacerse en cuanto a la carga instantánea, que pudiendo ser similar en lecherías y corrales tiene carácter permanente en los últimos.

Cuadro VII: Dotación y bovinos/hectárea

		Global	Ganadería	Lechería	Corral
Total de bovinos	Percentil 25	254	252	431	363
	Mediana	536	532	726	556
	Percentil 75	954	949	1362	1402
	Media	870	853	865	1589
	DS media	130	134	123	419
Novillos	Percentil 25	53	52	53	310
	Mediana	97	97	76	506
	Percentil 75	189	187	123	1322
	Media	179	156	108	1169
	DS media	18	18	20	263
bov/ha	Percentil 25	0.583	0.579	1.028	33.729
	Mediana	0.788	0.776	1.282	77.350
	Percentil 75	1.181	1.175	1.805	117.472
	Media	2.980	0.988	1.716	88.330
	DS media	0.295	0.076	0.304	12.584

Globalmente un 87.2 ± 3.6 % de los predios cuentan con asistencia técnica veterinaria, pero esto está sesgado por las diferencias entre estratos, ya que todos los corrales y lecherías tienen asistencia, y ese 13% que no tiene lo representa solamente el estrato ganadero. Cuando se categoriza la asistencia en permanente o puntual, es mucho menor la proporción de los que cuentan con asistencia permanente en los predios ganaderos (20%) que en los otros estratos (>58%) ($p < 0.05$) (Figura 11).

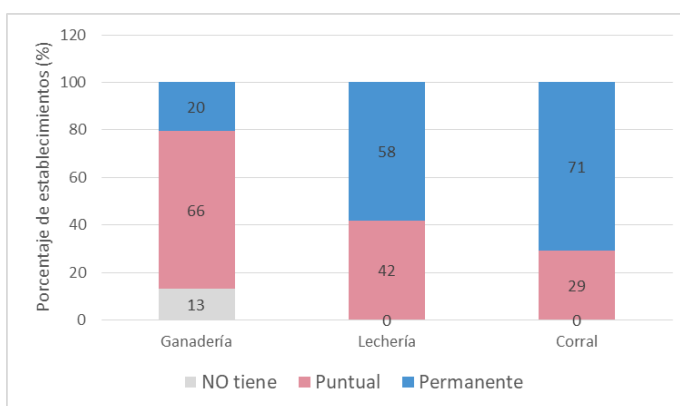


Figura 11: Asistencia técnica veterinaria

Uso de Antimicrobianos:

El 20.7 ± 4.6 % de los establecimientos tienen algún tipo de certificación predial, siendo mayor la frecuencia en los corrales (45%), que en lechería (25%) y ganadería (20%) ($p < 0.05$) (Figura 12).

Los ATM que declararon usar de rutina en el predio categorizados según el criterio de importancia de la OMS se pueden observar en el cuadro VIII.

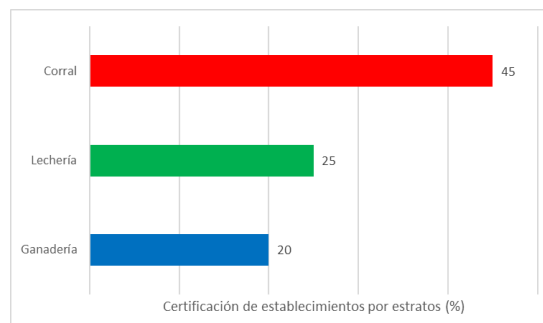


Figura 12: Certificación de establecimientos por estratos

Cuadro VIII: Categorización de antimicrobianos según importancia de la OMS

uso de ATMag según clasif. OMS		Clases de ATM declarados
OMS 1	Máxima prioridad de los de importancia crítica	macrólidos; cefalosporinas; quinolonas
OMS 2	Resto de ATM de importancia crítica	penicilinas; rifamicina; aminoglucósido / penicilina; aminoglucósido / lincosamida
OMS 3	Muy importantes	trimetoprim/sulfa; tetraciclina; lincosamida
OMS 4	Importantes	sin declarar

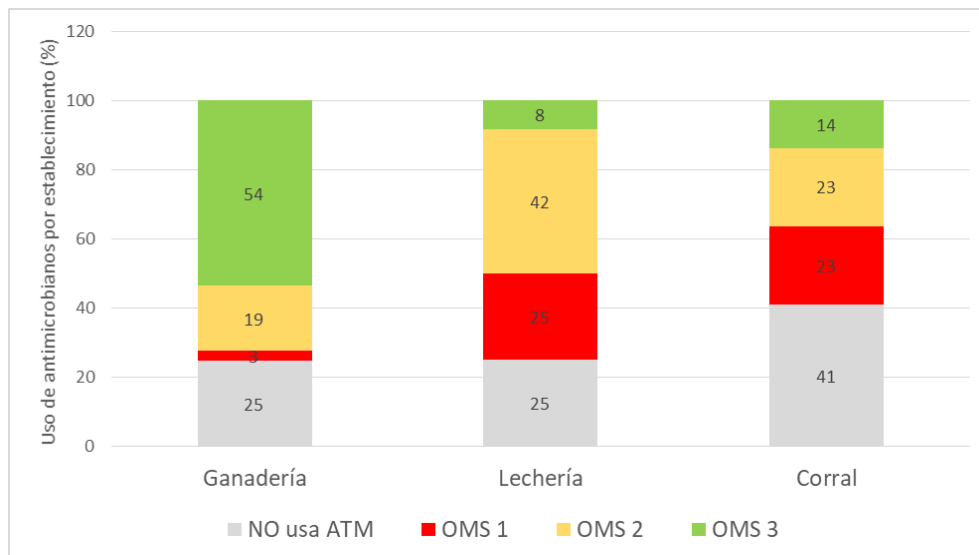
En el cuadro IX, vemos la proporción de establecimientos que declaran el uso de ATM para cada clase (14% no contestó la pregunta) según la categorización de la OIE (pudiendo ser más de un ATM o en formulaciones combinadas).

El $74.9 \pm 4.9\%$ de los establecimientos declara usar de rutina algún ATM de la lista de la OMS, y la clase más usada son las tetraciclinas con una proporción del $87 \pm 4.3\%$ y le siguen los aminoglucósidos combinados con penicilina con $24 \pm 5.7\%$, y los macrólidos con un $4 \pm 2.6\%$. Se observan diferencias según estrato para estas clases más reportadas siendo las tetraciclinas más usadas en ganadería y las otras dos más usadas en lechería y corral.

Cuadro IX: Declaración de uso de antimicrobianos (% sobre los establecimientos que declaran algún ATM)

Clase de antimicrobiano según clasificación OIE	Clasificación según importancia de OMS	Establecimientos que declaran usar la clase de antimicrobiano de rutina (%)		Porcentaje por estrato		
		porcentaje	Error estándar	Ganadería	Lechería	Corral
Tetraciclinas	3	87.43	4.3	88.46	44.44	64.29
Aminoglucósido/penicilina	2/2	24.60	5.7	23.08	77.78	64.29
Macrólido	1	4.46	2.6	3.85	11.11	28.57
Sulfonamida/diaminopirimidina	3	0.70	0.2	1.92	0	0
Penicilina	2	0.41	0.2	1.92	0	0
Cefalosporina de 3 ^o -4 ^o generación	1	0.31	0.2	33.33	14.29	0
Rifampicina	2	1.86	1.8	0	22.22	7.14
Ionóforos		0.13	0.1	0	0	14.29
Quinolona	1	0.13	0.1	0	11.11	0
Aminoglucósido/lincosamida	2/3	0.13	0.1	0	11.11	0
Lincosamida	3	1.86	1.8	0	11.11	0

Si los establecimientos se categorizan con la peor clasificación de OMS (considerando peor cuanto más grave sea) según los ATM que declara usar de rutina: un $25 \pm 4.9\%$ no usa ATM; $52.1 \pm 5.8\%$ usa OMS3; $19.2 \pm 4.5\%$ usa OMS2; y un $3.6 \pm 1.9\%$ usa OMS1 con diferencias entre estratos ($p < 0.05$) que se observan en la figura 13.



OMS 1: Máxima prioridad de los de importancia crítica; OMS 2: Resto de ATM de importancia crítica; OMS 3: Muy importantes; OMS 4: Importantes

Figura 13: Declaración de uso de antimicrobianos (peor condición) según criterios de importancia de la OMS (%)

El uso de ionóforos (monensina / bolos) en la encuesta fue reportado para el $37.5 \pm 8.3\%$ de los corrales y el $4.9 \pm 2.4\%$ de los ganaderos ($p < 0.05$), pero dentro de la declaración de ATM de rutina fue reportado en un 14% de los corrales.

El $90.0 \pm 3.2\%$ de los predios llevan al día la planilla sanitaria del establecimiento (SDE). Más del $56.4 \pm 5.4\%$ de los establecimientos registran el uso de ATM, siendo mayor en lechería y corral que en ganadería ($p < 0.05$).

El $30.7 \pm 4.9\%$ de los entrevistados desconocía el concepto de RAM; y un $3.4 \pm 1.9\%$ el de tiempo de espera o carencia de un producto (SDE).

Un $95.4 \pm 2.2\%$ de los predios revisa los vencimientos de los medicamentos (SDE).

El criterio para la selección del ATM a usar es técnico (veterinario) en un $79.6 \pm 4.4\%$ de los predios (SDE).

La aplicación del ATM donde se involucra al veterinario es de un $12.4 \pm 3.5\%$, siendo mayor en Corrales (45%) que en Lechería (25%) y Ganadería (11%). Además, este porcentaje se incrementa al aumentar el tamaño del rodeo ($p < 0.05$).

En un $3.8 \pm 2.0\%$ de los predios se detectó fallas en los ATM aplicados (SDE). En la encuesta fueron 5 predios y se reportaron tres diferentes drogas comerciales.

Algún animal muestreado en los 3 estratos recibió ATM y esto representa el $7.3 \pm 2.7\%$ de los establecimientos (SDE). En la encuesta fueron 9 predios y las clases de ATM suministradas fueron aminoglucósido/penicilina, tetraciclina o ionóforos.

Alimentación- Dieta usual de animales en terminación y dieta del lote muestreado:

Excluyendo a los corrales, que usan dieta totalmente mezclada (ingredientes varían mucho en función de la disposición y oferta en el mercado y resulta muy difícil categorizar cada ingrediente de la dieta), se analizó la composición de la alimentación usual de los novillos en terminación y se la comparó con la del lote muestreado en ganadería y lechería solamente.

Analizando por separado pasturas (campo natural, verdes, praderas) de silo y/o fardo, un 96% usa pasturas, un 1.3% utiliza solo silo/fardo y un 2.4% utiliza ambos (SDE).

Un $8.3 \pm 2.9\%$ de los ganaderos y 33.3 ± 11.1 de los lecheros usan ración (considerando como tal ración comprada o de elaboración propia que incluyen granos, afrechillo, y silo principalmente) ($p < 0.05$).

$21.5 \pm 4.4\%$ de los establecimientos usa suplemento mineral (SDE).

Para establecer comparación entre la dieta habitual y la actual de los novillos en terminación, se categorizó la dieta en función de usar ración y/o suplemento; y el $26.2 \pm 4.7\%$ de los ganaderos y el $50.0 \pm 11.8\%$ de los lecheros los usan ($p < 0.05$). En el lote muestreado usan ración y/o suplemento mineral en el $17.9 \pm 4.1\%$ de las ganaderías y lecherías (SDE).

Enfermedades:

El peso de la importancia de cada enfermedad en el predio ponderadas con un valor máximo de 28 se puede apreciar en la figura 14.

El resultado global indica gran dispersión en los resultados sobre un valor máximo de 28 puntos, con los valores de tendencia central y percentiles 25 y 50 según el cuadro X y las figuras 14 y 15.

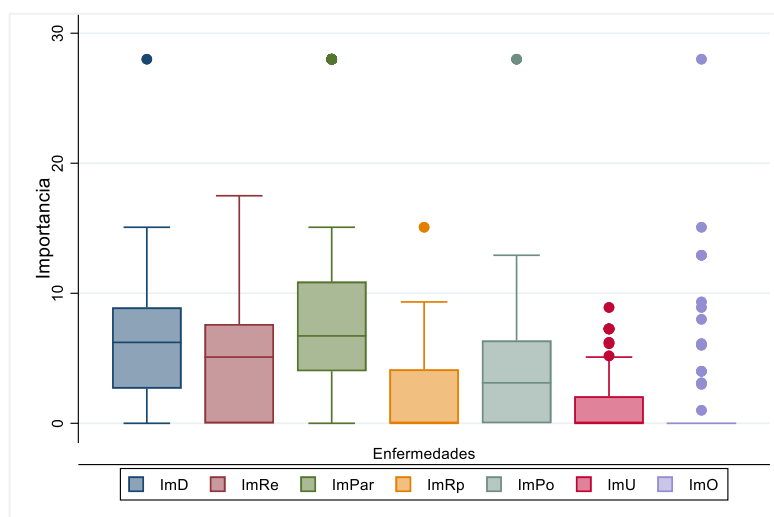


Figura 14: Categorización de enfermedades del predio por importancia

Cuadro X: Enfermedades por importancia

		Enfermedades por importancia en el predio (puntos)						
		Digestivo	Respiratorio	Parasitario	Reproductivo	Podal	Ubre	Otro
Global	Percentil 25	0	0	7.26	0	0	0	0
	Mediana	5.19	3.11	8.91	0	2.67	0	0
	Percentil 75	7.64	5.60	15.08	4.15	5.09	2.07	0
	Media	4.81	3.11	12.60	2.05	3.46	0.90	1.08
Ganadería	Percentil 25	0	0	7.26	0	0	0	0
	Mediana	5.19	3.11	9.33	0	2.67	0	0
	Percentil 75	7.64	5.19	15.08	4.15	5.09	2.07	0
	Media	4.72	3.00	12.85	2.04	3.43	0.87	1.09
Lechería	Percentil 25	1.04	3.11	3.46	1.04	0.64	1.68	0
	Mediana	3.63	4.79	6.22	4.15	2.07	5.66	0
	Percentil 75	6.29	7.05	7.74	5.70	5.70	7.26	0
	Media	3.72	5.08	5.93	4.25	3.22	4.73	1.08
Corral	Percentil 25	7.26	5.09	0	0	1.33	0	0
	Mediana	7.92	7.45	5.09	0	5.59	0	0
	Percentil 75	9.33	7.78	6.36	2.07	7.00	1.00	0
	Media	9.09	7.16	4.04	1.48	4.91	0.45	0.86

Dig: Digestivo; Resp: Respiratorio; Paras: Parasitario

Globalmente las enfermedades de más importancia tomando el valor de la mediana son en forma decreciente: parasitarias, digestivas, respiratorias y podales.

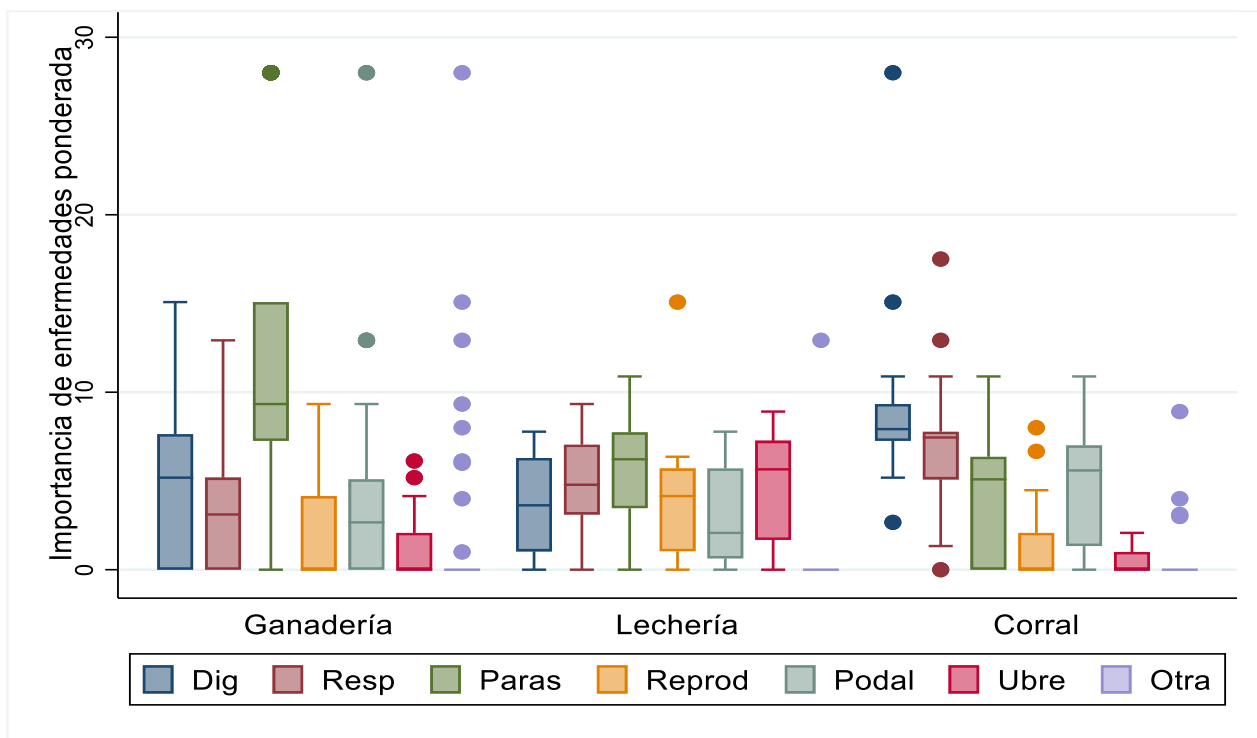


Figura 15: Categorización de enfermedades del predio por importancia por estratos

Este mismo orden se mantiene para ganadería; en lechería aparece ubre en segundo lugar y reproductivo en cuarto lugar; y en corral son las mismas enfermedades que global, pero cambia parasitario para el cuarto lugar y las otras suben un lugar.

Asociaciones entre variables:

Al tener asistencia técnica veterinaria aumenta el porcentaje de entrevistados que conoce el concepto de RAM, siendo aún mayor cuando la asistencia es permanente ($p < 0.05$).

En los casos que tenían asistencia técnica veterinaria permanente, en el 97% de los casos el entrevistado fue el veterinario ($p < 0.05$).

Hubo asociación positiva entre los predios que llevan registros productivos o reproductivos y tener asistencia técnica veterinaria ($OR = 5.3 \pm 3.8$, $p < 0.05$). De los que llevan registros, el 94% tiene asistencia técnica.

No se encontró asociación entre tener asistencia técnica veterinaria y que el criterio de selección de los ATM sea del técnico veterinario, que el veterinario sea quién aplica los ATM, con el registro de los ATM, el tamaño o la intensificación del predio, cuarentena de los ingresos, o mantener separados diferentes orígenes de animales, (NS).

El tamaño del predio (chico, mediano o grande) categorizado en base a terciles por estrato mostró asociación con los registros productivos o reproductivos, siendo

mayor el porcentaje de registros a medida que aumenta el tamaño del predio ($p < 0.05$), hay casi 8 veces más chances de tener registros en los grandes con respecto a los chicos ($OR = 7.4 \pm 4.5$, $p < 0.05$). También mostró asociación estadísticamente significativa con el veterinario siendo la persona al cuidado de los animales en los predios medianos y grandes ($OR = 35.2$ y 32.7 , $p < 0.05$ respectivamente con respecto a los chicos); y con el veterinario siendo quién aplica los ATM en los predios medianos y grandes ($OR = 62.5$ y 121.7 $p < 0.05$ respectivamente con respecto a los chicos). El tamaño del predio no mostró asociación con el registro de ATM, cuarentena, mezcla orígenes, certificación de predios ni criterio técnico para seleccionar los ATM (NS).

La selección de ATM por un técnico tuvo asociación positiva con el registro del uso de los ATM ($OR = 3.9 \pm 2.3$, $p < 0.05$). No se encontró asociación con persona al cuidado de los animales, cuarentena, mezcla orígenes, certificación de predios ni criterio técnico para seleccionar los ATM (NS).

5.2 - RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN EL GANADO Y LOS PREDIOS PRODUCTORES

El objetivo de este capítulo es, en base a los estudios realizados, estimar la prevalencia de resistencia antimicrobiana en el ganado y los predios productores, establecer los patrones de sensibilidad fenotípica a los antimicrobianos, evaluar la multiresistencia y analizar la evolución estacional y temporal de estos indicadores.

Diseño de la encuesta y proyección a la población objetivo:

Como fue explicado en el capítulo 4 el muestreo fue diseñado para que sea representativo de la población objetivo. Se tomó como referencia el estudio anterior del 2006 que son predios (explotaciones ganaderas) con un mínimo de 30 novillos mayores o igual a 3 años para ganadería y lechería, y se modificó para corrales con novillos mayor o igual al año de edad dado que reflejan mejor la actualidad del estrato.

De los 3209 establecimientos integrantes de la población de interés se seleccionaron aleatoriamente un total de 120 predios de los tres estratos. Dentro de cada uno de los establecimientos seleccionados se tomaron hasta 10 muestras individuales de materia fecal para el análisis de sensibilidad a los ATM. En el cuadro VI se puede observar ahora a nivel animal como varían las proporciones que representan los animales proyectados en cada estrato siendo de un 85% para los animales del estrato ganadería de base pastoril, 14.6% para los de corrales de engorde y de un 0.5% para los de lechería.

El proyecto busca estudiar novillos en el último eslabón de la producción y próximos a faena en el tiempo, para verificar esto calculamos los días para la fecha probable de faena. La media es de 132 ± 12 días, y el 74% de los animales tiene previsto faenarse antes de los 6 meses. Aparecen diferencias entre estratos ($p < 0.05$), y en el

Cuadro XI: Tiempo previsto para faena del lote muestreado (días)

días para faena	estrato (%)			total
	Ganadería	Lechería	Corral	
<120	56.3	66.7	90.5	57.3
120-180	16.9	16.7	4.8	16.6
>180	26.8	16.7	4.8	26.1
Total	100	100	100	100
($p=0.01$)				

90% de los corrales es menor a 120, mientras que los identificados como ganadería y lechería se muestran con distribuciones similares (cuadro XI).

Se cumplió con las muestras proyectadas para el año, y con la distribución del muestreo. Las muestras se coordinaron por semanas para lograr una buena distribución temporal y cubrieron las 4 estaciones del año con los diferentes estratos muestreados en cada una cómo se puede observar en la figura 16.

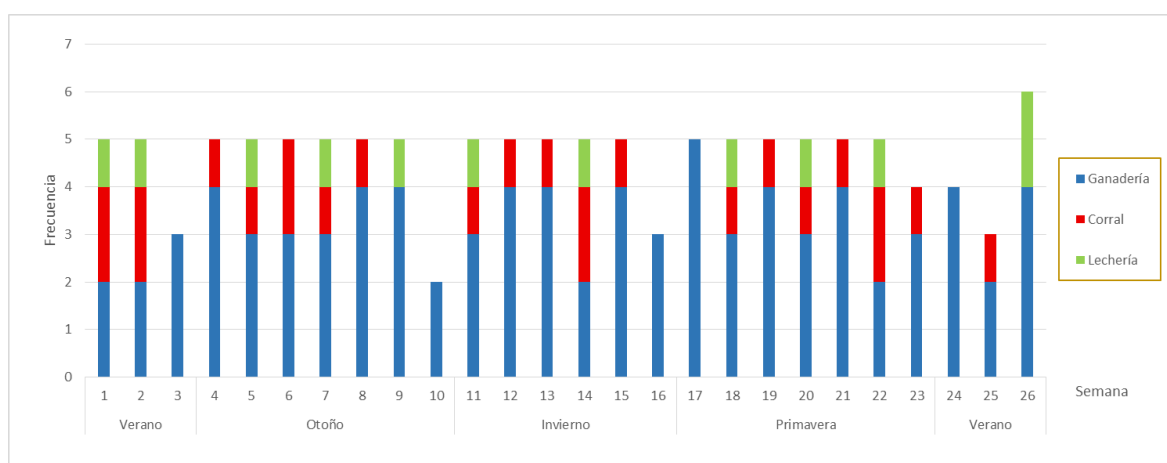


Figura 16: Distribución temporal de las muestras por semana y estación

La tasa de respuesta para la encuesta fue de un 100%. En el 93% de los establecimientos se procesaron las 10 muestras estipuladas. La tasa de aislamiento de *E. coli* fue muy alta, de un 99.6% (5 muestras no confirmaron *E. coli* y en el resto de los casos no había la totalidad de los animales a muestrear en el momento de la visita para la obtención de la muestra).

En el laboratorio, como ya describimos en materiales y métodos, se sembró una placa sin ATM en el medio, para estimar la prevalencia de resistencia a los diferentes ATM analizados.

La susceptibilidad a los ATM de los aislados de *E. coli* se determinó fenotípicamente mediante un equipo automatizado (MICROSCAN®) que determina la CIM para

cada ATM del panel. Tener el valor de la CIM además de su interpretación permite realizar diferentes estudios al poder recalcularse la interpretación con otro punto de corte, el PCC y el ECOFF.

5.2.1- ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS UTILIZANDO EL PUNTO DE CORTE CLÍNICO (PCC) Y LAS CATEGORÍAS SEGÚN EXPERTOS.

En el cuadro XII se muestra un diagrama tipo *squashtogram* donde se puede observar la distribución de los valores de MIC para los 33 ATM testeados (valores crudos). A la izquierda se presenta la clasificación de los ATM según importancia de la OMS, las clases de la OIE, los ATM y los valores de corte utilizados para interpretar los valores con un PCC (se usan valores del cuadro V). En la región central están los resultados de la prueba de sensibilidad para los 1180 aislados testeados expresado en porcentajes para cada valor de MIC, quedando en colores los valores de MIC para los cuales el panel tiene pocillo y se coloreó en verde los que se interpretan como sensibles, en amarillo los intermedios y en rojo los R. Finalmente, a la derecha del cuadro están los porcentajes de aislados se interpretan como R para cada ATM (el resultado del pocillo de menor concentración es el valor menor a igual al dato de la columna, y el de mayor valor es mayor al valor de la columna anterior).

Cuadro XII: Diagrama de resultados de MIC con interpretación usando punto de corte clínico.

Importancia OMS	Clase según OIE	Antimicrobiano	MIC usado		MIC (µg/mL): % de 1180 aislados										% aislados Resistentes	
			s(≤)	R (>)	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64			
2	Ac. Fosfónico	Fosfomicina	32	32									99.4	0.5	0.1	0.6
2	Aminoglucósidos	Amicacina	8	16						97.9	2.0	0.1	0.0			0.1
2	Aminoglucósidos	Gentamicina	2	4				95.4	4.6	0.0	0.0					0
2	Aminoglucósidos	Tobramicina	2	4				95.9	4.1	0.0	0.0					0
3	Anfenicol	Cloranfenicol	8	8						99.4	0.5	0.1				0.6
3	Cefaloporinas 1-2	Cefoxitin	8	16						99.7	0.2	0.1				0.1
3	Cefaloporinas 1-2	Cefuroxima	8	8				89.2	10.1	0.7	0.0					0.7
3	Cefaloporinas 1-2	Cefalotina	8	16					51.2	43.4	5.4					5.4
1	Cefaloporinas 3-4	Cefepima	1	4			99.7	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0				0.1
1	Cefaloporinas 3-4	Cefotaxima	1	2			99.8	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0			0.1
1	Cefaloporinas 3-4	Ceftazidima	1	4			99.2	0.6	0.2	0.0	0.0	0.1				0.1
4	Nitrofuranos	Nitrofurantoin	64	64								99.3	0.2	0.5		0.5
2	Penicilinas	Amoxicilina/ Ac. clavulámico	8	8						99.5	0.3	0.3				0.5
2	Penicilinas	Ampicilina	8	8						98.5	0.1	1.4				1.5
2	Penicilinas	Ampicilina/ Sulbactam	8	8						99.2	0.6	0.3				0.8
2	Penicilinas	Aztreonam	1	4			99.0	0.0	0.6	0.1	0.1	0.3				0.4
2	Penicilinas	Doripenem	1	4			99.5	0.2	0.3	0.1						0.1
2	Penicilinas	Ertapenem	0.5	0.5		99.5	0.1	0.4								0.5
2	Penicilinas	Imipenem	2	4			99.7	0.3	0.0	0.0	0.1					0.1
2	Penicilinas	Meropenem	2	8			99.7	0.0	0.1	0.0	0.2					0.2
2	Penicilinas	Piperacilina	8	16						98.7	0.3	0.0	0.1	0.9		1.0
2	Penicilinas	Piperacilina/ Tazobactam	8	16						99.7	0.0	0.0	0.2	0.1		0.3
1	Polipéptido cíclico	Colistina	2	2				97.9	1.5	0.6						2.1
1	Quinolonas	Ciprofloxacina	0.25	0.5		99.3	0.1	0.3	0.3							0.7
1	Quinolonas	Levofloxacina	0.5	1			98.8	0.1	1.1	0.0						1.2
1	Quinolonas	Acido Nalidixico	16	16							99.4	0.6				0.6
1	Quinolonas	Norfloxacina	0.5	1		99.6	0.1	0.3								0.3
3	Sulfonamidas + diaminoprimidina	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	2	4				99.2	0.1	0.7						0.7
3	Tetraciclinas	Minociclina	4	8					99.1	0.6	0.3					0.3
3	Tetraciclinas	Tetraciclinas	4	8					96.5	0.4	3.1					3.1
2	Glicilina	Tigecyclina	0.5	0.5			99.9	0.1	0.0							0
1	Cefaloporinas 3-4	Cefotaxime/ Ac. Clavulámico	sd	sd		99.7	0.1	0.2	0.1	0.0						
1	Cefaloporinas 3-4	Ceftazidime/ Ac. Clavulámico	sd	sd	99.0	0.3	0.0	0.4	0.3							

Importancia OMS: 1=máxima prioridad; 2=importancia crítica; 3=muy importantes; 4=importantes
 MIC usado S (≤): concentración inhibitoria mínima para categorizar aislado sensible si es menor o igual al valor de la columna; MIC usado R (>): concentración inhibitoria mínima para categorizar aislado resistente si es mayor al valor de la columna

Como se describió en el capítulo 1 y 4, tomamos la referencia del grupo de expertos (Magiorakos et al., 2012) para hacer el análisis de los resultados usando el punto de corte clínico, considerando las categorías y ATM propuestos y la definición de MDR. En el cuadro V se pueden apreciar las categorías y ATM que disponíamos en el panel de ATM y usaremos para interpretar los resultados de este muestreo con el PCC. Destacamos una diferencia en la consideración de los resultados

intermedios que en nuestros datos son acumulados con los sensibles (No Resistentes).

Los expertos plantean que estas listas de ATM a testear sean una guía, pero para hacer válidas las comparaciones entre estudios se debe testear un número similar de categorías, y esto está basado en la consideración de mecanismos de resistencia similares en cada categoría que los convierte en indicadores de la misma.

Para las enterobacterias la lista propuesta cuenta con 17 categorías y 31 ATM; en el panel tan solo no contamos con ATM para testear para una categoría (cefalosporina anti MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) que proponía usar el ATM ceftarolina) por lo que quedan 16 categorías y 25 ATM en la consideración para interpretar la susceptibilidad a los ATM como se puede ver en detalle en el cuadro XIII. Consideramos se cumple con la cantidad de ATM a testear lo que hacen válidas las definiciones según los expertos.

Cuadro XIII: Cuadro con los antimicrobianos y categorías para el análisis usando los puntos de corte clínicos

Abreviatura	Antimicrobiano	Categorías según expertos	Código OMS importancia crítica	PCC EUCAST para enterobacterias	
				MIC S (\leq)	MIC R ($>$)
Fos	Fosfomicina	Ac fosfónico	2	32	32
Ak	Amicacina	Aminoglucósidos	2	8	16
Gm	Gentamicina	Aminoglucósidos	2	2	4
To	Tobramicina	Aminoglucósidos	2	2	4
C	Cloranfenicol	Fenicoles	3	8	8
Cfx	Cefoxitin	Cefamicina	3	SD {8}	SD {16}
Crm	Cefuroxima	Cefaloporias 1-2	3	8	8
Cpe	Cefepima	Cefaloporias 3-4	1	1	4
Cft	Cefotaxima	Cefaloporias 3-4	1	1	2
Caz	Ceftazidima	Cefaloporias 3-4	1	1	4
Aug	Amoxicilina/ Ac. clavulámico	penicilina+inhibidor Blactamasa	2	8	8
Am	Ampicilina	Penicilinas	2	8	8
AS	Ampicilina/ Sulbactam	penicilina+inhibidor Blactamasa	2	8	8
Azt	Aztreonam	Monobactámico	2	1	4
Dor	Doripenem	Carbapenemes	2	.- {1}	.- {4}
Etp	Ertapenem	Carbapenemes	2	0.5	0.5
Imp	Imipenem	Carbapenemes	2	2	4
Mer	Meropenem	Carbapenemes	2	2	8
PT	Piperacilina/ Tazobactam	Penicilinas antipseudomona	2	8	16
Cl	Colistina	Polimixina	1	2	2
Cp	Ciprofloxacina	Fluoroquinolona	1	0.25	0.5
TS	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	Inhibidor de síntesis de folatos	3	2	4
Min	Minociclina	Tetraciclinas	3	.- {4}	.- {8}
Te	Tetraciclinas	Tetraciclinas	3	.- {4}	.- {8}
Tgc	Tigeciclina	Glicilina	2	0.5	0.5

PCC EUCAST para enterobacterias: puntos de corte clínicos definidos por European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing para enterobacterias; MIC S (\leq): concentración inhibitoria mínima para categorizar aislado sensible si es menor o igual al valor de la columna; MIC R ($<$): concentración inhibitoria mínima para categorizar aislado resistente si es mayor al valor de la columna; SD: sin datos; NA: no aplicable; -: test no recomendado; {valor}: valor usado para análisis.

Como explicamos en el punto 4.3 y según las categorías del cuadro XIII, clasificamos cada animal en pansensible (PS), una categoría de resistencia; dos categorías; o tres o más categorías (MDR). Luego clasificamos a los establecimientos de la misma forma cuando al menos un animal del predio presentó esa condición (AUA); y posteriormente los clasificamos por la peor condición (PC) (lo consideramos resistente cuando fue R en al menos un animal en la peor / más relevante categoría) y finalmente calculamos la proporción de animales dentro de cada establecimiento con esa condición.

De acuerdo con la anterior clasificación, un $90.4 \pm 1.16\%$ (IC 95% 87.8 – 92.4) de los animales resultaron sensibles a los 25 ATM en el test de susceptibilidad a los ATM (pansensibles), con diferencias entre estratos ($p < 0.05$) siendo en corral menor

porcentaje de animales pansensibles que en lechería y ganadería (80.2, 90.7 y 92.2% respectivamente).

Un 48.4 ± 5.2 % (IC 95% 38.2 - 58.7) de establecimientos fueron pansensibles (el 100% de los animales del mismo son sensibles) no habiendo diferencias entre estratos (SDE). Si calculamos el promedio de animales sensibles por establecimiento nos da cerca de 93% lo que nos da una idea de la amplia dispersión de los animales R en los establecimientos; de otra forma, si miramos a nivel de animales, el 10% de las muestras con alguna resistencia están en el 52% de los establecimientos.

Si ahora consideramos un establecimiento pansensible cuando tiene 80% o más de animales sensibles, este porcentaje asciende a 94.55 ± 2.23 %.

Cuadro XIV: Patrones de resistencia a los antimicrobianos comparadas

	ANIMAL (%)			ESTABLECIMIENTO (al menos un animal) (%)			ESTABLECIMIENTO (peor condición) (%)				PROMEDIO ANIMAL dentro del establecimiento (%)		
	Global	EE	p	Global	EE	p	Global	Gan.	Lech.	Corral	Global	EE	p
Pansensible	90.40	1.16	<0.05	48.37	5.24	NS	48.37	48.81	50.00	29.17	92.90	0.87	NS
Una categoría Resistente	8.28	1.16	<0.05	43.47	5.19	<0.05	40.33	40.48	41.67	33.33	5.81	0.79	NS
Dos categorías Resistentes	0.68	0.27	NS	9.49	3.08	NS	9.49	9.52	8.33	8.33	1.08	0.37	NS
Multiresistente	0.64	0.27	<0.05	1.82	1.15	<0.05	1.82	1.19	0.00	29.17	0.21	0.12	<0.05
80% animales Sensibles				94.55	2.23	<0.05	94.55	95.24	91.67	66.67			

EE: error estándar; Gan: ganadería; Lech: lechería; p: valor de significancia estadística para diferencia entre estratos.

En la tabla se puede observar a nivel animal que el 8.28 ± 1.16 % presentó R sólo a una categoría de ATM; el 0.68 ± 0.27 % presentó R a dos categorías; y el 0.64 ± 0.27 % a tres o más categorías (multiresistentes).

Considerando la peor condición, le adjudicamos al establecimiento la categorización de la peor o más grave condición si la presenta en al menos un animal (categorías mutuamente excluyentes). Así, 1.82 ± 1.15 % de los predios tuvo en algún animal MDR; un 9.49% dos categorías y el restante 40.33% sólo a una categoría. La diferencia por estratos también se puede observar en la figura 17 ($p < 0.05$).

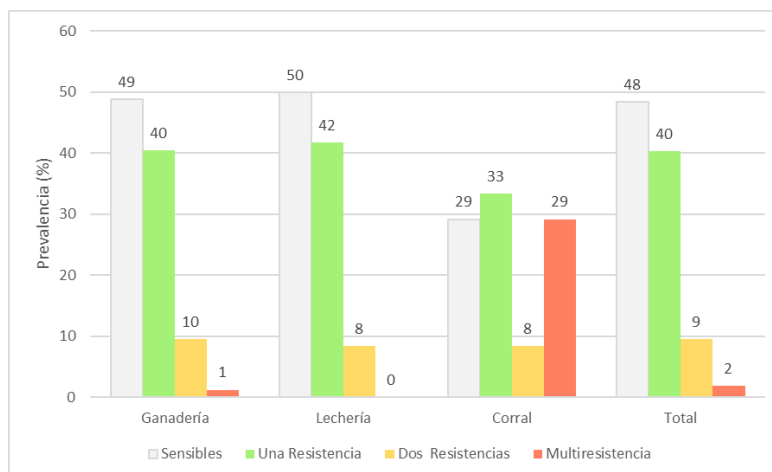


Figura 17: Patrón de resistencia por categorías en establecimientos según criterio de peor condición (%)

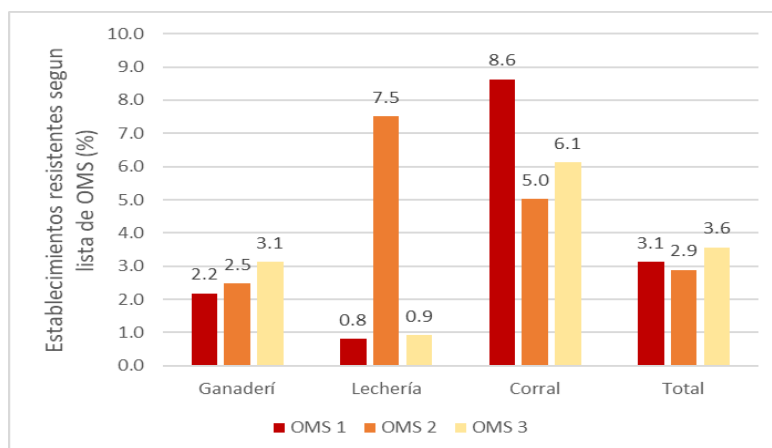
La suma de resistencias por categorías tuvo una media de 0.83 ± 0.11 con diferencias entre estratos ($p < 0.05$) siendo menor el valor en ganadería y lechería que en corral (0.79, 0.83 y 2.12 respectivamente), presentó asociación positiva estadísticamente significativa para los corrales con respecto a las ganaderías (coeficiente 1.32); y positiva también con los bov/ha (coeficiente 0.00847).

Clasificamos ahora la/las resistencias que presentó cada animal según la clasificación de OMS de ATM de importancia para salud humana que establecimos en el cuadro XIII. Un animal con más de una resistencia por tanto puede contabilizar para más de una categoría; también varias resistencias pueden contabilizar a una única categoría. Si con la misma lógica que para el número de resistencias consideramos la peor opción para el establecimiento, en orden de importancia decreciente sería OMS 1, OMS 2, y OMS 3. Finalmente calculamos el promedio de animales con la condición por establecimientos y armamos una tabla comparativa (cuadro XV).

Cuadro XV: Resistencias categorizadas según criterio de importancia de la OMS.

	ANIMAL (%)			ANIMAL (peor condición) (%)				ESTABLECIMIENTO (peor condición) (%)	PROMEDIO ANIMALES dentro del establecimiento (%)					
	Global	EE	p	Global	Gan.	Lech.	Corral	Global	Global	EE	p	Gan.	Lech.	Corral
OMS 1	3.13	0.82	<0.05	3.13	2.18	0.81	8.63	20.6	2.47	0.56	<0.05	2.41	1.76	5.42
OMS 2	3.51	0.69	<0.05	2.89	2.49	7.51	5.02	14.63	2.32	0.44	<0.05	2.17	4.26	7.92
OMS 3	4.58	0.79	<0.05	3.57	3.14	0.93	6.13	16.4	3.52	0.62	NS			

OMS 1: Importancia crítica - máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante; EE: error estándar; Gan: ganadería; Lech: lechería; p: valor de significancia estadística para diferencia entre estratos.

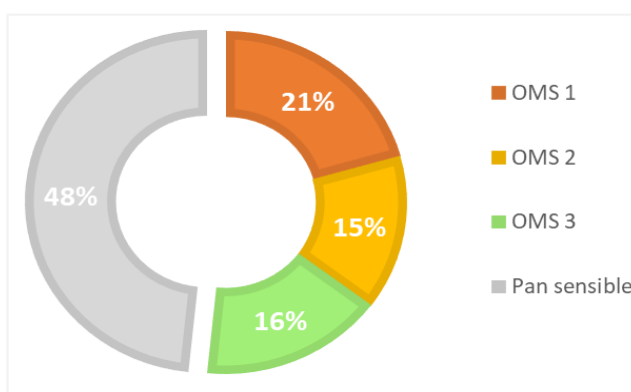


OMS 1: Importancia crítica - máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante

Figura 18: Resistencia en animales según criterios de importancia de la OMS (PC)

A nivel animal las prevalencias son menores del 5% para los ATM de importancia OMS pero con diferencias entre estratos. Al categorizar los animales por la PC, se obtienen proporciones similares en la distribución de los animales, y la superposición de categorías se ve en la reducción del porcentaje de OMS 2 y 3. En las tres categorías hubo diferencia entre estratos que se aprecian en la figura 18. Destacan los corrales con alto porcentaje de R, especialmente para las categorías de importancia crítica (colistina y ampicilina), y para las tetraciclinas con el mayor porcentaje; las lecherías destacan por la proporción de animales con presencia de R en la categoría OMS 2 (dado por fosfomicina y ampicilina).

Volviendo al cuadro XV, a nivel de establecimientos un 52% de estos tuvieron alguna R en la clasificación OMS, y se distribuyen según la figura 19 cuando consideramos la PC según criterio OMS, con un 20.6% de establecimientos con presencia de alguna R de la categoría OMS 1, 14.6% de OMS 2 y 16.4% de OMS 3 (SDE).



OMS 1: Importancia crítica – máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante

Figura 19: Resistencia a nivel de establecimientos según criterio de importancia de la OMS, peor condición (%)

Finalmente analizamos la prevalencia de R en cada categoría de ATM a nivel animal y establecimientos. En el cuadro XVI están los 25 ATM testeados para la susceptibilidad a los ATM agrupados en las 16 diferentes categorías ordenadas en forma

decreciente según prevalencia en animales, con su equivalencia a nivel establecimiento y la disgregación en estratos cuando existió diferencia significativa.

Cuadro XVI: Resistencias por categorías a nivel animal y establecimiento

Código OMS imp. crítica	Categoría de antimicrobiano	ANIMAL					ESTABLECIMIENTO				
		Prevalencia (%)	EE	Prevalencia (%)			Prevalencia (%)	EE	Prevalencia (%)		
				Gan.	Lech.	Corral			Gan.	Lech.	Corral
3	Tetraciclina	2.90	0.73	1.9	3.1	8.8	14.05	3.54	13.1	25.0	50.0
1	Polimixina	1.99	0.54				15.81	3.79	15.5	8.3	33.3
2	Penicilinas	1.44	0.50	0.7	2.5	5.4	5.72	2.24	4.8	16.7	41.7
2	penicilina+inhibidor Bactamasa	1.40	0.49				7.48	2.70	7.1	0.0	25.0
1	Fluoroquinolona	0.98	0.66	0.3	0.5	4.8	3.63	1.95			
3	Inhibidor de síntesis de folatos	0.72	0.34				3.74	1.95			
3	Cefaloporias 1-2	0.65	0.25				7.10	2.70			
2	Monobactámico	0.64	0.35				4.70	2.23			
3	Fenicoles	0.60	0.25				7.01	2.70			
2	Carbapenemes	0.35	0.18				4.80	2.23			
2	Ac fosfónico	0.28	0.15	0.0	5.0	1.5	1.68	1.15	1.2	25.0	12.5
2	Penicilinas antipseudomona	0.22	0.14				2.40	1.60			
1	Cefaloporias 3-4	0.16	0.11				2.30	1.60			
3	Cefamicina	0.13	0.13				1.15	1.14			
2	Aminoglucósidos	0.10	0.10				1.15	1.14			
2	Glicilina	0.00	0.00				0.09	0.08	0.0	0.0	4.2

EE: error estándar; Gan:ganadería; lech: lechería

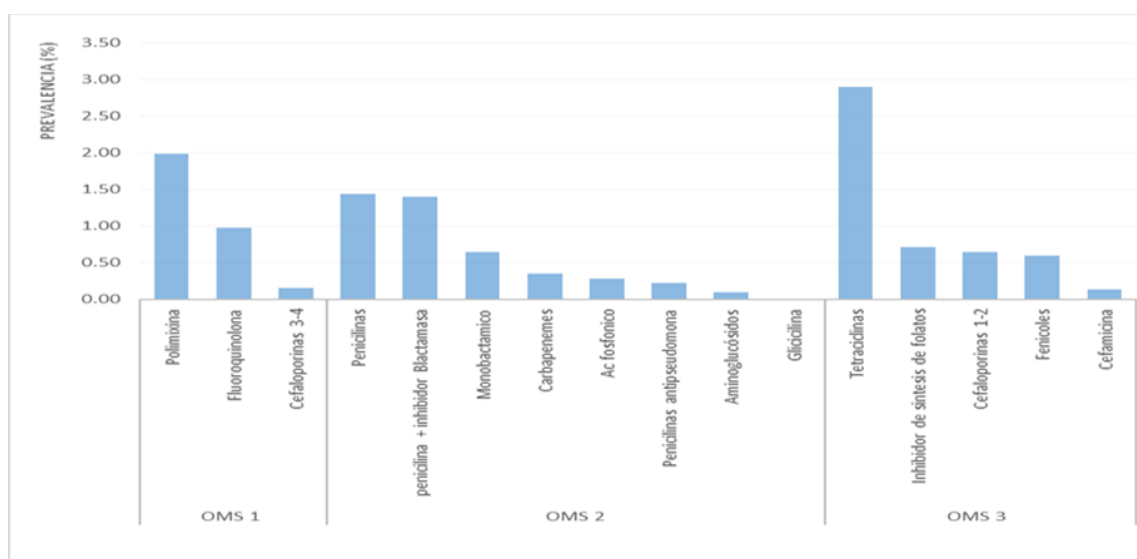


Figura 20: Prevalencia de resistencias por categorías organizados por criterio de importancia de la OMS (nivel animal)

Todas las categorías tuvieron algún animal R; el valor más alto de prevalencia a nivel animal fue de $2.9 \pm 0.73\%$ para las tetraciclinas, siguiendo con las polimixinas, las penicilinas y las penicilinas con inhibidor de beta lactamasa. Las restantes categorías presentaron prevalencias menores a 1%. Sólo dio diferencia significativa entre estratos para las tetraciclinas, penicilinas, fluoroquinolonas y el ácido fosfónico.

A nivel de establecimiento estas prevalencias aumentan notablemente con un máximo de $15.81 \pm 3.7\%$ para las polimixinas (colistina); le siguen en valor las tetraciclinas y las penicilinas con inhibidor de beta lactamasa (amoxicilina/ácido clavulámico y ampicilina/sulbactam). La fluoroquinolonas (ciprofloxacina) dejaron de presentar distribución diferente por estratos, pero se les suman las polimixinas, las penicilinas con inhibidor de beta lactamasas y las glicilinas.

En el 60 % de las ocasiones en que hubo diferencias entre estratos la distribución mostró a la vez los valores más bajos de prevalencia para ganadería y los más altos para corral. Difiere el ácido fosfónico en ambos casos que fue mayor en lechería.

En la figura 20 se representa la distribución de resistencias en prevalencias decrecientes por categorías a nivel animal, organizado según criterio de importancia de la OMS.

En el cuadro XVII vemos los resultados desglosados por los ATM individualmente, aunque no difiere demasiado dado que varias categorías tienen solamente un ATM a testear. Nuevamente se organizó el cuadro por prevalencia decreciente en el nivel animal y vemos que las resistencias más prevalentes encontradas fueron a ATM antiguos. La tetraciclina es la que tiene mayor prevalencia con $2.66 \pm 0.71\%$, le siguen la colistina y la ampicilina. Solamente para gentamicina y tobramicina no se encontraron animales R, y para el resto de los ATM las prevalencias estuvieron por debajo del 1 %. Nuevamente al clasificar el establecimiento con AUA resistente estos porcentajes aumentan a nivel de establecimientos dada la distribución de las R con bajo porcentaje de animales R por establecimiento.

Cuadro XVII: Resistencias por antimicrobianos individualmente a nivel animal y de establecimiento.

Código OMS importancia crítica	Antimicrobiano	ANIMAL					ESTABLECIMIENTO				
		Prevalencia (%)	EE	Prevalencia (%)			Prevalencia (%)	EE	Prevalencia (%)		
				Gan.	Lech.	Corral			Gan.	Lech.	Corral
3	Tetraciclinas	2.66	0.71	1.6	3.1	8.8	12.90	3.40	11.9	25.0	50.0
1	Colistina	1.99	0.54				15.81	3.79	15.5	8.3	33.3
2	Ampicilina	1.44	0.50	0.7	2.5	5.4	5.72	2.24	4.8	16.7	41.7
1	Ciprofloxacina	0.98	0.66	0.3	0.5	4.8	3.63	1.95			
2	Amoxicilina/ Ac. clavulámico	0.91	0.44				5.85	2.48			
3	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	0.72	0.34				3.74	1.95			
2	Ampicilina/ Sulbactam	0.71	0.28	0.3	0.0	3.3	2.87	1.61	2.4	0.0	25.0
3	Cefuroxima	0.65	0.25				7.10	2.70			
2	Aztreonam	0.64	0.35				4.70	2.23			
3	Cloranfenicol	0.60	0.25				7.01	2.70			
3	Minociclina	0.38	0.27				1.44	1.14			
2	Ertapenem	0.35	0.18				4.80	2.23			
2	Fosfomicina	0.28	0.15	0.0	5.0	1.5	1.68	1.15	1.2	25.0	12.5
2	Piperacilina/ Tazobactam	0.22	0.14				2.40	1.60			
3	Cefoxitin	0.13	0.13				1.15	1.14			
2	Meropenem	0.12	0.10				1.25	1.14			
2	Amicacina	0.10	0.10				1.15	1.14			
1	Cefepima	0.09	0.09				1.15	1.14			
1	Ceftazidima	0.09	0.09				1.15	1.14			
2	Doripenem	0.09	0.09				1.15	1.14			
2	Imipenem	0.09	0.09				1.15	1.14			
1	Cefotaxima	0.07	0.07				1.15	1.14			
2	Tigecyclina	0.00	0.00				0.09	0.08	0.0	0.0	4.2
2	Gentamicina	0.00					0.00				
2	Tobramicina	0.00					0.00				

EE: error estándar; Gan:ganadería; lech: lechería

Finalmente sacamos los patrones de resistencia de los 106 animales que presentaron alguna resistencia y lo proyectamos a la población. Un 85.8% de los patrones fueron de mono resistencias, donde predominaron las categorías de las tetraciclinas, penicilinas y polimixinas (colistina); el 7.5 % de los animales R fueron a 2 ATM y el 6.7% a tres o más ATM. En las resistencias múltiples predominan las combinaciones de tetraciclinas o penicilinas con otros ATM, pero el detalle y porcentajes de la distribución de los patrones están en el cuadro XVIII.

Cuadro XVIII: Patrones de resistencia a nivel animal

	Patrón	Aislados	%	%
Una resistencia por aislado	Te/	19	19.68	85.8
	Cl/	16	14.59	
	Cp/	5	9.52	
	Am/	6	7.95	
	Aug/	3	6.7	
	TS/	5	6.28	
	C/	6	4.94	
	Azt/	4	4.75	
	Crm/	5	3.48	
	Min/	1	2.53	
	Fos/	6	1.62	
	AS/	1	1.4	
	PT/	1	1.04	
	Cft/	1	0.7	
Etp/	2	0.64		
Dos resistencias por aislado	Azt/Cl/	1	1.97	7.5
	Cfx/Etp/	1	1.39	
	Ak/Crm/	1	1	
	Cp/Te/	3	0.73	
	Am/Cl/	1	0.49	
	Aug/Am/	1	0.49	
	Etp/TS/	1	0.38	
	Etp/Mer/	1	0.32	
	PT/Te/	1	0.32	
	TS/Te/	1	0.21	
	Am/Te/	1	0.13	
	Min/Te/	1	0.1	
tres o mas resistencias por aislado	Am/AS/Te/	3	2.02	6.7
	Am/AS/Cl/Te/	3	1.56	
	Fos/C/Crm/Aug/Am/AS/Cl/Min/Te/	1	1.3	
	Crm/Cpe/Caz/Aug/Am/AS/Dor/Etp/Imp/Mer/PT/Te/	1	0.94	
	Cl/TS/Te/	1	0.63	
	Am/AS/Cl/	1	0.16	
	Cl/Min/Te/Tgc/	1	0.046	
Total de aislados con resistencia		106	100	100

Fos: Fosfomicina; Ak: Amicacina; Gm: Gentamicina; To: Tobramicina; C: Cloranfenicol; Cfx: Cefoxitin; Crm: Cefuroxima; Cpe: Cefepima; Cft: Cefotaxima; Caz: Ceftazidima; Aug: Amoxicilina/ Ac. clavulámico; Am: Ampicilina; AS: Ampicilina/ Sulbactam; Azt: Aztreonam; Dor: Doripenem; Etp: Ertapenem; Imp: Imipenem; Mer: Meropenem; PT: Piperacilina/ Tazobactam; Cl: Colistina; Cp: Ciprofloxacina; TS: Trimethoprim/ Sulfamethoxazole; Min: Minociclina; Te: Tetraciclinas; Tgc: Tigeciclina

5.2.2- COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS CON EL ESTUDIO NACIONAL DE REFERENCIA DEL AÑO 2006.

Se realizó el análisis de los resultados de los 25 ATM en consideración del apartado anterior (utilizando los mismos criterios para categorizar un establecimiento resistente para hacer más comparables los resultados). Se consideró entonces AUA resistente, o el valor de la media de los resultados de los animales del establecimiento con respecto al punto de corte para clasificar al establecimiento pansensible o resistente.

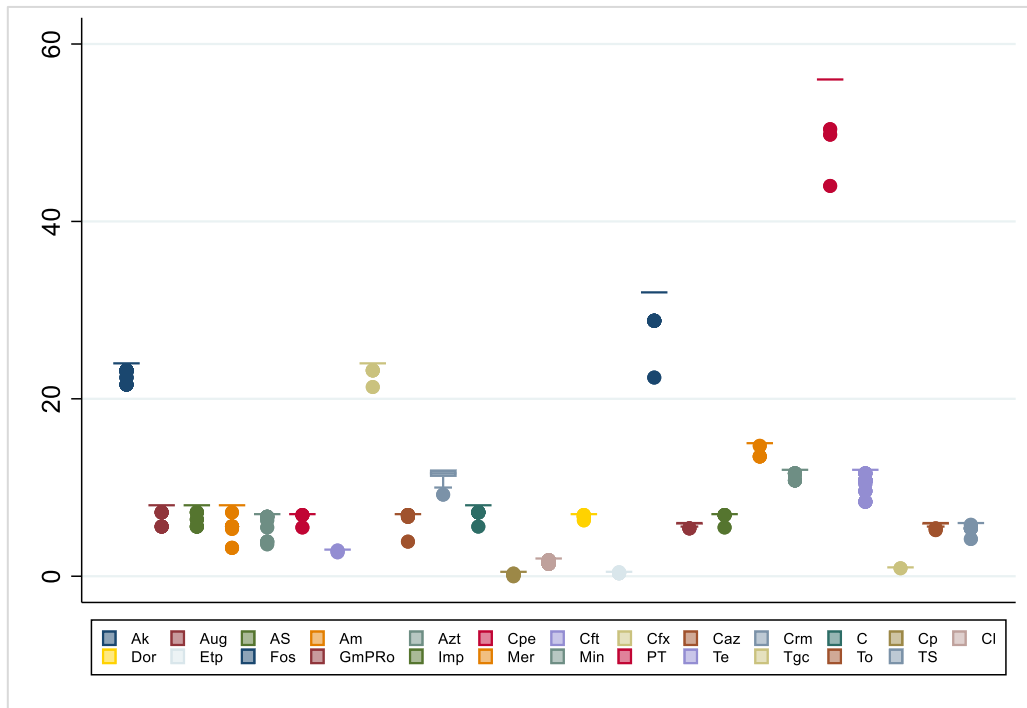
Ante el inconveniente al momento de calcular la media con valores de MIC en los pocillos extremos con valores de menor o igual, o mayor que cierto valor, se tomó para el pocillo de menor o igual, el valor igual; y para el pocillo de mayor que cierto valor, el valor de la siguiente dilución.

Cuando consideramos los 25 ATM del análisis anterior sólo restaba realizar la categorización de R considerando la media de los valores de la MIC con respecto al PCC. A nivel animal ningún ATM resultó con valores de resistencia (la media de la MIC de los 1180 animales fue menor al PCC).

En la figura 21 se representa a nivel de establecimientos la distribución de los valores de la MIC transformados de tal forma de poder visualizar los valores (similar al esquema que utilizan en 2006) en referencia al punto de corte de cada ATM; el cero del gráfico corresponde al PCC y valores iguales o menores al cero indican resistencia para ese ATM. Sólo para el ATM ciprofloxacima resultó 1 establecimiento ganadero resistente ($1.15 \pm 1.1\%$ fue la prevalencia de establecimientos R a ciprofloxacima, SDE).

Finalmente se consideró solamente los 6 ATM coincidentes más amoxicilina/ ac. clavulámico (como similar a amoxicilina solo) de los 10 testeados en 2006 y se categoriza a nivel de establecimiento los resultados. Se considera el ácido nalidíxico en este análisis que estando en el panel de ATM seleccionado, no estaba en la lista de ATM sugerida por los expertos y tuvo una R de $0.61 \pm 0.3\%$ a nivel animal y $5.84 \pm 2.5\%$ a nivel establecimiento.

En este análisis no se realizan resultados agrupados por categorías porque pertenecen a diferentes categorías.



Fos: Fosfomicina; Ak: Amicacina; Gm: Gentamicina; To: Tobramicina; C: Cloranfenicol; Cfx: Cefoxitin; Crm: Cefuroxima; Cpe: Cefepima; Cft: Cefotaxima; Caz: Ceftazidima; Aug: Amoxicillina/ Ac. clavulámico; Am: Ampicillina; AS: Ampicillina/ Sulbactam; Azt: Aztreonam; Dor: Doripenem; Etp: Ertapenem; Imp: Imipenem; Mer: Meropenem; PT: Piperacillina/ Tazobactam; Cl: Colistina; Cp: Ciprofloxacina; TS: Trimethoprim/ Sulfamethoxazole; Min: Minociclina; Te: Tetraciclinas; Tgc: Tigecyclina

Figura 21: Distribución de la resistencia a los antimicrobianos con respecto al punto de corte (valores ≤ 0 indican establecimiento resistente)

En el cuadro XIX se presentan los resultados para los 7 ATM a nivel animal y de establecimiento considerando AUA resistente; con respecto al análisis anterior (25 ATM) los porcentajes de resistencia son menores a nivel animal, y establecimiento (reducción de R en entre un 1,2 y 2,9 veces el valor de 2019).

Cuadro XIX: Patrones de resistencia comparada considerando 7 antimicrobianos

	ANIMAL (%)		ESTABLECIMIENTO (peor condición) (%)	
	Global	EE	Global	EE
Sensible	94.15	0.81	66.98	4.89
Un ATM Resistente	5.09	0.81	28.14	4.68
Dos ATM Resistentes	0.53	0.24	3.92	1.95
Tres o mas ATM Resistentes	0.22	0.16	1.25	1.14
80% animales Sensibles			98.46	1.14

EE: error estándar; ATM: antimicrobiano

Si se clasifican los animales R según criterio de importancia de la OMS, se obtienen los resultados de la figura 22 a nivel animal y establecimiento; y nuevamente aumentan los porcentajes (más de 4 veces) al pasar a nivel establecimiento

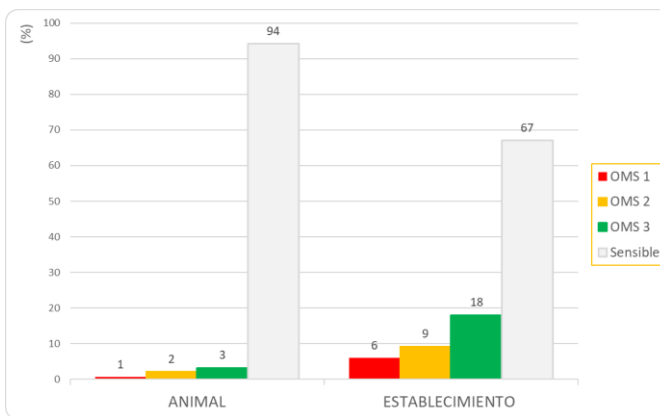
Los ATM que presentaron mayores prevalencias de R fueron la tetraciclina y las penicilinas (ampicilina y amoxicilina con ácido clavulánico).

A nivel de establecimiento ahora cambian los valores cuando se consideran el valor medio de los animales del establecimiento, ya que sólo para ciprofloxacina apareció un establecimiento R y este no está dentro de los 7 considerados.

Finalmente se calculó para los 65 animales que tuvieron algún resultado resistente el número de resistencias por animal y el patrón de resistencia (cuadro XX). Un 87.2% fueron mono resistencias, un 9.1% dos R y un 3.7% tres R por animal.

Evolución temporal de RAM en relación al 2006:

Al momento de comparar los resultados del 2006 con los de este muestreo con 7 ATM se deben de considerar varios elementos: la preparación de las muestras en laboratorio, los puntos de corte y la técnica para medir la sensibilidad a los ATM cambiaron, aunque se supone cada vez sean más adecuadas y sensibles. En 2006 se trabajó con 10 muestras por establecimiento en pool de 5 animales cada una y en el actual con 10 muestras individuales; no se testearon los mismos ATM y no se dispone de los resultados crudos del 2006 como



OMS 1: Importancia crítica - máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante

Figura 22: Resistencias de los 7 ATM categorizadas según criterio de importancia de la OMS

Cuadro XX: Patrón de resistencias para los 7 antimicrobianos.

Resistencias por aislado	Patron de Resistencia	%	%
Una	Te/	33.44	87.2
	Am/	14.12	
	Aug/	11.02	
	TS/	10.94	
	NA/	9.54	
	C/	8.12	
Dos	Am/Te/	6.1	9.1
	TS/Te/	1.37	
	NA/Te/	0.86	
	Aug/Am/	0.8	
Tres	C/Aug/Am	2.14	3.7
	Aug/Am/T	1.55	

Gm: Gentamicina; Am: Ampicilina;
C: Cloranfenicol; NA: Acido nalidíxico;
Te: Tetraciclinas; Aug: Amoxicilina/ Ac. clavulámico;
TS: Trimetoprim/ Sulfametoxazole

para reanalizarlos categorizados de forma diferente. Por otra parte, el diseño del muestreo se buscó que fuera muy similar, representativo del mismo marco de muestreo, con distribución estacional y similar número de establecimientos testeados.

En el estudio de 2006 se evaluaron 10 ATM de los cuales 6 están en el panel de ATM, y se agregó la amoxicilina con ácido clavulánico como ATM comparable con la amoxicilina sola. La cantidad de aislados analizados fue similar en ambos análisis; en 2006 se analizaron 133 establecimientos y 1550 muestras, y en éste 120 establecimientos y 1180 muestras.

Las muestras pansensibles se mantuvieron en 94% y el patrón de R en cuanto a número de R por animal fue similar: en 2006 obtuvieron 3.9% de resistencias simples y 1.6% de resistencias múltiples; en el estudio actual fueron 5.1% de R simples y 0.75% de múltiples (cuadro XXI). El patrón de resistencias mostró en 2006 un 32% de aislamientos con tetraciclina y un 38% con amoxicilina; en 2019 fue de un 33 y un 25% respectivamente.

Cuadro XXI: Cuadro comparativo de la susceptibilidad a los antimicrobianos con el muestreo del año 2006

	MUESTREO ACTUAL (%)				MUESTREO 2006 (%)
	ANIMAL (%)		ESTABLECIMIENTO		ANIMAL
	Global	EE	Global	EE	
Sensible	94.15	0.81	66.98	4.89	94
Un ATM Resistente	5.09	0.81	28.14	4.68	3.90
Dos ATM Resistentes	0.53	0.24	3.92	1.95	0.71
Tres o mas ATM Resistentes	0.22	0.16	1.25	1.14	0.90
80% animales Sensibles			98.46	1.14	

ATM: antimicrobiano; EE: error estándar

Como se puede observar en el cuadro XXII, la prevalencia a nivel animal global (no por estratos) para los ATM individualmente, fue menor o igual al 4% en 2006 y menor al 3% en el actual, siempre con menor prevalencia en el actual, y en ambos casos la tetraciclina y ampicilina los ATM más prevalentes de los 7 comparados.

La prevalencia a nivel de establecimientos considerando AUA resistente no identificó R para la gentamicina en ambos casos, y mostró aumento en los porcentajes con respecto al 2006 para el resto de los ATM a excepción de la ampicilina. Es de destacar que a pesar de presentar menores prevalencias a nivel animal y mantener el mismo nivel de R, a nivel establecimiento se aumentan las

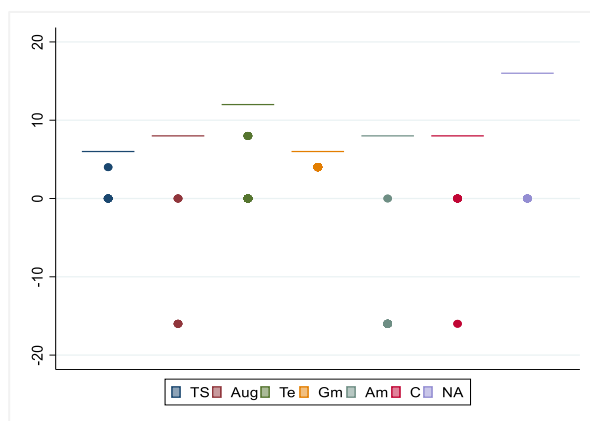
prevalencias a los ATM individualmente lo que estaría indicando una vez más la gran dispersión de las R.

Cuadro XXII: Cuadro comparativo con el muestreo del año 2006, resistencias individuales

Antimicrobiano	MUESTREO ACTUAL (%)										MUESTREO 2006 (%)					
	ANIMAL					ESTABLECIMIENTO (AUA)					ANIMAL		ESTABLECIMIENTO			
	Prevalencia	EE	Prevalencia			Prevalencia	EE	Prevalencia			Prevalencia	Prevalencia (AUA)	Prevalencia (media)			
			Gan.	Lech.	Corral			Gan.	Lech.	Corral			Global	Gan.	Lech.	Corral
Tetraciclinas	2.66	0.71	1.6	3.1	8.8	12.90	3.40	12	25	50	4	9.13	0.06	0	0	15.4
Ampicilina	1.44	0.5	0.7	2.5	5.4	5.72	2.24	4.8	17	41.7	4	10.16	1.13	1.1	0	7.7
Amoxicilina/ Ac. clavulámico	0.91	0.44				5.85	2.48				1	3.45				
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	0.72	0.34				3.74	1.95				1	3.36				
Ac. Nalidixico	0.61	0.35				5.84	2.48				3	3.32				
Cloranfenicol	0.6	0.25				7.01	2.70				2	2.28				
Gentamicina	0					0.00					0	0				

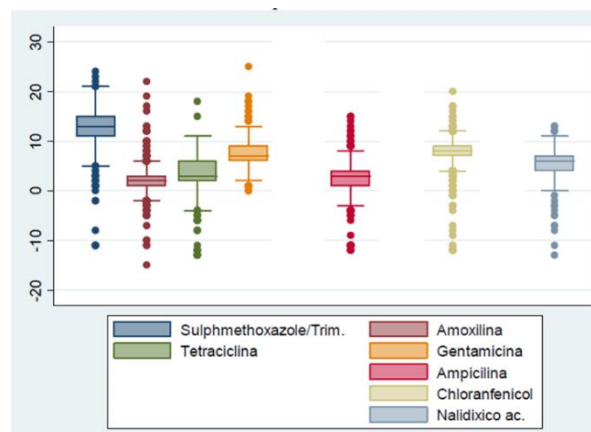
ATM: antimicrobiano; EE: error estándar; Gan: ganadería; lech: lechería; AUA: al menos un animal

En los siguientes gráficos (figuras 23 y 24) se puede observar la dispersión de los resultados a nivel animal en ambos análisis cuando se considera el valor de la media de los resultados con respecto al punto de corte. A nivel animal en ambos casos las cajas caen en el área de sensibilidad (valores por encima del cero).



Gm: Gentamicina; Am: Ampicilina;
Aug: Amoxicilina/ Ac. clavulámico;
TS: Trimethoprim/ Sulfamethoxazole;
Te: Tetraciclinas; C: Cloranfenicol;
NA: Acido nalidixico

Figura 24; Resistencias nivel animal tomando valor medio en muestreo de 2019



Fuente: Adaptada de tesis maestría (Fernández, 2006)

Figura 23: Resistencias a nivel animal tomando valor medio en muestreo de 2006

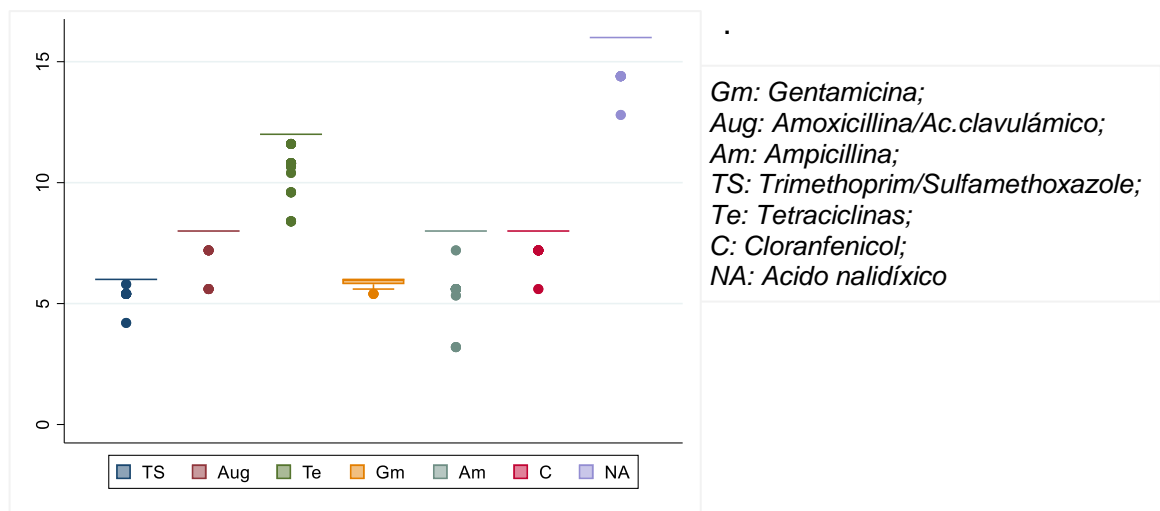


Figura 25: Resistencias nivel establecimiento tomando valor medio en muestreo de 2019

A nivel establecimientos, en el estudio actual no se identificó ningún establecimiento con valor de resistencia (figura 25), y en 2006 se identificaron establecimientos con valores de R para 2 de los ATM en comparación: tetraciclina 0.064% de R y ampicilina con 1.13% de R; y sólo para la tetraciclina encontraron diferencias significativas según el sistema productivo.

5.2.3- ESTIMACIÓN DE LA PREVALENCIA DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS UTILIZANDO EL PUNTO DE CORTE EPIDEMIOLOGICO (ECOFF)

Como se describió en el capítulo 1 y 4, se tomó la referencia del grupo de expertos (Magiorakos et al., 2012) para hacer el análisis de los resultados. Ahora para realizar la interpretación de estos ATM se usó el valor de la MIC que corresponde al punto de corte epidemiológico (ECOFF) y para comparar los resultados con el reporte de EFSA 2017 (EFSA, 2019b) se incluyó al ATM ácido nalidixico al análisis y de esa forma quedan 26 ATM.

En el cuadro XXIII se muestra un diagrama tipo squashtogram donde se puede observar la distribución de los valores de MIC para los 26 ATM considerados (valores crudos).

Cuadro XXIII: Diagrama de resultados de MIC con interpretación usando el punto de corte epidemiológico

Importancia OMS	Clase segun OIE	Antimicrobiano	ECOFF	MIC (µg/mL): % de 1180 aislados											% aislados Resistentes
				R (>)	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64		
2	Ac. Fosfónico	Fosfomicina	4									99.4	0.5	0.1	0.6
2	Aminoglucósidos	Amicacina	8					97.9	2.0	0.1	0.0				2.1
2	Aminoglucósidos	Gentamicina	2			95.4	4.6	0.0	0.0						4.6
2	Aminoglucósidos	Tobramicina	4			95.9	4.1	0.0	0.0						0.0
3	Anfenicol	Cloranfenicol	16					99.4	0.5	0.1					0.1
3	Cefaloporinas 1-2	Cefoxitin	8					99.7	0.2	0.1					0.3
3	Cefaloporinas 1-2	Cefuroxima	8				89.2	10.1	0.7	0.0					0.7
1	Cefaloporinas 3-4	Cefepima	0.125		99.7	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0					0.3
1	Cefaloporinas 3-4	Cefotaxima	0.25		99.8	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			0.2
1	Cefaloporinas 3-4	Ceftazidima	0.5		99.2	0.6	0.2	0.0	0.0	0.1					0.8
2	Penicilinas	Amoxicilina/ Ac. clavulámico	8					99.5	0.3	0.3					0.5
2	Penicilinas	Ampicilina	8					98.5	0.1	1.4					1.5
2	Penicilinas	Ampicilina/ Sulbactam	8					99.2	0.6	0.3					0.8
2	Penicilinas	Aztreonam	0.25		99.0	0.0	0.6	0.1	0.1	0.3					1.0
2	Penicilinas	Doripenem	0.125		99.5	0.2	0.3	0.1							0.5
2	Penicilinas	Ertapenem	0.06		99.5	0.1	0.4								0.5
2	Penicilinas	Imipenem	0.5		99.7	0.3	0.0	0.0	0.1						0.3
2	Penicilinas	Meropenem	0.125		99.7	0.0	0.1	0.0	0.2						0.3
2	Penicilinas	Piperacilina/ Tazobactam	8					99.7	0.0	0.0	0.2	0.1			0.3
1	Polipéptido cíclico	Colistina	2			97.9	1.5	0.6							2.1
1	Quinolonas	Ciprofloxacina	0.064		99.3	0.1	0.3	0.3							0.7
1	Quinolonas	Acido Nalidixico	16						99.4	0.6					0.6
3	Sulfonamidas + diaminoprimidina	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	0.25			99.2	0.1	0.7							0.8
3	Tetracilinas	Minocyclina	4				99.1	0.6	0.3						0.9
3	Tetracilinas	Tetracilinas	8				96.5	0.4	3.1						3.1
2	Glicicilina	Tigecyclina	1			99.9	0.1	0.0							0.1

Importancia OMS: 1=máxima prioridad de importancia crítica; 2=resto de importancia crítica; 3=muy importantes; 4=importantes; MIC: concentración inhibitoria mínima (el valor debajo de cada columna corresponde al porcentaje de aislados sin proyectar con ese resultado); ECOFF R (>): concentración inhibitoria mínima para categorizar aislado resistente si es mayor al valor de la columna

Con igual diseño que el anterior diagrama pero usando los valores del ECOFF, ahora se coloreó en celeste los que no tienen interpretación, en verde los que se interpretan como sensibles, y en rojo los R; finalmente a la derecha del cuadro están los porcentajes de aislados se interpretan como R para cada ATM (el resultado del pocillo de menor concentración es el valor menor a igual al dato de la columna, y el de mayor valor es mayor al valor de la columna anterior).

Análisis completo - ECOFF – 15 ATM y 7 ATM:

Luego de eliminar los ATM que tenían resultados sin interpretación (mínima concentración del panel con valor superior al ECOFF) se realizó el análisis de los resultados de sensibilidad para los 15ATM restantes con la misma metodología que se utilizó para el análisis con PCC. Posteriormente se replicó la rutina para una selección de 7 ATM concordantes con los que se utilizan en el primer panel de EFSA para establecer la base de comparación simplemente. El resultado de ambos análisis se detalla en el cuadro XXIV y muestra los resultados agrupados según la peor condición.

Se muestran los valores individuales de los ATM y al final del cuadro están las únicas tres categorías según expertos que tenían más de un ATM con los datos agrupados. Con los 15 ATM se evaluaron 11 diferentes categorías según expertos.

Cuadro XXIV: Resultados de RAM usando ECOFF para 15 y 7 ATM en orden decreciente de prevalencia a nivel animal

	Código OMS Imp. crítica	MUESTREO ACTUAL - 15 ATM - 10 animales (%)										MUESTREO ACTUAL 7 ATM- 10 animales (%)			
		ANIMAL (%)					ESTABL. (%)					ANIMAL (%)		ESTABL. (%)	
		Preval.	EE	Prevalencia			Preval.	EE	Prevalencia			Preval.	EE	Preval.	EE
				Gan.	Lech.	Corral			Gan.	Lech.	Corral				
Sensible		87.3	1.3	88.5	89.8	80.8	37.39	5.1	38.1	25	12.5	89.9	1.3	44.5	5.2
Una categoría Resistente		11.2	1.3				52.5	5.2				8.9	1.3	49	5.2
Dos categorías Resistente		0.85	0.3				8.2	2.9				0.91	0.4	6.1	2.5
Multiresistente		0.57	0.2	0.1	0	3.3	1.8	1.1	1.2	0	29.1	0.28	0.16	0.4	0.1
Total resistencias (media)		0.15	0.02	0.13	0.12	0.313	0.729	0.08	0.7	0.83	1.83	0.15	0.02	0.73	0.08
80% animales sensibles							84.1	3.8	84.5	91.7	62.5			92.2	2.7
Resistente a OMS1		2.6	0.7				19.3	4.1				2.6	0.7	19.35	4.1
Resistente a OMS2		7.4	1				36.0	5				5.5	0.9	28.92	4.7
Resistente a OMS3		2.6	0.7				7.2	2.7				1.9	0.6	7.26	2.7
Gentamicina	2	4.9	0.9				32.5	4.9				4.9	0.94	32.5	4.8
Tetraciclinas	3	2.7	0.7	1.6	3	8.8	12.9	3.4	11.9	25	50	2.65	0.71	12.9	3.4
Colistina	1	2	0.5				15.8	3.8	15.5	8.3	33.3	2	0.5	15.8	3.8
Amicacina	2	1.8	0.5				12.1	3.4							
Ampicilina	2	1.4	0.5	0.7	2.5	5.5	5.7	2.2	4.7	16.7	41.7	1.4	0.5	5.71	2.2
Minocyclina	3	1.2	0.6				5.3	2.2	4.7	8.3	25				
Amoxicilina/ Ac. clavulámico	2	0.91	0.4				5.9	2.5							
Ampicilina/ Sulbactam	2	0.71	0.3	0.3	0	3.3	2.9	1.6	2.4	0	25				
Cefuroxima	3	0.64	0.25				7.1	2.7							
Acido Nalidixico	1	0.61	0.35				5.8	2.5				0.61	0.3	5.8	2.5
Piperacilina/ Tazobactam	2	0.22	0.14				2.4	1.6							
Cefoxitin	3	0.18	0.14				2.4	1.6							
Cloranfenicol	3	0.12	0.12	0	0	0.84	0.09	0.08	0	0	4.1	0.12	0.12	0.09	0.07
Tigecyclina	2	0.005	0.01				0.09	0.08	0	0	4.2	0.005	0	0.09	0.07
Tobramicina	2	0	0				0	0							
Aminoglucósidos	2	6	0.9				38.6	5.1							
Penicilina c/inhibidor Bactamasa	2	1.4	0.5				7.5	2.7	7.1	0	25				
Tetraciclina	3	2.9	0.7				14	3.5	13.1	25	50				

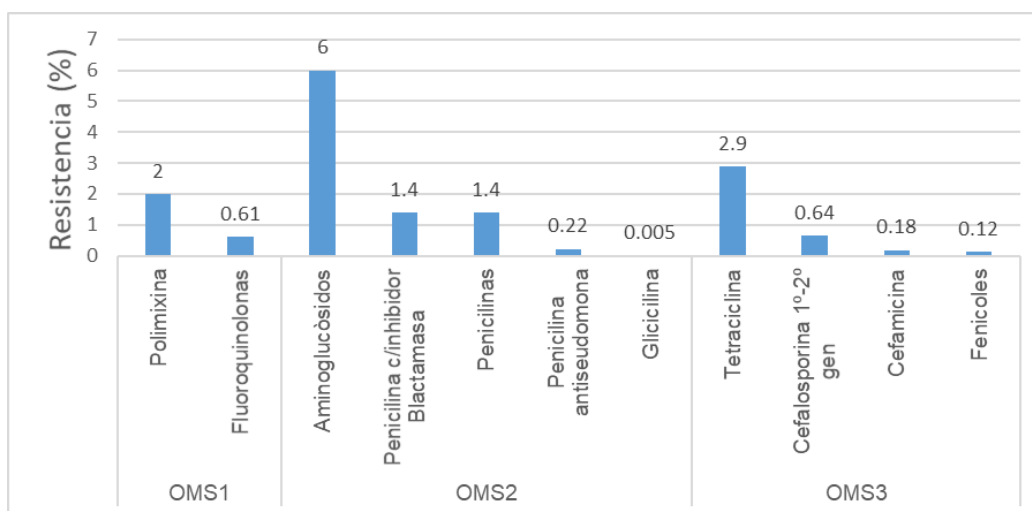
EE: error estándar; Gan: ganadería; Lech: lechería: preval.; prevalencia; establ.: establecimiento; ATM: antimicrobiano; OMS 1: Importancia crítica - máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante; celdas en gris indican hay diferencia entre estratos y se indican los valores para los 15 ATM.

Un $87.3 \pm 1.3\%$ de los animales resultaron sensibles a los 15 ATM (pansensibles), con diferencias entre estratos ($p < 0.05$) siendo en corral el menor porcentaje. A nivel establecimiento resultó en un $37.4 \pm 5.1\%$ con igual tendencia en los corrales. Al considerar un 80% de animales sensibles para categorizar al establecimiento sensible se duplica el porcentaje de establecimientos sensibles.

Agrupando según categorías de expertos, el $11.2 \pm 1.3\%$ de los animales presentó R sólo a una categoría de ATM; y el $0.57 \pm 0.2\%$ fue MDR; a nivel establecimiento por la PC queda en $52.5 \pm 5.2\%$ y $1.8 \pm 1.1\%$ respectivamente.

A nivel animal las R categorizadas según el criterio OMS (figura 26) mostró el mayor porcentaje para la categoría OMS2 con $7.4 \pm 1\%$. La categoría con mayor prevalencia fue la de los aminoglucósidos con $6.0 \pm 0.9\%$, y le siguen las

tetraciclinas con $2.9 \pm 0.7\%$, y las polimixinas con $2.0 \pm 0.5\%$; el resto de los ATM presentaron R menor al 2% a nivel animal. A nivel establecimiento se mantienen estas tres categorías con los mayores porcentajes.



OMS 1: *Importancia crítica - máxima prioridad*; OMS 2: *Resto de importancia crítica*; OMS 3: *Muy importante*

Figura 26: Resistencias para los 15 ATM según criterio OMS

Previo a realizar el análisis de los datos con los criterios de EFSA se realizó el análisis anterior con los 7 ATM que se usaron para comparar con EFSA; de esta forma se tiene un dato intermedio para de alguna forma interpretar con más elementos los resultados (cuadro XXIV).

El $89.9 \pm 1.3\%$ de los animales resultaron sensibles a los 7 ATM; a nivel establecimiento representan un $44.5 \pm 5.2\%$, y ambos resultados mostraron diferencias entre estratos ($p < 0.05$). El $8.9 \pm 1.3\%$ de los animales presentó R simples y el 1.19% fueron múltiples; a nivel establecimientos representan un 49% y 6.5% respectivamente.

Cerca del 60% de las R a nivel animal categorizadas según el criterio OMS por la PC fueron OMS2, y el resto en partes iguales para OMS1 y OMS3. Las tres categorías más prevalentes fueron los aminoglucósidos, las tetraciclinas y las polimixinas.

Análisis usando el criterio EFSA - ECOFF – 7 ATM:

En los criterios de EFSA se define analizar 170 aislados de cada tipo de muestra; y éstas deben provenir de un muestreo representativo y proporcional a la población objetivo y que represente el 60-80% de la misma. Se debe analizar sólo una aislado por unidad epidemiológica (misma procedencia y manejo de animales), que en este caso correspondería al establecimiento. El reporte de la información debe ser a nivel país y no estar agregada ni ponderada; se debe reportar la ocurrencia de R

como el porcentaje de aislados R/aislados analizados (EFSA, 2019b, 2019a; EFSA a, 2012).

Para poder luego establecer una comparación con los resultados de vigilancia que presentan en la Unión Europea se analizaron los datos obtenidos en el muestreo tratando de homogeneizar los criterios con los de EFSA, y para esto se seleccionaron solamente 7 ATM del panel que coinciden y se consideró sólo el primer animal registrado de cada establecimiento. El resultado expresado en el cuadro como prevalencia resulta del porcentaje de muestras con la característica sobre las muestras analizadas y se proyectan a la población ya que la representatividad de los estratos no era proporcional en nuestro caso (cuadro XXV).

Cuadro XXV: Resistencias usando criterio EFSA

	Código OMS Imp. crítica	MUESTREO ACTUAL criterio EFSA (%)	
		Preval.(%)	EE
Sensible		91.5	2.9
Una categoría Resistente		8.5	2.8
Dos categorías Resistente		0	0
Multiresistente		0	0
Total resistencias (media)		0.085	0.028
80% asnimales sensibles			
Resistente a OMS1		4.7	2.2
Resistente a OMS2		2.6	1.6
Resistente a OMS3		1.1	1.1
Gentamicina	2	2.7	1.6
Cloranfenicol	3	0	0
Ampicilina	2	0	0
Colistina	1	3.6	1.9
Acido Nalidixico	1	1.2	1.1
Tetraciclina	3	1.2	1.1
Tigeciclina	2	0	0

EE: error estándar; Gan: ganadería; Lech: lechería; preval.; prevalencia; *OMS 1: Importancia crítica - máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante*

El $91.5 \pm 2.9\%$ de los animales resultaron sensibles a los 7 ATM SDE. El $8.5 \pm 2.8\%$ de los animales presentó R simples y no se encontraron MDR. La media del total de R por animal fue de 0.085 ± 0.028 .

Las R categorizadas según el criterio OMS mostraron el mayor porcentaje para la categoría OMS1 con $4.7 \pm 2.2\%$ SDE, y le sigue la categoría OMS2 con $2.6 \pm 1.6\%$ con diferencias entre estratos, con mayor porcentaje en lechería (16.7%) y corral (8.3%) que en ganadería. Los dos ATM más prevalentes fueron colistina y

gentamicina, y este último fue el único con diferencias entre estratos y es el que da la diferencia por estratos de OMS2.

Finalmente se armó un cuadro comparativo con todos los resultados de ECOFF de este muestreo y se colocan los de EFSA al final para facilitar la discusión (cuadro XXVI).

Cuadro XXVI: Cuadro comparativo resultados usando ECOFF.

	Código OMS Imp. crítica	MUESTREO ACTUAL - 15 ATM - 10 animales (%)				MUESTREO ACTUAL 7 ATM- 10 animales (%)				MUESTREO ACTUAL - 7 ATM - 1 animal (criterio EFSA) (%)		RESISTENCIA en EFSA MS (%) (N=1893)
		ANIMAL (%)		ESTABL. (%)		ANIMAL (%)		ESTABL. (%)				
		Preval.	EE	Preval.	EE	Preval.	EE	Preval.	EE	Preval.	EE	
Sensible		87.3	1.3	37.39	5.1	89.9	1.3	44.5	5.2	91.5	2.9	56.7
Una categoría Resistente		11.2	1.3	52.5	5.2	8.9	1.3	49	5.2	8.5	2.8	15.7
Dos categorías Resistente		0.85	0.3	8.2	2.9	0.91	0.4	6.1	2.5	0	0	
Multiresistente		0.57	0.2	1.8	1.1	0.28	0.16	0.4	0.1	0	0	27.3
Total resistencias (media)		0.15	0.02	0.729	0.08	0.15	0.02	0.73	0.08	0.085	0.028	
80% animales sensibles				84.1	3.8			92.2	2.7			
Resistente a OMS1		2.6	0.7	19.3	4.1	2.6	0.7	19.35	4.1	4.7	2.2	
Resistente a OMS2		7.4	1	36.0	5	5.5	0.9	28.92	4.7	2.6	1.6	
Resistente a OMS3		2.6	0.7	7.2	2.7	1.9	0.6	7.26	2.7	1.1	1.1	
Gentamicina	2	4.9	0.9	32.5	4.9	4.9	0.94	32.5	4.8	2.7	1.6	3.9
Tetraciclinas	3	2.7	0.7	12.9	3.4	2.65	0.71	12.9	3.4	1.2	1.14	43.8
Colistina	1	2	0.5	15.8	3.8	2	0.5	15.8	3.8	3.6	1.94	0.8
Amicacina	2	1.8	0.5	12.1	3.4							
Ampicilina	2	1.4	0.5	5.7	2.2	1.4	0.5	5.71	2.2	0	0	29
Minociclina	3	1.2	0.6	5.3	2.2							
Amoxicilina/ Ac. clavulámico	2	0.91	0.4	5.9	2.5							
Ampicilina/ Sulbactam	2	0.71	0.3	2.9	1.6							
Cefuroxima	3	0.64	0.25	7.1	2.7							
Acido Nalidixico	1	0.61	0.35	5.8	2.5	0.61	0.3	5.8	2.5	1.2	1.14	6.7
Piperacilina/ Tazobactam	2	0.22	0.14	2.4	1.6							
Cefoxitin	3	0.18	0.14	2.4	1.6							
Cloranfenicol	3	0.12	0.12	0.09	0.08	0.12	0.12	0.09	0.07	0	0	14.4
Tigecyclina	2	0.005	0.01	0.09	0.08	0.005	0	0.09	0.07	0	0	0
Tobramicina	2	0	0	0	0							
Aminoglucósidos	2	6	0.9	38.6	5.1							
Penicilina c/ inhibidor Bactamasa	2	1.4	0.5	7.5	2.7							
Tetraciclina	3	2.9	0.7	14	3.5							

EE: error estándar; Gan: ganadería; Lech: lechería; preval.: prevalencia; establ.: establecimiento; ATM: antimicrobiano; OMS 1: Importancia crítica - máxima prioridad; OMS 2: Resto de importancia crítica; OMS 3: Muy importante; celdas en gris indican hay diferencia entre estratos y se indican los valores para los 15 ATM.

5.3- FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA

Se busca identificar factores asociados con la resistencia antimicrobiana que permitan conocer mejor su comportamiento en las condiciones productivas del Uruguay.

Se intenta identificar factores a nivel establecimiento asociados a la RAM realizando análisis en principio univariado para continuar con un modelo multivariado con una variable de respuesta que represente cierto nivel o característica en cuanto a RAM a partir de los resultados usando el punto de corte clínico (sub-capítulo 5.2), y las variables independientes (potenciales predictores) tomadas de la encuesta predial y presentadas en el sub-capítulo 5.1. Se tomó en cuenta el diseño del muestreo al momento del análisis, por lo que los resultados se ajustaran a la población objetivo.

Análisis univariado

Para este análisis se seleccionaron dos variables de resultados globales a nivel de establecimiento como variables dependientes para los análisis de regresión logística (función *logistic* de STATA): al menos una resistencia por establecimiento, y establecimiento multirresistente (MDR).

Para una variable de respuesta dicotómica (presencia=1 / ausencia del suceso=0) se utilizó regresión logística; y cada establecimiento fue categorizado según presente o no la condición de la variable de respuesta (considerando el test de susceptibilidad a los 25 ATM usando los PCC) y esto se usó como variable dependiente. Se realizó análisis univariado con las variables de la encuesta y se presentan aquellas variables con $p < 0.05$, con sus odds ratio y error estándar.

Análisis multivariado:

Para este análisis usamos las mismas consideraciones que en el univariado (categorización del establecimiento, resultados, función y variables).

Incluimos en el estudio todas las variables asociadas con $p \leq 0.2$ del análisis univariado y colinearidad $<70\%$ para incluirlas en el análisis multivariado de forma de evaluar cómo afectan las covariables o factores con sus diferentes niveles en el resultado. La selección para el modelo se realizó en forma “forward”.

- **Modelo: al menos una resistencia**

Para este modelo cada establecimiento fue categorizado dicotómicamente según presente o no al menos un animal con alguna resistencia.

Análisis univariado:

Luego del análisis univariado quedan 7 variables con significancia estadística de $p \leq 0.2$ (cuadro XXVII) para luego incluir en el modelo de regresión multivariable, de las cuales 3 tenían $p < 0.05$ (figura 27). (El detalle de los factores con sus valores de OR, error estándar, valor p y F están en el cuadro)

Cuadro XXVII: Análisis de regresión logística: al menos una resistencia (univariable y multivariable)

	FACTOR	NIVEL o UNIDAD	n	OR	EE	p nivel / global	F
UNIVARIABLE (significativos 0.2)	raza predominante de carne	no	110	base (p global)		0.054	3.79
		si		5.32	4.57	0.054	
	tiene al día planilla sanitaria	no	113	base (p global)		0.055	3.76
		si		0.14	0.14	0.055	
	tamaño predio (bovinos total por estrato)	chico	120	base (p global)		0.069	2.75
		mediano		2.28	1.2	0.119	
		grande		3.39	1.8	0.024	
	lote muestreado recibió ATM	no	120	base (p global)		0.125	2.38
si			4.6	4.56	0.125		
UNIVARIABLE (significativos 0.05)	intensificación ganadera (categorización de bovinos por hectárea por estratos)	baja	120	base (p global)		0.006	5.28
		media		2.62	1.4	0.078	
		alta		6.22	3.5	0.001	
	registra el uso de ATM	no	111	base (p global)		0.037	4.45
		si		2.58	1.16	0.037	
dotación ganadera por hectárea	bovinos por hectárea	120	1.01	0.0056	0.039	4.35	
MULTIVARIABLE	intensificación ganadera (categorización de bovinos por hectárea)	baja	120	base (p global)		0.006	5.28
		media		2.62	1.4	0.078	
		alta		6.22	3.5	0.001	
	Intercepto			0.42	0.16	0.03	

n: número de establecimientos; OR: odds ratio; EE: error estándar; p: valor de significancia estadística ATM: antimicrobiano; F: *valor del estadístico de Fisher*

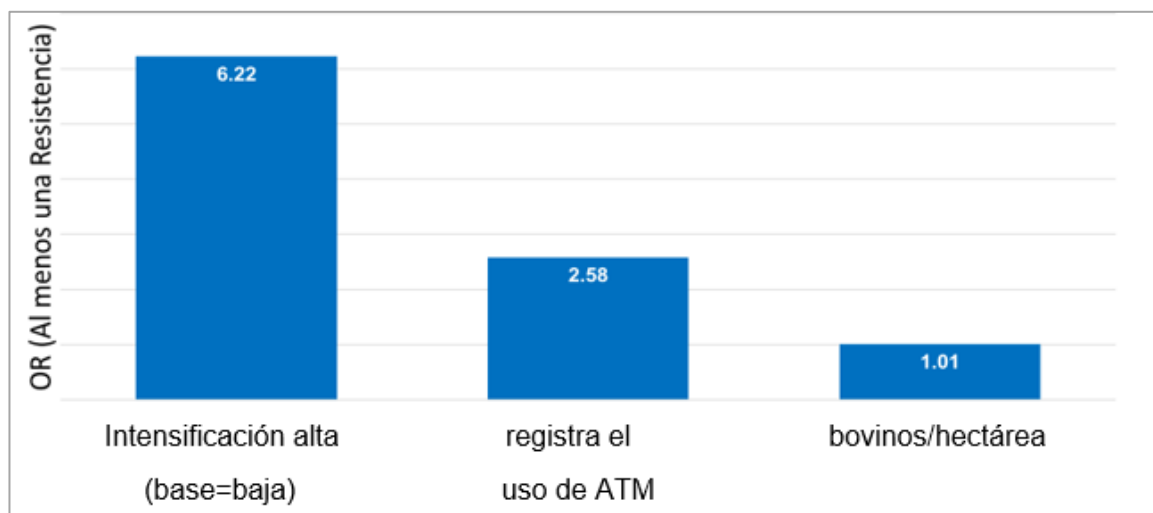


Figura 27: Análisis de regresión al menos una resistencia univariable con $p < 0.05$

Habíamos visto que el porcentaje de predios con alguna resistencia fue de 51.6 ± 5.2 (IC 95 % 41.3 – 61.8) sin diferencias entre estratos.

Según el análisis univariable los establecimientos que presentaron alguna resistencia mostraron

asociación estadísticamente significativa y positiva con las variables: bovinos/ha (OR 1.01 ± 0.005 , $p < 0.05$) que agrupándolo en terciles en la variable intensificación (cuadro XXVIII) da un OR de 6.22 ± 3.4 para los de intensificación mayor (tiene 6 veces más riesgo de presentar alguna resistencia comparados con los de baja intensificación); y con el registro del uso de los ATM con un OR de 2.58 ± 1.16 (si el predio registra el uso de los ATM tiene casi 3 veces más chances de presentar alguna resistencia).

Cuadro XXVIII: Intensificación ganadera

	Intensificación ganadera (bovinos/hectárea por estratos)		
	baja	media	alta
Ganadería	< 0.61	0.61 - 1.09	> 1.09
Lechería	< 1.04	1.04 - 1.39	> 1.39
Corral	< 46.8	46.8 - 98.6	> 98.6

Análisis multivariado:

Luego del análisis univariado se modela la regresión multivariable con las 7 variables con $p \leq 0.2$ del cuadro XXVII.

El modelo final incluyó únicamente la variable intensificación ganadera (bovinos/hectárea categorizada en terciles por estrato). Se logró un modelo significativo estadísticamente ($p < 0.05$) con 120 observaciones contempladas y un valor de F de 5.3. el detalle de los valores de odd ratios, error estándar y valores de p están en el cuadro anterior. La interpretación es igual que en análisis univariado: un predio de intensificación alta tuvo un OR de 6.22 ± 3.4 (tiene 6 veces más riesgo de presentar alguna resistencia comparados con los de baja intensificación).

- **Modelo: multiresistencia**

En este segundo modelo se utilizó como variable de respuesta dicotómica la condición del establecimiento de presentar multiresistencia en al menos un animal (categorización de establecimientos es: 0=no MDR; 1=MDR).

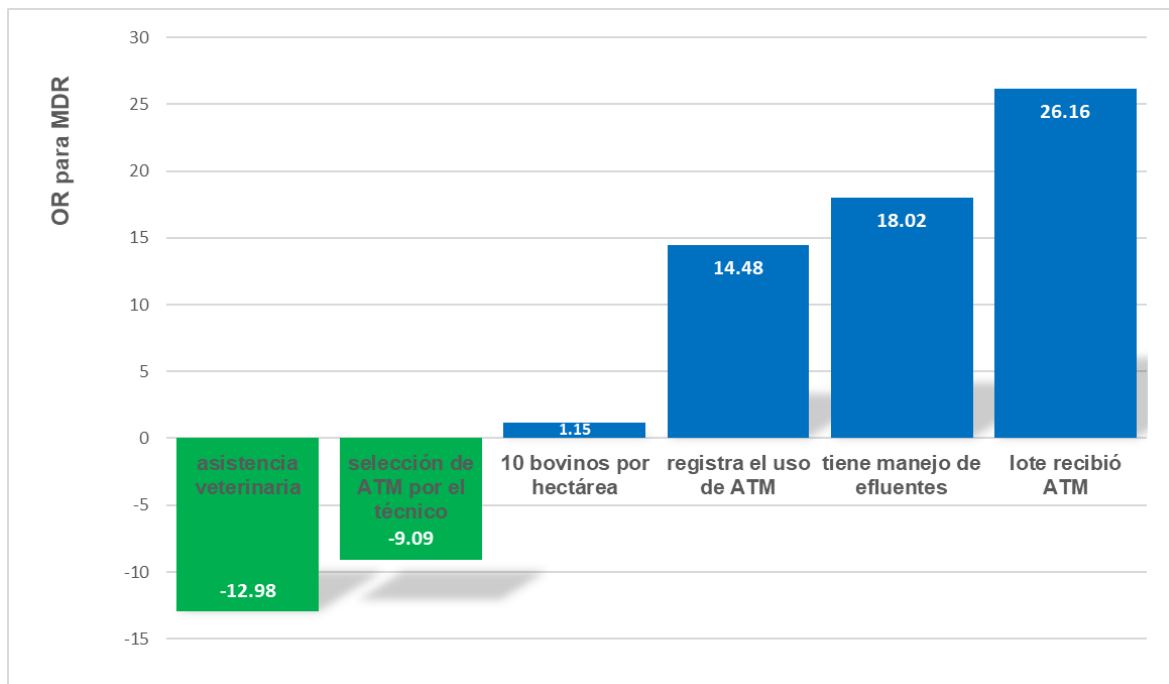
Análisis univariado:

Luego del análisis univariado quedan 10 variables con significancia estadística de $p \leq 0.2$ (cuadro XXIX) para luego incluir en el modelo de regresión multivariable, de las cuales 6 tenían $p < 0.05$ (figura 28). (El detalle de los factores con sus valores de OR, error estándar, valor p y F están en el cuadro)

Cuadro XXIX: Análisis de regresión logística: multiresistencia (univariable y multivariable)

	FACTOR	NIVEL o UNIDAD	n	OR	EE	p nivel / global	F
UNIVARIABLE (significativos 0.2)	mezcla diferentes orígenes	no	113	base (p global)		0.077	3.17
		si		5.05	4.59	0.077	
	tamaño predio (bovinos total por estrato)	chico	120	base (p global)		0.072	2.69
		mediano		0.68	0.08	0.024	
		grande		0.19	0.19	0.093	
	intensificación ganadera (categorización de bovinos por hectárea por estratos)	baja	120	base (p global)		0.095	2.41
		media		2.79	2.82	0.311	
		alta		0.19	0.18	0.085	
	no realiza cuarentena	no	113	base (p global)		0.138	2.23
		si		4.31	4.21	0.138	
UNIVARIABLE (significativos 0.05)	tiene manejo de efluentes	no	107	base (p global)		0.003	9.01
		si		18.02	17.35	0.003	
	lote muestreado recibió ATM	no	120	base (p global)		0.004	8.67
		si		26.16	29.01	0.004	
	dotación ganadera por hectárea	10 bovinos por hectárea	120	1.15	0.06	0.009	7.14
	registra el uso de ATM	no	111	base (p global)		0.018	5.73
		si		14.48	16.16	0.018	
	asistencia veterinaria	no	119	base (p global)		0.019	5.65
		si		0.08	0.08	0.019	
	selección de ATM por el técnico	no	111	base (p global)		0.030	4.83
si			0.11	0.11	0.030		
MULTIVARIABLE	Modelo		120			0.000	17.82
	lote muestreado recibió ATM	no		base			
		si		29.335	32.390	0.003	
	dotación ganadera por hectárea	10 bovinos por hectárea		1.186	0.052	0.000	
	Intercepto			0.006	0.002	0.000	

n: número de establecimientos; OR: odds ratio; EE: error estándar; p: valor de significancia estadística ATM: antimicrobiano; F: valor del estadístico de Fisher



ATM: antimicrobiano; OR: odds ratio

Figura 28: Análisis de regresión MDR univariable con $p < 0.05$

Habíamos visto que el porcentaje de predios con multiresistencia fue de $1.8 \% \pm 1.1$ con diferencias entre estratos (1.2 en ganadería y 29.2 en corrales) ($p < 0.05$).

Según el análisis univariable los establecimientos que presentaron MDR mostraron asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) y positiva con las variables: lote recibió ATM (OR 26.16); manejo de efluentes (tiene estercolero, piletas o riego con efluentes) (OR 18.02); registro del uso de ATM (OR 14.48); y dotación ganadera por cada 10 bovinos/hectárea (OR 1.15: por cada 10 bovino/ha de aumento se incrementan las chances de presentar MDR en 1.15 veces).

Mostraron asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) y negativa con las variables: selección del ATM por el técnico (OR 0.109: si el veterinario es quién selecciona los ATM a suministrar en el predio tiene 9.09 chances menos de presentar MDR que un predio en donde es otro que los selecciona); y tener asistencia técnica veterinaria (OR 0.077: el predio tiene casi 13 chances menos de presentar MDR que uno que no la tiene).

Análisis multivariado:

Luego del análisis univariado se modela la regresión multivariable con las 10 variables con $p \leq 0.2$ del cuadro XXIX.

El modelo final incluyó las variables dotación ganadera por hectárea (variable transformada para estudiar cambios cada 10 bovinos por hectárea) y haber recibido ATM el lote muestreado. Se logró un modelo significativo estadísticamente ($p <$

0.05) con 120 observaciones contempladas y un valor de F de 17.82, y el detalle de los valores de odd ratios, error estándar y valores de p están en el cuadro anterior.

La interpretación es similar al análisis univariado, pero con variaciones de los valores dado el ajuste entre variables que ahora se considera. Un predio en donde se suministra ATM al lote muestreado tuvo 29.33 veces más chances de presentar MDR que uno que no suministró ATM; y por cada 10 bovinos/hectárea de aumento en el predio las chances de presentar MDR aumentan 1.18 veces.

CAPÍTULO 6- DISCUSIÓN

6.1- CARACTERIZACIÓN DE LOS PREDIOS PRODUCTORES DE CARNE BOVINA DEL URUGUAY EN LA ETAPA DE TERMINACION

Características generales del predio y manejo:

Los entrevistados (46% propietarios) por su rol en los establecimientos en todos los casos se trata de quienes conocen mejor su funcionamiento y manejo, lo que aporta confiabilidad a los datos recabados. Este valor es menor al reportado en la encuesta del MGAP de 2015 referente a enfermedades reproductivas donde el propietario como entrevistado estaba en un 57,8% en predios lecheros (Suanes et al., 2021) y en un 65,1% en predios ganaderos (Macchi et al., 2018). Un elemento trascendente y que puede explicar esta diferencia es que en esta oportunidad se está muestreando un sector muy específico de la cadena cárnica que significa menos del 10% de la población de los establecimientos ganaderos del Uruguay los cuales, si son contemplados en su mayoría, en las referencias anteriores

La diferencia reportada en cuanto a los registros productivos/reproductivos (mayor en corrales y asociado al tamaño del predio) refuerzan el concepto de que sean un indicador del profesionalismo en cuanto al manejo del establecimiento. Por otro lado, esta tendencia coincide con un trabajo de Vidart, (2021) sin publicar, donde reportan que el porcentaje de registros de enfermedades es mayor en los estratos más grandes y generalmente es en formato electrónico también.

En cuanto al personal que realiza el cuidado y manejo de los animales, en tambos y corrales hubo mayor presencia de veterinarios. En estos sistemas productivos más intensivos hay exigencias y tareas de rutina que hacen que su presencia sea muy frecuente y podrían explicar esta diferencia.

En cuanto a las prácticas de cuarentena y mantener separados por origen a los animales al ingreso al establecimiento, menos del 50 % de los establecimientos las realiza y significan un riesgo de introducción o de diseminación extra predial de cepas R. Llama la atención que los corrales no se diferencien en este dato ya que sus condiciones de manejo lo harían más fácil dada la capacidad de separar por corrales y más necesario desde el punto de vista sanitario.

La cercanía de un frigorífico, tambo o corral en mayor proporción en lechería podría estar relacionado a la presencia de cuencas lecheras que nuclea geográficamente a la gran mayoría de los tambos en el entorno de los centros poblados.

El uso de pozos y represas, y el manejo de efluentes en la encuesta responde a la distribución geográfica, regulaciones y requisitos ambientales diferentes según el tipo de explotación. Varios autores enfatizan la importancia de los efluentes como fuentes de diseminación y contaminación ambiental con genes de RAM, ya sea por

el drenaje hacia las fuentes de agua como por su uso para riego y fertilización (Cameron & McAllister, 2016; Massé et al., 2021; Silbergeld et al., 2008). En Uruguay existen regulaciones a la hora de habilitar tanto los tambos como los corrales y se contempla la ubicación de las fuentes de agua y drenajes del campo, con esto se mitigaría el mayor riesgo que muestran los corrales y tambos dado sus mayores porcentajes que en la ganadería.

El tamaño del rodeo y el contacto estrecho entre animales, lo estimamos a través de la dotación y los bovinos/hectárea ganadera que como se esperaba es mucho mayor en corrales que en los otros estratos; la carga instantánea por otra parte, puede sea similar entre tambos y corrales, pero la diferencia es que tiene carácter permanente en corrales.

Referido a la asistencia técnica veterinaria, la existencia en el 100% de los corrales y lecherías se justifica claramente por la exigencia en corrales de tener a un veterinario acreditado para hacer las certificaciones rutinarias mientras exista ganado encerrado; y en las lecherías para realizar la refrendación anual. Si comparamos estos resultados con la encuesta del MGAP del 2015 ya citada no hay grandes cambios: en 2015 reportaron que había asistencia técnica veterinaria en el 93.8% de los predios ganaderos y en el 95.6% de los lecheros, y a su vez la distribución entre permanente y puntual se mantienen similar al dato actual.

Uso de Antimicrobianos:

El uso de ATM está asociado con el aumento de la RAM, impactando sobre la presión de selección y el ambiente. En ese sentido relevamos las certificaciones de predios y el uso de los ATM.

Existen en Uruguay certificaciones de predios que incluyen restricciones o condiciones sobre el uso de ATM como el Programa de Carne Natural Certificada, la certificación Never-Ever 3, carne orgánica y otras certificaciones particulares. La cantidad de predios certificados, mostraron un máximo de 45% (en corral) y un mínimo de 20% (en ganadería).

La pregunta en cuanto a los ATM se usan de rutina, su propósito y estimación de dosificación tenía el propósito de estimar el uso de ATM como factor de exposición frente a la RAM. Esta información referida a la cuantificación y propósito del uso no se pudo utilizar porque resultó ser muy incompleta al no saberse lo que efectivamente es administrado a los animales y en consecuencia la interpretación resulta muy difícil.

Para ponderar según su importancia en salud humana a los ATM, se usó la categorización OMS del 1 al 4. En cuanto a las clases declaradas, se destacan las categorías OMS1 y 2 ya que son consideradas de importancia crítica para medicina humana. Las recomendaciones internacionales sugieren exista un control y uso responsable de los mismos, y que se alcance un equilibrio adecuado entre las

necesidades de salud animal y humana, especialmente donde existe solapamiento entre las listas de importancia crítica de OIE y OMS (FAO/OMS/OIE, 2007). Esto ocurre en los macrólidos, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, quinolonas, penicilinas y aminoglucósidos.

Una cuarta parte de los predios declaró no usar ATM, pero de los que declararon alguno, el 23% usa alguno de importancia crítica para OMS (OMS1 y 2). Estos últimos tienen grandes diferencias entre estratos (67% lechería, 46% corral y 22% ganadería). Este valor es quizás llamativo, por lo que corresponde hacer el análisis del uso a nivel de clases de ATM, donde el mayor porcentaje fue para las tetraciclinas (87% global pero mayor en ganadería) que están en la categoría OMS3, y es muy utilizada en animales para consumo dado su amplia gama de aplicaciones y enfermedades que permite tratar (OIE, 2015). Le siguen en uso declarado los aminoglucósidos combinados con penicilinas (24%) y los macrólidos (4%), y esto está en concordancia con el uso que declara Uruguay a la OIE en función de los kilogramos de ATM inyectables importados en 2018 para animales de producción (no discrimina por especies destino) que fueron, en base al total declarado, de un 29% para los aminoglucósidos, 22% tetraciclinas y 18% para las penicilinas (datos sin publicar). Estas clases predominantes acompañan los resultados del último reporte de la OIE para Las Américas (OIE, 2021) donde las tetraciclinas, penicilinas y macrólidos son los notificados con mayores porcentajes. También coinciden con los datos de White (2019) que reporta que el uso de ATM en animales para consumo es principalmente de las clases: betalactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos y sulfas.

Llama la atención que el uso de ionóforos no se reportó en lecherías siendo que su uso es frecuente en las dietas de alta exigencia. Por otro lado, cuando se preguntó por los ATM usados de rutina la respuesta para ionóforos fue de un 14% en los corrales solamente (38% declararon usarlo en la pregunta específica) por lo que seguramente muchos no lo asocian como un ATM.

En cuanto a la planilla sanitaria y tener los registros sanitarios al día, aparece discordancia en los datos, ya que se reporta que la llevan al día, pero con un valor superior al del registro de los ATM (90% lleva al día la planilla sanitaria, pero sólo cerca del 56% registran el uso de ATM), por tanto, podría estar el reporte del no uso interfiriendo estos resultados.

Existe conciencia en el uso de ATM, en lechería el control de residuos es muy estricto y lleva a maximizar esfuerzos por la identificación del animal y registro del uso de dichos productos veterinarios con desvío de la leche descarte, cosa que se descuida si el tiempo de retiro es 0 o muy corto. En el trabajo de Vidart (comunicación personal) ya citado, evalúan este asunto preguntando si separan e identifican a los animales tratados, resultando que un 25% de los predios chicos separa el animal y un 75% lo identifica; pero en los grandes estas cifras son del 95 y 100% respectivamente.

En cuanto a las buenas prácticas en el uso de los ATM, se evaluó: el control del vencimiento de los biológicos; la persona a cargo de la toma de decisión para su implementación y para su aplicación; y el conocimiento de los conceptos de carencia y resistencia antimicrobiana. Los altos porcentajes de respuestas favorables indican que hay un buen nivel de conocimiento en el tema lo que contribuye a la concienciación en RAM.

La aplicación del ATM donde se involucra al veterinario fue de un 12,4% (mayor en corrales (45%) y en lechería (25%)). Vidart en su encuesta reporta para los tambos un valor un poco inferior (menor al 10%), siendo que en la gran mayoría de las veces es el tambero quién los suministra.

6.2- RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN EL GANADO Y LOS PREDIOS PRODUCTORES

Estimación de la prevalencia de resistencia a los antimicrobianos utilizando el punto de corte clínico y las categorías según expertos

A nivel animal (considerando diferencias entre estratos) más del 80% de las muestras resultaron pansensibles, siendo en ganadería el mayor porcentaje. Este valor con promedio global de 90.4% pasa a un 48% a nivel de establecimientos (sin diferencia entre estratos) cuando se considera al menos 1 animal R, o a 94% si considera al menos 2 animales R (80% o más animales sensibles por establecimiento) y se explica por la amplia dispersión de los animales con resistencia en los predios. Esto indirectamente es representativo del poco uso de los ATM, pues si se usaran más habría más presión de selección y encontraríamos clústeres de animales R en los establecimientos.

Las muestras pansensibles a nivel animal (90.4%) resultaron comparables con lo reportado en ganado de carne para Australia en 2013 (92%) (Barlow et al., 2015); y con un mejor valor que las reportadas para Estados Unidos en 2015 y 2018 (<62%) (NARMS, 2015, 2018), y en Canadá en 2018 en corrales (35%) (Government of Canada_CIPARS 2018, 2020). A nivel establecimiento reportaron en Chile para ganado de carne un porcentaje superior (89%) y bien diferente que en ganado lechero (14%) de establecimientos pansensibles (San Martín et al., 2005).

La cuantificación de R a nivel animal muestra mayor porcentaje en los corrales a excepción de 2 categorías R que no tiene diferencias entre estratos. A nivel establecimiento un 40% tuvo como peor condición 1 R, un 9% 2 R y tan solo un 1.82% de los predios tuvo algún animal multiresistente (siendo por estratos 0% en lechería y 29% en corrales).

Las MDR en ganado de carne a nivel animal fueron superiores al reporte de Australia (0%) (Barlow et al., 2015), pero menores a Estados Unidos (14%) (NARMS, 2018) y Canadá (30%) (Government of Canada_CIPARS 2018, 2020). A nivel establecimiento resultaron comparables con los datos de Chile (<3%) (San Martín et al., 2005).

Cuando hablamos de cantidad de R, no discriminamos en realidad al ATM y por tanto su relevancia, por lo que los categorizamos según los criterios de importancia de la OMS. A nivel animal las R estuvieron por debajo del 4% pero con diferencias entre estratos. Al pasar a nivel establecimiento ese 52% de establecimientos con alguna R se distribuye sin diferencias entre estratos con un 20.6% para categoría OMS1, 14.6% para la OMS2 y 16.4% para la OMS3 según la peor condición. Nuevamente los porcentajes de animales dentro del establecimiento son muy similares al dato por animal lo que demuestra su amplia distribución. Nos sorprende este 35% de resistencias asociadas a ATM del listado crítico de OMS (OMS1 mas OMS2), siendo se declaró su uso a nivel global en un 23% de los predios solamente (figura 13); esto estaría indicando que no es una simple correlación entre el uso y la R para un ATM, en donde están interviniendo seguramente otros factores más allá del uso de ATM, así como otros mecanismos de R.

Si bien las R para los ATM individualmente a nivel animal mostraron porcentajes en promedio menores al 3% y sobre ATM antiguos, para todos los ATM que presentaron diferencias entre estratos, los mayores porcentajes de R fueron en corrales, a excepción de la fosfomicina que fue mayor en lecherías. Los ATM que con mayor frecuencia presentaron R fueron las tetraciclinas, colistina y ampicilina; para gentamicina y tobramicina no se encontraron animales R, y para el resto de los ATM las prevalencias estuvieron por debajo del 1%. Las tetraciclinas con la mayor prevalencia de R concuerda con otros autores (Government of Canada_CIPARS 2018, 2020; Lundin et al., 2008; Massé et al., 2021; NARMS, 2015) y está en línea con el extenso uso reportado para el Uruguay y América Latina en animales (OIE, 2021).

Nuevamente al clasificar el establecimiento con AUA resistente estos porcentajes de R aumentan a nivel de establecimientos, y en orden decreciente de R fueron colistina, tetraciclina, cefuroxima y cloranfenicol. Es bien conocido que la suspensión del uso no se relaciona perfectamente con la reducción de su resistencia en el tiempo, no sorprende encontrar niveles de R en colistina porque tuvo su prohibición desde mayo 2019 (ya iniciado el muestreo).

Las tetraciclinas y polimixinas se han usado mundialmente en medicina humana, en veterinaria y en agricultura. Las tetraciclinas en otros países eran usadas como promotor de crecimiento, pero no es el caso de Uruguay, que los prohibió en bovinos y ovinos, y son en realidad de amplio uso en veterinaria dado su amplio espectro y relativo bajo costo (OIE, 2015). Las tetraciclinas presentan mecanismos de R variados entre los que se encuentran bombas de e-flujo y la protección

ribosomal como los más importantes, Los genes específicos (tet y otr) se encuentran en estructuras genéticas móviles (Martínez, 2018).

La tigeclina es un ATM muy relacionado a las tetraciclinas que está como una categoría aparte, pero es de uso exclusivo en medicina humana de último recurso. Si bien solamente 1 muestra fue R a tigeclina (en un corral de engorde); la aparición de R en un animal pone de manifiesto la transmisión entre nichos.

La colistina en animales fue ampliamente utilizada, principalmente en producción de cerdos, aves y terneros; y también se utiliza como promotor de crecimiento en algunos países. En humanos se había dejado de usar por su toxicidad, pero actualmente se lo usa para las cepas multiresistentes y por tanto cobra nuevamente relevancia conservar su eficacia. Tradicionalmente su R se la asociaba a mecanismos cromosómicos (de transmisión vertical) pero han aparecido mecanismos mediados por plásmidos (gen *mcr-1*) que impactan sobre su efectividad futura no sólo por estar en plásmidos transferibles, sino por su frecuente co-localización con otros genes de resistencia de importancia clínica (Martínez, 2018).

En cuanto a los patrones de resistencia, de los 106 animales que presentaron alguna resistencia un 85.8% fueron mono resistencias, donde predominaron las categorías de las tetraciclinas, penicilinas y polimixinas (colistina); un 7.5 % de los animales R fueron a 2 ATM y un 6.7% a tres o más ATM. En las resistencias múltiples predominan las combinaciones de tetraciclinas o penicilinas con otros ATM. Estas resistencias más frecuentes (tetraciclinas y penicilinas) parecen ser un reflejo del tiempo y frecuencia del uso de los ATM; y los genes que dan R a estos ATM se asocian generalmente con elementos genéticos móviles por lo que la co-selección es muy probable.

Estimación de la prevalencia de resistencia a los antimicrobianos utilizando el punto de corte epidemiológico (ECOFF)

Dado el rango de concentraciones del panel que utilizamos para el estudio, no pudimos analizar 11 de los ATM utilizando el ECOFF. Esto de cierta forma limita la interpretación ya que a diferencia del estudio usando el PCC donde sólo quedó una categoría de expertos sin evaluar, en este caso quedaron 6 sin evaluar dentro de las cuales están las cefalosporinas de 3^o y 4^o generación y las carbapenemas.

Comparando los resultados del análisis completo de ECOFF (con 15 ATM y los 10 animales del predio) con los del PCC, era de esperarse que los niveles de R fueran mayores con ECOFF, dado que el ECOFF tiene un valor de punto de corte generalmente menor al PCC como se puede observar claramente en el cuadro V. Debemos considerar que al no haberse podido analizar la misma cantidad de ATM quedaron en juego 2 factores de variación a considerar en nuestro caso, uno que aumenta y otro que reduce la sensibilidad en la detección fenotípica de RAM. A nivel animal fueron muy similares los valores de sensibilidad (87.3 vs 90.4%) y en

ambos casos con mayores R en corrales que en los otros estratos, pero a nivel establecimiento si se vio un leve aumento de las R (sensibilidad 37 vs 48%) en ECOFF con respecto a PCC respectivamente.

El patrón de R a nivel animal y establecimiento fueron similares pero un poco mayores las R simples con ECOFF: R simples a nivel animal aumentaron 3% y a nivel establecimiento 12%; las R múltiples se mantuvieron muy similar.

Las prevalencias de R para los tres ATM más frecuentes en PCC son iguales en ambos estudios (tetraciclina, colistina y ampicilina, dado que para la categorización de un animal R se usa el mismo valor de punto de corte); en ECOFF aparece como el ATM más prevalente la gentamicina con 4.9% que no había tenido ninguna muestra R con PCC (se explica por un menor valor de punto de corte en ECOFF, donde las muestras con interpretación de R intermedia en PCC pasan a ser R con ECOFF) ;y se reduce el porcentaje de R en cloranfenicol (explicado por un valor mayor del punto de corte en ECOFF).

Berge et al., (2010) reporta para Estados Unidos un menor porcentaje de muestras sensibles (44%), y similar (8%) de muestras con R simple; la tetraciclina también está dentro de los ATM con mayor presencia de R.

Ahora si comparamos el análisis con ECOFF de 15 ATM con el de 7 ATM (cuadro XXIV) considerando que se reduce a más de la mitad los ATM, no hay grandes diferencias. Los ATM con mayores prevalencias están en ambos, y para la categoría OMS1 son los mismos ATM; las diferencias más grandes se ven para los establecimientos con alguna R que resultó un 7% menor, sin mayores cambios en el porcentaje de animales R (en este caso los ATM que no se consideran de los 15 tenían una dispersión por establecimiento mayores, por lo que se altera la proporción a nivel establecimientos).

Finalmente, cuando comparamos el análisis de los 7 ATM con los 10 animales del predio con el análisis que usa los criterios de EFSA con 1 sólo animal por predio (cuadro XXVI) destaca la observación de que los valores se aproximan a nivel animal y esto se explica por el análisis realizado y a la amplia dispersión de R dentro de los establecimientos que ya veníamos reportando. En este caso las diferencias a nivel de los ATM individualmente se explican por esa razón y por el bajo porcentaje de resistencias en general. Por el efecto del azar, al seleccionar el primer animal de cada predio, en algunos casos resulta en menores porcentajes de prevalencia cuando justo no se selecciona alguno de los pocos animales con R, y a la inversa cuando aumentan los porcentajes. Con el criterio de EFSA se dejó de detectar (porque las detectamos con 10 animales) resistencias múltiples, así como R para los ATM cloranfenicol, ampicilina y tigeclina. Los costos y la pérdida de sensibilidad en la detección por pasar de 10 a 1 animal por predio es un asunto que

al momento de evaluar y presupuestar un diseño de muestreo es conveniente analizar.

Al momento de comparar nuestros resultados con los de EFSA destacamos varias consideraciones: el número de ATM evaluados fue menor en nuestro estudio (14 vs 7), así como de categorías según expertos (12 vs 7), y muestras (170 objetivo vs 120); la categoría animal es diferente (terneros menores del año de edad vs novillos); sitio de colección de muestras diferente (frigorífico vs establecimiento).

Considerando lo anterior, los resultados indican que para el global de EFSA tienen un porcentaje mucho menor de muestras sensibles (56.7 vs 91.5%); con un porcentaje de casi el doble con 1 o 2 R; y 27.3% muestras MDR.

Si bien los resultados de EFSA (EFSA, 2019b) tienen grandes variaciones entre países (10 en total) nuestros resultados si fueran colocados en su grilla, a excepción de colistina y gentamicina, queda entre los dos valores con menor porcentaje de R; en gentamicina queda en 5º lugar y para colistina en 11º lugar (máximo reportado fue 2.9% en Italia). Utilizando los términos sugieren para describir los resultados, los de Uruguay serían en general de un nivel bajo de R (1-10%), con algunos valores raros (menor a 0.1%) como resistencias múltiples, y resultados de ampicilina, cloranfenicol y tigeciclina.

Otros estudios de monitoreos sistemáticos reportan datos de otros años de Dinamarca y Alemania, dos países que están en el reporte de EFSA. Alemania en 2009 (Kaesbohrer et al., 2012) reporta 59% de R para ampicilina y 66% para tetraciclina; 4% de R simples y 69 % múltiples. Dinamarca reporta para el EFSA de 2017 los menores valores de R de los 10 países, pero en 2019 (Agersø et al., 2012) reporta aumentos leves de valores de R con respecto al EFSA 2017.

6.3- FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA

El estudio de prevalencia anterior de 2006 en bovinos indicó una muy baja prevalencia de RAM y no hay estudios referidos a la identificación de factores asociados a su presentación en nuestro país. Nos permitirán una mejor comprensión de la RAM y la búsqueda de medidas que puedan ayudar sobre su control en nuestras condiciones productivas.

Desde el punto de vista epidemiológico, la gran mayoría de los factores que relacionamos con la RAM se corresponden con medidas de manejo, sanitarias o condiciones propias del sistema productivo, más que con factores individuales, por lo que realizamos este análisis utilizando variables de respuesta a nivel establecimiento.

Asociaciones entre variables (sub-capítulo 5.1):

La asistencia técnica supone un veterinario que está asesorando al predio, que por su formación conoce y trabaja aplicando las herramientas disponibles para, entre otras cosas, contener la RAM. Los técnicos juegan un rol fundamental en la extensión y transmisión de conocimientos al productor y personal que trabaja en los predios; que directa o indirectamente se verá reflejado en la operativa y manejos del predio frecuentemente. La asociación positiva entre asistencia técnica y conocimiento acerca de la RAM evidencia lo anterior.

Al ser el muestreo y la entrevista una actividad planificada, seguramente se buscó que fuera el veterinario quién estuviera al frente de la actividad por parte del predio cuando había asistencia técnica veterinaria permanente (97%). Esto fortalece la calidad de los datos recogidos dada su total comprensión y accesibilidad a la información requerida.

Se encontró asociación entre predios que llevan registros productivos o reproductivos con tener asistencia técnica (OR 5.3), y tiene sentido desde el punto de vista práctico ya que permiten hacer el asesoramiento y seguimiento por parte del técnico.

Sorprende que no se encontró asociación entre tener asistencia técnica veterinaria y otras variables relevadas que jugarían a favor sobre la contención de la RAM como lo son que el criterio de selección de los ATM sea técnico, que el veterinario sea quién aplica los ATM, un registro de los ATM usados, la cuarentena de los ingresos, y mantener separados diferentes orígenes de animales.

El tamaño del predio (categorizados en base a terciles por estrato en chico, mediano o grande) si mostró asociación positiva con los registros productivos o reproductivos, y con el veterinario al cuidado de los animales. No se encontró asociación con asistencia técnica, registro de ATM, cuarentena, mezcla orígenes, certificación de predios ni criterio técnico para seleccionar los ATM. Se esperó encontrar asociación dado que como el costo se diluye en las grandes empresas y es un recurso disponible en paralelo a las certificaciones reglamentarias.

La selección de ATM por un técnico tuvo asociación positiva con el registro del uso de los ATM en la planilla sanitaria (que debería ir asociado a una receta extendida por el veterinario) (OR 3.9, $p < 0.05$). No se encontró asociación con persona al cuidado de los animales, cuarentena, mezcla orígenes, ni certificación de predios.

Factores asociados a la RAM (sub-capítulo 5.3):

Las variables que se presupuso como de riesgo de introducción o diseminación extrapredial (cuadro IV), ninguna mostró asociación estadística con los resultados de RAM.

De las variables que potencialmente podrían estar asociadas a la diseminación intrapredial, no hubo asociación estadística con el pastoreo compartido en lechería

ni con la fuente de agua. Sobre manejo de efluentes, se encontró que si hay manejo de efluentes (50% lechería y 74% en corrales), el OR aumenta a 18 para MDR. Se supone que la existencia de manejo de efluentes debiera mitigar la RAM también, pero en este caso seguramente esté incidiendo el sistema productivo que lo demanda dadas las exigencias reglamentarias en cuanto a las habilitaciones de tambos y corrales de engorde.

En cuanto a las razas prioritarias los resultados indican un mayor riesgo de presentar alguna R si son del tipo carniceras que si son de tipo lecheras. (OR 5.32); coincide con Barlow et al., (2015) que reportan menor nivel de resistencias en ganado de leche que en ganado de carne y Duse et al., (2015) con diferencias entre otras razas. Deberíamos investigar si aquí realmente estamos evaluando la raza y en cuanto el sistema productivo podría interferir y si el estrato de corrales de engorde no está confundiendo esta asociación.

El tamaño del rodeo (bovinos total) muestra asociación positiva con alguna resistencia para predios grandes comparado con los chicos y concuerda con otros autores donde un rodeo grande supone mayor riesgo de presentar enfermedad y uso de ATM, también asociado a vías de transmisión más abundantes (Aarestrup, 2005; Burow & Käsbohrer, 2017; Duse et al., 2015; Hille et al., 2018; Murphy et al., 2016).

En relación a si el contacto estrecho entre animales favorece la RAM (Burow & Käsbohrer, 2017), se cuantificó utilizando el indicador bovinos/hectárea y también se estratificó en la variable intensificación (baja, media y alta por estratos). Los bovinos/hectárea presentaron un OR de 1.01 para MDR y alguna R; y la intensificación presentó asociación positiva con alguna R, con un OR de 6.2 para los de alta con respecto a los de baja.

La asistencia técnica veterinaria fue total en lecherías y corrales, presentó asociación estadística positiva con el conocimiento de RAM y registros productivos, y se manifiesta como factor protector sobre la RAM con una asociación negativa en la MDR (OR 0.077) lo que se interpreta como que tiene un riesgo casi 13 veces inferior de presentar MDR si tiene asistencia veterinaria.

A diferencia de lo citado por otros autores, no se encontró asociación estadística entre RAM y: uso de ionóforos, tener alguna certificación predial (Berge et al., 2010), usar ración o suplementación mineral/proteica (Berge et al., 2010; Cameron & McAllister, 2016; Jian et al., 2021; Murphy et al., 2016), o estar en el percentil superior de enfermedades de importancia para el estrato (supondría mayor uso de ATM).

Más directamente relacionado a los ATM, se reporta como un factor que podría ser de protección sobre la MDR la selección por un veterinario del ATM a aplicar (OR 0.11, reduce cerca de 9 veces el riesgo de presentar MDR).

La selección del ATM por el veterinario fue de un 80%, y se asocia positivamente con el registro del uso de los ATM (OR 3.9). Por otro lado, sorprende encontrar una

asociación estadísticamente significativa y positiva entre el registro del uso de los ATM y la MDR (OR 14.5), así como con alguna R (OR 2.6). Ante esto se vuelve a plantear la inquietud acerca del planteo de la pregunta ya que no queda claro cuando no lo registran si es porque no lo hacen, o porque no lo usan en realidad. Además, cuestiona si no es otra variable en donde el tipo de producción interfiera, y se esté confundiendo con otra variable (los registros están asociados a lo intensivo y al engorde a corral) ya que estos registros son una exigencia legal en los tambos y corrales, y son cada vez más necesarios en los sistemas intensivos para poder hacer un seguimiento del sistema productivo.

Cuando el lote muestreado recibió ATM se reportó un riesgo 26 veces mayor de presentar MDR que cuando no lo recibe, pero no se encontró asociación estadística de la R con la declaración del uso habitual de ATM.

No se encontró diferencias entre estaciones del año al igual que otros autores (Barlow et al., 2015; Massé et al., 2021). Otros han reportado efectos sobre la RAM, aunque no siempre consistentes en el tiempo (Burow & Käsbohrer, 2017).

La edad es un factor que se asocia diferentemente con el nivel de RAM (Barlow et al., 2015; Berge et al., 2010; Massé et al., 2021; San Martín et al., 2005), y no fue considerado en el estudio en sí mismo siendo que se buscó replicar el estudio del 2006 y que fueran animales próximos a la faena. En corrales los animales resultaron ser de menor edad por lo que es un factor que puede estar interviniendo en el desigual desarrollo de la RAM.

Varias investigaciones han arrojado evidencia de que el tipo de producción (estrato) también se asocia con la RAM (Barlow et al., 2015; Berge et al., 2010; Fernandez, 2006; Murphy et al., 2016), donde intervienen seguramente prácticas específicas de producción de los diferentes sistemas productivos; en este estudio se reportan muchos resultados diferentes según estratos, con mayores porcentajes de R en corrales.

La epidemiología de la RAM es claramente multifactorial, si bien ciertos factores se mostraron asociados con la presentación de RAM. Son medidas que quizás podrían ayudarnos a reducir la prevalencia de RAM, por lo que se debe profundizar en el estudio de estos factores asociados para ensayar un posible manejo que prevenga o minimice sus efectos. El bajo nivel de R en novillos próximos a la fecha de faena en Uruguay probablemente sea el resultado de una combinación de factores como manejo animal, regulaciones sobre ATM, sanidad animal, higiene y vacunación, entre otros.

CAPÍTULO 7- CONCLUSIONES

La RAM es una preocupación creciente en Salud Pública y un buen ejemplo de donde se debe de aplicar el concepto de “*Una Salud*” por el riesgo potencial de transferencia de determinantes de resistencia entre animales, el ambiente y el hombre, no sólo en bacterias patógenas, sino que también a través de bacterias comensales de la microbiota como la *E. coli* que puede actuar como vehículo o reservorio en la transferencia de estos genes.

Este estudio se centra en la RAM de ATM de importancia para medicina humana, las resistencias múltiples y perfiles de resistencia. Las fortalezas más relevantes refieren al impacto que tiene dada su representatividad: por su diseño que permite proyectar los resultados a nivel nacional, por haberse cumplido con las muestras y encuestas presupuestadas, por la confiabilidad de la información proveniente de un muestreo realizado por veterinarios oficiales del MGAP, por utilizar metodologías estandarizadas y validadas, y habiendo procesado las muestras en un único laboratorio.

Algunas de las limitaciones más importantes de este estudio refieren a la interpretación de los resultados; la dicotomización y análisis de resultados individuales los facilitan, pero se pierde información. Por lo expuesto, se debe relativizar la importancia de los resultados ante diferentes intensidades de resistencias o combinaciones de ATM en cada animal. La diferente selección de ATM y puntos de corte en cada análisis impactan en los resultados obtenidos y dificulta las comparaciones.

La caracterización de los predios realizada en base a la encuesta predial mostró importantes diferencias entre estratos, con alta frecuencia de asesoramiento técnico veterinario, buenos niveles de registros en general, bajo nivel de uso de ATM y buenas prácticas en el uso de los ATM.

Los resultados indican que la situación del Uruguay, para los animales de los diferentes sistemas productivos de la cadena cárnica en la etapa previa a la faena, es de un nivel de prevalencia de RAM muy baja y con una distribución a nivel establecimiento dispersa compatible con un uso de ATM limitada; un uso más intensivo probablemente daría mayor presión de selección con formación de clústeres de R dentro de los establecimientos.

Categorizando los resultados, el $90.4 \pm 1.16\%$ de los animales de los diferentes sistemas productivos fueron susceptibles a un amplio número de ATM. Un 8.3% de las R fueron simples y un 1.3% múltiples. Las tetraciclinas fueron la categoría de ATM que con mayor frecuencia presentó R. Resultados a nivel de establecimiento mostraron valores mayores de R por la dispersión; un $51.6 \pm 5.2\%$ presentaron al menos un animal con alguna R, pero tan solo un $1.82 \pm 1.19\%$ de los establecimientos se clasificaron como multiresistentes.

En el análisis comparativo con el muestreo del 2006 de referencia nacional, resultó igual porcentaje de muestras sensibles, con similar distribución en cuanto a proporción de resistencias simples y múltiples a nivel animal. Las prevalencias individuales se mantuvieron similares, pero a nivel establecimiento se incrementaron todos los porcentajes a excepción de la ampicilina que se redujo en el muestreo actual.

La intensificación, la administración de ATM y la cantidad de bovinos/ha mostraron asociación positiva con la RAM.

Si bien ciertos factores se mostraron asociados con la presentación de RAM, la epidemiología de la RAM es claramente multifactorial, y el bajo nivel de R en novillos próximos a la faena probablemente sea el resultado de una combinación de factores como manejo animal, regulaciones sobre ATM, sanidad animal, higiene, y vacunación, entre otros. Se debe profundizar en el estudio de estos factores para ensayar medidas que quizás podrían ayudar a reducir la prevalencia de RAM, que prevenga o minimice sus efectos.

La vigilancia en RAM sobre especies animales para consumo es necesaria para generar un sistema de alerta temprana, para poder rastrear la emergencia de resistencia en animales y su posible diseminación a los alimentos de origen animal y al medio en general contribuyendo con la Salud Pública.

El abordaje desde el punto de vista de vigilancia y usando los ECOFF busca una óptima sensibilidad para la detección de R adquirida. Para continuar con el monitoreo de RAM desde el punto de vista de una salud, se podría aumentar el rango de concentraciones de los ATM de forma de incluir el PCC y el ECOFF, que permitiría interpretar los resultados desde ambos enfoques. La detección de cepas no wild type tempranamente podría anticipar posibles fallas o reducciones en la sensibilidad de los ATM. Otras especies productivas en el monitoreo y nuevas herramientas también se podrían incorporar que complementarían un estudio epidemiológico de la RAM en nuestras condiciones. Estas estrategias deben ser evaluadas en función de los costos y efectividad de las mismas.

Para trabajar en la contención de la RAM es fundamental conocer la situación de partida y los factores asociados a su presentación. La actualización de la situación en la ganadería de carne bajo los diferentes sistemas productivos brinda información que sirve de base para comparaciones en el tiempo y con los datos acumulados se podrá estimar una tendencia. Los resultados de la investigación son indispensables para los tomadores de decisión en políticas públicas, para dar soporte y poder evaluar el impacto sobre las acciones tomadas.

Un pilar fundamental en la concienciación acerca de las buenas prácticas y uso de los ATM es la educación y extensión. Sigue siendo una prioridad el conocimiento en torno al uso de los ATM en animales y su impacto, pero se debería limitar drásticamente el uso en todas las especies a situaciones donde sean indispensables para el bienestar global.

CAPÍTULO 8- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarestrup, F. M. (2005). Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 96, 271–281.
- Aarestrup, F. M. (2015). The livestock reservoir for antimicrobial resistance: A personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1670). Retrieved from <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0085>
- Agersø, Y., Hald, T., Helwigh, B., Borck Høg, B., Bogø Jensen, L., Frøkjær Jensen, V., ... Torpdahl, M. (2012). DANMAP 2011 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food, and humans in Denmark. *Danmap*, 140. Retrieved from http://www.danmap.org/~media/Projekt_sites/Danmap/DANMAP_reports/Danmap_2011.ashx
- AGISAR. (2017). *INTEGRATED SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN FOODBORNE BACTERIA*.
- Bager, F., Emborg, H.-D., Hovgaard, K., Boel, J., Jørgensen, T. R., Sørensen, T. L., & Monné, D. (1999). DANMAP 98 - Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. ISSN 1397-1409, 56. Retrieved from https://www.danmap.org/-/media/arkiv/projekt-sites/danmap/danmap-reports/danmap_1998.pdf?la=en
- Barlow, R. S., McMillan, K. E., Duffy, L. L., Fegan, N., Jordan, D., & Mellor, G. E. (2015). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Salmonella and Escherichia coli from Australian Cattle Populations at Slaughter. *Journal of Food Protection*, 78(5), 912–920. Retrieved from <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-476>
- Bengtsson, B., & Greko, C. (2014). Antibiotic resistance-consequences for animal health, welfare, and food production. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, 119(2), 96–102. Retrieved from <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.901445>
- Berge, A. C., Hancock, D. D., Sischo, W. M., & Besser, T. E. (2010). Geographic, farm, and animal factors associated with multiple antimicrobial resistance in fecal Escherichia coli isolates from cattle in the western United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(12), 1338–1344. Retrieved from <https://doi.org/10.2460/javma.236.12.1338>
- Burow, E., & Käsbohrer, A. (2017). Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Escherichia coli in Pigs Receiving Oral Antimicrobial Treatment: A Systematic Review. *Microbial Drug Resistance*, 23(2), 194–205. Retrieved from <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0318>

- Cameron, A., & McAllister, T. A. (2016). Antimicrobial usage and resistance in beef production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(1). Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0127-3>
- Camou, T., Zunino, P., & Hortal, M. (2018). Alarma por la resistencia a antimicrobianos: situación actual y desafíos. *Revista Médica Del Uruguay*, 34(3), 277–284. Retrieved from <https://doi.org/10.29193/rmu.34.3.6>
- Coppola, N., Freire, B., Umpiérrez, A., Cordeiro, N. F., Ávila, P., Trenchi, G., ... Vignoli, R. (2020). Transferable Resistance to Highest Priority Critically Important Antibiotics for Human Health in *Escherichia coli* Strains Obtained From Livestock Feces in Uruguay. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(November). Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.588919>
- Cota-rubio, E., Hurtado-ayala, L., Pérez-morales, E., & Alcántara-jurado, L. (2014). Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(1), 75–85.
- Darai, G., & Sonntag, H.-G. (2009). *Módulo microbiología-Curso online. Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen*. Retrieved from 10.1007/978-3-540-39026-8_931
- DIEA. (2019). Anuario 2019 DIEA, 256. Retrieved from <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf>
- Doyle, M. P. (2006). Dealing with antimicrobial resistance. *Food Technology*, 60(8), 22–29.
- Duse, A., Waller, K. P., Emanuelson, U., Unnerstad, H. E., Persson, Y., & Bengtsson, B. (2015). Risk factors for antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from preweaned dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 98(1), 500–516. Retrieved from <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8432>
- EFSA. (2019a). Technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food. *EFSA Journal*, 17(6). Retrieved from <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5709>
- EFSA. (2019b). The European union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA Journal*, 17(2). Retrieved from <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5598>
- EFSA a. (2012). Technical specifications on the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance in *Salmonella*, *Campylobacter* and indicator *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. bacteria transmitted through food. *EFSA Journal*, 10(6). Retrieved from <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2742>
- EFSA b. (2012). Technical specifications for the analysis and reporting of data on antimicrobial resistance (AMR) in the European Union Summary Report. *EFSA Journal*, 10(2), 1–53. Retrieved from <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2587>

- Eguiguren, M. de los A. G., & Rojas, H. (2018). Gestión sanitaria y resistencia a los antimicrobianos. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 35(1), 118–125. Retrieved from <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3571.118>
- EUCAST. (2015). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Retrieved from http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_5.0_Breakpoint_Table_01.pdf
- EUCAST. (2016). Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. *Antimicrobial Wild Type Distributions of Microorganisms*, 50. Retrieved from <http://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=init>
- EUCAST. (2019). *EUCAST definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values Clinical resistance and clinical breakpoints Microbiological resistance and epidemiological cut-off values (ECOFF)*.
- FAO/OMS/OIE. (2007). *Reunión conjunta FAO / OMS / OIE de expertos sobre los antimicrobianos de importancia crítica Informe de la reunión de expertos*.
- FAO. (2016). El Plan de acción de la FAO sobre la resistencia a los antimicrobianos 2016-2020. Retrieved from <https://doi.org/10.20506/rst.27.1.1799>
- Fernandez, F. (MGAP). (2006). *Evaluación de la Inocuidad Alimentaria en el Primer Eslabón de la Cadena de Producción de Carne, en el Uruguay*. UDELAR-FVET. Retrieved from http://www.fvet.edu.uy/images/Posgrados/Tesis_Maestria/tesis_federico_fernandez.pdf
- Fernandez, F. (MGAP). (2017). *FSA_I_2017_1_139542 - Fondo Sectorial Innovagro - ANII*.
- Giannechini, R., Concha, C., Delucci, I., Gil, J., Salvarrey, L., & Rivero, R. (2014). Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay. *Veterinaria*, 50(193), 111–132.
- Gitleman, L. (2014). Resistencia a la penetración. *Cymmyt*, 12. Retrieved from <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2018/09/Informe-RAM-monensina.pdf>
- Government of Canada_CIPARS 2018. (2020). *Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) 2018: figures and tables (Cat.: HP2-)*. Retrieved from Pub.: 190590: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/surveillance/canadian-integrated-program-antimicrobial-resistance-surveillance-cipars/cipars-reports/2018-annual-report-executive-summary.html>
- Hille, K., Felski, M., Ruddat, I., Woydt, J., Schmid, A., Friese, A., ... Kreienbrock, L.

- (2018). Association of farm-related factors with characteristics profiles of extended-spectrum β -lactamase- / plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from German livestock farms. *Veterinary Microbiology*, 223(June), 93–99. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.07.022>
- Jian, Z., Zeng, L., Xu, T., Sun, S., Yan, S., Yang, L., ... Dou, T. (2021). Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control. *Journal of Basic Microbiology*, 61(12), 1049–1070. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/jobm.202100201>
- Kaesbohrer, A., Schroeter, A., Tenhagen, B. A., Alt, K., Guerra, B., & Appel, B. (2012). Emerging antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* with public health relevance. *Zoonoses and Public Health*. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2011.01451.x>
- Lundin, J. I., Dargatz, D. A., Wagner, B. A., Lombard, J. E., Hill, A. E., Ladely, S. R., & Fedorka-Cray, P. J. (2008). Antimicrobial drug resistance of fecal *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. isolates from United States dairy cows. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5(1), 7–19. Retrieved from <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0018>
- Macchi, V., Fernandez, F., Gil, A., & Suanes, A. (2018). *Seroprevalencia de enfermedades que afectan la reproducción en bovinos en Uruguay , su evolución y relación con la vacunación Instituciones participantes*.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Martínez, C. (2018). Mecanismos emergentes de resistencia a antibióticos en enterobacterias de origen humano , animal y ambiental, 200. Retrieved from <http://eprints.ucm.es/46375/1/T39569.pdf>
- Massé, J., Lardé, H., Fairbrother, J. M., Roy, J. P., Francoz, D., Dufour, S., & Archambault, M. (2021). Prevalence of Antimicrobial Resistance and Characteristics of *Escherichia coli* Isolates From Fecal and Manure Pit Samples on Dairy Farms in the Province of Québec, Canada. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(May). Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.654125>
- MGAP. (2015). *Buenas Prácticas de Uso de Medicamentos Verinarios*. Retrieved from http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/manual_de_buenas_practicas_de_uso_de_medicamentos_veterinarios.pdf
- MGAP. Plan Nacional de contención de la Resistencia Antimicrobiana de Uruguay (2017).
- Microscan. (2019). *NEG MIC 44*. Retrieved from

<https://www.selectscience.net/products/microscan-autoscan-4-system?prodID=206450>

- Murphy, C. P., Fajt, V. R., Scott, H. M., Foster, M. J., Wickwire, P., & McEwen, S. A. (2016). Scoping review to identify potential non-antimicrobial interventions to mitigate antimicrobial resistance in commensal enteric bacteria in North American cattle production systems. *Epidemiology and Infection*, 144(1), 1–18. Retrieved from <https://doi.org/10.1017/S0950268815000722>
- NARMS. (2015). NARMS Integrated Report, 2015. *Department of Health and Human Services, FDA*, 14. Retrieved from <https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialRe>
- NARMS. (2018). NARMS Now: Integrated Data 2018. Retrieved from <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/narms-now-integrated-data>
- O'Neill, J. (2016). Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *Review on Antimicrobial Resistance*, (December), 1–16.
- OIE. (2015). Criterios usados para la clasificación Lista de los agentes antimicrobianos LISTA DE AGENTES ANTIMICROBIANOS, 33(0), 1–9.
- OIE. (2016). The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials. *World Organization for Animal Health*, (November), 1–61. Retrieved from http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf
<http://www.oie.int/antimicrobial-resistance>
<https://www.oie.int/file>
- OIE. (2021). el informe anual de la OIE sobre los agentes antimicrobianos destinados a ser utilizados por los animales - quinto informe. *Informe Anual de La OIE Sobre Los Agentes Antimicrobianos Destinados a Ser Utilizados En Los Animales*, 1(1), 140. Retrieved from <https://www.oie.int/app/uploads/2021/09/e-fifth-annual-report-amr.pdf>
- OMS. (2018). Lista OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica para la Medicina Humana (Lista OMS de AIC). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine, 5th Revision*, 5, 41. Retrieved from <https://www.who.int/foodsafety/publications/cia2017es.pdf?ua=1>
- OPYPA. (2018). ANUARIO 2018 OPYPA-Análisis Sectorial y Cadenas productivas, 668. Retrieved from https://descargas.mgap.gub.uy/OPYPA/Anuarios/Anuario2018/ANUARIO_OPYPA_2018_WEB_con_v%C3%ADnculo.pdf
- Oudessa Kerro, D. (2020). Current Status of Antimicrobial Resistance and Prospect for New Vaccines against Major Bacterial Bovine Mastitis Pathogens. In *Animal Reproduction in Veterinary Medicine*. Retrieved from <https://doi.org/10.5772/intechopen.94227>

- Risum, M., Hare, R. K., & Arendrup, M. C. (2020). Azole resistance in *Aspergillus fumigatus* - Nationwide surveillance data from the first 18 months. *Danmap 2019*, (Textbox 8.3), 139–41.
- San Martín, B., Bravo, V., & Borie, C. (2005). Archivos de medicina veterinaria en Chile , utilizando *E . coli* como bacteria indicadora #.
- Silbergeld, E. K., Graham, J., & Price, L. B. (2008). Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. In *Annual Review of Public Health* (Vol. 29, pp. 151–169). Retrieved from <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.29.020907.090904>
- Steele, J. H. (1949). *Veterinary public health-curso online. The North American veterinarian* (Vol. 30). Retrieved from 10.4018/978-1-5225-6304-4.ch005
- Suanes, A., Macchi, V., Fernández, F., Moreira, C., Gil, A., Laboratorios, D. De, ... Gral, B. (2021). Reproductive, health and management characteristics in dairy herds in Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 47(215), 1–11. Retrieved from <https://doi.org/10.29155/vet.57.215.3>
- Tascini, C., Sozio, E., Viaggi, B., & Meini, S. (2016). Reading and understanding an antibiogram. *Italian Journal of Medicine*, 10(4), 289–300. Retrieved from <https://doi.org/10.4081/itjm.2016.794>
- Umpiérrez, A., Bado, I., Oliver, M., Acquistapace, S., Etcheverría, A., Padola, N. L., ... Zunino, P. (2017). Zoonotic potential and antibiotic resistance of *Escherichia coli* in neonatal calves in Uruguay. *Microbes and Environments*, 32(3), 275–282. Retrieved from <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17046>
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., ... Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5649–5654. Retrieved from <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Vidart, M. (FVet). (2021). *Capacitación en el marco del proyecto: Residuos de antibióticos en leche: impacto tecnológico en la elaboración de productos lácteos y soluciones para su mitigación.*
- Vignoli, R., & Seija, V. (2006). TEMAS DE BACTERIOLOGÍA Y VIROLOGÍA MÉDICA Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Retrieved 16 January 2022 from <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Principalesmecanismosderesistenciaantibiotica.pdf>
- Wernli, D., Jørgensen, P. S., Harbarth, S., Carroll, S. P., Laxminarayan, R., Levrat, N., ... Pittet, D. (2017). Antimicrobial resistance: The complex challenge of measurement to inform policy and the public. *PLoS Medicine*, 14(8), 1–9. Retrieved from <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002378>
- White, D. G. (2019). Antimicrobial Resistance in Pathogenic *Escherichia coli* from Animals. In *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin* (pp. 145–


166). Washington, DC, USA: ASM Press. Retrieved from <https://doi.org/10.1128/9781555817534.ch10>

WHO. (2017). Global action plan on antimicrobial resistance. *Who*, 1–28. Retrieved from http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf

CAPÍTULO 9- ANEXOS

ANEXO 1- FORMULARIOS PARA TOMA DE MUESTRAS Y ENCUESTA:

PROYECTO FSA_I_2017_1_139542
Estudio de la susceptibilidad a agentes antimicrobianos en los sistemas productivos primarios de carne bovina



EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

El muestreo se irá realizando a lo largo de todo el año, según cronograma asignado que se adjuntó anteriormente "CRONOGRAMA MUESTREO" Y "LISTADO SORTEADO POR DEPARTAMENTO".

Las muestras de deben extraer y enviar al laboratorio dentro de las 24 horas, manteniéndolas siempre con refrigerantes dada la alta proliferación microbiana que se altera la muestra.

Las muestras deben llegar a Terminal Tres Cruces en los días martes o miércoles de la semana asignada antes de las 9 AM Indefectiblemente para poder cumplir con las etapas de su proceso en tiempo y forma.

Antes de ir al establecimiento seleccionado para muestrear, se debe coordinar la actividad contemplando lo anterior (24 horas entre extracción y recepción en terminal Tres Cruces los días martes o miércoles de la semana asignada; preferiblemente extraer muestra lunes en la tarde para que estén en Tres cruces el martes a las 9, o el martes de tarde para que estén el miércoles en terminal). En caso de no tener ningún animal de la categoría correspondiente se debe dar aviso inmediatamente al coordinador del muestreo, y de haber menos de 10 animales se toma muestra a todos ellos (Dr. Gonzalo Arbulo cel: 099744768 // 091306490).

Se aconseja solicitar tengan a disposición y actualizadas:

- Declaración Jurada 2018
- Planilla de contralor Interno
- Planilla control Sanitario (se la firma por un funcionario)

Se recomienda a los efectos de lograr la cantidad de muestras necesarias a campo, solicitar al productor encierre una cantidad mayor de animales de la categoría requerida y que esto sea con la menor antelación posible al momento de la recolección de la muestra.

En la visita al establecimiento se entrevistará a la persona a cargo a los efectos de caracterizar el manejo del predio e identificar los posibles factores de riesgo para las variables en estudio. Para esto se debe completar el formulario "ENCUESTA PREDIO" que se adjunta y luego será enviado el formulario original con las muestras y se guarda copia en la oficina (se agradece letra clara y encerrar con círculo opción que corresponde cuando es opción múltiple).

Las muestras de materia fecal deben ser extraídas de la ampolla rectal (se puede tomar muestra del piso en corral viendo defecar al animal y registrando su número de caravana. En este caso de toma materia de la parte superior de la bosta, sin tocar el suelo, para no levantar contaminación de la superficie del piso)

La cantidad necesaria aproximada son 50 gramos (equivalente a una pelota de tenis). Se debe leer la caravana de trazabilidad del animal muestreado y registrarlo en el formulario "ACTA DE EXTRACCIÓN-REMISIÓN DE MUESTRAS" y luego enviar el archivo de lectura con los 10 animales muestreados por mail al coordinador del muestreo, siendo el nombre del archivo TXT el dicose del predio.(Mail: muestreoram2019@gmail.com)

Se deben remitir en el mismo guante que se usa para su extracción, dándolo vuelta y quitando todo el aire posible. Se anuda el guante y se coloca dentro de una bolsa pequeña con su "IDENTIFICADOR DE MUESTRA" correspondiente (1 al 10)

Se colocan las 10 muestras de un establecimiento en otra bolsa más grande con el "IDENTIFICADOR DEL PREDIO" y original de los formularios:

- *ACTA DE EXTRACCIÓN- REMISIÓN DE MUESTRAS
- *ENCUESTA PREDIO*

Se acondicionan las muestras para su envío en caja de Isopor con refrigerantes suficientes (y los formularios dentro), se cierra caja con cinta y se coloca el identificador de caja en lugar visible. Se da aviso al coordinador del muestreo de su envío aclarando la compañía de ómnibus donde se despacha la caja via mail (mismo mail con el archivo TXT muestreoram2019@gmail.com)

**ANTE CUALQUIER CONSULTA COMUNICARSE CON EL COORDINADOR DEL MUESTREO
RAM 2019, Dr. Gonzalo Arbulo: Cel 099744768 //091306490 Mail: muestreoram2019@gmail.com**

pág. 10

PROYECTO FSA I 2017 1 139542

Estudio de la susceptibilidad a agentes antimicrobianos en los sistemas productivos primarios de carne bovina

ACTA DE EXTRACCIÓN- REMISIÓN DE MUESTRAS



NE FORMULARIO: DICOSE:

fecha de extracción hora de extracción

Fecha y hora de remisión de muestras al laboratorio

NE muestras extraídas

(1-10)

Identificación de las muestras individuales:

Nº muestra	caravana trazabilidad
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

en feedlot, Muestras extraídas del piso ? SI / NO

Funcionarios extraen muestras y realizan encuesta y sus NE Unico:

Productor / Responsable del establecimiento:

Nº UNICO	Apellido	Firma

Apellido	Firma

Empresa ómnibus por la que remite

Fecha de recepción muestras en laboratorio estado B/R/M

OBSERVACIONES:

PROYECTO FSA_I_2017_1_139542

Estudio de la susceptibilidad a agentes antimicrobianos en los sistemas productivos primarios de carne bovina



ENCUESTA PREDIO (1)

1. Nº de Formulario: (1-150) 2. Estrato muestra: ganadería/lechería/corral

3. Nº muestras extraídas: (0-10)

4. Dígase: 5. Razón Social:

6. Mail: 7. Tel:

8. Nombre entrev.: 9. Relación: propietario/ adm./vet./capataz/otro

10. Tiene cerdos? NO SI 11. Tiene equinos? NO SI

12. Raza principal en bovinos:

INGRESO DE ANIMALES:

13. Cuarentena los ingresos: NO realiza <15 días >15 días 14. Mezcla diferentes orígenes? NO SI

ALIMENTACIÓN:

15. Dieta usual de animales en terminación:

	tipo/composición básica	kg./an./día	forma	sistema
forraje				
ración propia				
ración comprada				
suplementos proteicos				
sales minerales				
aditivos				
otros ingredientes				

16. Alimentación actual del lote muestreado: forraje / ración propia / ración comprada / suplemento proteico / sales minerales / aditivos / otros ingredientes

17. Fecha de envío probable a fauna:

ANTIBIÓTICOS / ANTIMICROBIANOS:

18. Tratamientos antimicrobianos más frecuentemente utilizados y su propósito en el manejo general del establecimiento:

Nombre comercial	Grupo químico/droga	Uso / propósito	Carácter	Nº anim. Tratados /año

PROYECTO FSA_I_2017_1_139542

Estudio de la susceptibilidad a agentes antimicrobianos en los sistemas productivos primarios de carne bovina



ENCUESTA PREDIO (2)

19. Revisa vencimientos de medicamentos?
20. Quién aplica los antibióticos?
21. Criterio utilizado para seleccionar el antimicrobiano:
22. Tiene asistencia veterinaria?
23. Tiene al día la planilla control sanitario? 24. Registra uso de Antimicrobianos?
25. Usa monensina/ bolos?
26. El lote de animales muestreado recibió antibióticos? especifique cuál
27. Ha detectado fallas en la eficacia de algún antimicrobiano en bovinos?
- en cual droga?
28. Conoce el concepto de tiempo espera/carencia?
29. Conoce el concepto de Resistencia Antimicrobiana?

DIVERSOS:

30. Fuente de agua para el ganado: 31. Riego con efluentes?
32. Manejo efluentes? (otro)
33. Tiene establecimientos con Cría de cerdos o aves a menos de 1 Km?
34. Hay algún corral, tambo o frigorífico dentro de los 5Km de su establecimiento?
35. Limpieza e Higiene general de las instalaciones:
36. Su predio está certificado para:
37. Lleva registros productivos y reproductivos? modo:
38. Quién está a cargo del cuidado y manejo de los animales?
39. En que orden de importancia categoriza las principales enfermedades del predio? (1º al 7º):
40. (EN LECHERÍA): Los Novillos comparten pastoreo con lotes en producción o vacas secas?

41. Observaciones:



INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DE LA ENCUESTA DE PREDIO:

Por favor completar el formulario con letra clara, enviar original con las muestras y guardar copia en la oficina. Cuando corresponda marcar una o más opciones favor encerrar con un círculo lo que corresponda.

Algunas aclaraciones de preguntas específicas:

Pregunta 13. ¿Cuarentena los Ingresos?: Indicar si realiza un manejo apartado / aislado de los lotes de animales Ingresados al establecimiento con las opciones: no realiza, <15 días o >15 días.

Pregunta 14. ¿Mezcla diferentes orígenes?: Indicar si al Ingresar animales al establecimiento mantiene apartado los animales de diferentes orígenes o se mezclan.

Pregunta 15. Dieta usual de animales en terminación: Indicar en el cuadro la dieta aproximada que usualmente reciben los animales del predio que están en terminación, Indicando: tipo/composición básica; kg/ animal/día; forma de presentación del alimento y sistema mediante el cual se lo suministra.

Como ejemplo:

ALIMENTACIÓN:				
15. Dieta usual de animales en terminación:				
	Tipo/composición básica	kg. fan. M/día	Forma	Sistema
forraje	padena arena	10	heno	pastoreo directo
ración propia	alfo sorgo grano feno de	5	ensilaje	plata
ración comprada	terminación FINDE	2	pellet	concentrado autocorriente
suplementos proteicos				
sales minerales				
aditivos	urea	0.1	granulada	mezcla con ración
otros ingredientes	niotrenina codica 10%	0.002	polvo	mezcla ración
16. Alimentación actual del lote	<input checked="" type="checkbox"/> forraje <input checked="" type="checkbox"/> ración propia <input checked="" type="checkbox"/> ración comprada <input type="checkbox"/> suplementos proteicos / <input type="checkbox"/> sales minerales <input type="checkbox"/> aditivos <input type="checkbox"/> otros ingredientes			

Pregunta 16. Alimentación actual del lote muestreado: Indicar con un círculo cuales de los alimentos anteriormente explicitados en el cuadro se le están suministrando al lote que está siendo muestreado.

Pregunta 15. Dieta usual de animales en terminación: Indicar en el cuadro la dieta aproximada que usualmente reciben los animales del predio que están en terminación, Indicando: tipo/composición básica; kg/ animal/día; forma de presentación del alimento y sistema mediante el cual se lo suministra.

Pregunta 18. Tratamientos antimicrobianos más frecuentemente utilizados y su propósito en el manejo general del establecimiento: Indicar en el cuadro los principales antimicrobianos utilizados en el manejo general del establecimiento, Indicando para cada uno de ellos: Nombre comercial y/o grupo químico /droga; uso o propósito; carácter (preventivo o curativo); y nº aproximado de animales tratados en el año. (La planilla de control sanitario del establecimiento podría contener esta información)

Como ejemplo:

ANTIMICROBIANOS / ANTIBIÓTICOS:				
¿En qué establecimiento antimicrobianos más frecuentemente utilizados y su propósito en el manejo general del establecimiento:				
Nombre comercial	Grupo antimicrobiano	Uso / propósito	Carácter	Nº animales tratados /año
colistina (LA)	colistina	vacunación	preventivo <input checked="" type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	20
regim	penicilina/ampicilina	vacun	preventivo <input checked="" type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	1
novel	clindamicina	vacunación	preventivo <input checked="" type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	11
clavoxim	clavulámico	vac	preventivo <input checked="" type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	40
			preventivo <input type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	
			preventivo <input type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	
			preventivo <input type="checkbox"/> curativo <input type="checkbox"/>	



Pregunta 23 y 24. Tiene al día la planilla control sanitario? ,y Registra el uso de antimicrobianos?: Al momento de pedir la planilla de control sanitario, revisarla y firmarla, se observa esta información. Consultar además si en algún otro lugar tiene esta información registrada (libro, almanaque, programa informático, etc)

Pregunta 35.Limpieza e Higiene general de las Instalaciones: observar las condiciones de las instalaciones de los animales (corrales, sala ordeño, comederos, etc) y pondere en: bueno/regular o deficiente.

Pregunta 36.Su predio está certificado para: marcar lo que corresponda si el predio está certificado en alguna de las siguientes opciones: Carne natural / Never Ever / orgánico / sistema privado (ejp BPU)

Pregunta 39.En qué orden de importancia categoriza las principales enfermedades del predio? (1º al 7º): Complete según la importancia que le adjudica el productor a los siguientes grupos de enfermedades, coloque el número en la línea de puntos considerando 1º como el más importante y 7º como la de menor importancia.

Digestivo..... /Respiratorio / Parasitario / Reproductivo/ Podal / Ubre / Otro (.....)

Pregunta 40.EN LECHERÍA: Los Novillos comparten pastoreo con lotes en producción o vacas secas? Solo en el caso de ser estrato 2.LECHERÍA contestar si los novillos comparten las áreas de pastoreo con los animales en ordeño/secas del tambó.

Pregunta 41. Observaciones: Coloque aquí cualquier comentario o aclaración le parezca pertinente.