



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**COMPARACIÓN DE RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE
TERCERA GENERACIÓN Y COLISTINA EN *Escherichia coli*
AISLADAS DE MATERIA FECAL DE CERDOS EN DIFERENTES
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE URUGUAY**

BIBIANA FREIRE BARRIOS

TESIS DE MAESTRIA EN SALUD ANIMAL

URUGUAY

2025



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**COMPARACIÓN DE RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE
TERCERA GENERACIÓN Y COLISTINA EN *Escherichia coli*
AISLADAS DE MATERIA FECAL DE CERDOS EN DIFERENTES
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE URUGUAY**

BIBIANA FREIRE BARRIOS

Nombre: Dr. Rafael Vignoli

Director de Tesis

Nombres: Dra. Silvia Llambí

Dra. Nadia Coppola

Co- directores

2025

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE
DEFENSA DE TESIS**

Presidente: Dr. Martin Fraga

Segundo Miembro: Dr. Gonzalo Suarez

Tercer miembro: Dra. Cecilia Carballo

PÁGINA DE APROBACIÓN

ACTA DE DEFENSA DE TESIS DE MAESTRÍA

Materia: 10002 TESIS DE MAESTRÍA Orientación: Salud Animal.
Período: Octubre 2025
Fecha evaluación: 17/10/2025
Hora: 09:00 Lugar: Instituto de higiene. Salón Elbio Guezuele segundo piso.

Tribunal:
Presidente: Dr. Martín Fraga
2° Integrante: Dr. Gonzalo Suarez
3er Integrante: Dra. Cecilia Carballo

C.I.	Nombre	Concepto	Nota
3765925-8	Bibiana de los Angeles Freire Barrios	MB	9

Nota: La calificación mínima para aprobar la defensa es Aceptable (A)

TRIBUNAL

FIRMA

MARTÍN FRAGA

CECILIA CARBALLO

GONZALO SUAREZ

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi casa de estudios, la Facultad de Veterinaria (FVet), por seguir abriéndome las puertas para continuar con mi formación académica, y al Laboratorio de Resistencia a Antimicrobianos (LRA) del Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, por brindarme la posibilidad de llevar adelante mi trabajo de laboratorio. Al Centro Regional Sur (CRS) y a los predios privados que me permitieron tomar las muestras de materia fecal, insumo fundamental para esta tesis.

A mi tutor Rafael Vignoli, por ofrecerme la oportunidad de trabajar en el laboratorio y concretar esta tesis, A mis cotutoras: a Silvia Llambí, por su apoyo incondicional durante todo este proceso, y a Nadia Coppola, por su paciencia, su constante ayuda y por transmitir sus conocimientos con tanta generosidad, lo que hizo posible llevar adelante este trabajo de investigación.

A mi jefe, Gustavo Castro, por permitirme compatibilizar parte de mi horario en Higiene y por su apoyo permanente. ¡Un gran jefe y una gran persona!

A mis compañeras y compañeros de la Unidad de Animales de Granja: Valentina, Pablo, Enrique, Anna, José y Carina, por su constante motivación. A Fernando Vila, por sus valiosos aportes en estadística. Julia y Alejandra de la Biblioteca de Fvet.

A todo el equipo del laboratorio de Resistencia de Higiene: Nadia, Romi, Fede, Inés, Vicky, Nico y tantos más.

A todos mis compañeros y compañeras de facultad y a mis amigas que me acompañaron en este largo proceso.

Y a mi familia: a mis padres, hermana, cuñado y sobrino; a mi esposo, amigo y compañero Julio, por su apoyo incondicional en todos mis proyectos; al tesoro de mi vida, mi hijo Lolo; y a mis hijas de cuatro patas, Luna y Linda, que me acompañaron en cada etapa.

Tabla de contenidos	
LISTAS DE TABLAS Y FIGURAS	7
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMEN	10
SUMMARY	11
CAPÍTULO 1- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	12
1.1 Caracterización del sector porcino en Uruguay	12
1.2 Antibióticos	15
1.2.1 Definición y usos de los Antimicrobianos.....	15
1.2.2 - Principales Grupos de Antibióticos usados en producción cerdos.....	17
1.3 "Una Salud"	21
1.4 Resistencia Antimicrobiana (RAM)	21
1.5 Indicadores Microbiológicos de la RAM	23
1.6 Resistencia a antimicrobianos en enterobacteriaceae	24
1.7 Prevención de la resistencia a los antibióticos	27
1.8 Antecedentes de la RAM en enterobacterias en sistemas productivos porcinos	28
CAPÍTULO 2- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	30
2.1- Caracterización del problema	30
2.2 Hipótesis	31
2.3- Objetivos	31
2.3.1- Objetivo general:.....	31
2.3.2- Objetivos específicos:.....	31
CAPÍTULO 3- MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1- Diseño del muestreo	32
3.2 Selección de la <i>E. coli</i> RAM e identificación	33
3.3 Estudio de susceptibilidad a antimicrobianos	33
3.4 Búsqueda de genes de RAM en los aislamientos resistentes	34
3.4.1 Extracción de ADN.....	34
3.4.2 Búsqueda de Mecanismos de resistencia transferibles.....	35
3.5- Ensayo de conjugación	36
3.6- Análisis estadístico	36
CAPÍTULO 4. RESULTADOS	38
4.1 Resultados generales	38

4.2 Análisis por establecimiento	38
4.3 Análisis por aislamientos de <i>E. coli</i> estudiados	40
4.4 Ensayos fenotípicos: determinación de susceptibilidad asociada CRO y/o a COL	40
4.5 Perfiles de susceptibilidad a antibióticos testados por establecimientos: . 43	
Nomenclatura: Amoxicilina con Ac. Clavulánico (AMC), Ceftazidime (CAZ), Ceftriaxona (CRO), Ciprofloxacina (CIP), Gentamicina (CN), Amikacina (AK), Trimetropin sulfametoxazol (SXT), Cefoxitina (FOX).....	46
4.6 Genes encontrados por establecimientos y genotipos	46
4.7- Ensayos de conjugación y caracterización de plásmidos	48
CAPÍTULO 5- DISCUSIÓN	50
5.1 Aislamientos	52
5.2 Perfiles de resistencia y multirresistencia.....	54
5.3- Genes de resistencia y perfiles genéticos por establecimiento.....	55
5.4- Asociación de genes, genotipos combinados y transferencia plasmídica	57
5.5- Implicancias del manejo y el ambiente	58
CAPÍTULO 5- CONCLUSIONES	59
CAPÍTULO 6 PERSPECTIVAS	60
CAPÍTULO 7- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
CAPÍTULO 8 ANEXO	76

LISTAS DE TABLAS Y FIGURAS

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 cuadro 1. Datos de explotaciones y cantidad de porcinos obtenidos de censo general agropecuario de 2011	12
Tabla 2 Principales grupos de antibióticos utilizados en Uruguay. Comunicación personal 2024.	18
Tabla 3 Antibióticos β - lactámicos usados en medicina veterinaria en Uruguay	19
Tabla 4 Establecimientos con animales con crecimiento de E. coli resistentes a antibióticos críticos.	38
Tabla 5 Establecimientos con sus tasas de crecimiento de E.coli en los cerdos en los diferentes antibióticos estudiados	39
Tabla 6 Resultados del análisis del crecimiento de E. coli resistente a CRO o COL por cerdos según los establecimientos.	40
Tabla 7 Análisis estadístico Chi Cuadrado de las diferencias de susceptibilidad a los antibióticos entre los distintos establecimientos.	42
Tabla 8 Análisis estadísticos test exacto de Fisher para evidenciar las diferencias de susceptibilidad a los antibióticos entre los distintos establecimientos.	43
Tabla 9. Perfiles de resistencia por establecimiento estudiados	44
Tabla 10 Perfiles genéticos de resistencia de aislamientos de E. coli recuperados en los tres establecimientos.	47
Tabla 11 Tabla de conjugantes.....	48
Tabla 12 Nombre del gen, secuencia de los primers, tamaño del producto de PCR, temperaturas de annealing para cada gen buscado.	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Cantidad de explotaciones (comerciales y de autoconsumo) por región.....	14
Figura 2 Antimicrobianos denominado 'críticos' para la salud humana (World Health Organization, 2019).....	16
Figura 3 Estructura química de los diferentes antibióticos β -lactámicos. Tomada y modificada de Suárez & Guidol 2009.....	19
Figura 4 Estructura química de la molécula de la polimixina. Figura adaptada de Yu et al., 2015	20
Figura 5 Principales caminos de diseminación de RAM vía uso de antibióticos. Fuente: Bennett et al., 2017.....	23

ABREVIATURAS

AK Amikacina

AMC Amoxicilina-ácido clavulánico

Amp C adenosín monofosfato cíclico

ATCC American-Type Culture Collection

ATM antimicrobiana

BGN Bacilos Gram negativos

BLEA β -lactamasas de espectro ampliado

BLEE β -lactamasas de espectro extendido

BrEt Bromuro de Etidio

BOR ácido borónico

C3G Cefalosporinas de tercera generación

CAZ Ceftazidime

CIM Concentración inhibitoria mínima

CIP Ciprofloxacina

CLSI Clinical Standard Laboratory Institute

CN Gentamicina

COL Colistina

CRO Ceftriaxona

DIEA Dirección de estadística agropecuaria

EDTA ácido etilendiaminotetraacético

E. Coli *Escherichia coli*

E Establecimiento

ExPEC *Escherichia coli* extraintestinal

FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FOT Fosfomicina

FOX Cefoxitina

GLASS Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos

INATEC Instituto nacional tecnológico

INIA Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

IPM Imipenem

LB Luria Bertani
LPS Lipopolisacárido
LRA Laboratorio de resistencia antimicrobiana
MDR Multirresistentes a drogas
MGAP Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
MIO motilidad-indol-ornitina
OIE Organización Mundial de Sanidad Animal
OMS Organización mundial de la salud
OMSA Organización mundial de la salud animal
PBP Penicillin binding protein
PCR Polymerase chain reaction
PNUMA Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
PMQR Resistencia plasmídica a quinolonas
PRAN Plan Nacional a la Resistencia a antibióticos
PROA Elaboración de programas de optimización de antimicrobianos
RAM resistencia antimicrobiana
SXT Sulfametoxazol
WHO World Health Organization

RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) constituye un grave problema de salud pública mundial, ya que dificulta el control de infecciones bacterianas. La Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) reconoce que los animales de producción actúan como reservorios de bacterias resistentes, lo que exige un abordaje coordinado entre la medicina humana y veterinaria bajo el enfoque de *Una Salud*. En la misma línea, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó los antibióticos en tres categorías -de importancia crítica (máxima prioridad o gran prioridad), muy importantes e importantes- para promover un uso responsable en medicina humana.

En la producción porcina, el empleo de antibióticos en distintas etapas de cría y engorde favorece la selección y propagación de cepas resistentes, así como la diseminación de determinantes genéticos en el ambiente y en la cadena alimentaria.

Este estudio investigó la presencia de resistencia transferible a antibióticos de importancia crítica de máxima prioridad en la producción porcina de Uruguay, utilizando *Escherichia coli* como bacteria indicadora. Entre 2020 y 2022 se analizaron 90 muestras fecales de cerdos: 30 de un sistema extensivo, 30 de un intensivo de ciclo completo y 30 de un intensivo de engorde. Las muestras fueron sembradas en agar MacConkey suplementado con ceftriaxona o colistina; la identificación bacteriana se realizó mediante espectrometría de masas, la susceptibilidad por difusión en disco o MIC para caso de colistina. Los genes de resistencia se detectaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Las mayores tasas de resistencia (60–96,7%) se detectaron en sistemas intensivos, mientras que en el extensivo no superaron el 23,3%. En todos los establecimientos se hallaron *E. coli* portadoras de genes de resistencia a ceftriaxona, principalmente del grupo *bla*_{CTX-M}, y en el sistema intensivo de ciclo completo se identificó el gen *mcr-1*, asociado a resistencia a colistina.

Estos hallazgos evidencian que el uso inadecuado de antibióticos críticos en animales de producción promueve la selección de bacterias resistentes, con riesgo para la salud pública. Se resalta la necesidad de generar y armonizar datos que orienten la elaboración de guías para el tratamiento de infecciones bacterianas de relevancia veterinaria.

SUMMARY

Antimicrobial resistance (AMR) constitutes a serious global public health problem, as it hinders the control of bacterial infections. The World Organization for Animal Health (WOAH) recognizes that food-producing animals act as reservoirs of resistant bacteria, which requires a coordinated approach between human and veterinary medicine under the One Health framework. In the same vein, the World Health Organization (WHO) classified antibiotics into three categories critically important (highest priority or high priority), highly important, and important in order to promote their responsible use in human medicine.

In pig production, the use of antibiotics at different stages of rearing and fattening favors the selection and spread of resistant strains, as well as the dissemination of genetic determinants into the environment and the food chain.

This study investigated the presence of transferable resistance to critically important, highest priority antibiotics in pig production in Uruguay, using *Escherichia coli* as an indicator bacterium. Between 2020 and 2022, 90 fecal samples from pigs were analyzed: 30 from an extensive system, 30 from a full-cycle intensive system, and 30 from a finishing intensive system. Samples were plated on MacConkey agar supplemented with ceftriaxone or colistin; bacterial identification was performed by mass spectrometry, and susceptibility was assessed by disk diffusion or MIC in the case of colistin. Resistance genes were detected by polymerase chain reaction (PCR).

The highest resistance rates (60–96.7%) were found in intensive systems, while in the extensive system they did not exceed 23.3%. In all farms, *E. coli* carrying resistance genes to ceftriaxone were detected, mainly of the bla_{CTX-M} group, and in the full-cycle intensive system, the mcr-1 gene associated with colistin resistance was identified.

These findings demonstrate that the inappropriate use of critical antibiotics in food-producing animals promotes the selection of resistant bacteria, posing a risk to public health. The results highlight the need to generate and harmonize data to guide the development of treatment guidelines for bacterial infections of veterinary relevance.

CAPÍTULO 1- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1.1 Caracterización del sector porcino en Uruguay

La cadena de producción porcina uruguaya está estructurada en cuatro eslabones principales: producción primaria, intermediación, industrialización y comercialización. La mayor parte de esta actividad se encuentra en manos de empresas integradoras que abarcan desde la cría de los cerdos hasta la comercialización de la carne, produciendo tanto carne fresca como productos chacinados. La fase de producción primaria incluye tanto la cría como el engorde de los animales (Aguirre et al., 2022). Según datos del Censo General Agropecuario de 2011, se registraron 8.080 explotaciones porcinas, caracterizadas por una alta concentración animal en un reducido número de explotaciones de pequeño tamaño (Tabla 1- Cuadro 1) (DIEA-MGAP, 2014). A diferencia de los datos obtenidos en la encuesta porcina DIEA - FPTA 2024, donde se evidenció un total de 2842 explotaciones informaron presencia del rubro suinos, lo que representa un 30% menos que lo registrado en la encuesta porcina de 2006. Como resultado de la encuesta se obtuvo que, existen 1.250 explotaciones que se dedican a la comercialización y 1.592 al autoconsumo (Tabla 1 - cuadro 2) (DIEA, 2024).

Tabla 1 cuadro 1. Datos de explotaciones y cantidad de porcinos obtenidos de censo general agropecuario de 2011

Tamaño de la piara (cabezas)	Explotaciones con cerdos					
	Total		Número de explotaciones	Con producción comercial		
				Existencias de cerdos		Promedio (cabezas por explotación)
	Número de explotaciones	Existencias de cerdos (cabezas)	Total			
Cabezas			(%)			
Total	8.080	194.639	2.367	163.577	100,0	69
Menos de 10	5.451	17.290	631	3.117	1,9	5
De 10 a 20	1.260	17.564	620	8.964	5,5	14
De 21 a 50	854	27.136	619	20.271	12,4	33
De 51 a 150	389	31.926	372	30.662	18,7	82
De 151 a 300	67	13.967	66	13.807	8,4	209
Más de 300	59	86.756	59	86.756	53,0	1470

Fuente: [Censo General Agropecuario 2011 | MGAP](#)

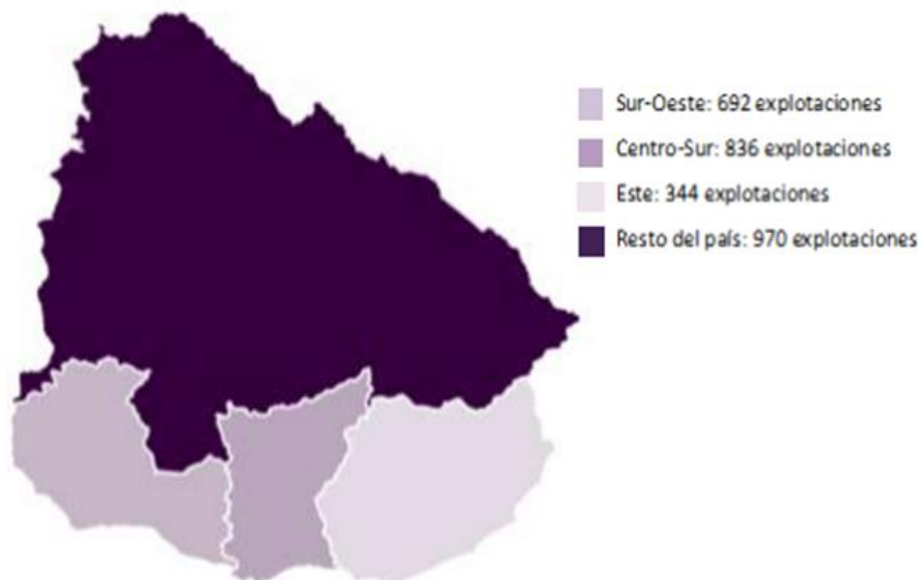
Tabla 1 cuadro 2. Número de explotaciones (totales) por contexto productivo según tamaño productivo, 2006/2023

Tamaño Productivo	2006			2023		
	Total	Comerciales	Autoconsumo	Total	Comerciales	Autoconsumo
Total	4065	2808	1257	2842	1250	1592
< 50	3428	2268	1160	2605	1021	1565
50 a 499	593	496	97	215	208	27
500 y +	44	44	0	22	22	0

Fuente: MGAP-DIEA

En 2020, se reportaron 3.797 declaraciones juradas relacionadas con la producción porcina, lo que representó un total de 130.000 cabezas (DIEA-MGAP, 2020). En cuanto a la intermediación, las ferias se destacan como el canal más utilizado para la primera venta de cerdos, especialmente entre los pequeños productores, quienes suelen especializarse en la cría de lechones para la venta. El tercer eslabón es la industrialización de la carne, que abarca tanto las chacinerías como los frigoríficos. Finalmente, la comercialización se orienta principalmente al consumo interno de carne fresca y productos chacinados en carnicerías, supermercados y otros comercios minoristas (Aguirre et al., 2022).

La producción porcina en Uruguay, según el Anuario Estadístico Agropecuario 2024, reporta un total de 153 mil cabezas de cerdos en el país. Durante 2023, la faena de suinos en establecimientos habilitados y no habilitados alcanzó 180.000 cabezas (MGAP-DIEA, 2024). En el mapa de la figura 1 se observa la cantidad de explotaciones (comerciales y de autoconsumo) por región, que informaron la presencia de porcinos. Si bien la región denominada “resto del país”, es la que presenta la mayor cantidad de explotaciones (970), al considerar el área que abarca cada una de las regiones, podemos identificar que en la Centro Sur (región que comprende los departamentos de Montevideo, Canelones y Florida), es donde se encuentran el mayor número de explotaciones por superficie, seguidas por la zona Sur-Oeste (departamentos de Soriano, Colonia y San José).



Fuente: MGAP-DIEA

Figura 1 Cantidad de explotaciones (comerciales y de autoconsumo) por región.

En el centro-sur y litoral oeste del país, la producción porcina está asociada a rubros como la agricultura, horticultura y lechería, mientras que en el litoral este se vincula con la ganadería extensiva y la industria arrocera (Bell et al., 2014). En Uruguay se distinguen tres tipos de sistemas de producción: de cría, de engorde y de ciclo completo. A su vez, las explotaciones porcinas pueden clasificarse en extensivas, semi-intensivas e intensivas. El sistema extensivo, utilizado principalmente en cerdos de traspatio, se caracteriza por permitir que los animales pasten libremente con acceso a sombra y agua, dependiendo en gran medida de las condiciones ambientales (Ballina & Bencomo, 2010).

Por otro lado, la producción intensiva se lleva a cabo en granjas donde el espacio vital es limitado, pero las instalaciones garantizan condiciones óptimas de confort y bienestar animal. Este sistema requiere infraestructura adecuada para asegurar el éxito de la producción (Bell et al., 2014). La explotación semi-intensiva combina ambos enfoques, permitiendo que los animales pasen parte del tiempo al aire libre y otra parte en confinamiento, bajo un régimen de alimentación intensiva. Este método es común en áreas donde se aprovechan los residuos alimentarios para complementar la producción agrícola y animal.

La Encuesta Porcina de DIEA-INIA (2006) reveló un aumento en el número de criadores comerciales, representando el 77% del total de productores, mientras que los establecimientos de ciclo completo y engorde disminuyeron al 19% y 4%, respectivamente, en comparación con el Censo de 2000 (MGAP-DIEA, 2006; Bell et al., 2014). En cuanto al tipo de producción, el 36% de los establecimientos opera con confinamiento total o parcial de los animales, el 44% lo hace a campo

abierto y el 20% utiliza una combinación de ambos sistemas. La producción porcina, aunque está presente en todo el territorio nacional, muestra una mayor concentración en áreas cercanas a capitales departamentales, influenciada por la demanda, la disponibilidad de alimentos de bajo costo y la localización de las plantas de faena (Aguirre et al., 2022).

Actualmente, en la encuesta 2023 se registró un descenso del 55 % del total de establecimientos que se dedican a comercializar su producción. En todos los tamaños productivos, la disminución fue mayor al 50 %, registrándose el porcentaje más alto (54 %), en las explotaciones que tienen menos de 50 animales (DIEA, 2024).

1.2 Antibióticos

1.2.1 Definición y usos de los Antimicrobianos

Los antimicrobianos (ATM) utilizados en clínica actúan sobre diversas estructuras o funciones bacterianas. Pueden inhibir la síntesis de la pared bacteriana, alterar la integridad de la membrana citoplasmática, impedir la síntesis proteica o bloquear la síntesis y función de los ácidos nucleicos. Existen también moléculas cuya función es proteger otros compuestos de las enzimas bacterianas, como los inhibidores de β -lactamasas. Tradicionalmente, los ATM se han clasificado en bactericidas, que ejercen una acción letal sobre la bacteria, o bacteriostáticos, que inhiben temporalmente el crecimiento bacteriano. Sin embargo, un mismo antibiótico puede comportarse de manera bactericida o bacteriostática dependiendo de la concentración alcanzada en la diana o de su afinidad por un microorganismo específico (Otero Fariña, 2024).

El uso de ATM ha revolucionado el control y tratamiento de las infecciones, resultando crucial en la prevención de enfermedades en humanos, animales y plantas (OIE, 2016). Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos (RAM) ha emergido como un desafío global. La RAM se define como la capacidad de un microorganismo para resistir la acción de los ATM, sobreviviendo y proliferando a dosis terapéuticas convencionales (Mantilla Becerra, 2020).

En 2015, durante la Asamblea Mundial de la Salud, la OMS, la FAO y la OMSA presentaron un Plan de Acción Mundial contra la RAM. Este plan comprometió a todos los países a desarrollar programas en dos años para mejorar la conciencia sobre la RAM, reforzar la vigilancia e investigación, reducir la incidencia de infecciones, optimizar el uso de antimicrobianos y garantizar una financiación sostenible (World Health Organization [WHO], 2017a).

Desde 2005, la OMS actualiza una lista de antimicrobianos utilizados en medicina humana (y veterinaria), clasificados según su importancia para la salud humana: de importancia crítica, alta o moderada. Esta lista busca promover el uso adecuado de antimicrobianos en ambas áreas. Entre los antimicrobianos de

importancia crítica se incluyen las cefalosporinas de tercera generación, las fluoroquinolonas y las polimixinas, como la colistina, utilizados para tratar infecciones por bacilos Gram negativos, como *Escherichia coli* (WHO, 2017b; WHO, 2019).

6.ª revisión de la Lista OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica para la Medicina Humana
 Grupo Consultivo sobre Vigilancia Integrada de la Resistencia a los Antimicrobianos (AGISAR)
 Noviembre de 2018

Resumen de la Categorización y priorización de los antimicrobianos clasificados como importantes, muy importantes o de importancia crítica

Clase de antimicrobiano	Criterio / Factor de priorización (SI = ●)				
	C1	C2	P1	P2	P3
ANTIMICROBIANOS DE IMPORTANCIA CRÍTICA					
ALTA PRIORIDAD					
Cefalosporinas de tercera, cuarta y quinta generación	●	●	●	●	●
Glicopéptidos	●	●	●	●	●
Macrólidos y carbapénams	●	●	●	●	●
Polimixinas	●	●	●	●	●
Quinolonas	●	●	●	●	●
GRAN PRIORIDAD					
Amnoglicósidos	●	●	●	●	●
Asotriconas	●	●	●	●	●
Carbapenémicos y otros penicilínicos	●	●	●	●	●
Glicociclina	●	●	●	●	●
Glipéptidos	●	●	●	●	●
Misobactina	●	●	●	●	●
Osaxolínicos	●	●	●	●	●
Penicilinas (antipseudomónicas)	●	●	●	●	●
Penicilinas (antipseudomónicas)	●	●	●	●	●
Funcilinas (antipseudomónicas con inhibidores de la β-lactamasa)	●	●	●	●	●
Derivados del ácido fusídico	●	●	●	●	●
Fármacos para tratar únicamente la tuberculosis (bifonolones, bedaquilina, delamanid)	●	●	●	●	●
ANTIMICROBIANOS MUY IMPORTANTES					
Antidrapacilinas	●	●	●	●	●
Cefalosporinas de primera y segunda generación y carbapenémicos	●	●	●	●	●
Lincomiomas	●	●	●	●	●
Penicilinas (antipseudomónicas)	●	●	●	●	●
Penicilinas antistafilocócicas	●	●	●	●	●
Funcilinas de espectro reducido	●	●	●	●	●
Ácidos pivoxilidínicos	●	●	●	●	●
Rimofononas	●	●	●	●	●
Antibacterianos acetaminolados	●	●	●	●	●
Estrógenos	●	●	●	●	●
Sulfonamidas, inhibidores de la dihidrofolato-reductasa y co-trimoxolol	●	●	●	●	●
Sulfonas	●	●	●	●	●
Tetraciclinas	●	●	●	●	●
ANTIMICROBIANOS IMPORTANTES					
Anticoagulantes	●	●	●	●	●
Polipéptidos cíclicos	●	●	●	●	●
Mitofononas	●	●	●	●	●
Misobactina	●	●	●	●	●
Fluoroquinolonas	●	●	●	●	●

C1 Criterio 1
Clase de antimicrobianos que constituye uno de los pocos o el único tratamiento disponible para tratar infecciones bacterianas graves en humanos.

C2 Criterio 2
Clase de antimicrobianos utilizada para tratar infecciones humanas causada por: 1) bacterias que pueden ser transmitidas a los humanos a partir de fuentes no humanas, o 2) bacterias que pueden adquirir genes de resistencia a partir de fuentes no humanas.

P1 Factor de priorización 1
Gran número de personas en la comunidad o en determinados grupos de alto riesgo (por ejemplo, pacientes con infecciones graves en centros sanitarios) afectadas por enfermedades para las cuales son muy pocos los antimicrobianos que se pueden elegir.

P2 Factor de priorización 2
Clase de antimicrobianos de uso muy frecuente en cualquier indicación médica humana o en determinados grupos de alto riesgo (por ejemplo, pacientes con infecciones graves en centros sanitarios, dado que dicho uso puede favorecer la selección de resistencias).

P3 Factor de priorización 3
Clase de antimicrobianos que se utiliza para tratar infecciones humanas en las que se hay numerosos puntos de la transmisión de bacterias resistentes (por ejemplo, especies de *Salmonella* spp. no tifoideas y *Campylobacter* spp.) o genes de resistencia (E.coli y *Enterococcus* spp.) a partir de fuentes no humanas.

Lista OMS de AIC, 6.ª revisión : <http://who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-sixth/en/>
 AGISAR: http://who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/agisar/en/
 © WHO 2018. Todos los derechos reservados. Este documento disponible en virtud de la licencia CC BY-NC-SA 4.0 IGO.
 WHO/MSD/10/15/2018.1

Organización Mundial de la Salud

Figura 2 Antimicrobianos denominado 'críticos' para la salud humana (World Health Organization, 2019)

El descubrimiento de la actividad antibacteriana del género *Penicillium* por Alexander Fleming en 1929 transformó el campo de la medicina y estimuló la búsqueda de nuevos antibióticos para controlar las infecciones bacterianas. Sin embargo, con el tiempo, las bacterias han desarrollado resistencia a todos los antibióticos introducidos en la práctica clínica (Clatworthy et al., 2007; O 'neill, 2016). La OMS proyecta que, para el año 2050, la resistencia bacteriana podría causar 10 millones de muertes al año (O 'neill, 2016). Como parte de su Plan de Acción Global sobre la Resistencia a los Antimicrobianos, la OMS ha propuesto la creación de redes de laboratorios especializados para conservar cepas y optimizar el uso de los antibióticos. El uso prudente y responsable de los antibióticos es un componente clave de un enfoque ético destinado a mejorar la salud animal y garantizar la seguridad alimentaria.

Las sustancias antimicrobianas se emplean en medicina veterinaria con fines terapéuticos y profilácticos para tratar o bien prevenir infecciones. En ambos casos, los antibióticos deben ser suministrados bajo el control de un profesional veterinario y la normativa vigente sobre medicamentos veterinarios. Los

antibióticos también pueden ser empleados en la producción animal como promotores del crecimiento.

Los promotores de crecimiento, usados en la alimentación de cerdos y otros animales, mejoran la palatabilidad del alimento, estimulan el crecimiento, incrementan la eficiencia alimenticia y previenen enfermedades al mantener el equilibrio intestinal e inhibir patógenos como *Escherichia coli*. Sin embargo, el uso de antibióticos en dosis subterapéuticas ha sido cuestionado debido a su contribución a la RAM, lo que ha llevado a restricciones en varios países. La OMS, la OMSA y la FAO han instado a reducir el uso indebido de antimicrobianos en la ganadería intensiva, donde se administran simultáneamente a animales sanos y enfermos (Acar et al., 2006; Van Boeckel et al., 2015; Aenishaenslin et al., 2019).

En nuestro país a partir del año 2024 se ha prohibido la importación, exportación, fabricación, venta, uso, tenencia y comercialización de productos veterinarios que contengan los siguientes antibióticos a) Carboxipenicilinas, b) Ureidopenicilinas, c) Ceftobiprol, d) Ceftarolina, e) Combinaciones de cefalosporinas con inhibidores de la betalactamasa, f) Cefalosporinas sideróforas, g) Carbapenémicos, h) Penémicos, i) Monobactámicos j) Derivados de ácidos fosfónicos, k) Glicopéptidos, l) Lipopéptidos, m) Oxazolidinonas, n) Fidaxomicina, o) Plazomicina, p) Glicilciclinas, q) Eravaciclina y r) Omadaciclina (Uruguay, 2024); así como la importación, fabricación, comercialización y uso de alimentos para animales de las especies productivas que contengan antibióticos con la finalidad de promover el crecimiento (Uruguay, 2024) (MGAP, 2024).

1.2.2 - Principales Grupos de Antibióticos usados en producción cerdos

En Uruguay, los sistemas de cría de cerdos en confinamiento son donde se emplea con mayor frecuencia el uso de antibióticos, ya sea en el pienso o en el agua de bebida (premix). Los antibióticos más utilizados pertenecen a la familia de las lincosamidas, que se emplean para el tratamiento de infecciones, la prevención de enfermedades y la mitigación de complicaciones relacionadas con el estrés fisiológico, como ocurre durante la etapa de destete. Otros antibióticos comúnmente utilizados en granjas intensivas se ilustran en el Tabla 2 (Obando et al., 2020).

Tabla 2 Principales grupos de antibióticos utilizados en Uruguay. Comunicación personal 2024.

Familia	Antibiótico usado en Uruguay en cerdos
Aminoglucósidos	Estreptomina
Betalactámicos	Penicilina, cefalosporinas
Anfenicoles	Florfenicol
Lincosamidas	Lincomicina
Quinolonas	Enrofloxacina y Ciprofloxacina
Tetraciclinas	Oxitetraciclina, Clortetraciclina, Doxiciclina
Macrólidos	Tilosina

1.2.3- Antimicrobianos críticos evaluados en el estudio

A continuación, se describen los antimicrobianos de importancia crítica (ATM) incluidos en este trabajo, destacando sus principales características, mecanismos de acción y relevancia en la salud humana y animal.

1.2.3 a- Betalactámicos

Los antibióticos β -lactámicos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana. Desde su descubrimiento, esta familia de compuestos, que incluye productos naturales, semisintéticos o combinaciones con inhibidores de β -lactamasas, no ha dejado de expandirse (Schlunzen et al., 2003; Kannan et al., 2014) (Tabla 3).

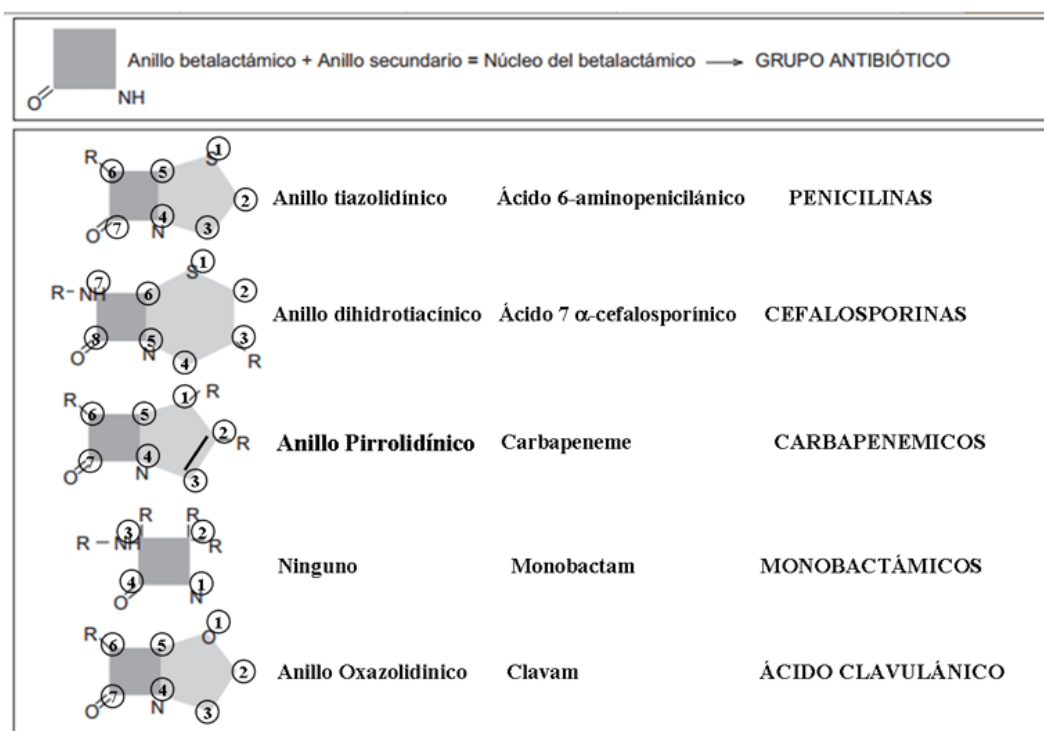


Figura 3 Estructura química de los diferentes antibióticos β -lactámicos. Tomada y modificada de Suárez & Guidol 2009.

Se dividen en grupos como Penicilinas, Cefalosporinas, Monobactámicos, Carbapenemes (Figura 3), Inhibidores de betalactamasas (Obando et al., 2020).

Mecanismo de acción: Inhiben la actividad de las proteínas de unión a la penicilina (PBP en inglés), lo cual lleva a la detención de la síntesis de la pared celular, debido a la inhibición de uno de los pasos finales de síntesis del peptidoglicano, como es la transpeptidación o entrecruzamiento. La detención del proceso de síntesis de pared no se encuentra acoplado a la lisis de la misma requerida para el reciclaje del peptidoglicano. Por este motivo el resultado neto de la inhibición de la síntesis de pared es la prevalencia de los procesos líticos de la pared celular lo que lleva a la muerte bacteriana, siendo los beta lactámicos antibióticos bactericidas (Obando et al., 2020).

Estructura química: presentan un anillo betalactámico central, responsable de su actividad biológica, que salvo en los monobactámicos se asocia a un anillo secundario (ver figura 3). Así por ejemplo en las penicilinas, este anillo está asociado a un anillo tiazolidínico que forma el núcleo activo, el ácido 6-amino-penicilánico (Obando et al., 2020).

Espectro antibacteriano: las penicilinas son efectivas contra grampositivos, mientras que las de amplio espectro también actúan sobre gramnegativos. Las cefalosporinas se dividen en generaciones, con un espectro que va ampliándose hacia los gramnegativos y algunas especies resistentes a otros antibióticos (Obando et al., 2020).

Tabla 3 Antibióticos β -lactámicos usados en medicina veterinaria en Uruguay

Grupo	Betalactámico	Vía de administración	Indicación
Penicilinas	Penicilinas naturales	Inyectable	Bovinos, ovinos, caprinos, suinos, equinos, caninos y gatos
	Amoxicilina	Inyectable	Bovinos, ovinos, caprinos, suinos, equinos, caninos y gatos
		Oral	Suinos, aves, caninos y gatos
Cefalosporinas de 1 ^a generación (C1G)	Cefalexina	Inyectable	Bovinos, ovinos, suinos, caninos y gatos
Cefalosporinas de 3 ^a generación (C3G)	Ceftiofur	Inyectable	Bovinos, ovinos, suinos, equinos y aves
Cefalosporinas de 4 ^a generación (C4G)	Cefquinome	Inyectable	Bovinos, suinos

Fuente: GuíaVet. (2021). *Vademécum de especialidades veterinarias*. Uruguay. <https://guiavet.uy/>

1.2.3 b- Polimixinas

Las polimixinas son antimicrobianos polipéptidos con actividad bactericida, fueron descubiertas en 1947, como un producto de microorganismos ambientales pertenecientes al género *Paenibacillus* spp. Se descubrieron cinco tipos de polimixinas (polimixina A-E), no obstante, dada la gran toxicidad de algunos de estos compuestos, sólo están disponibles para uso clínico la polimixina B (producida por el *Paenibacillus polymyxa*) y la polimixina E (producida por el *Paenibacillus colistinus*), también conocida como colistina (Locke et al., 2014; Schumacher et al., 2007). Ambas polimixinas presentan idéntica actividad in vitro, compartiendo un mismo mecanismo de acción, mostrando diferencias sólo en su estructura química (Figura 4).

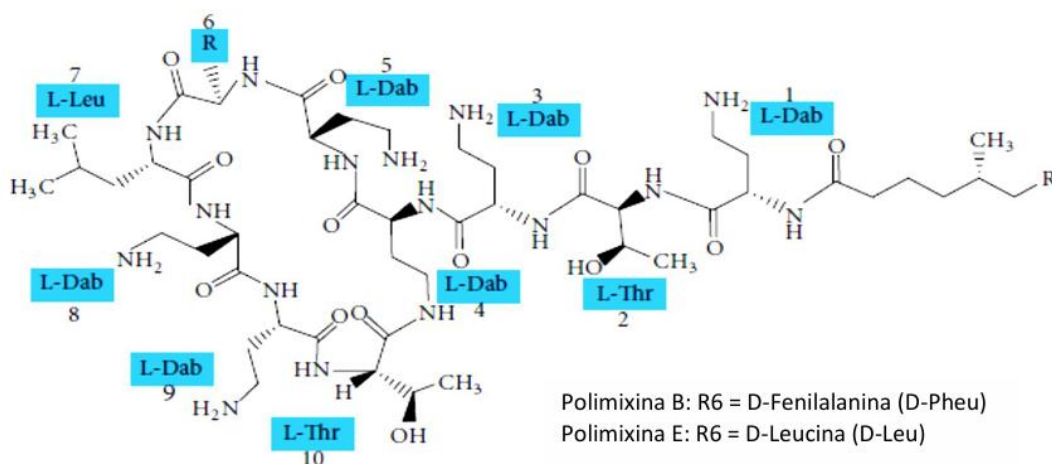


Figura 4 Estructura química de la molécula de la polimixina. Figura adaptada de Yu et al., 2015

La polimixina B se utiliza en el formato de sulfato de polimixina B, mientras que la colistina se utiliza en forma de colistimetato de sodio, una prodroga que precisa ser inicialmente metabolizada para ser transformada en un compuesto farmacológicamente activo (colistina) (McGuire et al., 1952; Kannan et al., 2014).

Aunque es eficaz en el tratamiento de infecciones por bacterias Gram negativas, el uso prolongado de polimixina conlleva serios efectos secundarios, como la neurotoxicidad y la nefrotoxicidad. Por esta razón, estos compuestos fueron ampliamente utilizados hasta la década del 60, cuando comenzaron a ser gradualmente sustituidos por las cefalosporinas y aminoglucósidos, compuestos todos ellos menos tóxicos. A causa del surgimiento del fenómeno de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos, las polimixinas volvieron a usarse, debido a la ausencia de opciones terapéuticas disponibles a fines de la década del 90. Las polimixinas no presentan actividad contra bacterias Gram positivas y normalmente son prescritas para tratar infecciones causadas por microorganismos Gram negativos resistentes a los carbapenemes. En consecuencia, se las considera antimicrobianos de última elección para el tratamiento de infecciones causadas por este tipo de patógenos (Cobos-Trigueros et al., 2009; Kannan et al., 2014).

Modo de acción: Estos antibióticos polipeptídicos actúan como detergentes catiónicos, uniéndose a los fosfolípidos de la membrana bacteriana, lo que provoca un aumento en su permeabilidad y la muerte celular (Cobos-Trigueros et al., 2009; Kannan et al., 2014).

Espectro antibacteriano: Son activas frente a bacilos gramnegativos aerobios, incluidas especies multirresistentes como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, pero no frente a grampositivos ni anaerobios (Cobos-Trigueros et al., 2009, Kannan et al., 2014).

1.3 "Una Salud"

La RAM es un problema complejo que requiere un enfoque multifacético para su manejo. La colaboración entre profesionales de la salud humana, animal, y ambiental, así como productores y el sistema político son esenciales para abordar esta amenaza de manera integral. Aproximadamente el 60% de las enfermedades infecciosas emergentes a nivel mundial tienen origen zoonótico, es decir, provienen de animales. En los últimos 30 años se han identificado más de 30 nuevos patógenos que afectan a los humanos, y el 75% de ellos provienen de animales (WHO, 2022).

El Plan de Acción Conjunto sobre "Una Salud" (2022-2026) es una iniciativa impulsada por la FAO, el PNUMA, la OMS y la OMSA, diseñada para abordar la resistencia antimicrobiana a través de un enfoque colaborativo que considera la interrelación entre la salud humana, animal y ambiental (WHO, 2021).

1.4 Resistencia Antimicrobiana (RAM)

La RAM se define como la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antimicrobiano, lo que puede provocar la persistencia de infecciones y su posible propagación. Esta resistencia puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural está codificada y expresada por todas las cepas de una especie bacteriana, mientras que la adquirida puede generar fallos terapéuticos cuando un antibiótico ya no es efectivo frente a un patógeno determinado (Darai & Sonntag, 2009; Jian et al., 2021; Bado et al., 2010; Blair et al., 2015).

Es crucial realizar un diagnóstico preciso en medicina veterinaria para evitar el uso innecesario de antibióticos y reducir las pérdidas económicas del productor, además de respetar los tiempos de espera requeridos pre faena antes de destinar carne al consumo humano. En la cría porcina, muchas infecciones se tratan con antibióticos sin confirmar la presencia de una infección bacteriana, lo que resalta la importancia de diagnósticos rápidos y precisos para una administración óptima (Vignoli & Seija, 2006).

Las bacterias desarrollan resistencia a través de tres mecanismos principales: inactivación enzimática, modificaciones en el sitio blanco o alteraciones en la permeabilidad de la membrana bacteriana. Estos mecanismos son esenciales para entender la dinámica de la resistencia, que puede abordarse desde tres perspectivas: individual, poblacional y clínica. La resistencia individual se refiere a la interacción molecular entre una célula bacteriana y un antimicrobiano, mientras que la resistencia poblacional refleja el comportamiento de una población bacteriana frente a un antibiótico en condiciones controladas. La resistencia poblacional en microorganismos en infecciones clínicas incluye factores como el sitio de infección, la severidad, la farmacocinética y el estado inmunitario del paciente (Vignoli & Seija, 2006).

Es fundamental considerar el papel de la microbiota comensal en la diseminación de genes de resistencia, ya que puede actuar como reservorio. Además, la RAM se disemina a través del medio ambiente, aguas residuales, excretas humanas y animales, contaminando cultivos y cuerpos de agua. La interacción entre humanos y animales portadores de resistencia, así como el comercio y el turismo, aceleran su expansión global de la misma (Aarestrup, 2015; Jian et al., 2021; OIE, 2016).

El uso prolongado de bajas dosis de antibióticos en tratamientos preventivos está siendo desalentado globalmente debido a su papel en el fomento de la RAM (WHO, 2017b). En Uruguay, está prohibido la importación, fabricación, comercialización y uso de alimentos para animales de las especies productivas que contengan antibióticos con la finalidad de promover el crecimiento (Uruguay, 2024) (MGAP, 2024). Se ha implementado un Sistema de Farmacovigilancia en 2016, que monitorea la producción y comercialización de productos veterinarios, controlando el uso de antimicrobianos desde su importación hasta su venta final. Los antibióticos en la cadena bovina serán los próximos en ser incorporados en este sistema (Bennett, 2017).

La RAM tiene como principal consecuencia la aparición de bacterias multirresistentes, que representan una seria amenaza para la salud pública. Asimismo, la presencia de residuos de antibióticos en productos de origen animal se considera un factor de riesgo adicional con implicancias tanto para la salud humana como para el medio ambiente (Figura 5) (Jones, 1997).

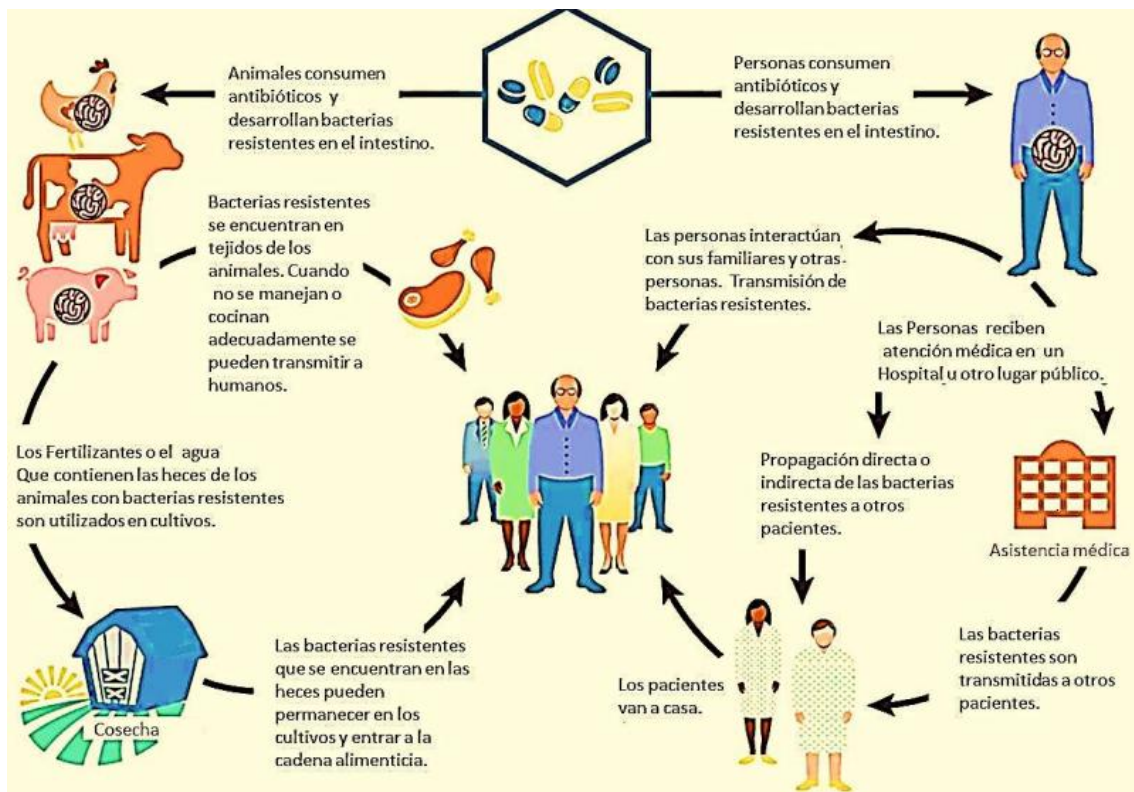


Figura 5 Principales caminos de diseminación de RAM vía uso de antibióticos. Fuente: Bennett et al., 2017.

Los antibióticos utilizados en la salud humana y animal pueden alcanzar diversos ambientes, como suelos, aguas, plantas y seres vivos, a través de las excretas. Esta contaminación altera la función y estructura de las comunidades bacterianas, facilitando la selección, desarrollo y diseminación de la resistencia (Endale et al., 2023).

1.5 Indicadores Microbiológicos de la RAM

En 2017, la OMS identificó tres categorías de prioridad para microorganismos en la investigación de nuevos antibióticos: crítica, alta y media. En la categoría crítica se incluyen bacterias multirresistentes, especialmente peligrosas en entornos hospitalarios. Entre estas destacan *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, *Proteus*, *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos, y enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Estas bacterias suelen causar infecciones graves, como septicemias y neumonías, que con frecuencia resultan letales (WHO, 2017c). Las categorías de prioridad alta y media incluyen bacterias con resistencia creciente que causan enfermedades comunes, como la gonorrea o intoxicaciones alimentarias. Entre ellas están *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (incluyendo cepas con resistencia intermedia a vancomicina), *Helicobacter pylori* resistente a claritromicina, *Campylobacter* spp. resistente a fluoroquinolonas y *Neisseria gonorrhoeae* resistente a cefalosporinas y fluoroquinolonas (WHO, 2017c)

Dentro de las bacterias de prioridad crítica las *E. coli* son utilizadas como indicador microbiológico de RAM, está presente en sistemas productivos y puede manifestarse en cepas patógenas tanto para humanos como para animales. En la cría de cerdos, cepas zoonóticas y multirresistentes de *E. coli* suelen ser identificadas, lo que subraya la necesidad de vigilancia bajo el enfoque de Una Salud (WHO, 2017c).

E. coli es una bacteria que forma parte de la familia Enterobacteriaceae y reside normalmente en la microbiota intestinal. Sin embargo, algunas cepas pueden causar enfermedades en humanos y animales donde se incluyen los cerdos. Estas cepas, pueden ser patógenos intestinales conocidas como *E. coli* diarreogénicas provocando diarrea y disentería en lechones o patógenos extra intestinales conocidas como ExPEC (por *E. coli* patógeno extra intestinal) las cuales causan infecciones del tracto urinario, respiratorias, meningitis y sepsis entre otros cuadros (Murray et al., 2014). *E. coli* es el miembro más frecuente e importante del género *Escherichia* y se caracteriza por ser un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, fermentador de glucosa y habitante natural del tubo digestivo de humanos y animales (Schelotto & Alcorta, 2008). La *E. coli* patógena tiene un gran impacto en la morbilidad y mortalidad, así como un alto costo económico a nivel global. Su versatilidad le permite colonizar y persistir en hábitats primarios relacionados con porcinos, otros animales y humanos, así como en hábitats secundarios, abiertos o no asociados a huéspedes (Pokharel et al., 2023).

En Uruguay, se han caracterizado cepas de *E. coli* patógenas de origen bovino, mostrando la circulación de cepas multirresistentes a antibióticos en los rodeos. Estas cepas han demostrado expresar beta-lactamasas CTX-M-14 y resistencias plasmídicas a quinolonas, entre otros mecanismos (Umpiérrez et al., 2017). Recientemente, se han observado fuertes correlaciones entre el uso de antibióticos y la presencia de *E. coli* resistentes en diferentes especies animales (Chantziaras et al., 2014). Además, el uso excesivo e inadecuado de antibióticos en dosis subterapéuticas, como en la metafilaxis y como promotores de crecimiento en alimentos, ha sido asociado con la selección de *E. coli* resistentes en aves, terneros y cerdos (Mirzaagha et al., 2011; Varga et al., 2009).

1.6 Resistencia a antimicrobianos en enterobacteriaceae

Principales mecanismos de resistencia a C3G y colistina

El principal mecanismo de resistencia a los β -lactámicos en bacilos Gram negativos es la producción de β -lactamasas. Estas enzimas actúan mediante la hidrólisis del anillo β -lactámico y fueron descritas por primera vez a comienzos de los años 40, un año antes de que la penicilina se introdujera en el mercado (Munita & Arias, 2016). Las β -lactamasas pueden hidrolizar diversas penicilinas, cefalosporinas e incluso carbapenemes (Bush & Jacoby, 2010). Aunque se han

propuesto varias clasificaciones para estas enzimas, la de Ambler, establecida en 1980, es la más ampliamente aceptada. Esta clasificación se basa en datos de secuencia de los genes *bla* y propone una agrupación estructurada en cuatro clases: A, B, C y D (Ambler, 1980).

Las enzimas de las clases A, C y D son serin-enzimas (peniciloil-serin-transferasas) debido a la presencia de un residuo de serina en el sitio activo que media la reacción de hidrólisis. En contraste, las enzimas de clase B son metalo- β -lactamasas, que contienen uno o dos átomos de zinc asociados al sitio activo. Estas últimas atacan directamente los grupos carbonilo y amida de los carbapenemes (Wang et al., 1999).

β -lactamasas de clase A: Este grupo incluye las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que no solo actúan sobre penicilinas y oximiinocefalosporinas, sino que también hidrolizan aztreonam, aunque no afectan cefamicinas (como cefoxitina) ni carbapenemes. Estas enzimas son inhibidas por ácido clavulánico, lo que facilita su detección en el laboratorio. En nuestro país, se han detectado diversas BLEE, predominando las de tipo CTX-M (*bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-14}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{CTX-M-8} y *bla*_{CTX-M-2}), así como SHV (*bla*_{SHV-2}, *bla*_{SHV-5}) y *bla*_{PER-2} (Vignoli et al., 2006; Bado et al., 2010; García-Fulgueiras et al., 2011).

Otras β -lactamasas de clase A de relevancia son las carbapenemasas de tipo KPC, también reportadas en nuestro país (*bla*_{KPC-2}) (Marquez et al., 2014).

β -lactamasas de clase B: Estas metalo-enzimas (NDM, SPM, IMP, VIM, AIM, SIM, GIM, entre otras) son capaces de hidrolizar la mayoría de los β -lactámicos, incluidos los carbapenemes, pero no aztreonam. Son inhibidas por agentes quelantes de iones divalentes como el EDTA, lo que también facilita su detección en el laboratorio. En Uruguay, se ha reportado *bla*_{NDM-1} en cepas de *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* (Seija et al., 2015; Bado et al., 2018a), mientras que *bla*_{VIM-2} ha sido detectada en *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas putida* (Papa et al., 2016).

β -lactamasas de clase C: Algunos microorganismos, como *P. aeruginosa*, poseen una β -lactamasa cromosómica inducible de clase C (AmpC), que tiene actividad cefalosporinasa y no es inhibible por inhibidores de β -lactamasas como sulbactam, ácido clavulánico o tazobactam, ni tampoco por EDTA. Normalmente, estas enzimas tienen bajos niveles de expresión, pero, junto con alteraciones en la permeabilidad de la membrana, pueden conferir resistencia incluso a carbapenemes (Vila & Marco, 2010). Estas enzimas, como CMY o DHA, también pueden encontrarse codificadas en plásmidos de tipo conjugativo (Navarro et al., 2010).

En Uruguay, se ha observado la presencia de estas enzimas CMY codificadas en plásmidos en *Proteus mirabilis*, *Leclercia adecarboxylata* y *Salmonella enterica* (Cordeiro et al., 2016; Robino et al., 2014).

β -lactamasas de clase D: Las enzimas de clase D tienen un espectro hidrolítico variable, que va desde espectros reducidos, como OXA-1 y OXA-2, hasta carbapenemasas como OXA-48. En general, estas enzimas no son inhibidas por ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam, y suelen encontrarse codificadas por genes plasmídicos ubicados en integrones (Vila & Marco, 2010). En nuestro país, se han reportado los genes *bla*_{OXA-1}, *bla*_{OXA-2} y *bla*_{OXA-10} en diversas enterobacterias (García-Fulgueiras et al., 2011; Bado et al., 2018a) y los genes *bla*_{OXA-23} y *bla*_{OXA-58} (que codifican carbapenemasas OXA) en *A. baumannii* (Bado et al., 2018b).

Las carbapenemasas se dividen en tres clases (A, B y D) según el sistema de clasificación de Ambler. Entre estas, KPC (clase A), NDM, VIM, IMP (clase B) y OXA-48-like (clase D) representan las carbapenemasas más importantes en términos de difusión e impacto clínico (Alvisi et al., 2025).

Aunque muchos genes de β -lactamasas se encuentran codificados en el cromosoma bacteriano, los genes de las BLEE y de carbapenemasa, responsables de la resistencia en las bacterias Gram negativas a clases importantes de antibióticos, generalmente están mediados por plásmidos. Los plásmidos son fragmentos de ADN normalmente circulares que se consideran móviles, ya que pueden ser transferidos entre bacterias a través de la conjugación, un proceso que conecta brevemente el citoplasma de dos bacterias y permite la transferencia horizontal de genes.

Además, los plásmidos suelen portar múltiples genes de resistencia a antimicrobianos. Estos genes adicionales a veces son adquiridos a través de elementos de transposición o transposones, que son secuencias de ADN móviles que pueden integrarse tanto en el cromosoma bacteriano como en un plásmido, a menudo transportando genes de resistencia antimicrobiana (Kawakami et al., 2017).

Con respecto a la resistencia transferible a colistina, la ausencia de LPS en bacterias Gram positivas hace que estas sean naturalmente resistentes a las polimixinas (Abavisani et al., 2023). Por otro lado, las bacterias Gram negativas pueden adquirir resistencia mediante alteraciones en la membrana externa que reducen los niveles de LPS, modificaciones del lípido A del LPS mediante la adición de moléculas cargadas positivamente, como la 4-amino-4-deoxy-L-arabinosa, o incluso la ausencia total del LPS y la presencia de bombas de eflujo (Abavisani et al., 2023). Todos estos mecanismos son cromosómicos y, en principio, no transferibles. Sin embargo, a finales de 2015, se describió por primera vez un mecanismo de resistencia transferible a polimixinas mediado por

el gen *mcr-1*, que codifica una fosfoetanolamida transferasa que modifica el lípido A (Liu et al., 2016). La detección del gen *mcr-1* se expandió rápidamente a nivel mundial, despertando un notable interés científico y generando un aumento significativo en la cantidad de estudios publicados en pocos años. Hasta la fecha, se han descrito diez genes de resistencia transferibles a colistina (*mcr-1* a *mcr-10*) en animales y humanos, lo que aumenta la alerta, ya que muchas veces la colistina es la última alternativa disponible para tratar infecciones de microorganismos multirresistentes. (Anyanwu et al., 2023).

1.7 Prevención de la resistencia a los antibióticos

Dado que hasta el momento no es posible eliminar el uso de antimicrobianos, la prevención de la emergencia de la RAM pasa entre otras cosas por diseñar normativas que promuevan su uso racional. Estas normativas, apoyadas en programas de vigilancia mundial, fomentan las buenas prácticas en el manejo de medicamentos, incluyendo la restricción en el uso de ciertos antimicrobianos y su venta bajo receta veterinaria, asegurando el cumplimiento de los períodos de resguardo y el registro de su uso (Boeckman & Carlson, 1996). En Uruguay, como a nivel global, los antimicrobianos son fundamentales en el tratamiento de infecciones bacterianas en animales, aunque el acceso a estos medicamentos no siempre está supervisado, lo que puede exacerbar la resistencia antimicrobiana. En este contexto, se han reportado bacterias resistentes en sistemas productivos, lo que resalta la necesidad de un diagnóstico adecuado y el monitoreo de la resistencia (Coppola et al., 2020).

La adecuada selección de ATM debe basarse en estudios que identifiquen a los patógenos presentes y su susceptibilidad a los tratamientos, integrando estas acciones en sistemas de vigilancia sanitaria que abarquen aspectos epidemiológicos y preventivos (Acar et al., 2006). Las claves para contener la resistencia incluyen la correcta prescripción, la educación comunitaria y la vigilancia de la resistencia. En la cría de cerdos, muchas enfermedades se tratan con antibióticos sin corroborar que el agente causal sea bacteriano ni que los medicamentos utilizados sean los indicados, lo que subraya la importancia de un diagnóstico preciso para garantizar un uso adecuado de estos fármacos (Cameron-Veas, Moreno, Fraile, & Migura-Garcia, 2016).

Es crucial entender la farmacocinética y farmacodinamia de los antimicrobianos, así como sus mecanismos de acción y resistencia, con la colaboración de microbiólogos para desarrollar guías de tratamiento basadas en estudios locales (McKellar et al., 2004). La resistencia microbiana en veterinaria es especialmente preocupante debido a la transmisión de bacterias multirresistentes a través de los alimentos de origen animal, lo que representa un riesgo significativo para la salud pública (Pilco Chicaiza & Burgos Mayorga, 2025). Finalmente, el uso de antimicrobianos como aditivos en piensos debería considerarse, dado su impacto más significativo en la generación de resistencia microbiana en

comparación con el uso veterinario con fines estrictamente terapéuticos. En contraste, la utilización de probióticos en cerdos contribuye a mejorar la composición de la microbiota intestinal y fortalece el sistema inmunológico, además de ayudar a suprimir la posible presencia de agentes patógenos en el tracto digestivo (Vera-Rodríguez & Álvarez Sánchez, 2024).

1.8 Antecedentes de la RAM en enterobacterias en sistemas productivos porcinos

La RAM en enterobacterias en sistemas productivos porcinos es un desafío creciente que exige la colaboración de múltiples sectores. Existe una relación directa entre el uso indiscriminado de antibióticos y la propagación de resistencias, tanto en los animales como en el entorno productivo. Un estudio destacado de Mencía-Ares et al. (2021) analizó resistencias en explotaciones porcinas intensivas y extensivas en España, empleando técnicas de secuenciación masiva para examinar no sólo los animales, sino también el ambiente y el purín (desechos de los cerdos que se mezclan con restos de comida y agua de lavado) de las granjas. Los resultados obtenidos en las explotaciones en régimen extensivo, presentaron una menor prevalencia de genes de resistencia antimicrobiana. Una de las principales características de estas granjas es el uso significativamente reducido de antibióticos. Los datos reflejan asimismo la muy buena salud del porcino Ibérico extensivo, donde se observan menos resistencias y una menor transferencia de genes entre bacterias. Estos hallazgos constituyen un modelo de referencia que permite visualizar el margen de mejora posible en sistemas de producción intensiva. Demostraron una reducción significativa en el uso de colistina y otros antimicrobianos en el sector porcino español, gracias al Plan Nacional frente a la Resistencia a Antibióticos (PRAN) y el programa “Reduce”. No obstante, los autores enfatizan la necesidad de mantener estas estrategias a largo plazo para garantizar la efectividad de los tratamientos antibióticos. Un hallazgo relevante fue la menor prevalencia de resistencias en el cerdo Ibérico de sistema extensivo, lo que puede servir como modelo para mejorar las prácticas en sistemas intensivos (Mencía-Ares et al., 2021).

A nivel nacional, Coppola et al. (2020) investigaron la resistencia transferible a antimicrobianos críticos en medicina humana en aislados de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos. En este estudio, se evaluó la resistencia a oximinocefalosporinas, quinolonas y colistina en muestras fecales de 50 cerdos de cinco establecimientos, utilizando medios selectivos con ciprofloxacina, ceftriaxona y colistina. Los resultados mostraron una alta proporción de resistencia, especialmente a las fluoroquinolonas en el 98 % de los animales estudiados. Además, se recuperaron 99 aislados de *E. coli*, de los cuales un 30 % presentaba genes de resistencia transferibles. Este hallazgo es particularmente preocupante, dado que estas resistencias pueden comprometer el tratamiento de infecciones en humanos, lo que sugiere la necesidad de limitar el uso de

antimicrobianos de importancia crítica en medicina veterinaria (Coppola et al., 2020).

Dado estos antecedentes y la limitada información nacional sobre la RAM en sistemas productivos, el presente trabajo buscó proporcionar datos sobre la resistencia de *E. coli* aisladas de materia fecal de cerdos de establecimientos productivos de Uruguay. Esta información es esencial para orientar a los profesionales veterinarios en el uso responsable de los ATM, contribuyendo a una gestión más efectiva de la RAM en el ámbito animal.

CAPÍTULO 2- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1- Caracterización del problema

La RAM es un desafío global de creciente impacto en la salud humana, animal y económica. El enfoque “Una Salud” reconoce la interconexión entre la salud vegetal, ambiental, animal y humana, subrayando la necesidad de un abordaje integral. Un ejemplo paradigmático de este problema es la detección a finales de 2015, del primer gen transferible codificante de resistencia a colistina denominado *mcr-1*. Este antibiótico que durante muchos años fue utilizado en medicina veterinaria (dado que por sus efectos tóxicos no se utilizaba en salud humana), pasó a ser un ATM de último recurso para esta última, debido al aumento de incidencia de carbapenemasas. En este contexto, la detección de *mcr-1* reveló una diseminación "silenciosa" de mecanismos de resistencia no detectados hasta ese momento que posteriormente fueron detectados asociados a otros mecanismos de resistencia, como BLEE y carbapenemasas, agravando la situación al reducir aún más las opciones terapéuticas disponibles.

Uruguay, como miembro de la OMS, se comprometió a mejorar la conciencia y el conocimiento sobre la RAM, fortalecer la vigilancia e investigación, reducir la incidencia de infecciones, optimizar el uso de antimicrobianos y asegurar una financiación sostenible. Como ya fue mencionado, en nuestro país las autoridades sanitarias han implementado diversos decretos y resoluciones para controlar el uso de antibióticos en la producción animal (MGAP, 2011; 2015; 2024).

La producción porcina en Uruguay principalmente se dirige al mercado interno, con un consumo anual de 19,3 kg de carne por persona y unas importaciones de 42.012 toneladas de acuerdo al (MGAP, 2020). Los sistemas productivos de cría a campo, con menor densidad animal y menor prevalencia de enfermedades infecciosas, han mostrado requerir menos uso de antimicrobianos, reduciendo la presión selectiva para el desarrollo de la RAM. En contraste, los sistemas intensivos expusieron a los cerdos a un mayor número de agentes infecciosos, lo que aumentó la necesidad del uso de ATM y, por ende, la probabilidad de desarrollo de resistencias (Abdalla et al., 2025).

En Uruguay, el uso de antimicrobianos (ATM) en cerdos está limitado exclusivamente a fines terapéuticos, mientras que su aplicación como promotores del crecimiento está prohibida. Los tratamientos suelen ser mayormente individuales, aunque el uso profiláctico es común en los sistemas de cría intensiva. Además, existen regulaciones nacionales que promueven el uso prudente y racional de antimicrobianos, como la exigencia de prescripción profesional para su venta y la inclusión de estos medicamentos en el Manual de Buenas Prácticas de Uso de Medicamentos Veterinarios (MGAP, 2015).

Este estudio no sólo proporcionará valiosa información sobre la RAM en sistemas de producción de cerdos, sino que también será esencial para establecer las bases de vigilancia y monitoreo del problema en Uruguay.

2.2 Hipótesis

La presencia de *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación y colistina difiere entre los distintos sistemas de producción porcina en Uruguay, siendo mayor en los sistemas más intensivos debido a una mayor presión antimicrobiana.

2.3- Objetivos

2.3.1- Objetivo general:

Determinar la presencia y frecuencia de *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación y colistina en muestras fecales de cerdos provenientes de tres sistemas de producción porcina con distinto nivel de intensificación en Uruguay.

2.3.2- Objetivos específicos:

- a) Determinar e identificar la presencia de genes transferibles de resistencia a cefalosporinas de tercera generación (C3G) en *E. coli* aisladas de materia fecal de cerdos.
- b) Determinar e identificar los genes transferibles de resistencia a Colistina en *E. coli* aisladas de materia fecal de cerdos de establecimientos productivos de Uruguay.
- c) Demostrar la presencia de plásmidos que portan genes de resistencia a C3G por medio de ensayos de conjugación en *E. coli* resistentes aisladas.
- d) Establecer si existe asociación entre el sistema de producción porcino y la presencia de aislamientos de *E. coli* resistente a antibióticos.

CAPÍTULO 3- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1- Diseño del muestreo

El estudio se llevó a cabo mediante un muestreo de materia fecal de cerdos entre agosto de 2020 y diciembre de 2022. Se seleccionaron tres establecimientos con diferentes sistemas de producción porcina: uno con un sistema de cría extensiva y dos con sistemas intensivos, uno de ciclo completo y otro dedicado exclusivamente al engorde, en el departamento de Canelones. Cada establecimiento fue identificado con una sigla: E1 para el establecimiento de producción extensiva, E2 para el establecimiento intensivo de ciclo completo, y E3 para el establecimiento intensivo de engorde.

Características de cría de los establecimientos muestreados

La ubicación geográfica de los 3 establecimientos fue del Departamento de Canelones.

El establecimiento extensivo corresponde a un sistema de producción a campo, caracterizado por una baja densidad animal y un manejo basado principalmente en el pastoreo, con suplementación alimenticia ocasional. Integra las etapas productivas de gestación, maternidad y recría de los lechones. Los animales disponen de amplias áreas para su desplazamiento, lo que favorece condiciones ambientales naturales y un menor nivel de intervención sanitaria.

El establecimiento intensivo de ciclo completo, integra todas las etapas productivas -gestación, maternidad, recría y engorde- bajo un manejo tecnificado. Este sistema se desarrolla en instalaciones cerradas con control ambiental, suministro de raciones balanceadas y aplicación sistemática de programas sanitarios y de bioseguridad.

El establecimiento intensivo de engorde, se especializa en la fase final de producción, recibiendo animales destetados o en crecimiento provenientes de otros sistemas. Los cerdos son alojados en corrales o galpones con condiciones controladas de temperatura y ventilación, donde permanecen hasta alcanzar el peso de faena que corresponde a 110 kilos.

En cada uno de los establecimientos se muestrearon 30 animales, alcanzando un total de 90 cerdos evaluados. La recolección de muestras fue realizada por personal veterinario capacitado, quien, utilizando guantes, tomó muestras de materia fecal del recto de los cerdos. Todas las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Resistencia Antimicrobiana (LRA) del Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina, refrigeradas a 4°C, y procesadas en un plazo de 24 horas.

3.2 Selección de la *E. coli* RAM e identificación

Se procesaron un total de 90 muestras de materia fecal de cerdos. Las muestras fueron sembradas en caldo Luria-Bertani (LB) durante 18 horas a 37 °C para realizar un pre enriquecimiento. Al día siguiente, se inocularon 20 µL del caldo pre enriquecido en medios selectivos: agar MacConkey Lactosa suplementado con ceftriaxona 1 mg/L y otro con colistina 3 mg/L. La identificación de todos los aislamientos se confirmó mediante MALDI-TOF utilizando el software MALDI Biotyper 3.1 (Seng et al., 2009). Posteriormente, los aislamientos se almacenaron a -80 °C en TSB-Glicerol al 15% estéril.

3.3 Estudio de susceptibilidad a antimicrobianos

El estudio de susceptibilidad se llevó a cabo mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer, utilizando agar Müeller-Hinton, de acuerdo con las directrices de la Clinical Standard Laboratory Institute (CLSI-2024). Se seleccionaron antibióticos comúnmente utilizados en medicina humana y la mayoría en veterinaria para la evaluación de la susceptibilidad a los ATM en *E. coli* resistentes, que incluyeron: amoxicilina-ácido clavulánico (AMC), cefoxitina (FOX), imipenem (IPM), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), amikacina (AK), gentamicina (GN) y ciprofloxacina (CIP) (CLSI, 2024). Como control de calidad fue utilizada la cepa de *E. coli* ATCC (American-Type Culture Collection) 25922. Los resultados fueron interpretados de acuerdo a la CLSI-2024. Los resultados de susceptibilidad intermedia se consideraron resistentes.

Se evaluó la expresión de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y cefalosporinasas de clase C mediante test de sinergia de doble disco. La presencia de BLEE en enterobacterias se evidenció utilizando discos de CAZ-AMC-CRO, colocados a una distancia de 1.5 a 2.0 cm de borde a borde en placas con agar Müeller-Hinton. Un aumento en el halo de inhibición del β -lactámico hacia el inhibidor de la β -lactamasa fue considerado como un test fenotípico positivo para BLEE (Figura 6) (Kawakami et al., 2017).

Para detectar β -lactamasas de clase AmpC, en aislamientos resistentes a FOX, se realizó un test de sinergia utilizando discos de CAZ-BOR (ácido bórico)-CRO, con la misma disposición en placas de agar Müeller-Hinton para determinar su expresión (Martínez Rojas, 2009).

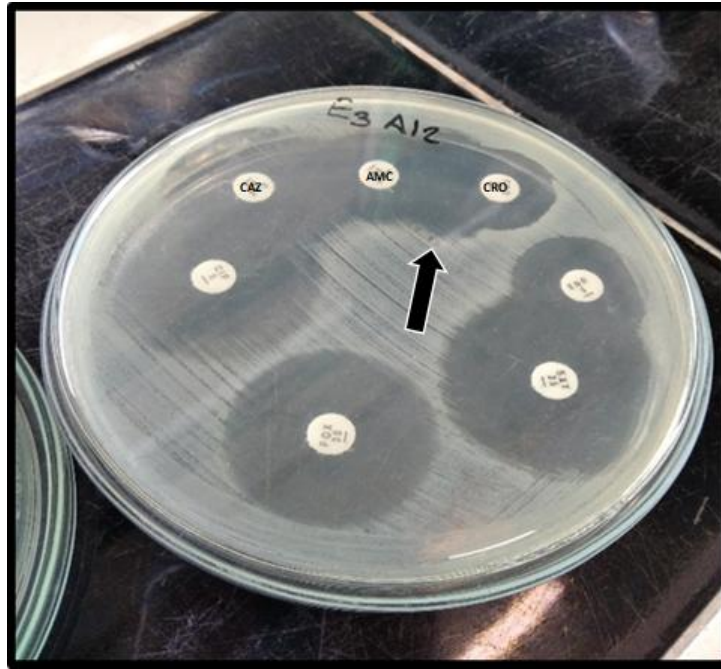


Figura 6 Test de sinergia positivo para BLEE en una cepa para *E. coli*

Se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de COL para los aislamientos de *E. coli* recuperadas en agar MacConkey suplementado con COL, mediante la prueba de agar colistina. Brevemente, a todos los aislamientos con crecimiento en medio con colistina se les realizó una microdilución en placa, utilizando concentraciones de 0 µg/ml (control), 1 µg/ml, 2 µg/ml y 4 µg/ml de colistina. El control de calidad se realizó con la cepa *E. coli* ATCC 25922. La interpretación de los resultados siguió las normas del CLSI, 2024. A los aislamientos resistentes a colistina se les realizó un screening de EDTA-colistina para detectar la presencia fenotípica de genes *mcr* mediante el método "COLISTIN AGAR-SPOT/EDTA" (INEI-ANLIS, 2017), utilizando *E. coli* ATCC 25922 como control de calidad.

3.4 Búsqueda de genes de RAM en los aislamientos resistentes

3.4.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó utilizando un método de "shock" térmico. Para ello, se preparó una suspensión bacteriana a partir de dos colonias previamente aisladas en medio TSA, añadiendo 200 µL de buffer TE-tritón (TE: 10 mM Tris, 1 mM EDTA) al 1% (v/v). La suspensión se sometió a un tratamiento térmico, incubando durante 10 minutos a 100 °C en un baño María, seguido de un enfriamiento a -20 °C durante 5 minutos.

Posteriormente, se centrifugó la mezcla a 13,000 rpm durante 10 minutos, conservando el sobrenadante y descartando el pellet. Las extracciones de ADN se almacenaron a -20 °C hasta su posterior uso.

3.4.2 Búsqueda de Mecanismos de resistencia transferibles

Para la preparación de las reacciones de amplificación se preparó la mezcla de reacción de PCR con un volumen final de 25 µl, que incluía la mezcla de reactivos y el ADN. La concentración final de cada componente y los pasos de amplificación se ajustaron, adaptando la temperatura de hibridación según lo que se muestra en la tabla 4. (tabla 12 anexo).

En los aislamientos de *E. coli* que resultaron positivos en el test de sinergia para beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación (C3G), se investigó la resistencia asociada a diferentes genes de beta-lactamasas, incluyendo *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{PER} y *bla*_{TEM} (tabla 12 anexo) (Pérez-Pérez & Hanson, 2002; Vignoli et al., 2005; Bado et al., 2010; Cordeiro et al., 2016).

Asimismo, en los aislamientos resistentes a quinolonas, se llevó a cabo la búsqueda de mecanismos transferibles de resistencia a fluoroquinolonas mediante la amplificación parcial de los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrVC* y *qnrE* (tabla 12 anexo) (Chen et al., 2012).

Para los aislamientos resistentes a colistina, se realizó una búsqueda de los genes de resistencia transferible a colistina (*mcr-1* a *mcr-9*) en *E. coli* mediante PCR en tiempo final, utilizando primers específicos (tabla 12 anexo) (Rebelo et al., 2018; Wang et al., 2018; Terveer et al., 2017).

A aquellos aislamientos resistentes a fosfomicina se le realizó la búsqueda del gen *fosA3* (tabla 12 anexo) (Ho et al., 2013a; Kobayashi et al., 2000).

La visualización de los productos de amplificación se realizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1-2 %, según correspondiera, para visualizar los productos de amplificación. Se cargaron 20 µl de cada producto de PCR junto con 4 µl de buffer de carga. En la corrida electroforética se incluyeron controles positivos, negativos y de mezcla, además de un marcador de peso molecular comercial para determinar el tamaño de los productos amplificados. Se aplicó un voltaje de 5V/cm (medido entre electrodos). Los geles, teñidos con bromuro de etidio a 0.5 µg/ml durante 10 a 20 minutos y visualizados mediante transiluminador UV.

La secuenciación de los productos de PCR se realizó en ambas hebras, empleando el método de "primer extensión" con cebadores específicos (ver tabla 12 de anexos). Se empleó un secuenciador de ADN (ABI PRISM 3700) y se utilizó el programa NCBI-BLAST para buscar homología entre las secuencias obtenidas y otras previamente ingresadas en bases de datos (NCBI). Además,

se usó el programa CHROMAS (versión 1.45, Griffith University, Queensland, Australia) para analizar los cromatogramas.

Por cada animal estudiado solo se estudiaron aislamientos de *E. coli* que presentaran diferencias en el perfil de susceptibilidad y/o presencia-ausencia de genes.

3.5- Ensayo de conjugación

Para evidenciar la movilidad de los mecanismos de resistencia se realizaron ensayos de conjugación utilizando la cepa receptora *E. coli* J53-2. A partir de cultivos puros, se inocularon por separado una colonia de cada una de las cepas donantes (resistentes a ceftriaxona y/o a colistina) y la cepa receptora en 2 ml de caldo Luria-Bertani. Estos cultivos fueron incubados durante 2 horas a 37°C con agitación constante (200 rpm). Posteriormente, se añadieron 200 µl de la cepa donante a 2000 µl de la cepa receptora, y se dejaron incubando a 37°C durante toda la noche. Al día siguiente, se sembraron diluciones de 10 µl, 100 µl y el pellet obtenido por centrifugación de cada caldo de conjugación en placas de agar MacConkey Lactosa suplementadas con rifampicina (150 mg/L) (Sigma-Aldrich, Shanghai, China) y ceftriaxona (1 mg/L) para las cepas donantes resistentes a ceftriaxona, o bien agar MacConkey Lactosa con rifampicina (150 mg/L) y colistina (3 mg/L) para las cepas resistentes a colistina. Las colonias capaces de crecer en medios con ambos antibióticos fueron consideradas transconjugantes.

Las cepas transconjugantes positivas (Tc+) fueron confirmadas mediante pruebas bioquímicas, como la detección de la enzima ornitina descarboxilasa en medio MIO (motilidad-indol-ornitina), ya que la cepa receptora era negativa para esta prueba. También se realizaron antibiogramas por difusión con disco, utilizando el test de sinergia para BLEE, la determinación de la CMI en placa para colistina y PCR para la detección de los genes de interés (Cordeiro et al., 2016).

3.6- Análisis estadístico

Se asignaron aleatoriamente 30 animales a cada uno de los tres grupos de estudio, los cuales representaban distintos sistemas de producción: extensivo, intensivo 1 e intensivo 2. El sistema Intensivo 1 se caracterizó por abarcar todas las etapas del ciclo productivo porcino, incluyendo la gestación, parto, lactancia, destete, recría y terminación. Es decir, en este tipo de explotación se lleva a cabo el proceso completo, desde la reproducción hasta el engorde final de los animales. En cambio, el sistema Intensivo 2 se enfocó exclusivamente en la fase de engorde. Recibe animales que ya han sido destetados o están en transición, y se encarga únicamente de llevarlos hasta el peso de sacrificio, sin intervenir en las etapas reproductivas ni de cría temprana. Estos grupos eran independientes entre sí. Inicialmente, se realizó un análisis descriptivo para cada grupo, empleando tablas, gráficos y medidas descriptivas apropiadas para las variables en estudio. La variable de respuesta fue el número de animales con aislamientos resistentes en cada grupo, la cual es categórica nominal, al igual que la variable de los sistemas de producción (extensivo, intensivo 1 e intensivo 2). Para el análisis de las diferencias entre grupos, se utilizó una prueba de Chi cuadrado para el análisis de frecuencias. Además, se estimó previamente la proporción

poblacional de animales positivos en cada grupo. Los supuestos de la prueba de Chi cuadrado incluyen la independencia de los grupos y frecuencias esperadas no menores a 5. Todos los análisis fueron realizados utilizando el software R versión 4.2.2 (2022-10-31 ucrt).

Nuestras variables fueron resistencia a CRO y COL. Nuestros grupos fueron Establecimiento 1 – extensivo, Establecimiento 2 lo llamamos intensivo 1 y Establecimiento 3 intensivo 2. Cada uno de los establecimientos se caracterizó por diferentes prácticas de manejo y condiciones ambientales. En el Establecimiento 1 (extensivo), predominó un sistema de manejo basado en pastoreo a campo abierto, con menor densidad de animales y un enfoque más naturalista. Por otro lado, los establecimientos 2 y 3 se diferenciaron por sus sistemas de producción más intensivos, donde se implementan estrategias de manejo específicas, como el confinamiento, alimentación controlada y un monitoreo más frecuente de las variables de interés. Estas diferencias permitieron evaluar cómo los distintos niveles de intensificación afectan la resistencia a CRO Y COL.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

4.1 Resultados generales

De la muestra fecal de los 90 cerdos evaluados, 56 (62,2%) presentaron crecimiento de *E. coli* resistente a antibióticos críticos, mientras que en 34 (37,8%) no se detectó crecimiento. Entre los positivos, 54 (60%) mostraron resistencia a ceftriaxona (CRO) y 2 (2,2%) a colistina (COL).

Sin embargo, se observaron diferencias significativas entre los distintos establecimientos.

4.2 Análisis por establecimiento

Si bien la proporción de animales portadores de *E. coli* resistentes a C3G es alta, los resultados de la prueba Chi-cuadrado y la tabla de porcentajes revelaron una diferencia significativa entre los establecimientos -E1 (producción extensiva), E2 (intensivo de ciclo completo) y E3 (intensivo de engorde)- y animales con muestras con aislamientos resistentes a cefalosporinas de tercera generación y/o colistina.

Así mientras E1 tubo 7 animales (23,3%) portadores de aislamientos con RAM, E2 presento 29 animales portadores con aislamientos (96,7%) mientras que en E3 se detectaron microorganismos resistentes en 18 animales (60%).

El p- valor fue <0.0001 dando evidencia estadísticamente significativa para rechazar la hipótesis nula, la cual postula que no hay relación entre los grupos (E1, E2, E3) y la presencia de animales con aislamientos con resistencia a los antibióticos. Los datos presentados en la tabla 5 muestran que las diferencias en las proporciones de resistencia son estadísticamente significativas y no atribuibles al azar (Tabla 4).

Tabla 4 Establecimientos con animales con crecimiento de *E. coli* resistentes a antibióticos críticos.

Establecimiento	Animales con crecimiento de <i>E. coli</i> Resistentes	Animales sin crecimiento de <i>E. coli</i> Resistentes	Chi Cuadrado	P Valor
E1	7/30 (23.3 %)	23/30 (76.7 %)	33.61	<0.0001
E2	29 /30 (96.7 %)	1/30 (3.3 %)		
E3	18/30 (60.0 %)	12/30 (40.0 %)		

Los resultados del análisis estadístico para el crecimiento de aislamientos resistentes en cerdos en las categorías CRO y COL revelan diferencias significativas entre los establecimientos analizados. En el establecimiento E1, se observaron 7 cerdos con crecimiento de *E.coli* en CRO y ninguno en COL. En E2, la situación cambia, ya que 29 cerdos mostraron crecimiento en CRO, mientras que solo 2 lo hicieron en COL. Por otro lado, en E3, se registraron 18 cerdos con crecimiento en CRO y ningún crecimiento en COL, similar a E1 (Figura 7).

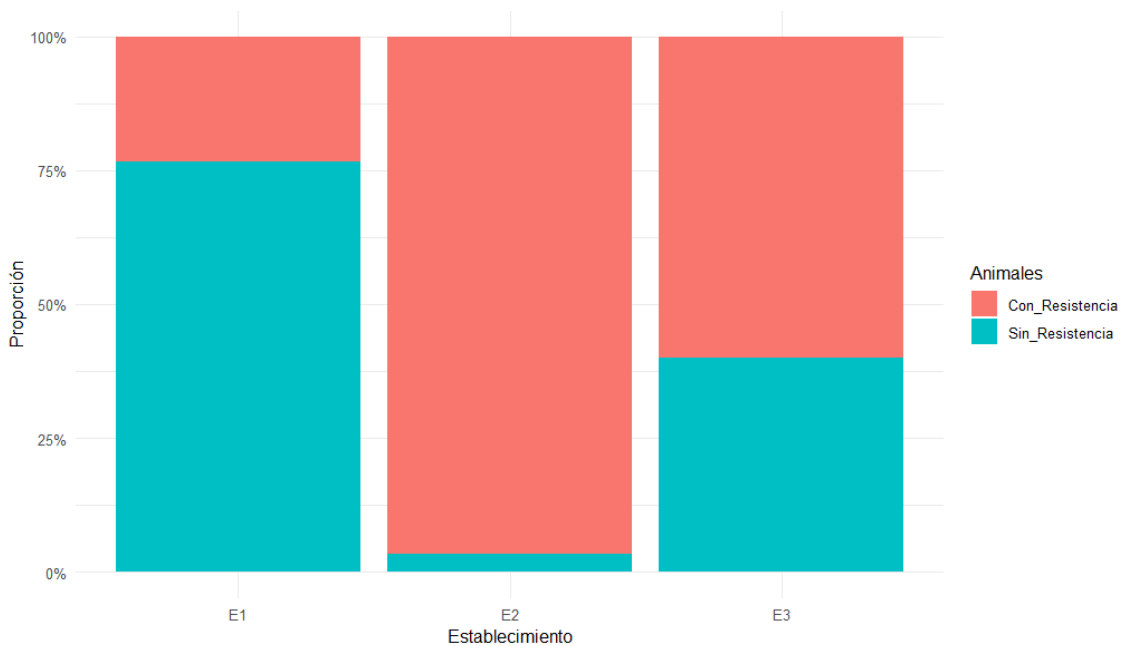


Figura 7 Proporción de animales con aislamientos a antibióticos por establecimiento.

El valor del estadístico Chi-cuadrado fue de 8.64, acompañado de un valor p de 0.013, lo que indica una asociación significativa entre el establecimiento y el tipo de crecimiento observado. Los resultados muestran que el tipo de manejo de los animales en cada establecimiento se asocia con diferencias en las proporciones de crecimiento de *E. coli* frente a los distintos antibióticos estudiados en los cerdos. (Tabla 5).

Tabla 5 Establecimientos con sus tasas de crecimiento de *E. coli* en los cerdos en los diferentes antibióticos estudiados

Establecimiento	Animales con crecimiento de <i>E. coli</i> en CRO	Animales con crecimiento de <i>E. coli</i> en COL	Chi Cuadrado	P Valor
E1	7	0	8.64	0.013
E2	29	2		
E3	18	0		

Los resultados del análisis del crecimiento de *E. coli* resistente a CRO o COL por cerdos según los establecimientos revelan diferencias significativas en la categoría CRO, mientras que en la categoría COL no se observan variaciones notables. Se observaron diferencias altamente significativas en la proporción de animales con aislamientos de *E. coli* resistentes a ceftriaxona entre los establecimientos evaluados ($p < 0.0001$). E2 presentó la mayor proporción de aislamientos resistentes, seguido de E3 y E1. En la categoría de resistencia a colistina no se registraron diferencias significativas entre establecimientos ($p = 1.000$), dado el bajo número de aislamientos resistentes detectados (Tabla 6).

Tabla 6 Resultados del análisis del crecimiento de *E. coli* resistente a CRO o COL por cerdos según los establecimientos.

Antibiótico	Establecimiento A vs B	Animales del A con crecimiento de <i>E. coli</i>	Animales del B con crecimiento de <i>E. coli</i>	Chi Cuadrado	P Valor
CRO	E1 vs E2	7/30	29/30	33.6	<0.0001
	E1 vs E3	7/30	18/30	10.73	0.001
	E2 vs E3	29/30	18/30	4.58	0.033
COL	E1 vs E2	0/30	2/30	0.0	1
	E1 vs E3	0/30	0/30	0.0	1
	E2 vs E3	2/30	0/30	0.0	1

4.3 Análisis por aislamientos de *E. coli* estudiados

Se trabajó con un total de 80 aislamientos de *E. coli* resistentes a CRO y COL. En el establecimiento E1 se analizaron 10 aislamientos, todos resistentes a CRO. En el establecimiento E2, se trabajó con 47 aislamientos, de los cuales 45 mostraron crecimiento en CRO y 2 en COL que luego al hacerle la macrodilución en placa crecieron con una CIM ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. Finalmente, en E3 se evaluaron 23 aislamientos de *E. coli*, los cuales presentaron crecimiento en CRO (Figura 8).

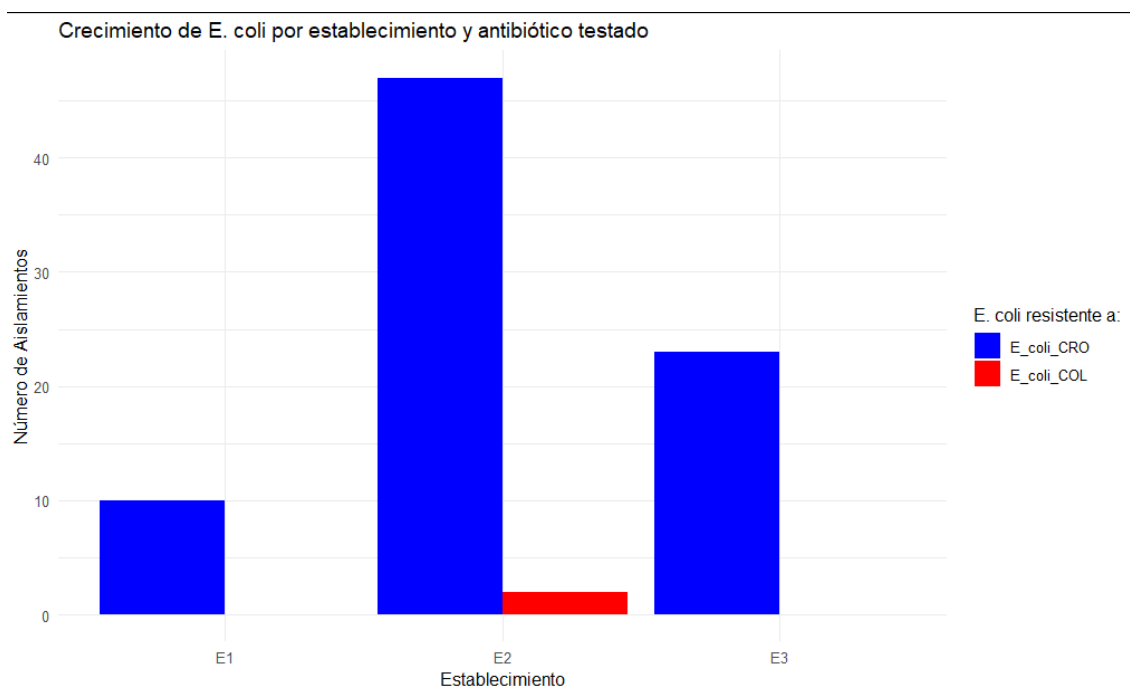


Figura 8 Crecimiento de *E. coli* por establecimiento y antibiótico testado.

4.4 Ensayos fenotípicos: determinación de susceptibilidad asociada CRO y/o a COL.

Del total de 80 aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos a partir de muestras fecales de animales, 78 crecieron en CRO y 2 en COL. Al realizar el estudio de susceptibilidad se observó una alta proporción de resistencia frente a varios antibióticos de uso clínico relevante. En particular, se registró resistencia a AMC en 58 aislamientos (72,5%) y a CIP en 67 aislamientos (83,8%). Asimismo, se detectó resistencia a CN en 57 aislamientos (71,3%), a AK en 62 (77,5%) y a SXT en 32 (40,0%). La resistencia a FOT fue menos frecuente, con 7 (8,75%).

Con el fin de evaluar si estas proporciones de resistencia diferían según el origen de los aislamientos, se realizó una comparación entre los tres establecimientos involucrados en el estudio (E1, E2 y E3). El análisis estadístico reveló diferencias significativas en la proporción de animales con crecimiento de *E. coli* no susceptibles a varios antibióticos. En particular, se observaron diferencias entre E1 y E2 para AMC, CRO, CN, AK, FOT y CIP ($p < 0,05$), con una mayor proporción de resistencia registrada en el establecimiento E2. De forma similar, se detectaron diferencias entre E2 y E3 para AMC, CRO y CIP, reforzando la hipótesis de que E2 presenta niveles más elevados de resistencia antimicrobiana en comparación con los otros establecimientos evaluados. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre establecimientos en la resistencia a SXT, COL y FOX. Esto indica que la distribución de la resistencia a estos antimicrobianos fue homogénea entre los diferentes tipos de establecimientos (Tabla 7 y Figura 9).

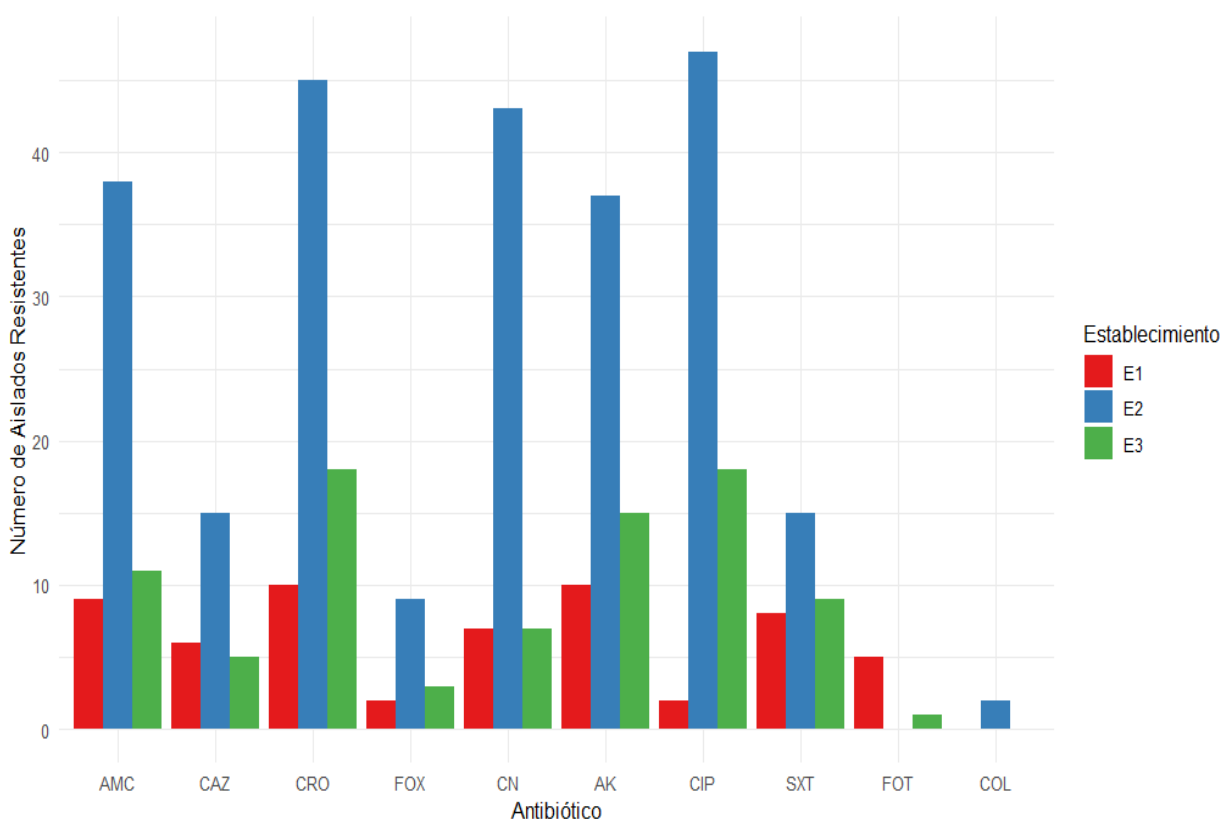


Figura 9 Resistencia a antibióticos por establecimientos

Tabla 7 Análisis estadístico Chi Cuadrado de las diferencias de susceptibilidad a los antibióticos entre los distintos establecimientos.

Antibiótico	Establecimiento A vs B	Animales del A con crecimiento de <i>E. coli</i>	Animales del B con crecimiento de <i>E. coli</i>	Chi Cuadrado	P Valor
AMC	E1 vs E2	9/10	38/47	25.47	<0.0001
	E1 vs E3	9/10	11/23	1.23	0.269
	E2 vs E3	38/47	11/23	6.58	0.010
CAZ	E1 vs E2	6/10	15/47	5.67	0.017
	E1 vs E3	6/10	5/23	0.25	0.617
	E2 vs E3	15/47	5/23	2.45	0.118
CRO	E1 vs E2	10/10	45/47	18.77	<0.0001
	E1 vs E3	10/10	23/23	1.56	0.212
	E2 vs E3	45/47	23/23	7.23	0.007
FOX	E1 vs E2	2/10	9/47	3.34	0.068
	E1 vs E3	2/10	3/23	0.36	0.550
	E2 vs E3	9/47	3/23	0.54	0.463
CN	E1 vs E2	7/10	43/47	12.47	0.002
	E1 vs E3	7/10	7/23	0.01	0.934
	E2 vs E3	43/47	7/23	1.45	0.229
AK	E1 vs E2	10/10	37/47	10.33	0.001
	E1 vs E3	10/10	15/23	0.17	0.681
	E2 vs E3	37/47	15/23	2.74	0.097
CIP	E1 vs E2	2/10	47/47	22.67	<0.0001
	E1 vs E3	2/10	18/23	0.40	0.525
	E2 vs E3	47/47	18/23	5.05	0.025
SXT	E1 vs E2	8/10	15/47	1.78	0.181
	E1 vs E3	8/10	9/23	0.12	0.735
	E2 vs E3	15/47	9/23	0.35	0.554

En el análisis de resistencia a FOT y COL mediante el test exacto de Fisher, se observaron diferencias significativas únicamente en FOT. La proporción de aislamientos resistentes en E1 fue del 50%, significativamente mayor que en E2 (0%) y E3 (4,3%), indicando que E1 presenta una mayor proporción de resistencia a este antibiótico. En cambio, entre E2 y E3 no se detectaron

diferencias significativas. Por su parte, para COL no se encontraron diferencias significativas entre ningún par de establecimientos, con porcentajes de resistencia muy bajos o nulos (Tabla 8).

Tabla 8 Análisis estadísticos test exacto de Fisher para evidenciar las diferencias de susceptibilidad a los antibióticos entre los distintos establecimientos.

Antibiótico	Establecimiento A vs B	Animales del A con crecimiento de <i>E. coli</i>	Animales del B con crecimiento de <i>E. coli</i>	P Valor Fisher
FOT	E1 vs E2	5/10	0/47	<0.0001
	E1 vs E3	5/10	1/23	0.005
	E2 vs E3	0/47	1/23	0.33
COL	E1 vs E2	0/10	2/47	1.00
	E1 vs E3	0/10	0/23	1.00
	E2 vs E3	2/47	0/23	0.49

4.5 Perfiles de susceptibilidad a antibióticos testados por establecimientos:

A continuación, se describen los principales perfiles de resistencia detectados (Tabla 9). Se analizaron un total de 78 aislamientos de *E. coli* no susceptibles a CRO, provenientes de tres establecimientos diferentes (E1, E2 y E3), además de 2 aislamientos resistentes a COL (CIM ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$) del establecimiento E2. Estos aislamientos presentaron perfiles variados de resistencia, que involucran combinaciones de hasta ocho antibióticos distintos, incluyendo fármacos críticos para la salud humana. En total, los 80 aislamientos se agruparon en 43 perfiles diferentes, de los cuales la mayoría correspondieron a perfiles de multiresistencia (MDR), definidos como resistencia a tres o más familias de antibióticos (Hammerum et al., 2014).

En el E1 se identificaron 8 perfiles de resistencia distribuidos entre 10 aislamientos. Los perfiles más comunes presentaron resistencia combinada a betalactámicos como AMC, CAZ y CRO, además de aminoglucósidos (AK; CN), fluoroquinolonas (CIP) y SXT. Aunque la diversidad de perfiles fue alta, la mayoría correspondió a aislamientos individuales, predominando aquellos con resistencia a seis o más antibióticos. Tres de estos perfiles exhibieron resistencia simultánea a AMC, CRO, CAZ, CN, AK, SXT y FOT, siendo este el perfil más frecuente. Los perfiles restantes fueron únicos para un solo aislamiento y comprendieron combinaciones variadas como, por ejemplo: AMC, FOX, CRO, CAZ, CN, AK, CIP y SXT. De estos perfiles, 6 de 8 (80 %) fueron clasificados como MDR.

El establecimiento E2 presentó la mayor cantidad de aislamientos (n=47) repartidos en 16 perfiles de resistencia. La mayoría de los aislamientos mostró

resistencia combinada a ceftriaxona, ciprofloxacina y amikacina, lo que evidencia la presencia de cepas multirresistentes. Se detectaron perfiles con resistencia simultánea a cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y trimetoprima-sulfametoxazol, lo que refleja un alto nivel de co-selección de resistencia. Además, se identificaron dos perfiles que incluían resistencia a COL.

De los 47 aislamientos, el 100 % fueron resistentes a CIP y se agruparon en 16 perfiles diferentes. El perfil más frecuente fue el que combinó resistencia a AMC, CRO, CN, AK y CIP, representando 12 de los 47 aislamientos. Le siguió en frecuencia el perfil AMC, FOX, CRO, CAZ, CN, AK y CIP, con 7 aislamientos. El tercer perfil más frecuente incluyó resistencia a AMC, CRO, CN, CIP y SXT, con 6 aislamientos. En conjunto, 14 de los 16 perfiles identificados (88 %) fueron clasificados como MDR.

El establecimiento E3 presentó un total de 23 aislamientos, los cuales se agruparon en 19 perfiles de resistencia diferentes, lo que evidencia una alta diversidad fenotípica. Al igual que en los demás establecimientos, los perfiles incluyeron resistencia a CRO combinada con otros antibióticos como CIP, AK y SXT. No obstante, en este caso se observó una mayor fragmentación en los perfiles, ya que la mayoría fueron únicos o compartidos por un número reducido de aislamientos. El perfil más frecuente fue la resistencia solo a CRO, presente en tres aislamientos, seguido por dos perfiles compartidos por dos aislamientos cada uno: uno con resistencia combinada a CRO y CIP, y otro con resistencia a AMC, CRO, CN, AK y CIP. Los 16 perfiles restantes fueron únicos. En total, se evidenció que 15 de los 19 perfiles (79 %) corresponden a cepas MDR.

Tabla 9. Perfiles de resistencia por establecimiento estudiados

Establecimiento	Perfiles	Antibióticos	Aislamientos
E 1	1	AMC, CRO, CAZ, CN, AK, SXT, FOT	3
	2	AMC, FOX, CRO, CAZ, CN, AK, CIP, SXT	1
	3	AMC, FOX, CRO, CAZ, AK, CIP, SXT	1
	4	AMC, CRO, CAZ, AK, SXT, FOT	1
	5	AMC, CRO, CN, AK, SXT	1
	6	CRO, CN, AK	1
	7	AMC, CRO, AK	1
	8	AMC, CRO, CN, AK, SXT, FOT	1

Total	8		10
E 2	9	AMC, CRO, CN, AK, CIP	12
	10	AMC, FOX, CRO, CAZ, CN, AK, CIP	7
	11	AMC, CRO, CN, CIP, SXT	6
	12	AMC, CRO, CN, AK, CIP, SXT	5
	13	AMC, CRO, CAZ, CN, AK, CIP, SXT	3
	14	CRO, CIP	3
	15	CRO, CAZ, CN, AK, CIP, SXT	2
	16	AMC, CRO, CAZ, CN, AK, CIP	1
	17	CRO, CN, CIP, SXT	1
	18	CRO, CN, AK, CIP	1
	19	CRO, CN, CIP	1
	2	AMC, FOX, CRO, CAZ, CN, AK, CIP, SXT	1
	20	AMC, CN, AK, CIP, COL	1
	21	AMC, CRO, CIP	1
	22	CN, AK, CIP, COL	1
23	AMC, FOX, CRO, CAZ, CN, CIP, SXT	1	
Total	16		47
E3	24	CRO	3
	14	CRO, CIP	2
	9	AMC, CRO, CN, AK, CIP	2
	25	AMC, CRO, CAZ, AK, CIP	1
	26	AMC, FOX, CRO, CAZ, CIP, SXT	1
	17	CRO, CN, CIP, SXT	1

	27	AMC, CRO, AK, CIP	1
	28	AMC, FOX, CRO, CAZ, AK, CIP, SXT, FOT	1
	29	AMC, FOX CRO,	1
	30	CRO, AK, CIP, SXT	1
	7	AMC, CRO, AK	1
	12	AMC, CRO, CN, AK, CIP, SXT	1
	13	AMC, CRO, CN, AK	1
	31	CRO, CN, AK, CIP, SXT	1
	32	CRO, AK, CIP	1
	33	CRO, CIP, SXT	1
	15	CRO, CAZ, CN, AK, CIP, SXT	1
	34	CRO, CAZ, AK, CIP	1
	35	AMC, CRO, AK, CIP, SXT	1
Total	19		23

Nomenclatura: Amoxicilina con Ac. Clavulánico (AMC), Ceftazidime (CAZ), Ceftriaxona (CRO), Ciprofloxacina (CIP), Gentamicina (CN), Amikacina (AK), Trimetropin sulfametoxazol (SXT), Cefoxitina (FOX)

4.6 Genes encontrados por establecimientos y genotipos

Los aislamientos de *E. coli* recuperados en los tres establecimientos muestran una variabilidad notable en los perfiles genéticos de resistencia. De las 79 β -lactamasas identificadas fenotípicamente se tipificaron 57 genes de β -lactamasas (*bla*), 27 genes de resistencia plasmídica a quinolonas (*qnr*), 4 genes de resistencia a fosfomicina (*fosA3*) y 2 genes de resistencia a colistina (*mcr*), distribuidos entre los establecimientos E1, E2 y E3. (Tabla 10).

El establecimiento E2 presentó la mayor diversidad y proporción de genes de resistencia, incluyendo *bla*_{CMY}, *bla*_{CTX-M} de los grupos 1, 3 y 4, y *qnrB*, *E* y *S*. Además, fue el único establecimiento en el que se detectó *mcr-1*. También se observó una mayor complejidad de genotipos combinados, como *bla*_{CTX-M} del grupo 4 junto con *qnrB*.

Por el contrario, E1 presentó una menor carga genética de resistencia, con 8 aislamientos que portaban genes como *bla*, así como combinaciones de *bla*_{CMY} con *qnrS*. Además, fue el único establecimiento en el que se evidenció la circulación del gen *fosA3*, detectado en cuatro aislamientos: tres portadores también de *bla*_{CTX-M} del grupo 1.

E3 mostró perfiles intermedios, destacando por la presencia de *bla*_{CTX-M} del grupo 3, *bla*_{CTX-M} del grupo 4 y en algunos casos combinados con *qnrS* o con *qnrB*, con algunas combinaciones entre *bla*_{CTX-M} y genes PMQR.

Tabla 10 Perfiles genéticos de resistencia de aislamientos de *E. coli* recuperados en los tres establecimientos.

Establecimientos	<i>E. coli</i> aisladas	BLEE	Genes de resistencia			Genotipos detectados
		no tipificadas	<i>Bla</i>	PMQR	<i>mcr</i>	
E1	10	BLEE (2)	<i>bla</i> _{CMY} (2) <i>bla</i> _{PAN-CTX-M} (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1(3) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 2 (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 3 (1)	<i>qnrS</i> (2)		<i>bla</i> _{CMY} / <i>qnrS</i> (2) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1/ <i>fosA3</i> (3) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 2 <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 2/ <i>fosA3</i> (1)
E2	47	BLEE (19)	<i>bla</i> _{CMY} (8) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1 (13) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 3 (3) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 4 (5)	<i>qnrB</i> (4) <i>qnrE</i> (2) <i>qnrS</i> (13)	<i>mcr1</i> (2)	<i>bla</i> _{CMY} (5) <i>bla</i> _{CMY} / <i>qnrS</i> (2) <i>bla</i> _{CMY} / <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1(1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo1/ <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 4/ <i>qnrB</i> (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1/ <i>qnrB</i> (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1/ <i>qnrE</i> (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 1/ <i>qnrS</i> (3) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 3 (2) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 4/ <i>qnrB</i> (2) BLEE/ <i>qnrS</i> (7) BLEE/ <i>qnrE</i> (1) <i>mcr1</i> (2)
E3	23	BLEE (1)	<i>bla</i> _{CMY} (3) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 3 (9) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 4 (8)	<i>qnrB</i> (1) <i>qnrS</i> (5)		<i>bla</i> _{CMY} (2) <i>bla</i> _{CMY} / <i>qnrS</i> (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 3/ <i>qnrB</i> (1) <i>bla</i> _{CTX-M} grupo 4/ <i>qnrS</i> (2) BLEE/ <i>qnrS</i> (1)

Total	80	22	57	27	2	
-------	----	----	----	----	---	--

4.7- Ensayos de conjugación y caracterización de plásmidos

Se logró la obtención de transconjugantes a partir de los aislamientos de *E. coli* resistentes a ceftriaxona (CRO) en los tres establecimientos evaluados (E1, E2 y E3). Todos los transconjugantes utilizaron como receptor la cepa J53-2 y adquirieron genes de resistencia a β -lactámicos.

En E1, se obtuvieron cuatro transconjugantes (E1A14.1, E1A14.2, E1A16 y E1A27), todos portadores de genes codificantes de BLEE. Tres de ellos presentaron *bla*_{CTX-M}-grupo 1, mientras que uno (E1A27) mostró *bla*_{CTX-M} -grupo2.

En E2, se identificaron siete transconjugantes (E2A3, E2A7.1, E2A10, E2A18.1, E2A20 y E2A29.1), con una mayor diversidad de genes de resistencia. Se detectaron variantes de CTX-M (CTX-M-grupo 3, CTX-M-grupo 4 y CTX-M-grupo 1), así como la presencia de CMY, una β -lactamasa de tipo AmpC.

En E3, se aislaron seis transconjugantes (E3A1, E3A2.2, E3A7.2, E3A12, E3A18 y E3A29.2). En este establecimiento, se observó una menor diversidad de genes, con predominio de CTX-M-grupo 3 en cuatro transconjugantes y CTX-M- grupo 4 en dos de ellos (Tabla 11).

Tabla 11 Tabla de conjugantes

Transconjugante	Donador	Receptor	Genes de resistencia en Tc
Tc E1	E1A14.1 CRO	<i>E.coli</i> J 53-2	<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 1
	E1A14.2 CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 1
	E1A16CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 1
	E1A27CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 2
Tc E2	E2A3CRO	<i>E.coli</i> J 53-2	<i>bla</i> _{CMY}
	E2A7.1 CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3
	E2A10 CRO		<i>bla</i> _{CMY}
	E2A7.1 CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3

	E2A10 CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 1
	E2A18.1 CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 4
	E2A20 CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 4
	E2A29.1CRO		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3
Tc E3	E3A1	<i>E.coli</i> J 53-2	<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3
	E3A2.2		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3
	E3A7.2		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3
	E3A12		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 3
	E3A18		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 4
	E3A29.2		<i>bla</i> _{CTX-M} Grupo 4

Se observó una alta frecuencia de genes de resistencia a cefalosporinas de tercera generación en los aislamientos, con variaciones entre establecimientos. Se detectaron múltiples variantes de CTX-M y CMY, mostrando la diversidad de mecanismos de resistencia presentes.

CAPÍTULO 5- DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran una alta proporción de cerdos portadores de *E. coli* resistentes a antibióticos críticos, con diferencias significativas entre los establecimientos evaluados. De las 90 muestras de materia fecales analizadas de cerdos, 56 (62,2 %) presentaron crecimiento de *E. coli* resistente, mientras que en 34 (37,8 %) no se detectó desarrollo de bacterias resistentes. En particular, 54 animales (60 %) mostraron resistencia a ceftriaxona (CRO) y 2 (2,2 %) a CRO y colistina (COL). Si bien la frecuencia de resistencia a colistina fue baja, la elevada proporción de aislamientos resistentes a cefalosporinas de tercera generación (C3G) representa una señal de alerta, dado que estos antibióticos son de uso prioritario en medicina humana.

Estos resultados son comparables con los hallazgos del estudio realizado por Coppola et al. (2020), en el que se analizaron 50 cerdos provenientes de cinco establecimientos (10 animales por establecimiento). En ese trabajo, el 72 % (36/50) de los animales presentó aislamientos resistentes a CRO y el 14 % (7/50) a COL, cifras que confirman la alta frecuencia de resistencia en la producción porcina en Uruguay.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en otra especie productiva como las aves, también evaluadas por Coppola et al., se observaron frecuencias de resistencia considerablemente menores: solo el 17,4 % (23/132) de las aves presentaron aislamientos resistentes a CRO y el 0,76 % (1/132) a COL. Esta comparación evidencia que la producción porcina presenta una mayor frecuencia de resistencia a estos antibióticos críticos en relación con la producción avícola, lo cual podría deberse a diferencias en el manejo, el uso de antimicrobianos y la intensidad de los sistemas productivos (Mencía-Ares et al., 2021).

A pesar de esta situación, Uruguay ha avanzado en la implementación de medidas normativas orientadas al uso prudente de antimicrobianos en medicina veterinaria, apoyándose en un marco legal cada vez más sólido. Entre las disposiciones más relevantes se encuentra el Decreto N.º 098/2011, que prohíbe el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en bovinos y ovinos, y la Resolución N.º 193/015-DGSG, que regula el registro de medicamentos veterinarios con antimicrobianos conforme a estándares internacionales. En relación con la colistina, se destaca el Decreto N.º 141/019, que prohíbe su importación, venta, uso y fabricación en productos veterinarios para todas las especies animales, dada su importancia como antibiótico de último recurso en medicina humana. Esta medida se basa en evidencia científica que demuestra los vínculos entre su uso en animales y la aparición de resistencias transferibles que pueden afectar la salud humana (MGAP, 2019).

Por otro lado, en el estudio se evidenció que la proporción de animales con aislamientos resistentes no fue homogénea entre los establecimientos.

Mostrando una notable variabilidad en las proporciones de resistencia a los antibióticos entre los tres establecimientos analizados. El E2 intensivo de ciclo completo, se destaca como el más afectado, registrando un 96,7% de animales con aislamientos resistentes. Esto podría estar relacionado con factores específicos del manejo, uso de antibióticos o condiciones ambientales que favorezcan la selección y diseminación de bacterias resistentes (Mencía-Ares et al., 2021). La elevada proporción de resistencia observada en E2 resalta la importancia de realizar una evaluación exhaustiva de las prácticas de manejo en este establecimiento, incluyendo el historial de uso de antimicrobianos y los posibles factores de transmisión.

En comparación, el E1 de producción extensiva muestra menor proporción de animales con aislamientos resistentes (23,3%), lo que sugiere un escenario más favorable en términos de control de la resistencia. Este resultado podría estar vinculado a su sistema de cría a campo, que, a diferencia de sistemas intensivos como el de E2, suele asociarse con un mayor bienestar animal, alimentación natural, sostenibilidad, mejor calidad de carne, menor impacto ambiental, menor densidad animal, una presión de selección bacteriana reducida y en sistemas de cría más naturales, es posible reducir la necesidad de antibióticos, ya que los animales suelen estar menos estresados y más saludables (Delsart et al., 2023). Estas condiciones pueden limitar la propagación de microorganismos resistentes al reducir tanto el contacto directo entre animales como la acumulación de residuos antimicrobianos en el entorno (Delsart et al., 2023).

Es importante destacar que las prácticas de manejo en E1, tales como el uso limitado de tratamientos antimicrobianos y el acceso a un entorno menos confinado, podrían servir como modelo para estrategias de mitigación en sistemas más intensivos. Investigaciones previas han sugerido que las estrategias basadas en manejo a campo y el uso racional de antimicrobianos contribuyen significativamente a reducir la prevalencia de bacterias resistentes (Jaleta et al., 2024; Lee et al., 2013).

No obstante, sería fundamental realizar estudios adicionales para identificar y caracterizar las prácticas específicas en E1 que podrían estar vinculadas a estos resultados. Esto facilita el diseño de intervenciones adaptadas para optimizar la prevención de la resistencia en sistemas intensivos, donde la colaboración entre veterinarios y productores es clave. Además, resultaría esencial capacitar al personal en el uso responsable de antimicrobianos y en la importancia de prevenir la resistencia. El seguimiento regular del estado de salud de los cerdos y la vigilancia de patógenos en la granja permitirían implementar medidas preventivas oportunas, reduciendo el riesgo de brotes (Delsart et al., 2023).

El caso de E3 intensivo de engorde, con un 60.0% de animales portadores de microorganismos resistentes, representa una situación intermedia. Aunque una proporción significativa de los animales presenta resistencia, todavía queda un

40,0% de individuos susceptibles. Esto sugiere que, si bien la resistencia es evidente, su alcance podría ser menor que en E2, pero más extendida que en E1.

El p-valor $<0,0001$ confirma que las diferencias observadas entre los establecimientos no son atribuibles al azar, lo que destaca la influencia de factores específicos en cada lugar. Estos hallazgos subrayan la necesidad de implementar estrategias personalizadas de control, monitoreo y uso racional de antibióticos, adaptadas a las condiciones particulares de cada establecimiento. Asimismo, resulta relevante investigar si existen patrones en los tipos de antibióticos empleados o en las prácticas de bioseguridad (Jaleta et al., 2024; Ma et al., 2021).

Los resultados del análisis estadístico revelan patrones distintivos en la resistencia de *E. coli* a CRO entre los cerdos de los tres establecimientos. E2 presentó el mayor número de cerdos con aislamientos resistentes (29), superando significativamente a E1 (7) y a E3 (18). Por el contrario, en la categoría COL, los aislamientos resistentes fueron escasos, con solo dos cerdos afectados en E2 y ninguno en los otros establecimientos. Probablemente esto refleja las diferencias de usos de estos antibióticos, recordando que como ya se mencionó en nuestro país el uso de colistina está prohibido en salud veterinaria. De hecho, dado que los aislamientos resistentes a colistina (y portadores de *mcr-1*) también fueron resistentes a ciprofloxacina, gentamicina y amikacina, podría incluso tratarse de un fenómeno de co-selección, más que de la presión que pudo haber realizado el uso de colistina.

El análisis de Chi-cuadrado confirma estas observaciones, p-valor de 0.013, lo que respalda la existencia de una asociación significativa entre el establecimiento y la resistencia a CRO. Las comparaciones específicas entre los establecimientos revelaron que E2 tiene una proporción considerablemente mayor de cerdos con aislamientos resistentes a CRO en comparación con E1 ($p < 0.0001$) y E3 ($p = 0.033$), mientras que E1 y E3 también difieren significativamente ($p = 0.001$). Estas diferencias podrían reflejar factores como la presión selectiva derivada del uso de antibióticos, la densidad animal y las condiciones de manejo, que varían entre los sistemas de producción (Mencía-Ares et al., 2021).

5.1 Aislamientos

Se analizaron un total de 80 aislamientos de *Escherichia coli*, de los cuales 78 crecieron en medio con ceftriaxona (CRO) y 2 en medio con colistina (COL). Las pruebas de susceptibilidad mostraron elevados niveles de resistencia frente a antimicrobianos críticos para la salud humana. Entre los aislamientos resistentes a ceftriaxona, se observaron altas prevalencias de co-resistencia a otros antibióticos: amoxicilina-clavulánico (75%, 57/78), ciprofloxacina (83%, 65/78),

trimetoprim-sulfametoxazol (41%, 32/78), amikacina (77%, 60/78) y gentamicina (70,5%, 55/78). En el trabajo de Coppola. (2024), realizó en un estudio multicategoría que incluyó terneros, aves y cerdos, donde las proporciones de animales portadores con resistencia a CRO fueron 1,37% en terneros, 15,7% en aves y 45,45% en cerdos como se mencionó anteriormente, con diferencias estadísticamente significativas entre especies ($p < 0.001$). Estos datos respaldan la hipótesis de que los cerdos actúan como reservorios importantes de bacterias resistentes, probablemente vinculados al manejo y uso de antimicrobianos.

Aunque la resistencia a colistina (2,5 %) y fosfomicina (FOT) (8,75 %) fue menos frecuente, su detección adquiere particular relevancia, ya que ambos antimicrobianos son considerados de última línea en el tratamiento de infecciones humanas graves (Mondal et al., 2024). En el caso de FOT, se observó que la proporción de aislamientos resistentes en E1 fue significativamente mayor que en E2 y E3, lo que evidencia una distribución desigual de la resistencia entre los establecimientos y resalta la importancia de monitorear su presencia incluso cuando la frecuencia global es baja.

La resistencia transferible a colistina (mediada por *mcr-1*) y a fosfomicina mediada por *fosA3* ya ha sido descrita en animales de producción, en mascotas y en humanos en nuestro país (Coppola et al., 2020; 2022; Papa-Ezdra et al., 2022). De todos modos, son necesarios mayores estudios para determinar si por ejemplo *fosA3* se encuentra codificada en el mismo plásmido que la CTX-M del grupo 1 como ya fue descrito. Adicionalmente el hecho de que estas resistencias ya sean un problema en salud humana, obliga a plantear la necesidad de estudiar la presencia de estos microorganismos en alimentos listos para el consumo, derivados de estas cadenas productivas.

El análisis comparativo entre los tres establecimientos evaluados (E1, E2 y E3) reveló diferencias significativas en los perfiles de resistencia. E2 se destacó por presentar consistentemente las mayores proporciones de aislamientos resistentes a CRO, CIP, AK, CN y AMC, en comparación con E1 y E3. Estas diferencias podrían estar asociadas a factores como la intensidad y frecuencia en el uso de antimicrobianos, las prácticas de manejo, el sistema productivo y el nivel de bioseguridad, los cuales merecen ser explorados en estudios complementarios.

En cuanto a la resistencia a ciprofloxacina, se observó una distribución particularmente alta y homogénea en E2 (100 %) y E3 (78,3 %), mientras que en E1 solo se detectó en el 20 % de los aislamientos. Esto es coherente con lo reportado por Coppola. quienes documentaron resistencia a CIP en el 93,3 % de los aislamientos de cerdos y en el 54,5 % de los de aves, evidenciando un patrón preocupante de diseminación de resistencia a fluoroquinolonas, lo que subraya la necesidad de una vigilancia sostenida.

En contraste, antibióticos como colistina, ceftioxitina y sulfametoxazol-trimetoprima no presentaron diferencias significativas entre establecimientos, lo que podría indicar una distribución más uniforme de la resistencia o un menor uso diferencial de estos compuestos.

Finalmente, la baja prevalencia de resistencia a colistina observada tanto en este estudio como en Coppola, indica que, a pesar de la circulación de genes resistentes a otros antimicrobianos, la colistina aún conserva eficacia en la mayoría de los aislamientos porcinos analizados. No obstante, la detección de aislamientos resistentes subraya la necesidad de mantener una vigilancia continua.

Los resultados del estudio de susceptibilidad de este trabajo, en concordancia con los de Coppola (2024), refuerzan el rol del sector porcino como un foco clave de resistencia antimicrobiana en Uruguay.

5.2 Perfiles de resistencia y multiresistencia

En cuanto a los perfiles de resistencia, se identificaron un total de 35 combinaciones distintas, de las cuales 32 (90 %) correspondieron a perfiles multiresistentes (MDR), definidos por la resistencia simultánea a tres o más familias de antimicrobianos. Esta elevada diversidad fenotípica refleja una amplia circulación de mecanismos de resistencia en la población bacteriana estudiada.

El establecimiento E2 presentó una alta cantidad de aislamientos y una notable diversidad de perfiles (n=16), con combinaciones que incluían resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y sulfonamidas.

En el establecimiento E1, a pesar de contar con un número reducido de aislamientos, se observó una notable diversidad de perfiles (n=8) y un predominio de combinaciones con resistencia a seis o más antimicrobianos. E3, por su parte, presentó 19 perfiles diferentes para 23 aislamientos, evidenciando una alta fragmentación fenotípica. En este establecimiento, si bien la frecuencia de resistencia fue menor que en E2, la variabilidad de combinaciones terapéuticas comprometidas continúa siendo motivo de preocupación.

Los resultados obtenidos en el análisis de aislamientos de *E. coli* resistentes reflejan una clara variabilidad en los perfiles de resistencia a antibióticos entre los tres establecimientos evaluados, lo que destaca la necesidad de analizar las prácticas de manejo y el uso de antimicrobianos en cada uno de ellos. En particular, la mayor resistencia observada en E2 como ya se mencionó anteriormente resalta un posible manejo inadecuado o una presión selectiva excesiva en ese establecimiento, lo que podría estar impulsando la selección de cepas resistentes. En este escenario dado la importante presencia de perfiles de multi resistencia, prácticamente cualquier antimicrobiano utilizado, actuará como

presión de co-selección para facilitar la supervivencia de estos clones multirresistentes.

En contraste, E1 mostró una resistencia uniforme a CRO, lo que podría reflejar una presión selectiva constante sobre este antibiótico, aunque carece de la diversidad de resistencia observada en E2.

Muy pocos estudios han investigado la resistencia a múltiples fármacos en cerdos comparativamente entre granjas intensivas y extensivas. Miranda et al., en el 2008, comparó cepas de *E. coli* derivadas de carne de cerdo y encontró que la incidencia de cepas de *E. coli* MDR fue significativamente ($p < 0,0001$) mayor en la carne de cerdo criado de forma intensiva (convencional) que a campo (orgánica). Esto podría deberse al uso de una gran variedad de antibióticos diferentes. Otra razón puede ser que no solo se llevaron a cabo tratamientos individuales de los animales, sino que también se administraron antibióticos a grupos completos (Mencia-Ares et al., 2021).

5.3- Genes de resistencia y perfiles genéticos por establecimiento

Los perfiles genéticos observados en los aislamientos de *Escherichia coli* revelan una marcada heterogeneidad en la distribución y combinación de genes de resistencia entre los tres establecimientos estudiados. En total, se identificaron 53 genes β -lactamasa (*bla*), 29 genes PMQR (plasmid-mediated quinolone resistance) y 2 genes *mcr*, lo que da cuenta de una circulación activa de determinantes genéticos móviles asociados a resistencia a antimicrobianos críticos.

En comparación con lo reportado por Coppola et al. (2020) -quienes analizaron 99 aislamientos de *E. coli* porcinos y detectaron 40 portadores de genes *bla*, principalmente *bla*_{CTX-M-8} y *bla*_{CMY-2}-, nuestros resultados muestran una diversidad similar, aunque con predominancia de *bla*_{CTX-M} de los grupos 1, 3 y 4. En aquel estudio, *bla*_{CTX-M-8} fue el gen más frecuente y se encontró en todos los establecimientos analizados. Asimismo, se identificaron *qnrB19* en 16 aislamientos, *qnrS1* en 22, y *mcr-1* en siete aislamientos. Además, combinaciones complejas como *bla*_{CTX-M-15}/*qnrB19*/*qnrS1* y *mcr-1*/*bla*_{CMY-2} evidencian la circulación de plásmidos multirresistentes en sistemas de producción intensivos en dicho estudio.

Nuestros hallazgos confirman que *bla*_{CTX-M} es el gen de resistencia más frecuente, lo que concuerda con el patrón observado tanto por Coppola et al. (2020) como por estudios internacionales que destacan la expansión global de BLEE mediada por estos genes en *E. coli*, particularmente frente a cefalosporinas de tercera generación (Cantón et al., 2012). Esta diseminación se

ha registrado en entornos clínicos humanos, agrícolas y ganaderos, reforzando su importancia en el marco del enfoque Una Salud (Cantón et al., 2012).

Particularmente en el establecimiento E2, se observó una mayor diversidad de subtipos de *bla*_{CTX-M}, junto con *bla*_{CMY}, lo cual sugiere una elevada presión selectiva derivada del uso frecuente de antimicrobianos, algo también evidenciado en los establecimientos más afectados en el trabajo de Coppola et al. (2020). Esta situación coincide con lo reportado por Mandujano-Hernández et al. (2024), quienes señalaron una correlación directa entre el uso intensivo de antibióticos y la diversidad de genes de resistencia en sistemas intensivos (Mandujano-Hernández et al., 2024).

En línea con esta tendencia, Suchanta et al. (2024) documentaron una prevalencia de BLEE del 98,6 % en granjas tailandesas con uso de antibióticos y del 96,6 % en aquellas que no los usaban, sugiriendo que, además del uso, la diseminación clonal y factores ambientales también desempeñan un papel crucial. Este fenómeno podría explicar la persistencia de BLEE en los establecimientos evaluados tanto en nuestro estudio como en el de Coppola et al. (2020), donde incluso en sistemas con uso antimicrobiano moderado se detectaron múltiples genes de resistencia.

Los resultados de nuestro estudio podrían señalar un incremento en la proporción de BLEE respecto al estudio de Coppola et al. (2020), especialmente en sistemas intensivos como el establecimiento E3. Bush et al. (2020) ya advertían que los patógenos productores de BLEE persistirán y continuarán su expansión global, lo que exige un enfoque coordinado de vigilancia y control.

Diversos estudios internacionales corroboran este escenario. En EE. UU. (Zwonitzer et al., 2016) y Nueva Zelanda (Nulsen et al., 2008), se observaron altos niveles de BLEE en granjas porcinas, sin diferencias significativas entre sistemas convencionales y orgánicos. De forma similar, Dahms et al. (2015) detectaron BLEE en todas las granjas orgánicas estudiadas en Alemania, mientras que Friese et al. (2013) reportaron su presencia en el 43,8 % de las explotaciones. Hering et al. (2014) observaron resistencia a cefoxitin en el 83 % de las muestras fecales porcinas, lo que sugiere la posible presencia de AmpC plasmídicas, también identificadas por Coppola et al. (2020).

La detección de genes PMQR, especialmente *qnrS*, en los tres establecimientos indica una circulación generalizada de resistencia plasmídica a fluoroquinolonas, fenómeno también documentado por Coppola et al. (2020), quienes identificaron *qnrB19* y *qnrS1* en proporciones significativas. Rodríguez-Martínez et al. (2016) destacan que estos genes suelen encontrarse en plásmidos conjugativos junto con BLEE, facilitando la co-resistencia. En nuestro estudio, la alta prevalencia de *qnrS* en E2 y E3 podría estar relacionada con el uso combinado de cefalosporinas y fluoroquinolonas, favoreciendo la selección cruzada.

Pires et al. (2022) también describieron combinaciones frecuentes como *bla*_{CTX-M-55} + *qnrS1* y *bla*_{CTX-M-14} + *qnrS1*, e incluso la co-presencia con genes *mcr*, lo cual refuerza la hipótesis de una co-ubicación plasmídica que potencia la transferencia horizontal. Algunas de estas combinaciones complejas también fueron observadas en el estudio de Coppola et al. (2020), confirmando su relevancia.

La detección del gen *mcr-1* en E2 es particularmente preocupante. Este gen, que confiere resistencia a colistina mediante un mecanismo plasmídico transferible, fue reportado por primera vez en China (Liu et al., 2016) y desde entonces se ha expandido globalmente. En Uruguay, Coppola et al. (2020) ya habían reportado su presencia en siete aislamientos de *E. coli* porcinos, lo cual se ve ahora confirmado y ampliado en nuestro estudio. Dada la importancia crítica de la colistina en medicina humana, el hallazgo de *mcr-1* en sistemas productivos nacionales subraya la necesidad de vigilancia activa, en línea con lo dispuesto por el Decreto N° 141/019.

5.4- Asociación de genes, genotipos combinados y transferencia plasmídica

La identificación de combinaciones como *bla*_{CTX-M-1}/*qnrS* y *bla*_{CTX-M-4}/*qnrB* en E2 y E3 revela la complejidad de los mecanismos de resistencia y la probable co-localización en plásmidos conjugativos. Estas asociaciones son consistentes con lo reportado por Coppola et al. (2020) y por Liu et al. (2018), quienes advierten que los plásmidos que portan múltiples genes de resistencia confieren mayor adaptabilidad a las bacterias y dificultan los esfuerzos de control en entornos con uso intensivo de antimicrobianos.

Los ensayos de conjugación demostraron la transferencia efectiva de genes de resistencia a β-lactámicos, principalmente *bla*_{CTX-M} y *bla*_{CMY}, hacia una cepa receptora, lo que confirma la presencia de plásmidos conjugativos en aislamientos de *E. coli* resistentes a ceftriaxona. Esta capacidad de transferencia fue común a los tres establecimientos, aunque con perfiles genéticos distintos.

E2 presentó la mayor diversidad de genes, incluyendo CTX-M de varios grupos y CMY, mientras que E1 y E3 mostraron perfiles más acotados. La presencia de múltiples variantes de BLEE y AmpC en un mismo sistema productivo refuerza la hipótesis de circulación activa de elementos móviles, probablemente favorecida por el uso de antimicrobianos y otras condiciones de manejo.

Estos hallazgos coinciden con estudios previos realizados en Uruguay y la región, que han reportado la presencia de *bla*_{CTX-M} y *bla*_{CMY} en plásmidos de *E. coli* de origen animal (Coppola et al., 2020; Lui et al., 2022), y resaltan el rol de los sistemas productivos en la diseminación de resistencia bajo el enfoque de Una Salud (Coppola et al., 2020; Lui et al., 2022).

5.5- Implicancias del manejo y el ambiente

La mayor diversidad genética observada en E2 podría estar influenciada por prácticas como la administración profiláctica o terapéutica de antibióticos. Según McEwen & Collignon, (2018), los sistemas con manejo intensivo y alta densidad de animales presentan un riesgo elevado de selección y transferencia de genes de resistencia, lo que podría explicar la elevada diversidad observada en este establecimiento (McEwen & Collignon, 2018).

El análisis de los resultados obtenidos en los dos grupos de sistemas de cría de los animales estudiados nos muestra una situación donde los cerdos criados en sistemas intensivos presentan un mayor nivel de resistencia que en los de cría a campo. La diferencia entre ambos grupos puede atribuirse a diversas causas, entre las cuales se puede considerar el tipo de manejo a la que pertenecen estos grupos (intensiva-confinamiento y extensiva en el caso del cerdo criado a campo) y la carga animal del sistema intensivo; ambos factores pueden favorecer la diseminación de enfermedades bacterianas, virales y otras además de la RAM

La presentación de enfermedades y la edad promedio de vida son otros puntos que permiten discutir por qué la diferencia de los niveles de resistencia de las bacterias aisladas de ambos grupos. Los cerdos criados en confinamiento total presentan una mayor incidencia de enfermedades por causas microbiológicas como, por ejemplo, las enfermedades del complejo respiratorio porcino, y su estadía en el criadero es mayor, ya que están hasta lograr el peso de faena 110 kg., por lo que aumenta la posibilidad de exponerse a terapias antimicrobianas aumentando con ello la presión de selección hacia las bacterias.

Al analizar los porcentajes de resistencia para cada antimicrobiano, en particular, del total de las cepas obtenidas a partir cerdos en cría intensiva se destaca la elevada resistencia frente a ceftriaxona y ciprofoxacina, situación que no se contrapone con estudios realizados a nivel internacional, reportado altos valores de resistencia para este fármaco (referencia). Así también, a nivel nacional, se han reportado altos niveles de resistencia (superiores al 70%) en cepas de *E. coli* aisladas de materia fecal de aves, cerdos y ganado (Coppola et al., 2020).

La baja sensibilidad se puede atribuir a la presión de selección resultante del intensivo uso de estos fármacos en estos sistemas productivos, aun cuando en nuestro país no existen datos oficiales sobre qué cantidad se ha utilizado de esta droga (San Martín et al., 2002).

CAPÍTULO 5- CONCLUSIONES

En los sistemas de producción porcina analizados en este trabajo, la resistencia a los antibióticos se encontró ampliamente distribuida en los cerdos criados bajo manejo intensivo. Las bacterias *E. coli* productoras de BLEE se detectaron tanto en granjas intensivas como extensivas. La carga de *E. coli* BLEE-positivas varió entre establecimientos. En el criadero extensivo se registraron cargas más bajas de *E. coli* BLEE-positivas, mientras que las granjas intensivas presentaron una mayor proporción de aislamientos multirresistentes y resistentes a ceftriaxona.

Los resultados alcanzados en este estudio evidencian un escenario preocupante que sugiere un posible uso empírico e indiscriminado de antimicrobianos en los sistemas de producción animal. La alta proporción de aislamientos resistentes en algunos establecimientos, como el intensivo de cría completa (E2), representa un llamado urgente a la implementación de medidas de control. La falta de regulación estricta de los antimicrobianos, facilita la aparición y propagación de resistencia bacteriana, agravando el problema y representando una amenaza tanto para la salud animal como humana bajo el enfoque de "Una Salud".

Para abordar esta problemática, es esencial adoptar estrategias que combinen esfuerzos locales, nacionales e internacionales. Los profesionales de la salud y los médicos veterinarios desempeñan un papel clave al promover programas de administración responsable de antimicrobianos, reducir la prescripción inadecuada, implementar medidas de control de infecciones y reforzar la inmunización contra agentes bacterianos y virales. En este sentido, los planes nacionales, como el *President's National Strategy for Combating Antibiotic Resistant Bacteria* en los Estados Unidos, sirven como modelos para desarrollar enfoques integrales que involucren a diversos sectores, desde la salud hasta la agricultura.

En el ámbito internacional, iniciativas lideradas por la OMS buscan coordinar acciones globales para mitigar la resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, el éxito de estas estrategias depende de una aplicación comprometida y concertada. Sin una respuesta efectiva, la posibilidad de una "era post-antibiótica", con infecciones comunes incontrolables, se convierte en una realidad preocupante. Este panorama exige un cambio inmediato en las políticas de uso de antimicrobianos, mejoras en la vigilancia y una gestión responsable para garantizar un futuro sostenible en el control de enfermedades infecciosas.

La elaboración de programas de optimización de antimicrobianos (PROA) para uso veterinario similar a lo que ocurre con la salud humana, la elaboración de programas integrales de vigilancia de la RAM y las mejoras en las condiciones de manejo y cría de animales implementados de forma conjunta podrían ser importantes para mitigar el problema de la RAM.

CAPÍTULO 6 PERSPECTIVAS

En base a los resultados obtenidos:

- Se evidencio la importancia de aplicar el enfoque de Una Salud en la producción porcina de nuestro país.
- Realizar investigaciones que permitan identificar los principales factores de riesgo, como las prácticas de manejo, el nivel de bioseguridad y los patrones de uso de antimicrobianos en las granjas. Estos diagnósticos son la base para diseñar e implementar estrategias de control y prevención adaptadas a las características de cada sistema productivo.
- Asimismo, resulta fundamental establecer programas de vigilancia continua que monitoreen la evolución de la resistencia en las poblaciones porcinas, mediante muestreos periódicos de animales y productos derivados, tales como bacteriófagos, probióticos y Fito bióticos y que incluya el registro sistemático del uso de antimicrobianos en todas las etapas del ciclo productivo. Este seguimiento no solo permite evaluar la eficacia de las medidas adoptadas, sino también ajustar las estrategias de manera oportuna para proteger la salud animal, humana y ambiental.
- Para reforzar estos esfuerzos, es necesario implementar programas de educación y capacitación dirigidos a productores y veterinarios sobre el uso responsable de antimicrobianos, junto con campañas de sensibilización para la comunidad sobre el impacto de la resistencia. Estas iniciativas deben acompañarse de mejoras en las condiciones de cría -como la optimización del manejo, la bioseguridad y el bienestar animal- que reduzcan la necesidad de tratamientos antimicrobianos. Paralelamente, se debe estudiar la diseminación ambiental de los marcadores de resistencia y de patógenos específicos, con el fin de comprender su dinámica y prevenir su dispersión dentro y fuera del entorno productivo.
- Es necesario implementar medidas de difusión de esta problemática entre las comunidades de productores y analizar estrategias productivas que, manteniendo la rentabilidad, se pueda reducir el uso de antimicrobianos.

CAPÍTULO 7- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 of London. Series B, Biological sciences*, 370(1670), <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0085>

Abavisani, M., Bostanghadiri, N., Ghahramanpour, H., Kodori, M., Akrami, F., Fathizadeh, H., Hashemi, A., & Rastegari-Pouyani, M. (2023). Colistin resistance mechanisms in Gram-negative bacteria: a Focus on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 76(2), ovad023. <https://doi.org/10.1093/lambio/ovad023>

Abdalla, S. E., Bester, L. A., Abia, A. L. K., Allam, M., Ismail, A., Essack, S. Y., & Amoako, D. G. (2025). Genomic Insights of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Intensive Pig Farming in South Africa Using 'Farm-to-Fork' Approach. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 14(5), 446. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050446>

Acar, J. F., & Moulin, G. (2006). Antimicrobial resistance at farm level. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 25(2), 775–792.

Aenishaenslin, C., Häsler, B., Ravel, A., Parmley, J., Stärk, K., & Buckeridge, D. (2019). Evidence needed for antimicrobial resistance surveillance systems. *Bulletin of the World Health Organization*, 97(4), 283. <https://doi.org/10.2471/BLT.18.218917>

Aguirre, E., Durán, V., Gorga, I., Hernández, E., & Branchiccela, B. (2022). *Caracterización y diagnóstico de las cadenas de carne porcina, carne aviar y apicultura*. INIA. <https://www.inia.uy/sites/default/files/publications/2024-10/st-263-2022.pdf>

Alvisi, G., Curtoni, A., Fonnesu, R., Piazza, A., Signoretto, C., Piccinini, G., Sasseria, D., & Gaibani, P. (2025). Epidemiology and genetic traits of carbapenemase-producing enterobacteriales: A global threat to human health. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 14(2), 141. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14020141>

Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/RSTB.1980.0049>

Anyanwu, M. U., Jaja, I. F., Okpala, C. O. R., Njoga, E. O., Okafor, N. A., & Oguttu, J. W. (2023). Mobile colistin resistance (mcr) gene-containing organisms in poultry sector in low-and middle-income countries: Epidemiology, characteristics, and one health control strategies. *Antibiotics*, 12(7), 1117 <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071117>

Bado, I., Cordeiro, N. F., Robino, L., García-Fulgueiras, V., Seija, V., Bazet, C., Gutkind, G., Ayala, J. A., & Vignoli, R. (2010). Detection of class 1 and 2 integrons, extended-spectrum β -lactamases and qnr alleles in enterobacterial isolates from the digestive tract of Intensive Care Unit inpatients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(5), 453–458. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.06.042>

Bado, I., Papa-Ezdra, R., Cordeiro, N., Outeda, M., Caiata, L., García-Fulgueiras, V., Seija, V., & Vignoli, R. (2018a). Detection of qnrVC6, within a new genetic context, in an NDM-1-producing *Citrobacter freundii* clinical isolate from Uruguay. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 95–98. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.02.023>

Bado, I., Papa-Ezdra, R., Delgado-Blas, J. F., Gaudio, M., Gutiérrez, C., Cordeiro, N. F., García-Fulgueiras, V., Araújo Pirez, L., Seija, V., Medina, J. C., Rieppi, G., Gonzalez-Zorn, B., & Vignoli, R. (2018b). Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in the intensive care unit of Uruguay's University hospital identifies the first rmtC gene in the species. *Microbial Drug Resistance*, 24(7), 1012–1019. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0300>

Ballina, G., & Bencomo, A. (2010). *Manejo sanitario eficiente de los cerdos*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Programa Especial para la Seguridad Alimentaria (PESA), Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). <http://www.fao.org/3/as542s.pdf>

Bell, W., Carballo, C., Castro, G., & Barlocco, N. (2014). *Jornadas Nacionales de Actualización Porcina y VI Encuentro del CIAP: Situación y perspectivas de la producción porcina en Uruguay*. <https://www.upc.edu.uy/caracterizacion-socio-economica-del-sector-porcino?download=168:bell-ycol-2014>

Bennett, N., Bentancur, A., Fernandez, F., & Kurioka, M. (2017). *Plan Nacional de contención de la Resistencia Antimicrobiana de Uruguay*. MGAP. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura->

[pesca/files/documentos/noticias/plan_nacional_de_contencion_de_la_resistencia_antimicrobiana_de_uruguay.pdf](https://pesca.files/documentos/noticias/plan_nacional_de_contencion_de_la_resistencia_antimicrobiana_de_uruguay.pdf)

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Mecanismos moleculares de la resistencia a los antibióticos. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>.

Boeckman, S., & Carlson, K. (1996). *Milk and dairy beef residue prevention protocol*. American Veterinary Medical Association.

Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00047-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>

Cameron-Veas, K., Moreno, M. A., Fraile, L., & Migura-Garcia, L. (2016). Shedding of cephalosporin resistant *Escherichia coli* in pigs from conventional farms after early treatment with antimicrobials. *The Veterinary Journal*, 211, 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.02.017>

Cantón, R., González-Alba, J. M., & Galán, J. C. (2012). CTX-M enzymes: Origin and diffusion. *Frontiers in Microbiology*, 3, 110. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>

Carattoli, A., Villa, L., Feudi, C., Curcio, L., Orsini, S., Luppi, A., Pezzotti, G., & Magistrali, C. F. (2017). Novel plasmid-mediated colistin resistance mcr-4 gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. 1–5. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur les Maladies Transmissibles*, 22(31), 30589. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.31.30589>

Chen, L., Xiong, Z., Sun, L., Yang, J., & Jin, Q. (2012). VFDB 2012 update: toward the genetic diversity and molecular evolution of bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Research*, 40(Database issue), D641–D645. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr989>

Clatworthy, A. E., Pierson, E., & Hung, D. T. (2007). Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nature Chemical Biology*, 3(9), 541–548. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.24>

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). *CLSI M100 ED34_2024. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. CLSI. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>

Cobos-Trigueros, N., Ateka, O., Pitart, C., & Vila, J. (2009). Macrólidos y cetólidos [Macrolides and ketolides]. *Enfermedades Infecciosas y*

Coppola, N. (2024). *Resistencia a antimicrobianos de importancia crítica en enterobacterias aisladas de terneros, aves y cerdos en producción en Uruguay, y pollitos importados de Brasil* [Tesis de doctorado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República]. Colibrí.
<https://hdl.handle.net/20.500.12008/50010>

Coppola, N., Cordeiro, N., Trenchi, G., Esposito, F., Fuga, B., Fuentes-Castillo, D., Lincopan, N., Iriarte, A., Bado, I., & Vignoli, R. (2022). *Imported one-day-old chicks as trojan horses for multidrug-resistant priority pathogens harboring mcr-9, rmtg, and extended-spectrum b-lactamase genes. Applied and Environmental Microbiology*, 88(2), 2022.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01675-21>

Coppola, N., Freire, B., Umpiérrez, A., Cordeiro, N. F., Ávila, P., Trenchi, G., Castro, G., Casaux, M. L., Fraga, M., Zunino, P., Bado, I., & 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, 588919.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.588919>

Cordeiro, N. F., Nabón, A., García-Fulgueiras, V., Álvez, M., Sirok, A., Camou, T., & Vignoli, R. (2016). Analysis of plasmid-mediated quinolone and oxyimino-cephalosporin resistance mechanisms in Uruguayan *Salmonella enterica* isolates from 2011–2013. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 6, 165–171.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.06.002>

Dahms, C., Hübner, N. O., Kossow, A., Mellmann, A., Dittmann, K., & Kramer, A. (2015). Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *PloS one*, 10(11), e0143326.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143326>

Darai, G., & Sonntag, H. G. (2009). Resistenzentwicklung. En G. Darai, M. Handermann, H. G. Sonntag, C. A. Tidona, & L. Zöller (Eds.), *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-39026-8_931

Delsart, M., Françoise, P. O. L., Dufour, B., Nicolas, R. O. S. E., & Fablet, C. (2023). L'élevage porcin en systèmes alternatifs: atouts et défis en termes de bien-être animal, biosécurité, santé animale et sécurité sanitaire. *INRAE Productions Animales*, 36(3), 7675-7675.
<https://doi.org/10.20870/productions-animales.2023.36.3.7675>

Endale, H., Mathewos, M., & Abdeta, D. (2023). Potential Causes of Spread of Antimicrobial Resistance and Preventive Measures in One Health Perspective-A Review. *Infection and drug resistance*, 16, 7515–7545. <https://doi.org/10.2147/IDR.S428837>

Friese, A., Schulz, J., Laube, H., von Salviati, C., Hartung, J., & Roesler, U. (2013). Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (laMRSA) and ESbl/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 126(3-4), 175–180. https://www.vetline.de/system/files/frei/bmtw_2013_03_0175.pdf

García-Fulgueiras, V., Araujo, L., Bado, I., Cordeiro, N. F., Mota, M. I., Laguna, G., Algorta, G., & Vignoli, R.(2017). Allodemic distribution of plasmids co-harboring blaCTX-M-15/aac(6')-Ib-cr/qnrB in *Klebsiella pneumoniae* is the main source of extended-spectrum β -lactamases in Uruguay's paediatric hospital. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 9, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.01.008>

García-Fulgueiras, V., Bado, I., Mota, M. I., Robino, L., Cordeiro, N. F., Varela, A., Algorta, G., Gutkind, G., Ayala, J. A., & Vignoli, R. (2011). Extended-spectrum β -lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance in enterobacterial clinical isolates in the paediatric hospital of Uruguay. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(8), 1725–1729. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKR222>

GuíaVET. (2021). Vademécum de especialidades veterinarias. <https://guiavet.uy/>

Hammerum, A. M., Larsen, J., Andersen, V. D., Lester, C. H., Skytte, T. S. S., Hansen, F., Olsen, S. S., Mordhorst, H., Skov, R. L., Aarestrup, F. M., Agersø, Y. (2014). Characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* obtained from Danish pigs, pig farmers and their families from farms with high or no consumption of third- or fourth-generation cephalosporins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(10), 2650–2657. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKU180>

Hering, J., Hille, K., Frömke, C., von Münchhausen, C., Hartmann, M., Schneider, B., Friese, A., Roesler, U., Merle, R., & Kreienbrock, L. (2014). Prevalence and potential risk factors for the occurrence of cefotaxime resistant *Escherichia coli* in German fattening pig farms--a cross-sectional study. *Preventive Veterinary Medicine*, 116(1-2), 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.06.014>

Ho, P. L., Chan, J., Lo, W. U., Law, P. Y., Li, Z., Lai, E. L., & Chow, K. H. (2013). Dissemination of plasmidmediated fosfomycin resistance fosA3 among multidrug-resistant *Escherichia coli* from livestock and other

animals. *Journal of Applied Microbiology*, 114(3), 695–702.
<https://doi.org/10.1111/JAM.12099>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria & Instituto Nacional Tecnológico. (2010). *Manejo sanitario eficiente de los cerdos*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
<https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/as542s>

Jaleta, M., Junker, V., Kolte, B., Börger, M., Werner, D., Dolsdorf, C., Schwenker, J., Hölzel, C., Zentek, J., Amon, T., Nübel, U., & Kabelitz, T. (2024). Improvements of weaned pigs barn hygiene to reduce the spread of antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1393923.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1393923>

Jian, Z., Zeng, L., Xu, T., Sun, S., Yan, S., Yang, L., Huang, Y., Jia, J., & Dou, T. (2021). Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control. *Journal of Basic Microbiology*, 61(12), 1049–1070.
<https://doi.org/10.1002/jobm.202100201>

Jones, P. G. H. (1997). Regulatory harmonization for veterinary medicines in the European Union. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20(Suppl. 1), 1–9. <https://doi/full/10.5555/19972217294>

Kannan, K., Kanabar, P., Schryer, D., Florin, T., Oh, E., Bahroos, N., Tenson, T., Weissman, J. S., & Mankin, A. S. (2014). The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(45), 15958–15963. <https://doi.org/10.1073/pnas.1417334111>

Kawakami, K., Largaespada, D. A., & Ivics, Z. (2017). Transposons as tools for functional genomics in vertebrate models. *Trends in Genetics*, 33(11), 784–801. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.07.006>

Kobayashi, S., Kuzuyama, T., & Seto, H. (2000). Characterization of the fomA and fomB Gene Products from *Streptomyces wedmorensis*, Which Confer Fosfomycin Resistance on *Escherichia coli*. 44(3), 647–650.
<https://doi.org/10.1128/AAC.44.3.647-650.2000>

Laxminarayan, R., Van Boeckel, T., Teillant, A., Laxminarayan, R., & Van Boeckel, T. (2015). The Economic Costs of Withdrawing Antimicrobial Growth Promoters from the Livestock Sector. *OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers*, (78), <https://doi.org/10.1787/5js64kst5wvl-en>

Lee, C. R., Cho, I. H., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2013). Strategies to minimize antibiotic resistance. *International Journal of Environmental*

Research and Public Health, 10(9), 4274–4305.
<https://doi.org/10.3390/ijerph10094274>

Li, R., Xie, M., Zhang, J., Yang, Z., Liu, L., Liu, X., Zheng, Z., Chan, E. W. C., & Chen, S. (2017). Genetic characterization of mcr-1-bearing plasmids to depict molecular mechanisms underlying dissemination of the colistin resistance determinant. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(2), 393–401. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKW411>

Liu, H., Zhu, B., Liang, B., Xu, X., Qiu, S., Jia, L., Li, P., Yang, L., Li, Y., Xiang, Y., Xie, J., Wang, L., Yang, C., Sun, Y., & Song, H. (2018). A novel mcr-1 variant carried by an IncI2-Type plasmid identified from a multidrug resistant enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 9(APR), 364979. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.00815/FULL-SUPLELEMENTARY-MATERIAL>

Liu, X., Liu, Q., Cheng, Y., Liu, R., Zhao, R., Wang, J., Wang, Y., Yang, S., & Chen, A. (2022). Effect of bacterial resistance of *Escherichia coli* from swine in large-scale pig farms in Beijing. *Frontiers in Microbiology*, 13, 820833. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.820833>

Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., et al. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)

Locke, J. B., Zurenko, G. E., Shaw, K. J., & Bartizal, K. (2014). Tedizolid for the management of human infections: in vitro characteristics. *Clinical Infectious Diseases: An official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 58(Suppl 1), S35–S42. <https://doi.org/10.1093/cid/cit614>

Ma, F., Xu, S., Tang, Z., Li, Z., & Zhang, L. (2021). Use of antimicrobials in food animals and impact of transmission of antimicrobial resistance on humans. *Biosafety and Health*, 3(1), 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.09.004>

Mandujano-Hernández, A., Martínez-Vázquez, A. V., Paz-González, A. D., Herrera-Mayorga, V., Sánchez-Sánchez, M., Lara-Ramírez, E. E., Vázquez, K., de Jesús de Luna-Santillana, E., Bocanegra-García, V., & Rivera, G. (2024). The Global Rise of ESBL-Producing *Escherichia coli* in the Livestock Sector: A Five-Year Overview. *Animals*, 14(17), 2490. <https://doi.org/10.3390/ani14172490>

Mantilla Becerra, Y. N. (2020). *Microorganismos multirresistentes a antibióticos: mecanismos y alternativas al tratamiento convencional* [Trabajo fin de grado, Universidad de Cantabria]. Ucrea. <http://hdl.handle.net/10902/19430>

Marquez, C., Ingold, A., Echeverría, N., Acevedo, A., Vignoli, R., García-Fulgueiras, V., Viroga, J., Gonzalez, O., Odizzio, V., Etulain, K., Nuñez, E., Albornoz, H., Borthagaray, G., & Galiana, A. (2014). Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Uruguay: infection control and molecular characterization. *New Microbes and New Infections*, 2(3), 58-63. <https://doi.org/10.1002/nmi2.40>

Martínez Rojas, D. D. V. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: Generalidades y métodos para detección fenotípica. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(2), 78-83. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es

McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial resistance: a one health perspective. En *Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals* (pp. 521-547). Wiley. <https://doi.org/10.1128/9781555819804.ch25>

McGuire, J. M., Bunch, R. L., Anderson, R. C., Boaz, H. E., Flynn, E. H., Powell, H. M., & Smith, J. W. (1952). Ilotycin, a new antibiotic. *Antibiotics & Chemotherapy (Northfield, Ill.)*, 2(6), 281-283.

McKellar, Q. A., Sanchez Bruni, S. F., & Jones, D. G. (2004). Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(6), 503-514. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00603.x>

Mencía-Ares, O., Carvajal, A., Puente, H., Gómez-García, M., Pérez, L., Álvarez-Ordóñez, A., Cobo-Díaz, J. F., Rubio, P., & Argüello, H. (2021). Radiografiando al enemigo: resistencias a los antibióticos en granja. Cuáles, dónde y por qué. Grupo Digesporc, Departamento de Sanidad Animal, Universidad de León. https://www.ivis.org/sites/default/files/library/suis/175/Suis175_1.pdf

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2014). *Buenas prácticas de uso de medicamentos veterinarios*. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. [Censo General Agropecuario 2011 | MGAP](#)

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2015). Resolución N° 193/015 A de DGSG: Regulación de las condiciones de comercialización y

uso de antibióticos y antimicrobianos para animales.
<https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/resolucion-n-193015-dgsg-regulacion-condiciones-comercializacion-uso>

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2019). *Decreto N° 141/019*.
<https://www.impo.com.uy/bases/decretos/141-2019>

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2020). *Caracterización y diagnóstico de la cadena de carne porcina en Uruguay*. MGAP-DIEA.
<https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/Caracterizaci%C3%B3n%20y%20diagn%C3%B3stico%20de%20las%20cadena%20de%20carne%20porcina%20en%20Uruguay.pdf>

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca.(2024). *Anuario estadístico agropecuario 2024*.
<https://www.gub.uy/instituto-nacional-leche>

Ministerio de Salud Pública. (2017). *Plan Nacional de Contención de la Resistencia Antimicrobiana de Uruguay*.
<https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica>

Miranda, J. M., Vázquez, B. I., Fente, C. A., Barros-Velázquez, J., Cepeda, A., & Franco, C. M. (2008). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from organic and conventional pork meat: A comparative survey. *European Food Research and Technology*, 226(3), 371–375
<https://doi.org/10.1007/s00217-006-0547-y>

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2),
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>

Mondal, A. H., Khare, K., Saxena, P., Debnath, P., Mukhopadhyay, K., & Yadav, D. (2024). A review on colistin resistance: an antibiotic of last resort. *Microorganisms*, 12(4), 772.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12040772>

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2014). Enterobacteriaceae. En *Microbiología médica* (7.ª ed., pp. 258–273). Elsevier España.

Navarro, F., Miró, E., & Mirelis, B. (2010). Interpretive reading of enterobacteria antibiograms. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(9), 638–645.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.05.002>

Nulsen, M. F., Mor, M. B., & Lawton, D. E. (2008). Antibiotic resistance among indicator bacteria isolated from healthy pigs in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 56(1), 29–35. <https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36821>

O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. The Review on Antimicrobial Resistance*. Wellcome Trust <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

Obando Pacheco, P., Suárez-Arrabal, M. C., & Esparza Olcina, M. J. (2020). *Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos (v.3/2020)*. En *Guía_ABE. Infecciones en Pediatría. Guía rápida para la selección del tratamiento antimicrobiano empírico*. <https://www.guia-abe.es>

Otero Fariña, F. (2024). *Desarrollo de nuevos procedimientos rápidos y eficaces para evaluar in situ la sensibilidad o resistencia bacteriana a distintos tipos de antibióticos* [Tesis de doctorado, Universidade da Coruña]. Repositorio de la Universidade da Coruña. <http://hdl.handle.net/2183/38655>

Mirzaagha, P., Louie, M., Sharma, R., Yanke, L. J., Topp, E., & McAllister, T. A. (2011). Distribution and characterization of ampicillin- and tetracycline-resistant *Escherichia coli* from feedlot cattle fed subtherapeutic antimicrobials. *BMC Microbiology*, 11, 78. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-78>

Papa Ezdra, R., Bado, I., Cordeiro, N., Gutiérrez, C., Hitateguy, P., Seija, V., & Vignoli, R. (2016). *Pseudomonas spp. productoras de VIM-2 en Uruguay: tipos de secuencia, pulsotipos e integrones de clase 1, incluyendo nuevas regiones variables con bla VIM-2 y bla GES-7*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(9), 5620–5622. <https://doi.org/10.1128/aac.00388-16>

Papa-Ezdra, R., Coppola, N., Cordeiro, A., Garcia-Fulgueiras, V., Ávila, P., Dagosto, S., Bado, I., & Vignoli, R. (2022). *Dissemination of bla CTX-M-55 and fosA3: Approach under a One Health perspective*. ASM Microbe. Washington, DC, United States.

Pilco Chicaiza, A. D., & Burgos Mayorga, A. R. (2025). Revisión bibliográfica: Factores que contribuyen a la propagación de resistencia antimicrobiana (RAM) en la fauna silvestre. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(6), 7927–7952. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6.15477

Pires, J., Huber, L., Hickman, R. A., Dellicour, S., Lunha, K., Leangapichart, T., Jiwakanon, J., Magnusson, U., Sunde, M., Järhult, J. D., & Van Boeckel, T. P. (2022). Genome-associations of extended-spectrum β -lactamase

producing (ESBL) or AmpC producing *E. coli* in small and medium pig farms from Khon Kaen province, Thailand. *BMC Microbiology*, 22, 253. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02646-3>

Pérez-Pérez, F. J., & Hanson, N. D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(6), 2153-2162. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.6.2153-2162.2002>

Pokharel, P., Dhakal, S., & Dozois, C. M. (2023). The diversity of *Escherichia coli* pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. *Microorganisms*, 11(2), 344. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020344>

Rebelo, A. R., Bortolaia, V., Kjeldgaard, J. S., Pedersen, S. K., Leekitcharoenphon, P., Hansen, I. M., Guerra, B., Malorny, B., Borowiak, M., Hammerl, J. A., Battisti, A., Franco, A., Alba, P., Perrin-Guyomard, A., Granier, S. A., De Frutos, C., Escobar, Malhotra-Kumar, S., Villa, L., ... Hendriksen, R. S. (2018). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4 and mcr-5 for surveillance purposes. *Eurosurveillance*, 23(6), 17–00672. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.6.17-00672>

Robino, L., García-Fulgueiras, V., Araujo, L., Algorta, G., Pérez, M. C., & Vignoli, R. (2014). Urinary tract infection in Uruguayan children: Aetiology, antimicrobial resistance and uropathogenic *Escherichia coli* virulotyping. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4), 293–298. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.08.003>

Rodríguez-Martínez, J. M., Machuca, J., Cano, M. E., Calvo, J., Martínez-Martínez, L., & Pascual, A. (2016). Plasmid-mediated quinolone resistance: Two decades on. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 29, 13–29. <https://doi.org/10.1016/J.DRUP.2016.09.001>

San Martín, B., Kruze, J., Morales, M. A., Agüero, H., León, B., Espinoza, S., ... & Borie, C. (2002). Bacterial resistance of mastitis pathogens isolated from dairy cows in the Vth Region, Metropolitan Region and Xth Region, Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, 34(2). <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2002000200008>

Schelotto, F., & Alcorta, G. (2008). Principales grupos de bacilos Gram negativos no exigentes. En *Temas de bacteriología y virología médica* (4.^a ed., pp. 369–393). Oficina del Libro FEFMUR.

Schlünzen, F., Harms, J. M., Franceschi, F., Hansen, H. A., Bartels, H., Zarivach, R., & Yonath, A. (2003). Structural basis for the antibiotic activity of ketolides and azalides. *Structure (London)*, *11*(3), 329–338. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(03\)00022-4](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(03)00022-4)

Schumacher, A., Trittler, R., Bohnert, J. A., Kümmerer, K., Pagès, J. M., & Kern, W. V. (2007). Intracellular accumulation of linezolid in *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* and *Enterobacter aerogenes*: role of enhanced efflux pump activity and inactivation. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *59*(6), 1261–1264. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl380>

Seija, V., Medina Presentado, J. C., Bado, I., Papa Ezdra, R., Batista, N., Gutierrez, C., Guirado, M., Vidal, M., Nin, M., & Vignoli, R. (2015). Sepsis caused by new delhi metallo- β -lactamase (blaNDM-1) and qnrD-producing *Morganella morganii*, treated successfully with fosfomicin and meropenem: Case report and literature review. *International Journal of Infectious Diseases*, *30*, e20–e26. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.09.010>

Seija, V., & Vignoli, R. (2006). Principales grupos de antibióticos. *Temas de bacteriología y virología médica*, *2*, 631-633.

Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P., Rolain, J. M., & Raoult, D. (2009). Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, *49*(4), 543-551. <https://doi.org/10.1086/600885>

Shahzad, S., Willcox, M. D., & Rayamajhee, B. (2023). A review of resistance to polymyxins and evolving mobile colistin resistance gene (mcr) among pathogens of clinical significance. *Antibiotics*, *12*(11), 1597. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111597>

Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos [Beta-lactam antibiotics]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, *27*(2), 116–129. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>

Suchanta, N., Ullah, N., Santanirand, P., Am-In, N., & Chaichanawongsaroj, N. (2024). Antimicrobial Susceptibility of Commensal *Escherichia coli* from Pig Fecal Samples and Enhanced Sensitivity for Direct Detection of the bla_{CTX-M} Gene by Nested PCR. *Animals: an open access journal from MDPI*, *14*(18), 2630. <https://doi.org/10.3390/ani14182630>

Terveer, E. M., Nijhuis, R. H. T., Crobach, M. J. T., Knetsch, C. W., Veldkamp, K. E., Gooskens, J., Kuijper, E. J., & Claas, E. C. J. (2017). Prevalence of colistin resistance gene (mcr-1) containing Enterobacteriaceae infeces of patients attending a tertiary care hospital and

detection of a mcr-1 containing, colistin-susceptible *E. coli*. *PLoS ONE*, 12(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178598>

Umpiérrez, A., Bado, I., Oliver, M., Acquistapace, S., Etcheverría, A., Padola, N. L., Vignoli, R., & Zunino, P. (2017). Zoonotic Potential and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* in Neonatal Calves in Uruguay. *Microbes and Environments*, 32(3), 275–282. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17046>

Uruguay. (2011). Decreto 98/011: Prohibición del uso de antibióticos en la alimentación para animales ovinos y bovinos. MGAP. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/decreto-98011-prohibicion-del-uso-antibioticos-alimentacion-para-animales>

Uruguay. (2024, noviembre 27). Decreto N.º 331/024: Prohíbe la importación, exportación, fabricación, venta, uso, tenencia y comercialización de productos veterinarios compuestos de sustancias específicas. Diario Oficial de Uruguay. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/331-2024>

Uruguay. (2024, diciembre 9). Decreto N.º 332/024: Se prohíbe la importación, fabricación, comercialización y uso de alimentos para animales de las especies productivas que contengan antibióticos con la finalidad de promover el crecimiento. https://medios.presidencia.gub.uy/legal/2024/decretos/11/mgap_449.pdf

Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & 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. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1503141112>

Vera-Rodríguez, J. H., & Álvarez Sánchez, A. R. (2024). Uso de microorganismos eficientes en una producción sostenible de cerdos destinados a engorde. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 34(1), 5. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e34312>

Vignoli, R., Cordeiro, N. F., García, V., Mota, M. I., Betancor, L., Power, P., Chabalgoity, J. A., Schelotto, F., Gutkind, G., & Ayala, J. A. (2006). New TEM-Derived Extended-Spectrum-Lactamase and Its Genomic Context in Plasmids from *Salmonella enterica* Serovar Derby Isolates from Uruguay. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(2), 781–784. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.2.781-784.2006>

Vignoli, R., Varela, G., Mota, M. I., Cordeiro, N. F., Power, P., Ingold, E., Gadea, P., Sirok, A., Schelotto, F., Ayala, J. A., & Gutkind, G. (2005). Enteropathogenic *Escherichia coli* strains carrying genes encoding the PER-2 and TEM-116 extended-spectrum beta-lactamases isolated from children with diarrhea in Uruguay. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(6), 2940–2943. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2940-2943.2005>

Vila, J., & Marco, F. (2010). Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(10), 726–736. <https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2010.05.001>

Wang, Z., Fast, W., Valentine, A. M., & Benkovic, S. J. (1999). Metallo- β -lactamase: structure and mechanism. *Current Opinion in Chemical Biology*, 3(5), 614-622. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(99\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(99)00017-4)

Wang, X., Wang, Y., Zhou, Y., Li, J., Yin, W., Wang, S., Zhang, S., Shen, J., Shen, Z., & Wang, Y. (2018). Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0124-z>

World Health Organization. (2017a). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine: Ranking of medically important antimicrobials for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use (5th Rev.)*. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/255027/9789241512220-eng.pdf?sequence=1>

World Health Organization. (2017b). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine: Ranking of medically important antimicrobials for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use (5th Rev.)*. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/255027/9789241512220-eng.pdf?sequence=1>

World Health Organization. (2017c). *Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos: Manual para la primera fase de implementación*. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/253135/9789243549408-spa.pdf?sequence=1>

World Health Organization. (2019). *Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana (lista OMS de AIC)*. Organización Mundial de la Salud. <https://iris.who.int/handle/10665/325037>

World Health Organization. (2021). Declaración conjunta tripartita (FAO, OIE, OMS) y PNUMA La tripartita y el PNUMA apoyan la definición de “Una

Salud” de la OHHLEP. <https://www.who.int/es/news/item/01-12-2021-tripartite-and-unep-support-ohhlep-s-definition-of-one-health>

World Health Organization.(2022). *El enfoque de “Una Salud”*. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/una-sola-salud/>

World Organization for Animal Health. (2016). *The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials*. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf%0Ahttp://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf%0Awww.oie.int/antimicrobial-resistance%0Ahttps://www.oie.int/file

Yu, Z., Qin, W., Lin, J., Fang, S., & Qiu, J. (2015). Antibacterial mechanisms of polymyxin and bacterial resistance. *BioMed Research International*, 2015(1), 679109. <https://doi.org/10.1155/2015/679109>

Zwonitzer, M. R., Soupir, M. L., Jarboe, L. R., & Smith, D. R. (2016). Quantifying attachment and antibiotic resistance of *Escherichia coli* from conventional and organic swine manure. *Journal of Environmental Quality*, 45(2), 609-617 <https://doi.org/10.2134/jeq2015.05.0245>

CAPÍTULO 8 ANEXO

Tabla 12 Nombre del gen, secuencia de los primers, tamaño del producto de PCR, temperaturas de annealing para cada gen buscado.

a) Colistina					
Genes buscados de resistencia transferible a colistina					
Gen	Nombre primer	Secuencia	Tamaño del producto	T° annealing	Referencia
<i>mcr-1</i>	mcr1- qf	AAAGACGCGGTACAAGCAAC	213 pb	60 °C Multiplex	Li et al., 2017
	mcr1- qr	GCTGAACATACACGGCACAG			
<i>mcr-2</i>	mcr2- qf	CGACCAAGCCGAGTCTAAGG	92 pb		
	mcr2- qr	CAACTGCGACCAACACACTT			
<i>mcr-3</i>	mcr-3 qf	ACCTCCAGCGTGAGATTGTTCCA	169 pb		
	mcr-3 qr	GCGGTTTCACCAACGACCAGAA			
Ciclo de 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos, seguido de un aumento de 72 a 95°C para la etapa de curva de fusión.					
<i>mcr-4</i>	mcr-4 F	ATTGGGATAGTCGCCTTTTT	487 pb	52 °C	Carattoli et al., 2017
	mcr-4 R	TTACAGCCAGAATCATTATCA			
<i>mcr-5</i>	mcr-5 F	TATCTCGACAAGGCCATGCTG	613 pb	60 °C	Borowiak et al., 2017
	mcr-5 R	GAATCTGGCGTTCGTCGTA GT			
<i>mcr-6</i>	mcr-6- For	AAGTATCTTGTTGGCGTGGG	844pb	58 °C	Primer BLAST
	mcr-6- Rev	ATTACCTTCGCACACAGGGG			
<i>mcr-7</i>	mcr7.1_ fw	AGGGGATAAACCGACCCTGA	335pb	55 °C	Yang et al., 2018
	mcr7.1_ rev	TGATCTCGATGTTGGGCACC			
<i>mcr-8</i>	mcr8 F	ACAGACAATAAGCGGGGAGC	712pb	56 °C	Primer BLAST
	mcr8 R	CAATAAGCGCATCACCTGC			
<i>mcr-9</i>	mcr9 F	TTTGATTGCAGGTGTTGCCG	900 pb	57 °C	Primer BLAST
	mcr9 R	AGATATAGCCCGCTTTCGCC			
Programa: 1) 94°C - 5:00 min. 2) 94°C - 0:40 min / T de alineación - 0:40 min / 72°C - 0:40 min, 35 ciclos. 3) 72°C - 10:00 min					
b) oximinocefalosporinas					
Genes buscados de cefalosporinasas (AmpC)					
Gen	Nombre primer	Secuencia	Tamaño del producto	T° annealing	Referencia
<i>bla_{CIT}</i> (CMY)	CIT F	TGGCCAGA ACTGACAGGCAAA	461 pb	64°C Multiplex	García Fulgueiras et al., 2019
	CIT R	TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC			
	DHA F	AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT	404 pb		

<i>bla</i> _{DHA}	DHA R	CCGTACGCATACTGGCTTTGC			Cordeiro <i>et al.</i> , 2016 Perez-Perez & Hanson, 2002
<i>bla</i> _{MOX}	MOX F	GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	519 pb		
	MOX R	CACATTGACATAGGTGTGGTGC			
<i>bla</i> _{ACC}	ACC F	AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	345 pb		
	ACC R	TTCGCCGCAATCATCCCTAGC			
<i>bla</i> _{EBC}	EBC F	TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG	309 pb		
	EBC R	CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT			
<i>bla</i> _{FOX}	FOX F	AACATGGGGTATCAGGGAGAT	189 pb		
	FOX R	CAAAGCGCGTAACCGGATTGG			
Programa: 1) 94°C - 3:30 min. 2) 94°C - 0:30 min / T de alineación - 0:30 min / 72°C - 1:00 min, 25 ciclos. 3) 72°C - 7:00 min					
Genes buscados de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)					
Gen	Nombre primer	Secuencia	Tamaño del producto	T° annealing	Referencia
<i>bla</i> _{SHV}	SHV A	ATGATGAGCACCTTTAAAGTA	620 pb	52°C	García Fulgueiras <i>et al.</i> , 2019
	SHV B	ATTCGCTCGGCCATGCTCGC			
<i>bla</i> _{PER-2}	PER 2 F	TGTGTTTTCCACGCTTCTGCTCTG	878 pb	48°C	Vignoli R <i>et al.</i> , 2005
	PER 2 R	CAGCTCAAACCTGATAAGCCGCTTG			
<i>bla</i> _{TEM}	OT3	ATGAGTATTCAACTTTCCG	900 pb	52°C	Vignoli R <i>et al.</i> , 2006
	OT4	CCACTGCTTAATCAGTGAGG			
<i>bla</i> _{PAN-CTX-M}	PANCTX M F	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	543 pb	59°C	Moyá <i>et al.</i> , 2012
	PAN CTX M R	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA			
<i>bla</i> _{CTX-M} gr1	CTX-M-1 F	CCCATGGTTAAAAAATCACTG	830 pb (F-AS)	54°C	García-Fulgueiras <i>et al.</i> , 2017
	CTX-M-1 R	GCTAGCCGGGCCCAACGTGA	450 pb (F-R)		
	CTX-M- AS R	CGTAGCCGGGCCCAACGTGA			
<i>bla</i> _{CTX-M} gr2	CTX-M gr2 F	TTAATGATGACTCAGAGCATT	875 pb	51°C	García Fulguei <i>et al.</i> , 2019
	CTX-M gr2 R	GATACCTCGTCCATTTATTGC			
<i>bla</i> _{CTX-M} gr3	CTX-M gr3 F	ACCTGATTAATAACAATCCCAT	514 pb	55°C	
	CTX-M gr3 R	ACTTTCTGCCTTCTGCTCTGGC			
<i>bla</i> _{CTX-M} gr4	CTX-M gr4 F	GCTGGAGAAAAGCAGCGGAG	473 pb	57°C	
	CTX-M gr4 R	GTAAGCTGACGCAACGTCTG			
<i>bla</i> _{CTX-M-8} (gr3)	CTX-M-8 F	TGAATACTTCAGCCACACG	922 pb	50°C	
	CTX-M-8 R	TAGAATTAATAACCGTCGGT			
<i>bla</i> _{CTX-9-M} (gr4)	CTX-9-M F	ATGGTGACAAAGAGARTGCAA	841 pb	60°C	
	CTX-9-M R	TTACAGCCCTTCGGCGATGAT			
	CTX-M-25 F	AGAAAAAGCGTAAGGCGGGC	862 pb	56°C	

<i>bla</i> _{CTX-M gr25}	CTX-M-25 R	CCGTCGGTGACAATTCTGGC			Yossapol <i>et al.</i> , 2017
<p>Grupos de CTX-M: - Grupo 1: 1, 3, 10, 12, 15. - Grupo 2: 2, 4, 5, 6, 7, 20. - Grupo 3: 8. - Grupo 4: 9, 13, 14, 16, 17, 19, 21, 27. - Grupo 25: 25, 26</p> <p>Programa: 1) 94°C - 5:00 min. 2) 94°C - 1:00 min / T de alineación - 1:00 min / 72°C - 1:00 min, 30 ciclos. 3) 72°C - 5:00 min</p>					
c) Quinolonas					
Genes buscados de resistencia transferible a fluoroquinolonas					
Gen	Nombre primer	Secuencia	Tamaño del producto	T° annealing	Referencia
<i>qnrA</i>	<i>qnrA f</i>	ATTTCTCACGCCAGGATTTG	516 pb	53 °C	Chen et al., 2012
	<i>qnrA r</i>	GATCGGCAAAGGTTAGGTCA			
<i>qnrB</i>	<i>qnrB f</i>	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	469 pb	52 °C	García Fulgueiras, et al 2017
	<i>qnrB r</i>	ACGACGCCTGGTAGTTGTCC			
<i>qnrC</i>	<i>qnrC f</i>	GGGTTGTACATTTATTGAATC	307 pb	50 °C	
	<i>qnrC r</i>	CACCTACCCATTTATTTTCA			
<i>qnrD</i>	<i>qnrD f</i>	CGAGATCAATTTACGGGGAATA	580 pb	51 °C	
	<i>qnrD r</i>	AACAAGCTGAAGCGCCTG			
<i>qnrS</i>	<i>qnrS f</i>	ACGACATTTCGTCAACCTGCAA	417 pb	53 °C	
	<i>qnrS r</i>	TAAATTGGCACCTGTAGGC			
<i>qnrE</i>	<i>qnrE1-F</i>	GGCATTGATTTTTGAAGGCGA	516 pb	55 °C	
	<i>qnrE1-R</i>	GTGGGTAATAATTGGCCGCTC			
<i>qnrVC</i>	<i>qnrVC f</i>	ATGGAAAAATCAAAGCAATT	656 pb	46°C	
	<i>qnrVC r</i>	TTAGTCAGGAACAATGATTA			
<p>Programa: 1) 94°C - 5:00 min. 2) 94°C - 1:00 min / T de alineación - 1:00 min / 72°C - 1:00 min, 30 ciclos. 3) 72°C - 7:00 min</p>					
d) Fosfomicina					
Genes buscados de resistencia transferible fosfomicina					
Gen	Nombre primer	Secuencia	Tamaño del producto	T° annealing	Referencia
<i>fosA3</i>	<i>fosA3 F</i>	TGA ATC ATC TGA CGC TGG	404pb	45	García-Fulgueiras et al., 2019
	<i>fosA3 R</i>	TCA ATC AAA AAA GAC CATC			
<p>Programa: 1) 98°C - 3:00 min. 2) 98°C - 10 s / T de alineación - 30 s / 72°C - 1:00 min, 30 ciclos. 3) 72°C - 5:00 min</p>					