



Universidad de Jaén

Facultad de Ciencias
Experimentales

Estrategias para combatir la resistencia a los antibióticos en la cadena alimentaria.

Autor: Laura Barranco Torres

Grado: Biología

Fecha: Junio/2024



CREA



UNIVERSIDAD DE JAÉN



Trabajo Fin de Grado

Estrategias para combatir la resistencia a los antibióticos en la cadena alimentaria

Una firma manuscrita en tinta negra que parece decir "Laura". La firma es fluida y está rodeada por un óvalo grande y una línea horizontal que se extiende hacia la derecha.

Alumno: Laura Barranco Torres

Jaén, Junio, 2024

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1.- Concepto de Antibióticos	2
1.1.1.- Definición y surgimiento	2
1.1.2.- Utilidad en producción primaria	2
1.2.- Resistencia a los antibióticos	4
1.3.- Principales bacterias resistentes a los antibióticos en la industria alimentaria	6
1.4.- Cadena alimentaria y reservorios de resistencias	7
1.5.- Estrategias para combatir la resistencia a antibióticos	8
1.5.1.- Fagoterapia	8
1.5.2.- Desinfección de productos	8
1.5.3.- Empleo de microorganismos probióticos	9
1.5.4.- Vacunación	9
1.5.5.- Plantas transgénicas, fungicidas, herbicidas y plaguicidas	10
1.6.- Enfoque One Health	11
2. OBJETIVOS	12
3. METODOLOGÍA	13
4. RESULTADOS	15
4.1.- Prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos en la cadena alimentaria y otros ambientes	15
4.1.1.- “Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production”	15
4.1.2.- “Presencia de Enterobacteriaceae y E. coli multirresistentes a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima”	17
4.1.3.- “Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias”	19
4.2.- Alternativas a los antibióticos en la cadena alimentaria que dan lugar a los mismos resultados óptimos	22

4.2.1.- “Algunas experiencias usando ácidos orgánicos para optimizar el desempeño de una larvicultura comercial de camarón blanco, <i>Penaeus vannamei</i> ”	22
4.2.2.- “Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ”	25
4.3.- Estrategias para frenar la diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos en la cadena alimentaria.....	26
4.3.1.- “Antimicrobial behaviour of phage <i>ensolysin</i> in <i>PlyP100</i> and its synergy with <i>nisin</i> to control <i>L. monocytogenes</i> in Queso Fresco”	26
4.3.2.- “Capacidad antimicrobiana de bioconservantes utilizados en recubrimientos comestibles en nuggets de cachama blanca (<i>Piaractus brachypomus</i>)”	29
4.3.3.- “Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend Cherry tomato shelf life”	32
4.4.- Tabla resumen de los artículos utilizados durante los resultados.....	36
5. DISCUSIÓN.....	37
6. CONCLUSIÓN.....	43
7. BIBLIOGRAFÍA.....	44

RESUMEN

La continua expansión que está teniendo lugar sobre la resistencia a los antibióticos en los alimentos supone un gran porcentaje de morbilidad, creando una gran problemática a nivel mundial en la salud pública. Como consecuencia de ello, cantidades muy elevadas de antibióticos que son de gran utilidad actualmente concluirán su actividad en los próximos años, donde se podría poner en peligro a la especie animal y humana entre otras al ingerir productos contaminados a través de la cadena alimentaria si no indagamos en la búsqueda de nuevas estrategias eficaces o del desarrollo de nuevos antibióticos. De esta manera, evitaremos que se generen otras fuentes de resistencia microbiana a través de los antibióticos, si éstos se utilizan como terapia o tratamiento cuando realmente sea necesario y no por mera voluntad o por un bien propio. En los resultados, se relatan algunas estrategias a la resistencia antimicrobiana, así como alternativas sustitutorias al uso de antibióticos y los principales microorganismos que son susceptibles en varios tipos de alimentos.

Palabras clave: *Estrategias antimicrobianas, Industria alimentaria, Organismos afectados por resistencia antimicrobiana, Principales patógenos resistentes y Resistencia a antibióticos.*

ABSTRACT

The continuous expansion that is taking place now about the antibiotic resistance in food represents a high morbidity percentage provided a major public health problem worldwide. As a consequence of this, very high quantities of antibiotics, which nowadays are very useful, will finish their activity in the next years, where animals and humans among others could be endangered by eating contaminated products through the food chain if we do not investigate on the search of new effective strategies or in the development of new antibiotics. In this way, we will prevent other mechanisms of microbial resistance through antibiotics, if they are used such as therapy or treatment when actually it is necessary and not for their own will. In the results some strategies to the antimicrobial resistance are told as well as substitutive alternatives to the antibiotic use and some microorganisms that are susceptible in various food types.

Keywords: *Antimicrobial strategies, Food industry, Affected organisms by antimicrobial resistance, Principal resistant pathogens and Antibiotic resistance.*

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Concepto de antibiótico.

1.1.1. Definición y surgimiento

Un antibiótico es una sustancia natural o sintética cuya principal función radica en la inhibición del crecimiento de microorganismos, en el caso de actuar como bacteriostático; o incluso en la muerte, especialmente de bacterias, si funcionan como bactericidas, de tal manera que cumplen un rol esencial en cuanto al control de la proliferación de éstos en el organismo hospedador. Además, contienen un elevado potencial biológico siempre y cuando se empleen a bajas concentraciones, facilitando enormemente el desarrollo de la actividad de nuestro sistema inmune. Deben emplearse cuando sea estrictamente necesario y no exista un método más eficaz para combatir infecciones por bacterias (*Clardy et al., 2009*).

Antaño, en la era pre-antibióticos, pasadas civilizaciones, como podían ser la griega, egipcia y romana, aplicaban productos naturales entre los que se pueden citar las hierbas o heces de animales como métodos de saneamiento contra algunas infecciones que se habían provocado, siendo el método más efectivo para el cuidado tópico el conocido como pan mohoso (*Gould, 2016*).

Sin embargo, el descubrimiento del primer antibiótico, la penicilina, no surgió hasta 1928 por Alexander Fleming, casi por casualidad, mientras observaba cómo unos hongos se habían desarrollado en una de las placas de cultivo en su estudio de *Staphylococcus aureus*, y éstos tenían la capacidad de inhibir el crecimiento de otros microorganismos (*Bentley, 2005*). A pesar de esto, no fue hasta casi dos décadas después cuando se comprobó realmente su función en los pacientes Orvan Hess y Bumstead Juan. Desde entonces, se emprendió así el camino hacia un gran auge por los medicamentos, comenzando así la denominada época dorada de los antibióticos.

1.1.2. Utilidad en producción primaria

Los antibióticos desde su descubrimiento, han sido y son un motor esencial para el tratamiento de un gran porcentaje de infecciones, como profilácticos, así como

pudiendo además ser empleados en sectores primarios principales como la ganadería, la agricultura y la acuicultura.

En la ganadería, como principal sector, cabe destacar que la función de los medicamentos es favorecer y estimular el crecimiento de los animales, de tal manera que se les agregarían a los alimentos, en concreto a los piensos, en diferentes dosis estudiadas previamente para así obtener un incremento en el peso real del animal, aproximadamente del 5% (*Lekshmi et al., 2017*). Se estima que sobre el 80% de los animales utilizados en la ganadería con finalidad de consumo alimentario, han sufrido engorde de esta manera en alguna etapa de su vida (*Pavlov et al., 2008*), aumentando así la resistencia a antibióticos hasta en un 50% desde el año 2000 (*Figura 1.1.2.1.*). Sin embargo, esta actividad ha quedado prohibida en la Unión Europea desde el 2006 (*OJEU, 2003*).

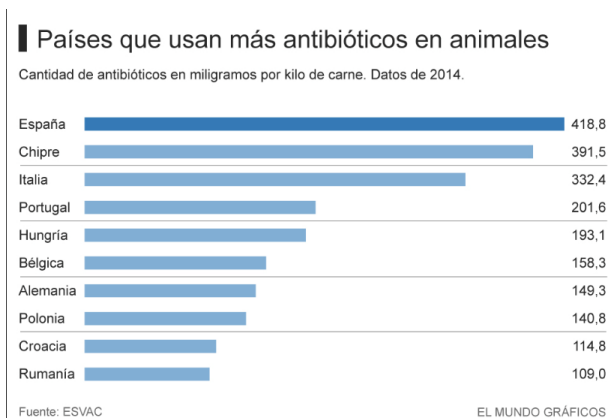


Figura 1.1.2.1.- Gráfico de barras que representa a nivel mundial las regiones que más hacen uso de antibióticos en la industria ganadera, situando a España en cabeza del resto de países europeos en el año 2014. Imagen tomada del proyecto ESVAC., 2017, una iniciativa fundada por Núñez et al., 2006.

También encontramos la agricultura, en la cual se ha visto empleado el uso de antibióticos en producciones agrícolas como método para prevenir infecciones (*Laxminarayan et al., 2013*), provocando así que este sector se encuentre sometido a un peligro en cuanto a resistencias a antibióticos, además de también suponer una exposición a aquellos alimentos destinados al consumo humano y que se incorporarían a través de la cadena alimentaria, aunque contengan presencia en mínimas cantidades de antibióticos. Sin embargo, pese a todo lo mencionado anteriormente, no va a suponer tanto riesgo como ocurriría en la ganadería, ya que la cantidad de antibióticos utilizada es relativamente baja, no llega ni al 1%. Pese a ello, no significa que no debamos de tenerla en cuenta, ya que una parte de estas bajas

concentraciones de antibióticos pueden provocar adaptaciones de bacterias y posteriormente desarrollar resistencias que se puedan diseminar en la cadena alimentaria, y por otra parte los desechos de los animales pueden ser utilizados posteriormente como fertilizantes en cultivos, lo que también comprometería a la cadena alimentaria al ser ingeridos.

Por otro lado, en cuanto a acuicultura, se ha podido contemplar una gran producción recientemente de peces que se están desarrollando en hábitats que no les son correspondidos debido a una gran demanda en el mercado. Estos animales, como por ejemplo los salmones, están siendo sometidos a condiciones poco favorables y, por ello, se puede ver incrementada la probabilidad de sufrir brotes de enfermedades infecciosas (*Pruden et al., 2013*) que pueden ser transmitidas posteriormente a la sociedad mediante su consumo, por lo que se está haciendo uso de antibióticos suministrándose directamente al medio acuático sin un diagnóstico fiable en la mayor parte de casos para tratar de ser encubiertas. De esta manera, se ocasiona una gran problemática para entidades como la Unión Europea con casi un 41% de importaciones realizadas de pescado a nivel mundial.

1.2. Resistencia a los antibióticos

Actualmente, la resistencia antimicrobiana ocasiona un gran problema a escala global, tanto para la medicina como para la economía, llegando en el año 2050 a ser una de las mayores causas de mortalidad mundialmente y suponiendo más de 10 millones de muertes al año (*Figura 1.2.1.*)

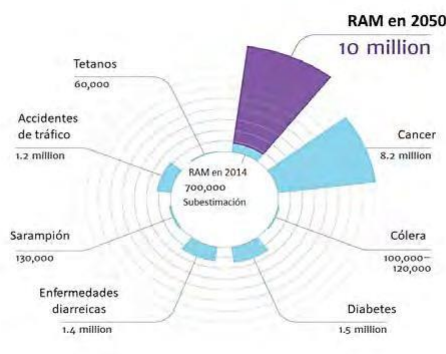


Figura 1.2.1.- Representación gráfica en la que se puede observar la importancia y el grado de gravedad que supondrán las muertes por las enfermedades más destacadas en el año 2014 en comparación con las que se atribuyen por resistencia a los antibióticos en un rango de 30 años. (*O'Neil, 2016*).

Se define como la capacidad que un microorganismo presenta para poder tener insensibilidad frente a los antibióticos, al no haber sido utilizados adecuadamente, sino de forma masiva, ocasionando de esta manera un desafío para la salud del ser humano. Podemos encontrar dos tipos principales de resistencia, encontrándonos:

o Resistencia innata o intrínseca: es aquella en la que la propia bacteria de manera natural la presenta sin previamente haber tenido contacto con un antibiótico, confiriéndoles una mayor complejidad.

o Resistencia adquirida: es característica cuando sí se ha mantenido un contacto con el antibiótico y ha obtenido la resistencia a través de mutaciones en la pared celular (porinas) en las que inactive al antibiótico, por ejemplo, mediante enzimas hidrolíticas o la producción de betalactamasas por parte de la bacteria (*Daza, 1998*). Puede haberse provocado también por una alteración genética en su diana o de las enzimas encargadas de fijar la penicilina (PBPs), también por la integración a la bacteria de material genético exógeno que contiene genes resistentes, de manera horizontal a través de la transformación o transducción (*Schwarz et al., 2017*), siendo este último el caso más común e impidiendo en todos los casos la efectividad del antibiótico.

Actualmente, cada vez se están desarrollando antibióticos con mayor dificultad y en un rango de tiempo superior, favoreciendo la rápida expansión de cepas resistentes que hacen que las infecciones sean más complejas de combatir. En el caso en el que los nuevos antibióticos no se empleen adecuadamente y cuando verdaderamente se requieran, provocará que se creen nuevas cepas resistentes a dichos antibióticos y que éstos vuelvan a resultar ineficaces (*OMS, 2021a*).

Entre algunas de las utilizaciones inadecuadas que corroboran el mal uso de los antibióticos se encuentra su utilización en situaciones como en el crecimiento de animales, modificando su naturalidad y epigenética. Además, como ya se ha mencionado, en el pasado, los antibióticos mostraban una común empleabilidad en sectores como la ganadería, añadiéndose a piensos y aumentando así la probabilidad de generar bacterias resistentes que, desde la microbiota animal, ingresarían a la microbiota humana. También ocasiona un grave problema para el medio ambiente antropizado en el que puede haber difusiones a través del agua contaminada o de biocidas, debido a las moléculas activas que forman genes resistentes (*Sarmah et al., 2006*).

1.3.- Principales bacterias resistentes a los antibióticos en la industria alimentaria

Existe una gran variedad de bacterias resistentes a antibióticos de gran interés en la cadena alimentaria. Por un lado, encontramos bacterias zoonóticas, como por ejemplo *Salmonella*; otras que provocan enfermedades que se pueden transmitir mediante la cadena alimentaria al tratarse de alimentos contaminados, como sería el caso de *Listeria monocytogenes*; o incluso cepas que no son patógenas pero que se encargan de transmitir sus genes resistentes a otras que sí lo son, por ejemplo, *Escherichia coli* o *Enterococcus*. Lo más característico es la clasificación de diferentes linajes bacterianos que, en función del tipo de alimento en el que nos enfoquemos, destacan:

En el caso de la carne y sus derivados es habitual encontrarnos con bacterias como *Salmonella* o *Pseudomonas* spp. (Heredia et al., 2014) cuando desprenden un olor desagradable o emerge decoloración en su interior, patógenos competentes por los nutrientes que ésta presenta, además de por el intercambio de información celular.

Las piezas frutales, por su parte, carecen de gérmenes en la primera parte del desarrollo. Sin embargo, conforme van adquiriendo madurez, es habitual que posean *E. coli* (Cortés et al., 2021), que puede multiplicarse en ellas exponencialmente y se manifiesta principalmente en melones y tomates.

En lácteos, al igual que el resto de alimentos, también pueden contener bacterias zoonóticas (Aguilera et al., 2014) procedentes de animales enfermos o de leche cruda no pasteurizada, entre las que se encuentran *Salmonella* o *L. monocytogenes*.

Por otro lado, en peces, hallamos patógenos principalmente en las agallas, que son los órganos respiratorios; y los intestinos, debido a la actividad de enzimas proteolíticas que existen en el interior tanto de éstos como de mariscos que no han sido conservados adecuadamente en hielo y han permanecido varias horas a temperatura ambiente (Carreño et al., 2014). En este caso, distinguimos entre las de agua fría y agua caliente, interviniendo *Acinetobacter* en el primer caso, mientras que en el segundo es característico *Bacillus*.

Las plantas, son un hábitat que permite el crecimiento idóneo de microorganismos, debido a que contienen las condiciones óptimas (minerales, humedad...) necesarias para su desarrollo. Son invadidas cuando agentes como *Xanthomonas* spp. hidrolizan la pectina, uno de los componentes principales de la pared celular de los vegetales, ingresando a su interior.

1.4.- Cadena alimentaria y reservorios de resistencias

Desde que se recolecta un vegetal o se sacrifica a un animal, los productos alimenticios atraviesan una serie de etapas hasta que son procesados, en las cuales pueden adquirir bacterias presentes en utensilios que se encuentren contaminados (*Faillie et al., 2018*) tanto de forma directa como mediante la contaminación cruzada con alimentos crudos o cocinados.

A pesar de que deben llevarse a cabo técnicas que prometan cumplir con las condiciones higiénico sanitarias declaradas, algunos de los reservorios más importantes en los que podemos encontrar bacterias es en mataderos, ya sea en las zonas de sacrificio, en los lugares de procesamiento o de despiece, al poseer diferentes condiciones ambientales que pueden alterar a los productos. Además, no se debe olvidar que aquellos animales a los que se les haya proporcionado antibióticos y cuyos productos van a ser distribuidos en la cadena, deben de cumplir un tiempo de supresión para descartar la presencia de estas sustancias en el animal.

Por otro lado, otro gran reservorio de almacenamiento de microorganismos, lo constituyen los biofilms, una serie de colonias bacterianas descubiertas por Van Leeuwenhoek, embebidas en una matriz de exopolisacáridos, que se proporcionan seguridad y alimento recíprocamente necesario para poder nutrirse y que son adheridos a superficies vivas o inertes de manera sésil, siendo muy difícil su eliminación (*Steenackers et al., 2012*). Por ello, estas comunidades con gran capacidad resistente como *Pseudomonas aeruginosa*, favorecen la diseminación de los microorganismos patógenos resistentes

1.5.- Estrategias para combatir la resistencia a los antibióticos

Para detener o reducir la dificultad que la resistencia a los antibióticos nos ocasiona, se han presentado una serie de estrategias para tratar de paliar la resistencia microbiana en la cadena alimentaria.

1.5.1. Fagoterapia

Entre ellas pueden destacar alternativas como puede ser complementar a los antibióticos con el empleo de técnicas manipulables genéticamente como la fagoterapia, establecida por el National Institute of Allergy and Infectious Diseases de Estados Unidos como método de control de enfermedades bacterianas en acuicultura (*Choudhury et al., 2016*). Su uso, hace idóneos a los fagos frente a los patógenos resistentes, ya que presenta numerosas ventajas, entre las que podemos encontrar: un gran rango de especificidad por el hospedador, ya que son capaces de infectar a una única especie bacteriana; capacidad de autorregulación; son utilizados a dosis mínimas y son muy sencillos y baratos de producir, además de no emitir efectos para el hombre y de utilizarse para bloquear a las bacterias dianas que forman los biofilms (*Sieiro et al., 2020*). Sin embargo, también contiene una serie de inconvenientes, por ejemplo, conservan gran capacidad de mutación o pueden provocar situaciones adversas en nuestro sistema inmunológico como malestar o cuadros febriles, por lo que aún se debe de determinar experimentalmente la dosis y la ruta de administración para su comercialización, al ser tan novedosos.

1.5.2. Desinfección de productos

Encontramos algunas medidas de prevención para controlar el riesgo de transmisión de bacterias multirresistentes en lugares de almacenamiento y producción de sustentos, como es el caso del empleo de guantes y de la desinfección ambiental y de utensilios y superficies de manera constante (*Weber et al., 2010*), donde pueden sobrevivir de forma virulenta durante grandes períodos de tiempo. Para ello, es fundamental el empleo de biocidas, es decir, unas sustancias de origen sintético compuestas por una serie de agentes microbianos que ayudan a combatir a otras bacterias.

Estos biocidas pueden ser utilizados como desinfectantes cuando son empleados en superficies u objetos y se dirigen hacia diferentes dianas celulares a la misma vez, entre los que principalmente destacan: cloruro de benzalconio, que al ser un compuesto formado por una zona polar y apolar capaz de ligarse a los fosfolípidos o introducirse en el interior de la membrana alterando así su permeabilidad; fenoles como el triclosán, que bloquea enzimas; o compuestos halogenados como el cloro que pueden establecer conexiones con proteínas (*Chacón et al., 2020*).

Aunque nos proporcionan grandes resultados, en mínimas cantidades no llegan a ser efectivos cuando el microorganismo en cuestión se encuentra estructuralmente desnudo, ya que carece de capacidad para unirse a los componentes de la envoltura lipídica, pero en su ausencia tienen una cápsida proteica bastante resistente. En España, sobre el año 2015 aproximadamente, se dio el caso de *A. baumannii*, que es un patógeno desnudo presentado entre múltiples zonas de aislamiento como en exudados de heridas o en la micción, capacitado por contener resistencia a un gran porcentaje de desinfectantes en cuya composición destacan los compuestos halogenados entre otros (*Bravo et al., 2019*).

1.5.3. Empleo de microorganismos probióticos

Por otra parte, se están realizando diversos estudios que afirman que la empleabilidad de los antibióticos puede ser reemplazado por probióticos de las cepas *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (*Reyes et al., 2017*), es decir, microorganismos vivos cuyo crecimiento está fomentado mediante prebióticos y que al suplementarlos a la dieta proporcionan efectos positivos para la salud humana, estimulando la inmunidad específica entre otros grandes beneficios en etapas tempranas del ser humano. De esta manera, también se demuestra que los probióticos reducen la exposición a sufrir enfermedades que eran tratadas con antibióticos previamente, frenando así la probabilidad de que adquieran resistencia frente a éstos.

1.5.4. Vacunación

De forma complementaria a la estrategia anteriormente mencionada, encontramos la vacunación, utilizada como un sustituto de los antibióticos. Así, se pueden prevenir enfermedades infecciosas en aquellos animales que son destinados al consumo humano además de promover la potencialidad en su sistema inmunitario, aumentando

la eficacia de los productos obtenidos a partir de ellos. Todo esto, sería efectivo siempre y cuando las vacunas nos proporcionen características efectivas, entre las que se encuentran la seguridad y rentabilidad principalmente (Hoelzer et al., 2018).

Encontramos dos tipos principales de vacunas efectivas: de virus vivos atenuados, en las que se utilizan virus cuya actividad infecciosa ha sido suprimida por la inactivación de proteínas u otros componentes víricos; o vacunas inactivadas, que propician característicamente las respuestas humores, perdiendo efectividad con respecto a la anterior al proveer la colonización de, por ejemplo, áreas intestinales.

1.5.5.- Plantas transgénicas, fungicidas, herbicidas y plaguicidas

El descubrimiento y avance de plantas o cultivos modificados genéticamente, también conocidos como transgénicos, continúa siendo de gran interés en la cadena alimentaria como método para disminuir las ocasiones en las que se requiere del uso de los antibióticos. Para ello, se induce a la manipulación del material genético de la planta, introduciéndole genes de otra o bien modificándolos genéticamente y que le van a proporcionar una serie de características al vegetal que no es capaz de producir por sí solo (Huanca, 2009). De esta manera, se obtiene una mejora de los cultivos, como maíz y soja, a la misma vez que algunos de estos genes favorecen que sean menos susceptibles a ser atacadas por plagas de insectos, actuando como repelentes.

Además, se pueden utilizar antimicrobianos que impidan la proliferación de bacterias resistentes durante el almacenamiento de los frutos post-cosecha, a la vez que se desarrollan mediante antagonistas bacterianos una serie de antibióticos que se enfrenten a bacterias resistentes, como es el caso de *Burkholderia cepacia*, que produce el antibiótico pirrolnitrina, con la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias resistentes cuando se produce la podredumbre de frutales como manzanos y perales principalmente o de preparados comerciales como Aspire para el biocontrol del moho azul o verde hacia cítricos que han sido atacados por *Penicillium digitatum*. No solamente se hace uso de plantas transgénicas, sino que últimamente se están incorporando animales transgénicos para mejorar la resistencia y productividad de las características del animal. Algunos casos característicos serían la adición de hormonas de crecimiento, animales ricos en omega-3 (EROSKI., 2006) o incluso genes anticongelantes que permitan el crecimiento y cría de peces en aguas muy fría.

1.6. Enfoque One Health

Desde tiempos inmemorables, la cognición sobre la medicina humana, vegetal y animal ha ido incrementándose mediante la puesta en marcha de numerosos estudios. De esta manera, han surgido nuevas iniciativas como el concepto “One Health”, desarrollado a principios del siglo XXI, que se enfoca principalmente en establecer conexiones entre sectores (*Figura 1.6.1.*) como la salud humana, animal, vegetal y medioambiental (*de Macedo et al., 2020*) con el objetivo de indagar en la búsqueda de soluciones a escala mundial y de forma cooperativa entre grandes entidades entre las que participan la Organización Mundial de la Salud (OMS) u Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE).

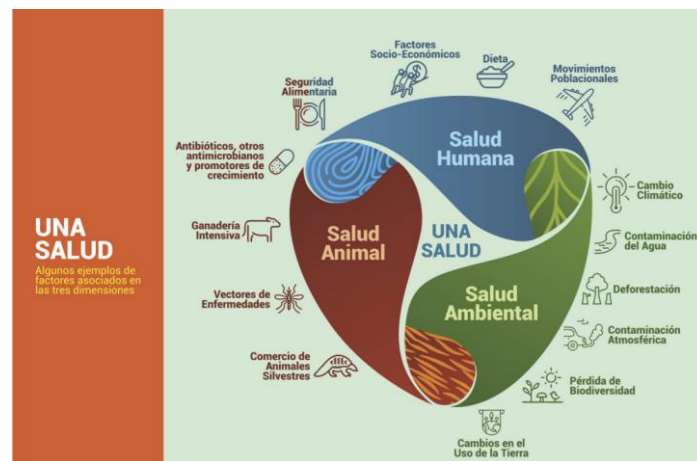


Figura 1.6.1.- Esquema general en las que se muestran las principales áreas que participan y se tienen en cuenta dentro del enfoque “One Health”. (*Murillo et al., 2021*).

Dichos sectores se encuentran íntimamente ligados entre sí, ya que se estima que como mínimo el 65% de las enfermedades humanas de origen infeccioso han surgido en animales salvajes, pero también domésticos. Nuestro medioambiente, por supuesto, se ve afectado al promover la deforestación y ganadería intensiva, aumentando la emisión de gases de efecto invernadero a la atmósfera (*Soto, 2021*) y destruyendo la capa de ozono que nos protege de importantes radiaciones como los rayos UVA. Algunos de los principales desafíos a los que se enfrenta actualmente es a la batalla de la zoonosis, que tiene origen en el consumo de alimentos contaminados y que contienen un alto porcentaje de transmisión en la cadena alimentaria, a la vez que se enfoca en la resistencia a los antibióticos, los cuales suponen una gran amenaza. Por ello, la OMS inició en 2015 un Plan de Acción que comienza y se detalla cautelosamente la gran problemática que supone este tema a nivel mundialista (*OMS, 2016*).

2. OBJETIVOS

Dicho trabajo de fin de grado de carácter bibliográfico pretende centralizar como objetivo general analizar diferentes estrategias que pueden tener lugar para evitar la diseminación de la resistencia a los antibióticos aplicados en la cadena alimentaria.

Para alcanzar este principal gran objetivo, éste debe de estar formado, a su vez, por objetivos específicos, entre los que podemos distinguir:

- ➔ 1. Indagar acerca de la utilidad de antibióticos en la cadena alimentaria.
- ➔ 2. Estudiar cómo las bacterias han adquirido resistencia a antibióticos a lo largo del tiempo.
- ➔ 3. Determinar en qué alimentos principalmente pueden surgir o desarrollarse bacterias resistentes debido a mala praxis.

Mediante el primer objetivo específico, principalmente se pretende dar a conocer las industrias alimentarias que utilizarían los antibióticos de forma errónea debido al desconocimiento de las graves consecuencias que pueden ocasionar en la sociedad. También, tiene un gran interés abordar qué cambios han tenido lugar durante décadas para que las bacterias hayan podido evolucionar teniendo características importantes que antes no presentaban y cómo puede ser solucionado.

Por último, cabe destacar la enorme barrera a la que se puede llegar a enfrentar la sociedad por no tener los suficientes métodos higiénicos sanitarios o procesos indicados en la manipulación o conservación de los alimentos.

3. METODOLOGÍA

Para llevar a cabo la parte de metodología durante el presente trabajo de tipo bibliográfico, se ha hecho uso de diferentes bases de datos que han permitido obtener información de artículos científicos, tanto en español como en inglés, acerca de las estrategias para combatir la resistencia a los antibióticos en la industria alimentaria. Entre las bases de datos que se han utilizado podemos encontrar a las más utilizadas, Google Scholar y Pubmed, así como también Scopus y WOS (Web of Science) (*Tabla 3.1.*). Además, se ha utilizado información relevante de organizaciones y entidades como la OMS (Organización Mundial de la Salud) y ONU (Organización de las Naciones Unidas) así como de revistas de carácter científico y de investigación, entre las que destacan por albergar un gran índice de impacto a *Elsevier*, categorizada dentro del cuartil 1 (Q1) en el año 2022 con un factor de impacto de 16 y de 16.8 en los últimos 5 años.

En cuanto a los criterios de inclusión, se han utilizado palabras clave en los filtros de búsqueda como “affected organisms by antimicrobial resistance”, “antibiotic resistance”, “antimicrobial strategies”, “food industry” and “principal resistant pathogens”. Se indicó un espacio de tiempo concreto en ambas tablas para así obtener información más actualizada acerca de este ámbito, acotando un rango de 6 años como máximo, es decir, los artículos publicados se disponían entre 2019 y 2024. Además, se combinaron varias palabras clave (*Tabla 3.2.*) para aumentar la cantidad de artículos que fuesen específicos y se ajustaran aún más al tema en cuestión.

Tabla 3.1.- Búsqueda de artículos totales en los que se representa verticalmente en la columna de la izquierda las palabras clave empleadas, mientras que, horizontalmente, en la primera fila, se sitúan los tipos de bases de datos (*Elaboración propia*).

Palabras clave / Bases de datos	Google Scholar	Pubmed	Scopus	Web of Science
“Affected organisms by antimicrobial resistance”	0 resultados	55 artículos	0 resultados	1.165 resultados
“Antibiotic resistance”	123.000 artículos	4.856 resultados	71.822 resultados	58.905 artículos
“Antimicrobial strategies”	5.760 resultados	64 resultados	509 artículos	14.852 resultados
“Food industry”	167.000 resultados	1.286 artículos	34.720 resultados	91.100 artículos
“Principal resistant pathogens”	1 artículo	52 resultados	0 artículos	248 resultados

Entre dichos artículos, encontramos varios motivos por los que han sido identificados dentro de los criterios de exclusión. La gran mayoría se repetían de una base de datos a otra, exceptuando los encontrados en Pubmed. Además, otro gran porcentaje no cumplían los objetivos necesarios, ya que tan sólo aparecía el resumen y no permitía la lectura del texto completo, ya que, aunque perteneciese a la Institución de la Universidad de Jaén, había que obtener una subscripción. En cuanto a Scopus, las publicaciones se centraban sobre todo en otras áreas como medicina o ingeniería y apenas había artículos ni reviews que se encontrasen en inglés, español o francés.

Por último, se debe destacar que, en Web of Science y Google Scholar, los filtros de búsqueda en cuanto a los años se establecieron desde el 2020, ya que al indicar que apareciesen artículos de los últimos 5 años ya contabilizó al 2024, aunque éste no haya llegado a su transcurso final.

Tabla 3.2.- Numeración de artículos totales en los que se ha utilizado más de una palabra clave simultáneamente en varias bases de datos, para reducir los criterios y obtener información relacionada recíprocamente (*Elaboración propia*).

**Representado entre paréntesis aquellos artículos que han sido excluidos.*

Palabras clave / Bases de datos	Google Scholar		Pubmed		Scopus		Web of Science
"Antibiotic resistance" and "antimicrobial strategies" and "food industry"	307 resultados (80% inservibles)	"Affected organisms by antimicrobial resistance" and "antibiotic resistance"	14 artículos (6 excluidos)	"Antibiotic resistance" and "antimicrobial strategies" and "food industry"	3 resultados (1 excluido)	"Antibiotic resistance" and "antimicrobial strategies"	77 resultados (71 excluidos)
"Antimicrobial strategies" and "food industry"	532 artículos (55% excluidos)	"Antibiotic resistance" and "antimicrobial strategies"	15 resultados (8 excluidos)	"Antibiotic resistance" and "antimicrobial strategies"	164 resultados (80% excluidos)	"Antibiotic resistance" and "food industry"	213 artículos (60% inservibles)
"Food industry" and "principal resistant pathogens"	1 resultado (1 excluido)	"Antimicrobial strategies" and "food industry"	1 resultado (1 excluido)	"Antimicrobial strategies" and "food industry"	6 artículos (3 inservibles)		

4. RESULTADOS¹

4.1.- Prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos en la cadena alimentaria

4.1.1.- “Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production”.

Lavilla, L., Benomar, N., Gálvez, A., Abriouel, H., 2013. Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production. *International Journal of Food Microbiology*, 161: 97-106.

Puesto que cada vez se desarrollan más bacterias resistentes a antibióticos, el principal foco de estudio se centra en investigar y analizar superficies óptimas para su desarrollo en lugares propicios y destinados al constante trabajo sin cese de la producción de alimentos, que serán distribuidos a miles de kilómetros de distancia y que monitorean con grandes cantidades de productos cárnicos, por ejemplo. Diversos grupos de investigación se han centrado en el análisis de los mataderos, como principal reservorio de bacterias multirresistentes, donde se ha realizado el siguiente estudio en el matadero de cabras y corderos localizado en la provincia de Jaén, cuyo principal objetivo se enfoca en realizar investigaciones sobre la determinación de la prevalencia de resistencias a antibióticos y biocidas en bacterias aisladas a lo largo de la cadena alimentaria.

Para ello, se han recogido diferentes muestras representativas de bacterias de superficies susceptibles de las zonas clave del matadero, como lo son la sala de

¹ Se han seleccionado entre los artículos mencionados en la metodología según las bases de datos, aquellos cuyos resultados son más destacados en esta área y han sido testados mediante experimentación especialmente. Sin embargo, el primer artículo a pesar de que no estuviera dentro del filtro indicativo de publicaciones de ensayos de los últimos 5 años, ha sido añadido a esta parte debido a la importancia que se requiere su estudio en mataderos, al igual que ocurre con aquellos cuya fecha de publicación data del año 2018, al no haberse podido realizar búsquedas más actuales que nos faciliten una investigación o texto completo. Además, no se ha podido obtener mucha información acerca de experimentos recientes, puesto que es un tema que ha comenzado hace relativamente poco.

despiece, de sacrificio o la entrada y fueron cultivadas en diferentes medios de cultivo (generales y específicos). Además, han sido empleados una variedad de antibióticos y biocidas a distintas concentraciones, como Eritromicina o Cloruro de Benzalconio.

Como resultados, existía una cierta turbidez en los tubos donde se incubaron las muestras de superficies, lo cual quería decir que había indicios de un crecimiento microbiano en las superficies donde fueron recogidas y que, además, aquellos microorganismos que habían surgido, eran resistentes a los antibióticos que se habían utilizado durante el estudio. En cuanto al aislamiento de las bacterias resistentes, se obtuvieron que las más representativas a nivel global eran aquellas bacterias psicrótrofas (no *Pseudomonas*), mientras que también se podían destacar por su gran concentración en las muestras presentes de *Pseudomonas* mesófilas, constituyendo entre ambas, prácticamente la mayor parte de bacterias resistentes aisladas de las superficies analizadas (*Figura 4.1.1.1. y Tabla 4.1.1.2.*)

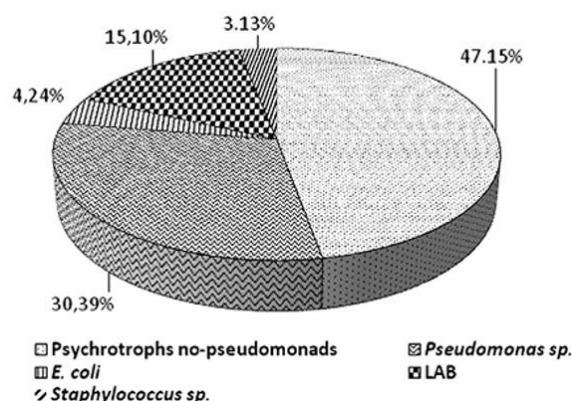


Figura 4.1.1.1.- Gráfico de sectores que representa el porcentaje total de bacterias resistentes a antibióticos y biocidas aisladas de las diferentes superficies del matadero de Jaén (*Lavilla et al., 2013*).

Tabla 4.1.1.2.- Recuento de los diferentes grupos de bacterias resistentes presentes en cada zona del matadero (*Elaboración propia*).

Salas del matadero/Porcentaje de bacterias resistentes contabilizado	Psicrótrofas	<i>Pseudomonas</i> mesófilas	<i>E. coli</i>	LAB	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>L. monocytogenes</i>
Entrada	20	10	12	2	2	0
Sala de sacrificio	96	33	50	37	14	16
Frigorífico 1	9	12	9	9	1	0
Sala de despiece	80	54	32	23	9	6
Frigorífico 2	7	6	5	0	0	1
Túnel de congelación	2	0	0	0	2	0
Frigorífico 3	20	14	0	0	0	0
Frigorífico 4	37	14	7	9	5	5
Sala blanca	21	15	7	10	7	5
Productos cárnicos	41	22	9	2	2	2
TOTAL	333	180	131	92	42	35

Si realizamos una comparación con los resultados obtenidos según los antibióticos y biocidas de los que hicieron uso (*Figura 4.1.1.3.*), la mayoría de bacterias resistentes se encontraban en la sala de despiece y en la sala de sacrificio, donde destacaban nuevamente las no *Pseudomonas* psicrótrofas con un gran rango de porcentaje.

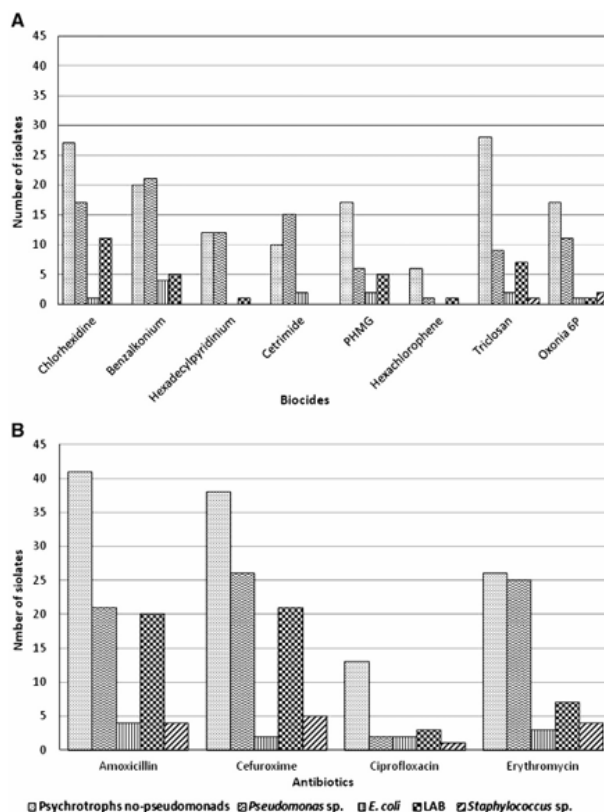


Figura 4.1.1.3.- Gráficos de barras en el que se destaca la incidencia de bacterias psicrótrofas no *Pseudomonas* en relación con la exposición de cada antibiótico (A) y biocida (B) (Lavilla et al., 2013).

4.1.2.- “Presencia de Enterobacteriaceae y *E. coli* multirresistentes a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima”

Ruiz, L., Martínez, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D., Ochoa, T.J., Ruiz, J., Pons, M.J., 2018. Presencia de Enterobacteriaceae y *E. coli* multirresistentes a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Perú Med Exp Salud Pública*, 35 (3): 425-432.

Debido a la gran importancia que acarrearán los mercados de donde proceden muchos de los alimentos producidos en los mataderos y que consumimos a diario, otras investigaciones recientemente han tenido lugar en Lima, lugar característico por ser una de las zonas donde más resistencia radica. Sin embargo, apenas se pueden encontrar estudios que se hayan testado en los mercados, con el objetivo de

comprobar cuáles son las bacterias más representativas de esta zona. Para ello, se han recolectado varias muestras de carne procedentes de diferentes productos animales (pollo, cerdo y res) que se encontraban bajo comercialización en diversos puntos de venta. Tras la siembra en diferentes medios de cultivo (generales y específicos) junto con la utilización de una decena de grupos de antibióticos y sus posteriores métodos de análisis para proceder a la identificación de los microorganismos, obtuvieron que, entre las principales cepas bacterianas que se encontraban en estos productos de origen cárnico, destacaban representantes de la familia *Enterobacteriaceae* (82%), con una gran diversidad de géneros, aunque fueron encontradas también otras cepas de interés como las pertenecientes a la familia *Pseudomonaceae*, pero en menor proporción. Además, teniendo en cuenta las especies predominantes, principalmente se encontró *E. coli* (50% de muestras).

Sin embargo, dichas bacterias podían variar en función de la muestra que se estuviese analizando, ya que la muestra de carne de pollo era la que más bacterias presentaba. Siendo más precisos, en las procedentes de carne de pollo y vacuno principalmente se aislaba *E. coli* (95% y 70%, aproximada y respectivamente), a la misma vez que ocurría con la carne porcina (80%), donde también había un alto porcentaje de las especies pertenecientes a los géneros *Enterobacter* y *Providencia*. Además, en cuanto a las muestras tratadas con agentes antibacterianos, en su totalidad se había obtenido crecimiento de *E. coli* en las muestras patógenas de carne de pollo, ya que todas habían mostrado resistencia frente a Cotrimoxazol, obteniendo de manera conjunta a Tetraciclina y Ampicilina con un valor muy elevado de resistencia (95%). Por otro lado, la carne de res, no era característica de presentar tantas bacterias resistentes en comparación con las otras muestras, con alta resistencia (52%) frente a Tetraciclina.

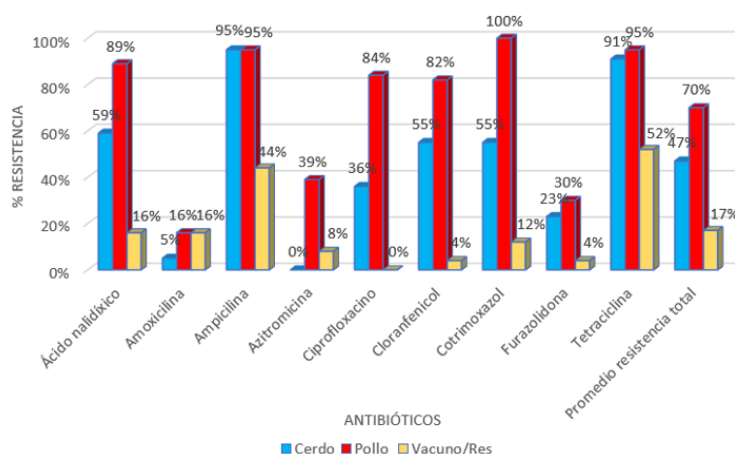


Figura 4.1.2.1.- Gráfico de barras en el que se encuentra representado el porcentaje de resistencia bacteriana de *E. coli* que han mostrado crecimiento frente a cada antibiótico en función del tipo de muestra analizada (*Elaboración propia*).

Por último, en la carne porcina la resistencia a Ampicilina volvía a ser elevada (95%), pero a diferencia de la de pollo, frente a Cotrimoxazol no habían surgido tantos microorganismos (55%), aunque sí que se volvía a obtener elevada resistencia para Tetraciclina, casi en un 91% de los casos (*Figura 4.1.2.1.*). Una vez analizadas las muestras, también se constataron resultados en los que era característico encontrar cepas resistentes de *E.coli* que producía betalactamasas de espectro extendido, conocidas como BLEE en carne de pollo, mientras que se carecía de esta resistencia en bacterias aisladas de carne vacuna, donde albergaba una minúscula cantidad de pAmpC.

De manera global, la investigación ha resultado en una gran cantidad de diferentes patógenos y aunque no todas las bacterias procedentes de las muestras puedan desembocar en alguna enfermedad, sí que es de interés destacar la gran presencia de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos, sobre todo en la carne de pollo. Además, el foco se centra principalmente en que todas las bacterias que habían surgido eran muy resistentes a Tetraciclina.

4.1.3.- “Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias”.

Téllez, S., Rodríguez, E.A., Jiménez, J.N., 2023. Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias. *Infectio*, 27 (2): 78-85.

Además de colonizar alimentos, las bacterias resistentes tienen la capacidad de asociarse a elementos líquidos, como pueden ser las partículas de agua, siendo la molécula más representativa en todo el mundo tanto para su ingesta, como en otras actividades, entre las que se encuentran el regadío o la salud pública. Debido a su gran importancia, se han realizado investigaciones en un hospital de Colombia, un país representativo por el gran número de bacterias resistentes a betalactamasas. Se recogieron muestras de aguas residuales en dos meses diferentes y en diversos

puntos de recogida (*Tabla 4.1.3.1.*). El primero, sobre servicios generales de adultos o medicina interna entre otros, mientras que el segundo estuvo dirigido a la unidad de cuidados intensivos y especiales o Urgencias. Las muestras fueron expuestas a diferentes tratamientos una vez se encontraban en el laboratorio y se aislaron en sus placas específicas correspondientes.

Tabla 4.1.3.1.- Recogida de muestras y clasificación en función de la resistencia a betalactámicos y penicilinas (*Punto 1 y 2*) o frente a carbapenemasas (*Punto 1 (II) y 2 (II)*) (*Elaboración propia*).

Perfiles enzimáticos	Punto 1	Punto 2	Punto 1 (II)	Punto 2 (II)
TEM	7	20		
SHV	3	1		
CTX-M GRUPO 1	10	8		
TEM + SHV	0	4		
SHV + CTX-M GRUPO 1	1	4		
SHV + CTX-M GRUPO 1	0	5		
TEM + SHV + CTX-M GRUPO 1	6	1		
TEM + SHV + CTX-M GRUPO 9	1	0		
TOTAL	28	43		
KPC			21	44
VIM			0	1
KPC + VIM			0	5
TOTAL			21	50

Se pudo testar un total de 90 bacilos Gram negativos (aunque realmente fueron 177, ya que había más de un gen que podía codificar diferentes tipos de betalactamasas) que presentaban sospecha de tener resistencia a los betalactámicos, siendo la gran mayoría de las muestras que se habían recogido del punto 2 de muestreo (*Figura 4.1.3.1.*). En su totalidad, presentaban como mínimo un gen que era resistente ya bien a betalactamasas, penicilinas o carbapenemasas. De igual modo que en los bacilos Gram negativos, la cantidad de bacterias de tipo 2 casi duplicaba la colonización en comparación con los de tipo 1 (*Figura 4.1.3.1.*).

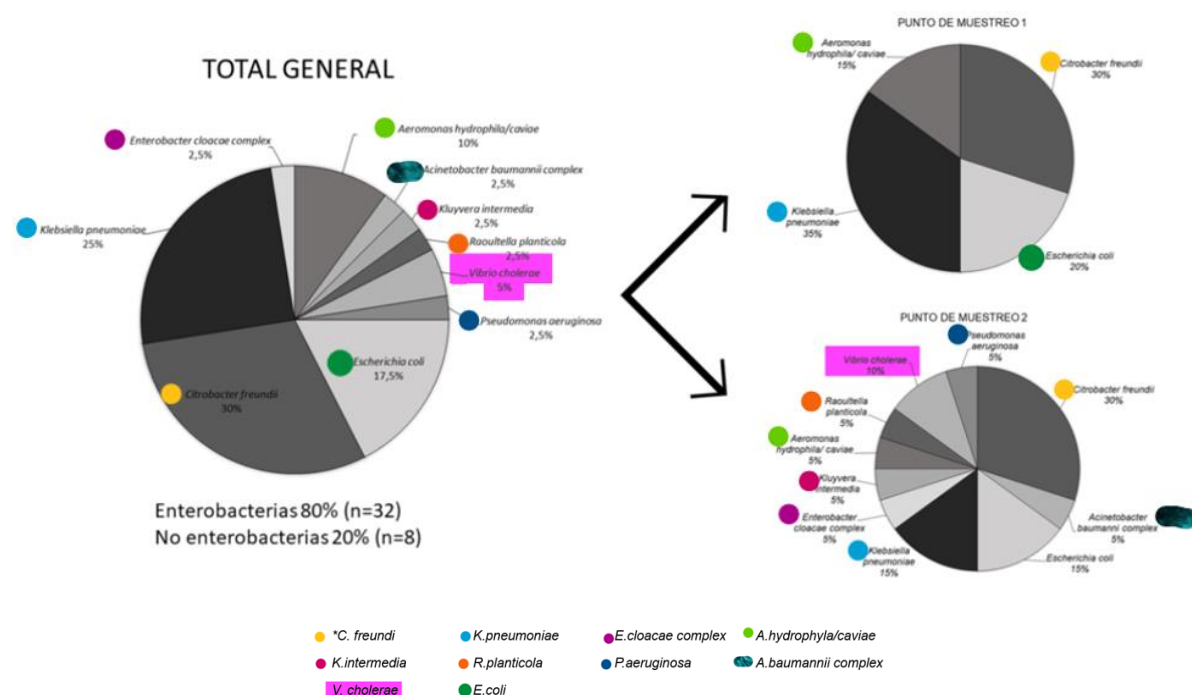


Figura 4.1.3.2.- Identificación de las muestras aisladas en función de si pertenece a *Enterobacterias* o no y su posterior clasificación según el género con respecto a los puntos de recogida de muestras (Imagen modificada de Téllez et al., 2023).

Del total de Bacilos, se procedió a la identificación de unos 40 aproximadamente, de los cuales, 32 eran del género *Enterobacterias* y el resto *no Enterobacterias* (Figura 4.1.3.2.). También se detalló con más especialidad el género al que pertenecían, destacando en su mayor medida a *Citrobacter freundii* (30%) y *Klebsiella pneumoniae* (25%) en ambos casos. Como era de esperar ya que el muestreo 2 presentaba más bacterias, también se presentó una mayor variabilidad de géneros identificados (10) en comparación con el primer tipo (4). Sin embargo, en el primer muestreo, dentro del grupo de las *Enterobacterias*, eran características de presentar más resistencia a la gran mayoría de antibióticos que se habían empleado, donde se destacó frente a carbapenémicos y cefalosporinas, a excepción de un par de ellos.

En el caso de las *no Enterobacterias*, la resistencia era variable en función del caso concreto de muestreo que se estuviese analizando, ya que en la toma de muestras procedentes del primer muestreo volvían a destacar la resistencia contra los mismos antibióticos que en el caso de *Enterobacterias*. Opuestamente, en el segundo muestreo, la resistencia era total. De todos ellos, la bacteria más resistente a todo tipo de medicamentos utilizados fue *K. pneumoniae*, la cual coincidía con una de las

muestras más representativas de todo el estudio como se ha destacado anteriormente (Figura 4.1.3.2.).

Además, con respecto al perfil de resistencia (Figura 4.1.3.3.), se identificó cuántos de los microorganismos presentaban multidrogorresistencia, es decir, resistencia a más de un antibiótico simultáneamente (González et al., 2019), cuyo resultado más notable mostró que, en la totalidad de las 40 muestras evaluadas, presentaban esta característica, con hasta 22'5% de resistencia frente a once antibióticos combinados. En el punto 1 destacó la resistencia frente a una gran diversidad de antibióticos empleados al mismo tiempo, mientras que en el punto 2 casi la mitad de aislados correspondían a otros perfiles (Figura 4.1.3.3.).

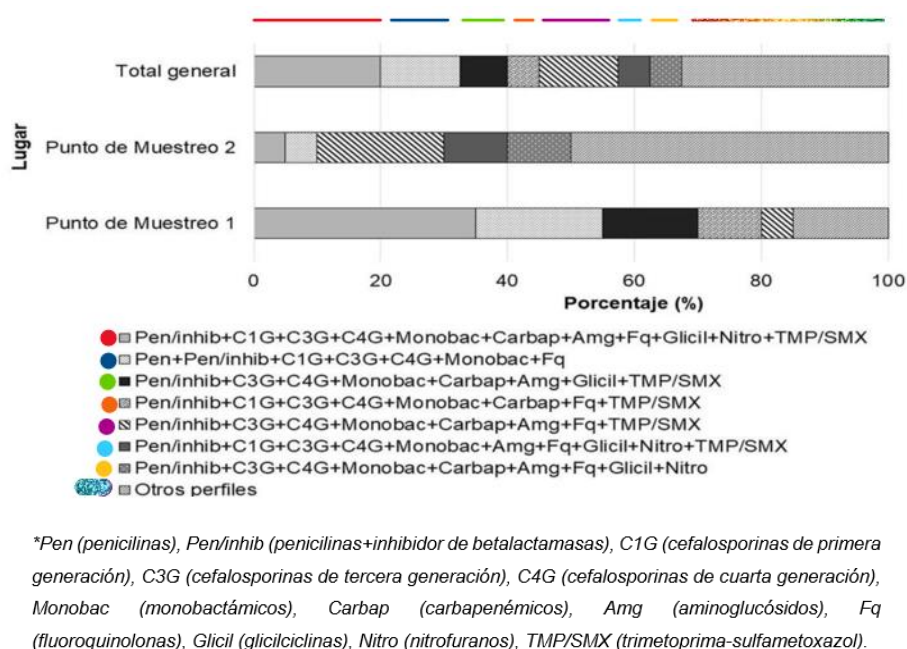


Figura 4.1.3.3.- Perfil para evaluar la multidrogorresistencia en los puntos de muestreo (Imagen modificado de Téllez et al., 2023).

4.2.- Alternativas a los antibióticos en la cadena alimentaria que dan lugar a los mismos resultados óptimos

4.2.1.- “Algunas experiencias usando ácidos orgánicos para optimizar el desempeño de una larvicultura comercial de camarón blanco, *Penaeus vannamei*”.

Silva, J., Jiménez, I., Vivas, J., Mayer, L., Figueredo, A., 2021. Algunas experiencias usando ácidos orgánicos para optimizar el desempeño de una larvicultura comercial de camarón blanco, *Penaeus vannamei*. *El acuicultor*, 1: 11-19.

La camaronicultura es una técnica que se basa en el desarrollo del camarón, el cual ha tenido un gran auge en las últimas décadas. Sin embargo, debido a su gran demanda por parte del mercado, se ha procedido al aumento de su producción, dando lugar a varias alteraciones o enfermedades infecciosas de origen microbiano como consecuencia de la resistencia que han ido adquiriendo las bacterias con el uso indiscriminado de antibióticos. Para que se vea reducida, se ha estudiado el efecto que suponen los ácidos orgánicos como una forma de sustitución de los antibióticos que se han utilizado en estudios anteriores como promotores (González, 2021), que nos muestren mejores resultados y no proporcionen tantos efectos negativos como la resistencia, que supongan un peligro de índole sanitaria tanto para el ser humano como para estas especies de cara a la pesca en piscifactorías (Otero et al., 2018).

Se ha llevado a cabo un análisis en una especie en concreto de camarón blanco, *P. vannamei*, que ha recibido varios tratamientos de mezclas de ácidos orgánicos en distintos estados larvarios y otros que se han mantenido como grupos control, para así establecer las diferencias entre los grupos experimentales, donde se estudió la supervivencia de larvas camarónicas, así como la inhibición según los antibióticos a utilizar y el crecimiento de bacterias en medios de cultivo.

Siguiendo los datos obtenidos, en la mayoría de resultados se puede observar una clara diferencia de supervivencia entre aquellas larvas que no habían recibido el tratamiento de las que sí (Figura 4.2.1.1). Por un lado, las primeras, en las que la temperatura era superior, y no se habían empleado alimento o vitamina C que estimula el crecimiento, apenas podían sobrevivir por sí solas, a pesar de que la cantidad de larvas empleadas era bastante superior que las carentes de ácidos orgánicos, presentando una tasa de supervivencia entre el 25% y el 50%, redondeándose a la mínima en la mayoría de casos, mientras que las que se habían mantenido a una temperatura de entre 25°C y 30°C y sí que se les había añadido todos los tratamientos mencionados eran características de mostrar gran porcentaje de vitalidad, situándose en lo más alto del podio con hasta un 90% en algunos casos.

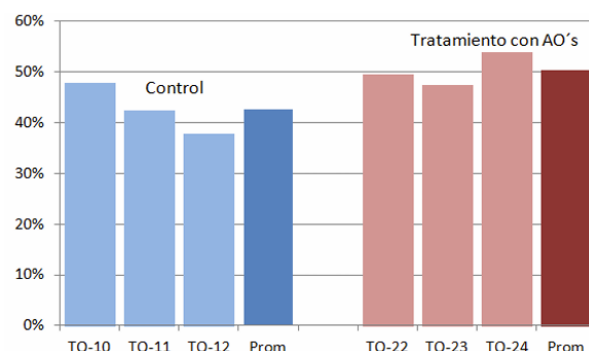


Figura 4.2.1.1.- Gráfico de barras que representa la tasa de supervivencia de larvas de camarón blanco situadas en diferentes tanques con o sin el tratamiento de ácidos orgánicos (*Silva et al, 2021*).

También, se procedió al cultivo en placas con y sin tratamiento de ácidos orgánicos. Como era de esperar, las que no tenían los ácidos orgánicos, presentaban una gran proporción de microorganismos conforme pasaba el tiempo, de media hasta en un 36% superior. Por ende, aquellas que sí lo habían recibido conformaban una tasa bastante inferior con respecto a las anteriores (*Tabla 4.2.1.2.*). En ambos casos, el crecimiento de dichos microorganismos era representado por el género *Vibrio*.

Tabla 4.2.1.2.- Representación de la incidencia de microorganismos del género *Vibrio* que han crecido en ambos grupos experimentales (*Silva et al., 2021*).

	Control		Tratamiento con AO's	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Protozoa 2	8×10^1	$3,4 \times 10^3$	5×10^1	$2,2 \times 10^3$
Mysis 3	22×10^1	$5,8 \times 10^3$	11×10^1	$3,7 \times 10^3$
Postlarva 8	$8,1 \times 10^3$	$2,2 \times 10^4$	6×10^3	9×10^3

Para finalizar, se realizaron análisis mediante antibiogramas en los que se emplearon antibióticos como Florfenicol u Oxitetraciclina y los ácidos orgánicos, la inhibición que se puede desarrollar en los grupos estudiados (*Figura 4.2.1.3.*), para testar la eficacia una vez más, por parte de estos últimos. Sin embargo, en los tres casos se obtuvo inhibición del crecimiento alrededor de los discos impregnados con antibióticos o ácidos orgánicos, eso sí, con diferentes capacidades inhibitorias, ya que con Oxitetraciclina apenas era notable, mientras que con ácidos orgánicos presentaba un tamaño intermedio entre ambos antibióticos. Florfenicol, sin duda, era el antibiótico más eficaz para inhibir el crecimiento de *Vibrio*. Resultados que también se evidenciaban con pruebas realizadas anteriormente (*Reyes et al., 2017*).



Figura 4.2.1.3.- Diámetro de los halos de inhibición en función del agente terapéutico empleado (Silva et al., 2021)

4.2.2.- “Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*”.

Carhuallanqui, A., Salazar, M.E., Ramos, D., 2020. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *Investigación Altoandin*, 22: 25-33.

Al igual que ocurre con el camarón, el orégano contiene un aceite esencial por su parte que se utiliza para la preparación de los alimentos más destacables de origen peruano. Está formado por compuestos activos, entre las que destacan el carvacrol y timol. Puesto que sobre todo pueden surgir en él bacterias como *L. monocytogenes* y *S. aureus*, se ha comenzado a testar antimicrobianos de origen natural, es decir, con los compuestos activos mencionados que van a provocar una serie de efectos a nivel de la membrana citoplasmática de la bacteria (aperturas) para así dar lugar a la pérdida del potencial de la membrana y, por consiguiente, a la muerte celular (Yilmaz et al., 2016).

Principalmente, el estudio realizado consistió en la extracción de aceite proveniente de muestras de orégano, concretamente la especie *Origanum vulgare*, tras una serie de pasos para, posteriormente, ser incubado en placas de cultivo a distintas concentraciones características del crecimiento de dichos microorganismos. Desafortunadamente, tras haber evaluado la muestra, en los resultados se ha podido obtener una baja presencia (Tabla 4.2.2.1.) tanto de carvacrol (1,7%) como de timol (11,90%) en su composición, en comparación con los valores de referencia que deberían conservar, aunque éstos pueden presentar variaciones en función de las

condiciones en las que se coseche o en la zona en la que se cultive el orégano (Shange et al., 2019).

Tabla 4.2.2.1.- Porcentaje de composición de la muestra de orégano del género *O. vulgare* (Carhuallanqui et al., 2020).

Componente	% TR(min)	
1 α -Tujeno	0,77	13,08
2 α -Pineno	0,52	13,38
3 Sabineno	4,44	14,64
4 β -Pineno	0,23	14,87
5 β -Mirreno	1,44	15,01
6 α -Felandreno	0,32	15,72
7 α -Terpineno	5,57	16,06
8 o-Cimeno	2,73	16,30
9 1-metil-5-(1-metiletenil)-Ciclohexeno	1,98	16,47
11 β -cis-Ocimeno	0,16	16,85
12 γ -Terpineno	11,8	17,37
14 1-metil-4-(1-metiletiliden)-Ciclohexeno	1,57	18,25
15 β -Linalool	0,81	18,57
16 Cis- β -Terpineol	20,68	18,82
17 Trans-1-metil-4-(1-metiletil)-2-Ciclohexen-1-ol	1,39	19,53
20 L-4-terpineol	10,09	21,30
21 α -Terpineol	2,5	21,69
27 Timol	11,90	24,24
28 Carvacrol	1,7	24,51
29 β -Cariofileno	3,31	28,21

Nota: TR = Tiempo de retención

Además, en algunos casos, es utilizado como promotor de crecimiento de aves de corral, destinados como pollos de engorde (Tabla 4.2.2.2.), con resultados muy positivos, que indican que no se corre el riesgo de comprometer la salud de aquellas personas que se encuentran inmunosuprimidas, a la misma vez que aumentan la estimación del periodo de vida de estos animales en comparación con el grupo control al que no se le ha suministrado el aceite (Apaéstegui, 2017).

Tabla 4.2.2.2.- Características de los pollos que habían sido tratados con Orégano del género *O. vulgare* (Elaboración propia).

Grupo experimental	Aumento de peso (Kg)	Aves de corral fallecidas (%)
Control	1'6	20
Grupo 1	2'3	0
Grupo 2	2'6	0
Grupo 3	2'4	0

4.3.- Estrategias para frenar la diseminación de la resistencia a antibióticos en la cadena alimentaria

4.3.1.- “Antimicrobial behaviour of phage ensolysin PlyP100 and its synergy with nisin to control *L. monocytogenes* in Queso Fresco”.

Ibarra, L.A., Van, M.L., Miller, M.J., 2018. Antimicrobial behaviour of phage ensolysin PlyP100 and its synergy with nisin to control *L. monocytogenes* in Queso Fresco. *Food Microbiology*, 72: 128-134.

Los productos lácteos al igual que el pescado o la carne, presentan bacterias que han puesto el foco en grandes ocasiones sobre la sociedad creando emergencias a lo largo de los años. Uno de los principales quesos originarios de Burgos es el queso fresco, pudiendo ser adquirido en todo el mundo y cuya principal bacteria que puede ser mencionada es *L. monocytogenes*, que ha llegado a crear alertas por su gran peligrosidad mortal en mujeres de estado gestante.

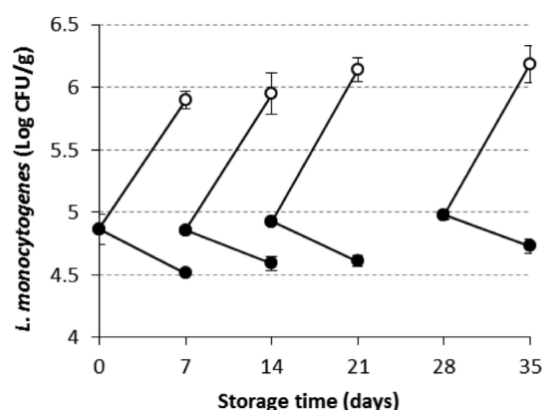
Puesto que la nisina actúa como bioconservante en alimentos, debido a su actividad antimicrobiana, se ha comenzado una investigación acerca de una endolisina (PlyP100) derivada de un fago en el queso fresco, siendo incubada bajo placas específicas con muestras de *Listeria* procedentes de diferentes lugares. Se comprobó que, para distintas concentraciones de este microorganismo, la endolisina produjo el mismo efecto en todas las muestras evaluadas, logrando reducir en cierta medida su carga microbiana (Tabla 4.3.1.1.).

Tabla 4.3.1.1.- Cantidad de microorganismo *L.monocytogenes* que ha sobrevivido tras el efecto de PlyP100 en función del tamaño que ha sido inoculado (Ibarra et al., 2018).

*En la recuperación, el símbolo “+” sugiere si ha habido aislamiento, mientras que el “-” indica que no ha habido surgimiento del microorganismo.

Inoculum size	Survival (Log CFU/g) ¹	Recovery
5 Log CFU/g	4.38 ± 0.24	+
4 Log CFU/g	3.46 ± 0.17	+
3 Log CFU/g	2.25 ± 0.10	+
2 Log CFU/g	ND	+
1 Log CFU/g	ND	-

Por otro lado, cuando se hizo el recuento de bacterias tras haber mantenido el queso fresco refrigerado, no había sido apreciable un gran aumento por parte de éstas, ya que PlyP100 mantenía su actividad de regulación en estas condiciones (Figura 4.3.1.2.).



Concentraciones:

* o → 0 U/g de PlyP100 utilizados.

* ● → 10 U/g PlyP100.

Figura 4.3.1.2.- Actividad de PlyP100 tras haber sometido la muestra a frío durante un periodo de tiempo superior a un mes, mostrando una cantidad antilistérica constante (Ibarra et al., 2018).

También, se administraron dosis variables de PlyP100 junto a una concentración fija de *Listeria*, demostrando así que cuanta más endolisina se utilizaba, menor era la cantidad de microorganismos que conseguían sobrevivir (Tabla 4.3.1.3.).

Tabla 4.3.1.3.- Supervivencia de *L.monocytogenes* bajo diferentes concentraciones de endolisina PlyP100 (Ibarra et al., 2018).

*El símbolo positivo de la supervivencia va a indicar la presencia de crecimiento, mientras que el negativo mostrará la ausencia de éste.

Concentración de PlyP100	Supervivencia ($\Delta\text{Log UFC/g}$)
0 U/g	$+1,83 \pm 0,05$
2,5 U/g	$+0,11 \pm 0,10$
5,0 U/g	$-0,25 \pm 0,13$
7,5 U/g	$-0,45 \pm 0,07$
10 U/g	$-0,55 \pm 0,14$

Del mismo modo, si utilizaban nisina y *Listeria*, sí que se podía ver un aumento de listeriosis considerable tras 28 días incubando en frío; mientras que al igual que ocurría anteriormente, cuando se empleaba únicamente PlyP100 con *Listeria*, era apreciable una constancia de bacterias que no habían aumentado tras este tiempo. Análogamente, cuando se cultivaron nisina y PlyP100 conjuntamente, la viabilidad de *Listeria* se había visto reducida con respecto a las bacterias iniciales (Figura 4.3.1.4.).

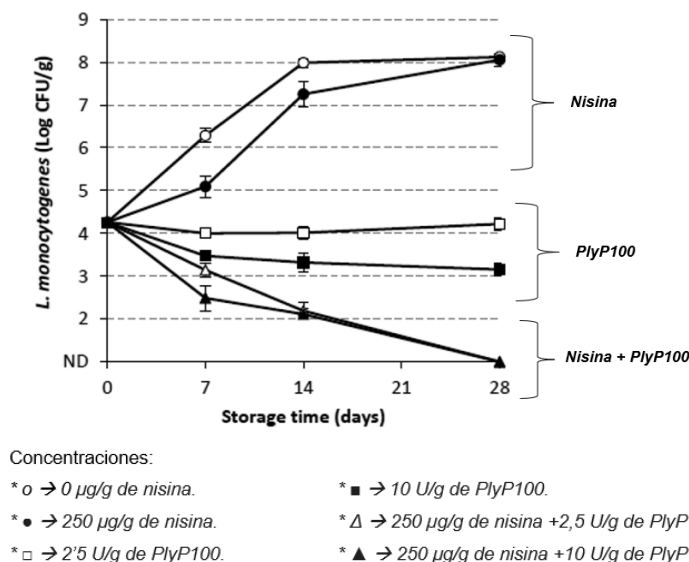


Figura 4.3.1.4.- Utilización de nisina y PlyP100 conjuntamente y de forma aislada a diferentes concentraciones para observar la viabilidad de *L. monocytogenes* (Imagen modificada de Ibarra et al., 2018).

4.3.2.- “Capacidad antimicrobiana de bioconservantes utilizados en recubrimientos comestibles en nuggets de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*)”.

Suárez, H., Martínez, Y.C., 2019. Capacidad antimicrobiana de bioconservantes utilizados en recubrimientos comestibles en nuggets de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 7 (1): 1-9.

También como se utilizan bioconservantes en el caso del queso fresco, existen otros de origen químico que son empleados en la carne para la misma finalidad, solo que al no ser componentes naturales pueden generar gravísimas cargas en aquellos individuos que los consumen. Debido a la problemática que suponen, cada vez se están solicitando y requiriendo de más estudios con bioconservantes que sean naturales y que carezcan de componentes cancerígenos (Cortés, 2018), al igual que disminuyan en la manera de lo posible la cantidad de efectos secundarios que se puedan desarrollar y diagnosticar, entre los que se encuentran las afecciones respiratorias o de origen circulatorio.

En países como Colombia y Venezuela, es muy común la utilización de la carne de camacha blanca (*P. brachypomus*) para la elaboración de Nuggets de pescado (Acuña

et al., 2020), a la que se le van a añadir bioconservantes químicos para alargar el período apto de consumo en este alimento. Sin embargo, en este estudio se emplearon alternativas de origen natural que no promoviesen al crecimiento de bacterias resistentes, tales como aceite esencial de laurel, quitosano y extractos etanólicos de propóleos. Para ello, se sometió a la carne de camacha a diferentes tratamientos con o sin recubrimientos y prefritos una vez que se habían obtenido las muestras de pescado y se habían preparado, empaquetado y almacenado en condiciones frías adecuadamente. Estos recubrimientos fueron sometidos a distintas dosis de microorganismos para poder determinar cuál de ellas presentaba una mayor resistencia.

En cuanto a los resultados que se obtuvieron, en el recubrimiento utilizado como control de esterilidad con quitosato o base, los halos de inhibición fueron superiores en los cultivos bacterianos de *L. monocytogenes* y *S. aureus*; mientras que, en el aplicado, el mayor halo se presentó frente a *E. coli*. Además, este fue el tratamiento más eficaz, ya que los diámetros de los halos eran superiores en todos los casos de bacterias en comparación con los demás tratamientos (Figura 4.3.2.1.). Por otro lado, en el recubrimiento que se utilizó como bioconservante el aceite de laurel, destacó con efectividad contra *E. coli* y *S. aureus*. De igual modo, en el último que se empleó el extracto etanólico de propóleo y quitosano protegía con un gran halo también contras las tres bacterias (*L. monocytogenes*, *E. coli* y *S. aureus*) (Figura 4.3.2.1.).

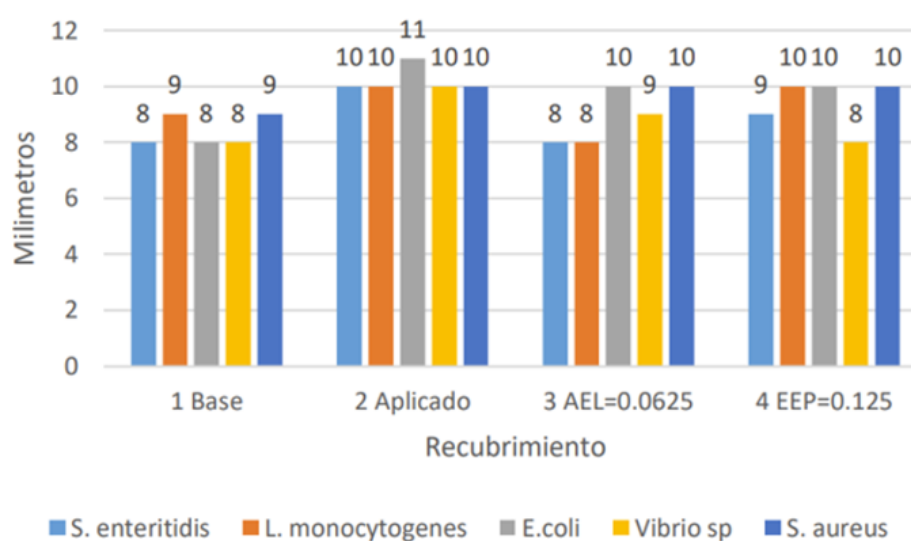


Figura 4.3.2.1.- Halos de inhibición expresados en milímetros que han surgido como consecuencia de la actividad antimicrobiana de varias bacterias frente a diferentes recubrimientos de aceite esencial de laurel, quitosato o extracto etanólico de propóleos (Suárez et al., 2019).

En el análisis de microorganismos (*Figura 4.3.2.2.*), a los dos grupos de Nuggets no se les aplicó ningún recubrimiento comestible y, por tanto, ningún tratamiento. En el día 0 se obtuvo un pico de 5100 UFC/g de aerobios mesófilos, mientras que en el día 25 se disminuyó hasta casi la mitad (2740 UFC/g). En contraposición, aquellos Nuggets que sí se les sometió al recubrimiento, se obtuvo un índice mínimo, puesto que en el día inicial había 70 UFC/g, mientras que en el día 25 se redujo hasta tan sólo 20 UFC/g, desvaneciéndose ambos tratamientos al alcanzar el día 50 (*Figura 4.3.2.2.*).

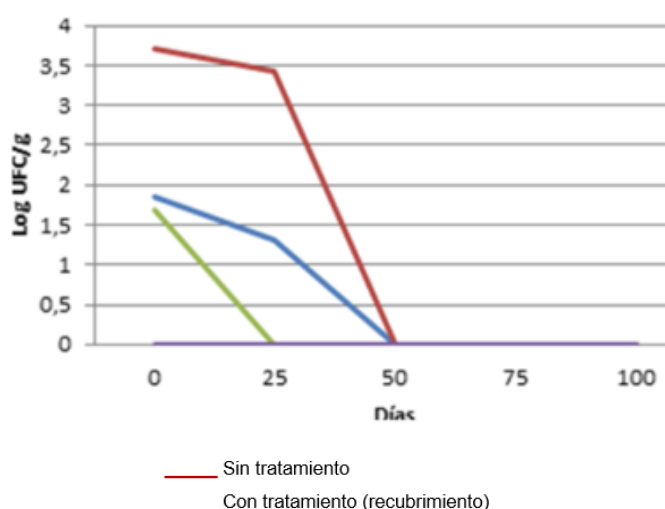


Figura 4.3.2.2.- Análisis de la actividad que han tenido los microorganismos a lo largo de 100 días tras haber congelado los nuggets una vez que se les habían aplicado los bioconservantes (*Imagen modificada de Suárez et al., 2019*).

También se realizó un análisis extra con la finalidad de detectar la presencia o no de algunas bacterias como *Salmonella* spp., *S. aureus* coagulasa positiva, *E. coli* y *Vibrio* spp. presentes en 5 muestras (*Tabla 4.3.2.3.*). Aunque la segunda y tercera anteriormente descritas ya se habían manifestado con los tratamientos, estaban seleccionadas para que hubiese una cantidad inferior a 100 UFC/g y 10 UFC/g respectivamente. Se destacó la presencia de *E. coli* y *S. aureus* al igual que había ocurrido en pruebas anteriores, mientras que se descartó tanto *Salmonella* spp. como *Vibrio* spp. Sin embargo, *L. monocytogenes* se mostraba en la prueba donde se desarrollaron los halos de inhibición con los recubrimientos (*Figura 4.3.2.1.*) al igual que en las muestras congeladas (*Figura 4.3.2.2.*), mientras que una vez que el alimento había sido precocido antes de ser congelado, este último método determinó su ausencia.

Tabla 4.3.2.3.- Corroboración de ausencia de algunas bacterias en alimentos precocidos y conservados mediante congelación (Suárez et al., 2019).

Requisito	n	m	M	C
Detección de <i>E. coli</i> , UFC/g	5	10	100	2
Detección de <i>Salmonella spp</i> /25g	5	Ausente	-	0
Detección de <i>Vibrio cholerae</i> /25g	5	Ausencia	-	0
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, UFC/g	5	100	1000	2

4.3.3.- *“Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend Cherry tomato shelf life”.*

Buendía, L., Soto, S., Ros, M., Antolinos, V., Navarro, L., Sánchez, M.J., Martínez, G.B., López, A., 2019. Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend Cherry tomato shelf life. *Food Science and Technology*, 116.

Del mismo modo que se ha aumentado la ingesta de productos como Nuggets de pescado, está incrementándose el consumo de una variedad de tomates que potencian su sabor en comparación con los clásicos (Cherry). Sin embargo, recientemente se ha visto una gran pérdida por parte de este alimento cuando éstos se encontraban almacenados, como consecuencia de la presencia del patógeno *Botrytis cinerea* (Zhang et al., 2019) y de *Enterobacterias* entre sus componentes. Para disminuir esta tragedia, se están realizando estudios sobre un cartón activo, que, junto a una laca impermeable y un complejo de conclusión, puedan mantener esta variedad en sus mejores condiciones durante más tiempo sin que les cause ningún tipo de cambio ni perjuicio en cuanto a apariencia, sabor u otros.

El estudio comenzó mediante la obtención de los tomates Cherry que habían sido cultivados bajo invernaderos y su posterior transporte en condiciones de frío junto con tratamientos de envasado. Una vez estaban en el laboratorio, se les hicieron algunas inoculaciones para así obtener varios grupos con mezclas de compuestos. Además, también se preparó el sistema de almacenamiento con la misma capacidad de producto que una bandeja comercial, pero esta vez con cartón en lugar de plástico y se disolvió el complejo de inclusión (AE- β CD) utilizado en laca para después

extenderlo a través de la bandeja y ver su actividad y eficacia finalmente en los resultados.

Pasados 24 días en los que se mantuvieron los tomates en las condiciones descritas, se procedió a la toma de resultados. Por un lado, se analizó la pérdida de peso (*Tabla 4.3.3.1.*), obteniendo como era de esperar, una mayor reducción en aquellas muestras que habían sido sometidas al cartón con laca sin el complejo, con 0'74% (aunque en los demás días la disminución fuese contemplada sobre otros grupos, ya que, por ejemplo, en el día 9, la notoria pérdida era más notable en bandejas de plástico). Sin embargo, pudo ser observada que las muestras tratadas con la bandeja de cartón y complejo que se estaba testando habían perdido más peso en el cómputo final (0'63%) que las que se utilizan convencionalmente (0'50%).

Tabla 4.3.3.1.- Recogida de datos a lo largo de diferentes días donde se ha evaluado características como pérdida de peso, pH o índice de color entre otras en función de los diferentes tratamientos a seguir sobre tomates Cherry envasados almacenados a 8°C (*Buendía et al., 2019*).

*NOR: representa aquellas bandejas envasadas con polietileno.

*CTRL: bandejas de cartón activas carentes de complejo AE- β CD, pero con presencia de laca.

*ACT: bandejas de carton activas con complejo y laca.

Storage days	Packaging treatment	Weight loss (%)	SSC (°Brix)	pH	TA (% citric acid)	Colour index
0		–	7.7 $\pm$ 0.3	4.13 $\pm$ 0.05	0.771 $\pm$ 0.056	35.75 $\pm$ 1.95
2	NOR	0.06 $\pm$ 0.01	7.2 $\pm$ 0.3	4.16 $\pm$ 0.05	0.702 $\pm$ 0.057	36.27 $\pm$ 1.80
	CTRL	0.01 $\pm$ 0.01	7.0 $\pm$ 0.1	4.18 $\pm$ 0.11	0.682 $\pm$ 0.009	36.27 $\pm$ 1.80
	ACT	0.01 $\pm$ 0.01	7.2 $\pm$ 0.3	4.15 $\pm$ 0.12	0.668 $\pm$ 0.014	34.87 $\pm$ 1.82
6	NOR	0.13 $\pm$ 0.01	7.3 $\pm$ 0.3	4.21 $\pm$ 0.02	0.691 $\pm$ 0.046	37.30 $\pm$ 1.46
	CTRL	0.07 $\pm$ 0.01	7.2 $\pm$ 0.3	4.16 $\pm$ 0.11	0.704 $\pm$ 0.038	36.29 $\pm$ 2.41
	ACT	0.08 $\pm$ 0.05	7.2 $\pm$ 0.2	4.20 $\pm$ 0.03	0.721 $\pm$ 0.016	37.08 $\pm$ 1.75
9	NOR	0.19 $\pm$ 0.02	7.2 $\pm$ 0.3	4.10 $\pm$ 0.15	0.646 $\pm$ 0.016	37.36 $\pm$ 1.67
	CTRL	0.16 $\pm$ 0.02	7.0 $\pm$ 0.5	4.17 $\pm$ 0.02	0.647 $\pm$ 0.016	35.09 $\pm$ 1.87
	ACT	0.17 $\pm$ 0.04	7.0 $\pm$ 0.1	4.18 $\pm$ 0.02	0.618 $\pm$ 0.020	36.17 $\pm$ 1.53
16	NOR	0.23 $\pm$ 0.04	7.2 $\pm$ 0.3	4.34 $\pm$ 0.03	0.531 $\pm$ 0.010	37.02 $\pm$ 1.53
	CTRL	0.29 $\pm$ 0.02	6.8 $\pm$ 0.3	4.31 $\pm$ 0.03	0.549 $\pm$ 0.006	36.16 $\pm$ 1.96
	ACT	0.33 $\pm$ 0.04	7.0 $\pm$ 0.1	4.29 $\pm$ 0.02	0.591 $\pm$ 0.060	37.55 $\pm$ 1.37
20	NOR	0.29 $\pm$ 0.07	7.3 $\pm$ 0.3	4.33 $\pm$ 0.02	0.517 $\pm$ 0.012	38.35 $\pm$ 1.36
	CTRL	0.36 $\pm$ 0.01	7.3 $\pm$ 0.3	4.41 $\pm$ 0.14	0.552 $\pm$ 0.014	35.27 $\pm$ 2.01
	ACT	0.38 $\pm$ 0.04	7.2 $\pm$ 0.2	4.31 $\pm$ 0.04	0.533 $\pm$ 0.023	35.94 $\pm$ 1.69
24	NOR	0.50 $\pm$ 0.03	7.0 $\pm$ 0.1	4.41 $\pm$ 0.19	0.517 $\pm$ 0.010	38.88 $\pm$ 0.81
	CTRL	0.74 $\pm$ 0.03	7.2 $\pm$ 0.3	4.25 $\pm$ 0.03	0.521 $\pm$ 0.012	38.26 $\pm$ 1.70
	ACT	0.63 $\pm$ 0.24	7.0 $\pm$ 0.1	4.27 $\pm$ 0.03	0.508 $\pm$ 0.011	37.14 $\pm$ 1.76
Packaging treatment (A)		ns	ns	ns	ns	1.59†
Storage time (B)		0.04†	0.18†	0.06†	0.022†	1.11†
A $\times$ B		0.07†	ns	ns	ns	1.72†

Por otro lado, se evaluó la calidad físico-química del producto tras el envasado, sin mostrar diferencias significativas en cuanto a esta propiedad y al sabor dulce (pH, SSC y TA) del tomate Cherry en los diferentes envasados (*Tabla 4.3.3.1.*). Al igual que ocurría con la primera característica estudiada, el color de los frutos (*Tabla 4.3.3.1.*) recogió una coloración del 37'14% en el caso del cartón en comparación con el

polietileno convencional (38'88%), aunque es despreciable, ya que no varía drásticamente.

En cuanto a la cantidad de microorganismos donde principalmente destacaban bacterias resistentes tales como Mesófilos. Psicrófilos o Enterobacterias en una alta concentración (*Figura 4.3.3.2.*), que se habían formado durante el paso de los días, hay una diferencia bastante significativa en las cajas de cartón activas con el complejo con respecto a las que carecían de complejo o las muestras que se almacenaron en el polietileno. De esta manera, los tomates Cherrys envasados en el cartón que mostró los resultados más óptimos, habían reducido la podredumbre y descomposición de éstos.

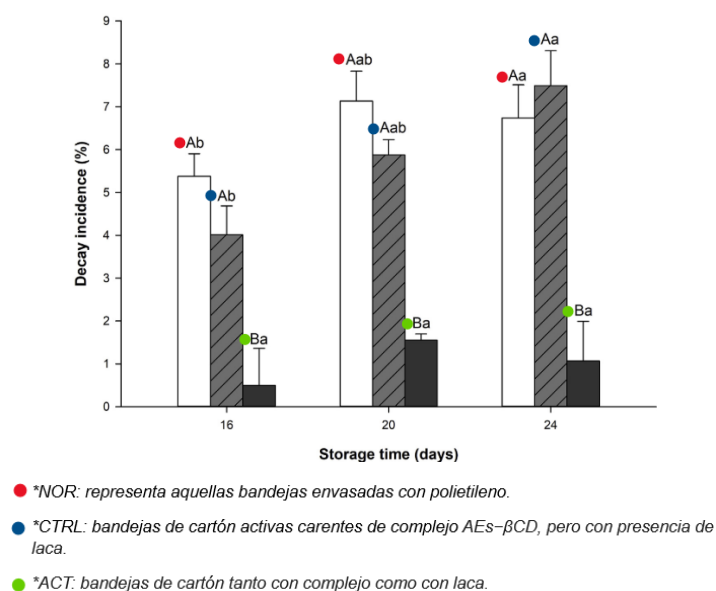
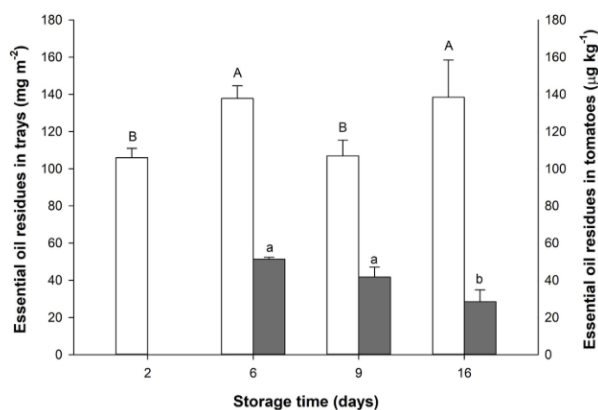


Figura 4.3.3.2.- Calidad del producto en función de los microorganismos surgidos en tomates Cherry tratados bajo diferentes situaciones (*Imagen modificada de Buendía et al., 2019*).



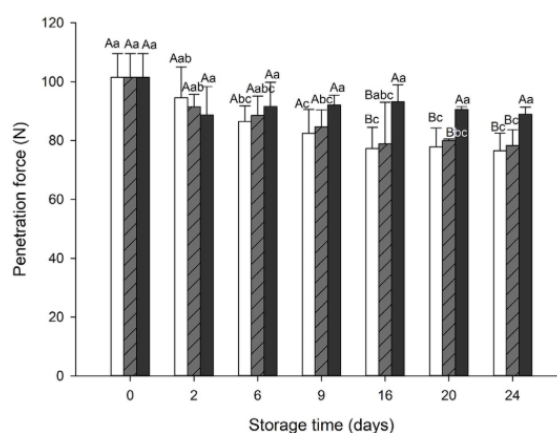
*A y B: hay diferencias significativas enfocadas en el tipo de bandeja activa empleada.

*a y b: diferencias en los tomates.

Figura 4.3.3.3.- Representación gráfica de los residuos del aceite esencial carvacrol a lo largo del tiempo que duró el estudio de tomates Cherry (Buendía et al., 2019).

Cuando se llevó a cabo una comparativa para determinar si estaba presente el carvacrol como aceite esencial (estudiado ya que actúa como barrera para atraer plaquetas), durante al menos los primeros 16 días su asistencia se afirmó en las muestras. Sin embargo, a partir del día 16 hasta el 24 no se encontraron evidencias significativas que asegurasen su presencia (Figura 4.3.3.3.)

Un parámetro adicional de gran interés fue la firmeza (Figura 4.3.3.4), también evaluada. Se pudo visualizar cómo en un principio ésta se encontraba en un 100% en los tres casos estudiados. Según fueron transcurriendo los días, al principio la que disminuyó más notablemente fue la compuesta por el cartón activo además de la laca con complejo. Sin embargo, a partir del día 2, se disminuyó considerablemente en el caso de aquellas bandejas compuestas por polietileno, mientras que en el caso de las de cartón activo con o sin el complejo apenas habían sufrido modificaciones, siendo más constante la que presentaba el complejo.



*NOR: representa aquellas bandejas envasadas con polietileno (barras blancas lisas).

*CTRL: bandejas de cartón activas carentes de complejo AES-βCD, pero con presencia de laca (barras grises con líneas oscuras).

*ACT: bandejas de cartón tanto con complejo como con laca (barras oscuras).

Figura 4.3.3.4.- Análisis de la firmeza de tomates Cherry que se encontraban almacenados a 8°C y habían sido sometidos a una variedad de tratamientos para evaluar su mejor conservación en cuanto al envasado (Buendía et al., 2019).

Por último, se analizó la calidad sensorial de las muestras (Figura 4.3.3.5.), los cambios en cuanto a la coloración incidieron más a partir del día 20 (A), donde en la caja de cartón activo ya en el día 24 (B) con complejo mostraron una mejor apariencia

sin apenas encontrar daños en el tejido y sabor con una calificación de 7'3, frente al resto de cajas donde ésta puntuación se redujo en una puntuación no superior a 7 y además hubo una pequeña cantidad de tomates que se tornaron hacia un color marrón, siendo recomendable retirar los productos situados en estas últimas condiciones.

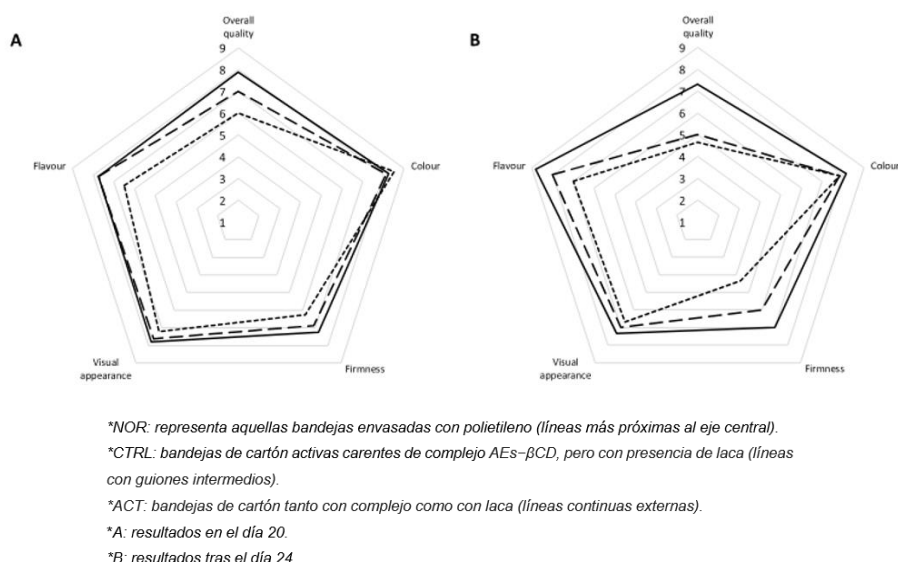


Figura 4.3.3.5.- Calidad sensorial evaluada bajo diferentes condiciones de envasado en un experimento con tomates Cherry (Buendía et al., 2019).

4.4.- Tabla resumen de los artículos utilizados durante los resultados.

Tabla 4.4.1.- Artículos junto a autores, año y resultados más relevantes (Elaboración propia).

NOMBRE DEL ARTÍCULO	AUTOR Y AÑO	RESULTADOS A DESTACAR
"Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production"	(Lavilla et al., 2013)	Gran presencia de diferentes tipos de microorganismos resistentes situados en distintas áreas de estudio en un matadero de Jaén.
"Presencia de <i>Enterobacteriaceae</i> y <i>E. coli</i> multiresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima"	(Ruiz et al., 2018)	Elevada concentración de microorganismos resistentes a antibióticos como Ampicilina o Tetraciclina en carne de pollo y cerdo.
"Alta frecuencia de Bacilos Gram Negativos de importancia clínica resistentes a Betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias"	(Téllez et al., 2023)	Gran presencia de Bacilos Gram Negativos a Carbapenémicos, Penicilinas y Betalactámicos que ponen en peligro la estancia de los pacientes hospitalizados en la ciudad de Medellín.
"Algunas experiencias usando ácidos orgánicos para optimizar el desempeño de una larvicultura comercial de camarón blanco, <i>P. vannamei</i> "	(Silva et al., 2021)	Resultados positivos al utilizar ácidos orgánicos como sustitutos de los antibióticos, ya que permiten estabilizar e incrementar la supervivencia del camarón sin que surjan tantas cepas bacterianas resistentes.
"Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> "	(Carhuallanqui et al., 2020)	El aceite de orégano efectivamente presentaba resistencia antimicrobiana frente a las cepas mencionadas.
"Antimicrobial behaviour of phage ensoylisin PlyP100 and its synergy with nisin to control <i>L. monocytogenes</i> in Queso Fresco"	(Ibarra et al., 2018)	Retención en la fase de crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> de, aproximadamente, la mitad de muestras de queso fresco del estudio tratados con nisin y PlyP100.
"Capacidad antimicrobiana de bioconservantes utilizados en recubrimientos comestibles en nuggets de cachama blanca (<i>Piaractus brachipomus</i>)"	(Suárez et al., 2019)	Aumento en el período de consumo óptimo de Nuggets de pescado congelados tras utilizar aceite esencial de laurel, quitosano y extractos etanólicos de propóleos simultáneamente como bioconservantes.
"Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend Cherry tomato shelf life"	(Buendía et al., 2019)	Disminución en el cómputo de <i>Enterobacterias</i> presentes en las cajas de cartón activas de tomates junto a un complejo de aceite esencial, aumentando además otras características esenciales como el sabor, color o firmeza.

5. DISCUSIÓN

Según varios estudios, las bacterias psicrótrofas se caracterizan por ser psicrotolerantes, es decir, son capaces de adaptarse al frío y permanecer en refrigeradores sin ningún problema (*Lavilla et al., 2013*), aunque su temperatura de crecimiento óptima sea superior a 20°C. Es por ello por lo que pueden resistir temperaturas mínimas mantenidas en mataderos, donde se almacenan los productos cárnicos a bajas temperaturas e incluso se pueden replicar.

Por otro lado, una buena técnica que se presenta para la desinfección en superficies donde se manipulan alimentos es mediante la aplicación de ozono gaseoso como desinfectante (*González et al., 2022*), ya que su composición le dota con una gran facilidad de penetración en espacios intercelulares incluso de las biopelículas más resistentes, los biofilms, siendo capaces de eliminar cualquier componente mínimo que pueda contaminar un producto alimentario, aunque hay que seguir cuidadosamente las indicaciones sobre su utilización para evitar su peligrosidad como agente oxidante (*Cabo et al., 2009*). Otro ejemplo de desinfectante de gran Calidad en la cadena alimentaria es conocido como “HLE”, compuesto por EDTA, ácido láctico y peróxido de hidrógeno, actuando como inhibidor de biofilms (*Abriouel et al., 2018*).

Por ello, se sugiere que para evitar la contaminación cruzada de alimentos se mantengan siempre las zonas y materiales de manipulación lo más estériles posible mediante la utilización de detergentes o productos de limpieza alternativos, de tal manera que no se genere multirresistencia y que los alimentos manipulados ahí no presenten más susceptibilidad a ser contaminados por patógenos (*Lavilla et al., 2013*).

La mayoría de productos de origen cárnico presentan bacterias con resistencia a antibióticos como Tetraciclina, lo cual es un gran problema, puesto que es uno de los principales antibióticos empleados en cuanto a la retención y disminución de expansión de manera exponencial de bacterias en pacientes afectados por neumonías o que presentan infecciones localizadas principalmente en las vías respiratorias.

Principalmente, esta actividad puede ser encontrada sobre todo en alimentos derivados del pollo, ya que mediante estudios como el realizado por Ruiz et al. (2018) en el que se evaluaron diferentes carnes de un mercado tradicional, presentaban altos

niveles de bacterias resistentes a este antibiótico, por lo que hay que mostrar especial atención y cuidado en el método de conservación de productos derivados de este animal, así como de las condiciones de comercialización o de alimentación, para no comprometer la salud de, por ejemplo, enfermos cuyos métodos de tratamiento son muy reducidos.

Al igual que los microorganismos resistentes se diseminan a través de la carne, también lo pueden hacer a través de aguas contaminadas, poniendo en peligro a la sociedad que no ingiera agua comercial o que se encuentre hospitalizada debido a su contacto directo. Este último caso se ha podido testar en los experimentos realizados en el año 2023 por Téllez et al., cuyos resultados mostraron una gran habilidad por las aguas residuales por parte de Bacilos Gram Negativos productores de Carbapenemasas, evitando así que cuando se utilicen antibióticos Betalactámicos como método más eficaz de amplio espectro no cumplan su función.

Según Téllez, estas bacterias tienen capacidad de presentar más de un gen de resistencia simultáneamente, evitando que puedan actuar enzimas hidrolíticas sobre las bacterias, lo cual llega a ser preocupante para aquellos hospitalizados que estén en contacto directo con ellas, ya que pueden desembocar en daños irreversibles adicionales a la patología causante de esa hospitalización al ser bacterias nosocomiales. Estos resultados también se dieron a conocer en otro estudio, donde evidenciaban la presencia de clones de la bacteria *K. pneumoniae* (Ruiz et al., 2018) y en países europeos como Suecia (Flach et al., 2021) donde dichos antibióticos no carecían de la capacidad de permeabilización de las membranas de las bacterias productoras de Carbapenemasas y que no se modificase su diana, de tal manera que no presentaran sensibilidad frente a Bacilos Gram Negativos debido a los múltiples mecanismos de defensa o de combinación de AmpC con otras propiedades que les dieron la capacidad de ser resistentes (Moreno, 2013).

Para disminuir el aumento de multirresistencia bacteriana, cada vez más se está procediendo a la utilización de ácidos orgánicos en combinación con antibióticos, como es el caso de la Oxitetraciclina y Floranfenicol empleados en la larvicultura comercial de camarón blanco (Silva et al., 2021), donde se mostraron halos de inhibición de menor diámetro en aquellas bacterias que presentaban más resistencia.

De tal modo, al emplear tanto los ácidos orgánicos como los antibióticos de manera conjunta, en todos los casos estudiados se mostró una gran eficacia a la hora de evitar que surgiesen bacterias resistentes o, al menos, que esta resistencia permaneciera más reducida. Por ello, se puede asegurar que dicha técnica combinatoria según los experimentos realizados durante este estudio ha dado muy buenos resultados y se estima que es bastante más eficaz que cuando se utilizan ácidos orgánicos o antibióticos de manera aislada, por lo que los mismos investigadores recomiendan que se lleven a cabo más estudios que sigan testando su combinación.

Otro agente que presenta la misma actividad antimicrobiana que los ácidos orgánicos es el aceite de orégano, cuya actividad se ha podido comprobar cuando se ha utilizado en la preparación de alimentos (*Carhuallanqui et al., 2020*), donde ha tenido la capacidad de eliminar las posibles bacterias que puedan surgir ante, por ejemplo, la exposición de la carne a altas temperaturas, el caso de verduras crudas o de pescado. Esta baja presencia de microorganismos resistentes es debido a las condiciones de altitud a las que el aceite de orégano fue cultivado, al presentar un menor estrés hídrico por falta de agua a la que se podría encontrar a la planta. Sin embargo, los resultados en cuanto a los niveles de Timol y Carvacrol en el momento de su recolección no tienen gran relación con lo obtenido, ya que se recogieron antes de la floración y las hojas no se encontraban del todo desarrolladas.

Dado este dato, es recomendable que el aceite de orégano se adquiera cuando las plantas consiguen una altitud de unos 55 cm aproximadamente y se encuentren en un estado de floreamiento del 20% para así alcanzar estados óptimos de abundancia tanto de timol como de carvacrol (*Yilmaz et al., 2016*). De esta manera, otros artículos han podido demostrar que una vez que se ha cultivado bajo óptimas condiciones el aceite de orégano, en particular del género *O. vulgare*, contiene propiedades antimicrobianas que pueden ser beneficiosas en diversos tratamientos de conservación de alimentos, a la misma vez que se puede utilizar cuando ocurra una infección por parte de bacterias resistentes a antibióticos como Ampicilina o Gentamicina (*Khademi et al., 2019*).

Además, existen otros factores que, al emplearlos conjuntamente se obtienen mejores resultados que mediante la suma de los mismos componentes provocándoles cambios

en las bacterias para que no sobrevivan debido al mecanismos de acción que realizan (*Ibarra et al., 2018*). Este es el caso de la aleación entre una endolisina derivada del fago PlyP100 y la nisina, que es un bioconservante utilizados para mantener alimentos propensos a ser colonizados por patógenos como *Listeria* en lácteos como el queso fresco. Esta sinergia tiene más efectividad cuando se comprueba a bajas temperaturas, ya que es el método mediante el cual han crecido menos bacterias y prácticamente ninguna ha presentado resistencia, aunque se hubiesen conservado bajo las mismas condiciones de temperatura mínima por separado. Igual que se ha sugerido por otros investigadores, las endolisinas potencian su actividad cuando son combinadas con Carvacrol disminuyendo el crecimiento de otros patógenos resistentes como *S. aureus* (*Chang et al., 2017*).

Por otro lado, también se ha visto una notoria eficacia en el uso de un tratamiento aplicado compuesto por varios bioconservantes, entre los que se encuentran el quitosato, extracto etanólico de propóleos y el aceite esencial de laurel en la preservación de la inocuidad en Nuggets de pescado, pudiendo aplicar este método en la conservación de otros alimentos en la industria (*Suárez et al., 2019*). Además, estos tres componentes cuando se emplean conjuntamente dan lugar a un efecto de mayor eficacia a la hora de mostrar resistencia frente a Bacterias Gram positivas como *S. aureus* o Gram negativas, por ejemplo, el caso de *Salmonella*.

En el análisis microbiológico, este mismo tratamiento en contraste con el primero que se realizó con un control de quitosato, disminuyó el número de colonias porque el recubrimiento efectivamente contenía actividad antimicrobiana de manera activa, a la misma vez que ayudó el mantenimiento a temperaturas inferiores a 0 grados y que el número de bacterias se ve reducido en estos casos. Por tanto, aún habiendo pasado 100 días desde que las muestras de Nuggets de pescado habían sido congeladas, debido a la utilización de estos bioconservantes naturales de manera sinérgica y tras los recubrimientos, seguían presentando las condiciones idóneas para su consumo a la misma vez que disminuye el riesgo de que surjan bacterias resistentes debido a su actividad antimicrobiana, al igual que fue testado por otros investigadores que podían aguantar un período de 12 meses sin cambiar el aspecto físico ni el sabor aunque en dichos experimentos los Nuggets fuesen de pollo, manteniéndose congelados y a los

que se le hubiera proporcionado fibra de trigo entre sus componentes (*Bonato et al., 2019*).

Entre los posibles patógenos que podían surgir, *L. monocytogenes* no estuvo presente en el estudio realizado cuando fue precocido y después congelado, debido a que a temperaturas superiores a 55°C va a ocurrir una inactivación de este microorganismo, evitando que, posteriormente, aunque haya sido congelado pueda llegar a desarrollarse nuevamente (*Miranda, 2013*). Sin embargo, esta actividad puede volver a manifestarse, ya que es una bacteria termoestable que, aunque disminuya su índice de crecimiento en caso de que no hayan sido precocinados completamente los alimentos que son propensos a contenerla, al igual que si no se conservan en frío después de haber sido cocinados o no se cumplen las condiciones de consumo dentro del tiempo estipulado por el fabricante o manipulador del producto, puede aparecer nuevamente (*Johnson et al., 1990*).

No sólo las condiciones de manipulación o ambientales son de vital importancia para disminuir el crecimiento antimicrobiano, sino que además se suma a éstas el correcto procedimiento de envasado de los productos alimentarios. Por ello, en un estudio (*Buendía et al., 2019*) realizado en tomates Cherrys que han sido tratados y envasados en cartón de polipropileno sin complejo AE- β CD, se ha podido verificar que son menos pesadas, debido probablemente a que el cartón hubiese absorbido agua procedente de los tomates como producto de su respiración (*Taype, 2021*), lo que significaría en la pérdida de peso de éstos, al igual que si se comparan con las que sí habían recibido el complejo en el cartón, debido a que habían mantenido conservadas las estructuras que tenían las células vegetales. La baja temperatura existente combinada con una alta humedad de conservación del producto puede haber interferido de igual modo, ya que en otros estudios donde los tomates se mantuvieron con envasado de plástico durante más tiempo y a humedad inferior, las pérdidas de peso eran también inferiores en el envasado de plástico, pero no había tanta diferencia (*Taype, 2021*).

En cuanto a los cambios morfológicos, apenas hubo variación del color de los tomates en las cajas de cartón activo rociadas con el complejo AE- β CD como causa del envasado, ya que los ácidos esenciales utilizados mediante el tratamiento pudieron

haber actuado como factor de protección del licopeno (antioxidante responsable del pigmento rojo en el tomate (*Martínez et al., 2019*)). El sabor y la calidad no se vieron afectadas negativamente, cuyo resultado se ha podido corroborar mediante otros estudios que habían mantenido sus productos durante 25 días a 5°C (*Fagundes et al., 2015*). La reducción antimicrobiana por parte del cartón activo que se había aplicado complementariamente con el complejo es consecuencia del mantenimiento de la firmeza gracias a los aceites esenciales que se habían pulverizado durante el complejo, que podría haber desembocado en una menor incidencia de podredumbre.

El contenido de carvacrol mostró su ausencia en los últimos días, ya que los aceites esenciales que se habían rociado en la bandeja de cartón activo se liberaron al exterior, lo que facilitó una mejora en la calidad que presentaba el producto tras 24 días de envasado. Esta efectividad de los aceites esenciales también se consiguió en el estudio comentado anteriormente que se realizó en camarones con orégano (*Carhuallanqui et al., 2020*) y en otros con aceite esencial de canela (*Montero et al., 2017*), inhibiendo también la multiplicación de bacterias resistentes a antibióticos. La estabilidad de la firmeza en los envases de cartón activos es debido a la misma propiedad defensora y de protección que se ha suministrado una vez más mediante los aceites esenciales, actuando como conservante y alargando el tiempo en el que el producto puede ser consumido (*Pérez, 2017*) sin mostrar características deficientes como la deshidratación o maduración de la variedad de tomates Cherry, cuya misma actividad pudo ser comprobada en una variedad de Piña Golden, en la que incluso aumentó con respecto al inicio (*Vergara et al., 2019*).

Por último, el aumento de sabor y calidad de los productos, al igual que otros índices como firmeza o calidad y disminución de la actividad antimicrobiana son justificados debido a la propiedad que les confieren los aceites esenciales a la caja de cartón activo, manteniéndola en todos los aspectos evaluados con mejores características que las que se utilizan de manera comercial y habitualmente.

6. CONCLUSIÓN

En este proyecto se ha recogido información acerca de las principales fuentes de contaminación que pueden verse relacionadas con la proliferación de bacterias cada vez más resistentes a lo largo de la cadena alimentaria, desde que un producto es manipulado hasta que es consumido, incluyendo los riesgos que pueden aparecer durante los métodos de manipulación o conservación de los productos. De esta manera, mediante la utilización de algunas estrategias que han sido mencionadas, se ha demostrado lograr una significativa reducción en el aumento de patógenos resistentes que comprometen la salud humana, medioambiental o animal.

Por ello, es de vital importancia que se sigan correctamente las indicaciones de consumo y preparación indicadas en los alimentos, a la vez que se refrigeren los alimentos sobrantes con el principal objetivo de reducir el número de bacterias termoestables que puedan colonizar este ambiente, o incluso la utilización de detergentes como método de desinfección de los utensilios o superficies, evitando así la contaminación cruzada.

Además, se ha podido comprobar la gran importancia que tiene la correcta y estricta utilización de los antibióticos para disminuir el impacto que puede acarrear a largo plazo capacitando bacterias resistentes a antibióticos, de tal manera que se pueden ir alternando entre ellos para evitar que las bacterias se promuevan a adquirir resistencia, pudiendo incluso inhibir mecanismos de acción de los antibióticos de amplio espectro.

Para finalizar, se debe destacar la especial índole de aquellos grupos de investigación que realmente apuestan por realizar investigaciones para diseñar nuevas estrategias que permitan reducir esta resistencia a los antibióticos mediante la utilización de otros compuestos como ácidos orgánicos, a los que actualmente no hay un rango tan elevado de resistencias como en el caso de los antibióticos, u otras técnicas para almacenar o transportar los productos como cajas de cartón activas. Entre ellas, destaca el desarrollo de superficies hidrófobas que eviten la colonización bacteriana. De esta manera, se evitará el surgimiento de, cada vez, bacterias más resistentes y que puedan poner en peligro a la sociedad al no haber avances o actualizaciones acerca de nuevos fármacos combatibles que sean testados con total seguridad.

7. BIBLIOGRAFÍA

- o Abriouel, H., Lavilla, L., Pérez, B., Alonso, E., Knapp, C.W., Caballero, N., Gálvez, A., Benomar, B., 2018. Efficacy of “HLE” -a multidrug efflux-pump inhibitor- as a disinfectant against surface bacteria. *Environmental Research*, 165: 133-139.
- o Acuña, E.J., Castrillón, V., Toro, K.L., 2020. Antecedentes, situación actual y perspectivas de la piscicultura en el departamento de Risaralda.
- o Aguilera, C., López, A., Muñoz, C., Padilla, E., Sacristán, S., 2014. Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de la resistencia a los antibióticos.
- o Aguilera, A.M., Urbano, E.X., Jaimes, C.P., 2014. Bacterias patógenas en leche cruda: problema de salud pública e inocuidad alimentaria. *Ciencia y Agricultura*, 11 (2): 83-93.
- o Alós, J.I., 2015. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33 (10): 692-699.
- o Apaéstegui, R., Pineda, C.A., Chuquiyauri, M.A., 2017. Orégano (*Origanum vulgare* L) en los parámetros productivos de pollos de engorde. *Investigación Valdizana*, 11 (2): 85-93.
- o Ashok, D., Cheeseman, S., Wang, Y., Funnell, B., Leung, S.F., Tricoli, A., Nisbet, D., 2023. Superhydrophobic Surfaces to Combat Bacterial Surface Colonization. *Advances Materials Interfaces*, 24 (10).
- o Bentley, R., 2005. The development of penicillin: genesis of a famous antibiotic. *Perspect Biol Med*, 48(3): 444-52.
- o Bonato, P., Perlo, F., Fabre, R., Dalzotto, M.G., Azuña, N., 2019. Conservación de nuggets de pollo con bajo contenido en sodio y formulados con fibra de trigo. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 30 (58): 290-304.
- o Bravo, Z., Orruño, M., Navascues, T., Ogayar, E., Ramos, J., Kaberdin, V.R., Arana, I., 2019. Analysis of *Acinetobacter baumannii* survival in liquid media on solid matrices as well as effect of disinfectants. *The Journal of Hospital Infection*, 103 (1): 42-52.
- o Buendía, L., Soto, S., Ros, M., Antolinos, V., Navarro, L., Sánchez, M.J., Martínez, G.B., López, A., 2019. Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend Cherry tomato shelf life. *Food Science and Technology*, 116.

- o Cabo, M.I., Herrera, J.J., Crespo, M.D., Pastoriza, L., 2009. Comparison among the effectiveness of ozone and biofilms of *Staphylococcus aureus* CECT4459 on polypropylene. *Food Control*, 20: 21-25.
- o Carhuallanqui, A., Salazar, M.E., Ramos, D., 2020. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *Investigación Altoandin*, 22: 25-33.
- o Carreño, M., Arquino, K., 2014. Microbiological evaluation of fish and seafood available in Huánuco's markets. *Investigación Valdizana*, 12 (2): 75-82.
- o Chacón, L., Rojas, K., 2020. Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos. *Acta méd costarric*, 62 (1): 7-12.
- o Chang, Y., Yoon, H., Kang, D.H., Chang, P.S., Ryu, S., 2017. Endolysin LysSA97 is synergistic with carvacrol in controlling *Staphylococcus aureus* in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 244: 19-26.
- o Choudhury, T.G., Nagaraju, V.T., Gita, S., Paria, A., Parhi, J., 2016. Advances in Bacteriophage Research for Bacterial Disease Control in Aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25 (2): 113-125.
- o Clardy, J., Fischbach, M.A., Currie, C.R., 2009. The natural history of antibiotics. *Current Biology*, 19 (11): 437- 441.
- o Cortés, M., Bautista, S., Ventura, R.I., Landa, P., Hernández, M., 2021. Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas y frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género *Salmonella*. *Revista Iberoamericana de tecnología Postcosecha*, 22 (1).
- o Cortés, A.J., Díaz, M., Salgado, M.P., 2018. Bioconservación, alimentos y pescado. *Agroproductividad*, 11 (11): 11-16.
- o CSIC, 2023. Identifican una nueva estrategia para combatir la resistencia a los antibióticos (Link de acceso: <https://www.cnb.csic.es/index.php/es/cultura-cientifica/noticias/item/2086-identifican-una-nueva-estrategia-para-combatir-la-resistencia-bacteriana-a-los-antibioticos>).
- o Daza, R.M., 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 22 (3): 57-67.
- o de Macedo, R., Friguglietti, D., 2020. A review of the One Health concept and its application as a tool for policy-makers. *International Journal of One Health*, 6 (1): 83-89.

o Embid, A., 2000. Resistencia de las bacterias a los antibióticos. *Revista de Medicinas Complementarias. Medicina Holística*, 53.

o EROSKI Consumer, 2006. Investigadores estadounidenses crean cerdos transgénicos clonados y ricos en Omega-3. (Link de acceso: <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/investigadores-estadounidenses-crean-cerdos-transgenicos-clonados-y-ricos-en-omega-3.html>).

o ESVAC, 2017. España usa más antibióticos en granjas que cualquier otro país de la UE. *El Mundo Gráficos*. (Link de acceso: <https://igualdadanimal.org/noticia/2017/10/27/espana-usa-mas-antibioticos-en-granjas-que-cualquier-otro-pais-de-la-ue/>).

o Fagundes, C., Moraes, K., Pérez, M.B., Palou, L., Maraschin, M., Monteiro, A.R., 2015. Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 109: 73-81.

o Faille, C., Cunault, C., Dubois, T., Benezech, T., 2018. Hygienic design of food processing lines to mitigate the risk of bacterial food contamination with respect to environmental concerns. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 46: 65-73.

o Flach, C.F., Hutinel, M., Razavi, M., Ahrén, C., Larsson, D.G.J., 2021. Monitoring of hospital sewage shows both promise and limitations as an early-warning system for carbapenemase-producing *Enterobacterales* in a low-prevalence setting. *Water Research*, 200: 117261.

o González, A., 2021. Medidas profilácticas en acuicultura para mejorar la eficiencia alimentaria y minimizar los riesgos patógenos. *Revista de Investigación Acuícola*, 15 (2): 45-62.

o González, A.C., Espigares, E., Moreno, E., 2019. Resistencia a antibióticos y su transmisión a través de alimentos de origen animal. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 19 (2): 1729-1734.

o González, R., Vidal del Río, M. M., Monsalve, A.A., 2022. El ozono y su empleo en la industria para el procesamiento y conservación de alimentos. *Revista Universidad y Sociedad*, 14 (3): 127-135.

o Gould, K., 2016. Antibiotics: From prehistory to the present day. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(3): 572-575.

o Heredia, N., Dávila, J.E., Solís, L., García, S., 2014. Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8 (1): 20-42.

- o Hoelzer, K., Bielke, L., Blake, D.P., Cox, E., Cutting, S.M., Devriendt, B., Erlacher, E., Goossens, E., Karaca, K., Lemiere, S., Metzner, M., Raicek, M., Collell, M., Wrong, N.M., Gay, C., Van, F., 2018. Vaccines as alternatives to antibiotics for food producing animals. Part 1: challenges and needs. *Veterinary Research*, 49 (1): 64.
- o Huanca, W., 2009. Las plantas transgénicas llegaron para quedarse. *Idesia (Chile)*, 27 (3): 5-7.
- o Ibarra, L.A., Van, M.L., Miller, M.J., 2018. Antimicrobial behaviour of phage ensolysin PlyP100 and its synergy with nisin to control *L. monocytogenes* in Queso Fresco. *Food Microbiology*, 72: 128-134.
- o Johnson, J., Doyle, M.P., Cassens, R.G., 1990. *Listeria monocytogenes* and Other *Listeria* spp. in Meat Products. *Journal of Food Protection*, 53 (1): 81-91.
- o Khademi, F., Sahebkar, A., 2019. A systematic review and meta-analysis on the prevalence of antibiotic-resistant *Listeria* species in food, animal and human specimens in Iran. *Journal of Food Science Technology*, 56 (12): 5167-5183.
- o King, S., Tancredi, D., Lenoir, I., Gould, K., Vann, H., Connors, G., Sanders, M.E., Linder, J.A., Shane, A.L., Merenstein, D., 2019. Does probiotic consumption reduce antibiotic utilization for common acute infections? A systematic review and meta-analysis. *The European Journal of Public Health*, 29 (3): 494-499.
- o Lavilla, L., Benomar, N., Gálvez, A., Abriouel, H., 2013. Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production. *International Journal of Food Microbiology*, 161: 97-106.
- o Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H.F., Sumpradit, N., Vlieghe, E., Levy, G., Gould, I.M., Goossens, H., Greko, C., So, A.D., Bigdeli, M., Tomson, G., Woodhouse, W., Ombaka, E., Quizhpe, A., Naz, F., Mir, F., Kariuki, S., Bhutta, Z.A., Coates, A., Bergstrom, R., Wright, G.D., Brown, E.D., Cars, O., 2013. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases Commission*, 13 (12): 1057-1098.
- o Lekshmi, M., Ammini, P., Kumar, S., Varela, M.F., 2017. The Food Production Environment and the Development of Antimicrobial Resistance in Human Pathogens of Animal Origin. *Microorganisms*, 5 (1): 11.
- o Martínez, G.B., Castillejo, N., Artés, F., 2019. Effect of fresh-cut apples fortification with lycopene microspheres, revalorized from tomato by-products, during shelf life. *Postharvest Biology and Technology*, 156.

- o Miranda, J.R., 2013. Guía de buenas prácticas en preparación de alimentos.
- o Montero, M., Revelo, J., Avilés, D., Valle, E., Guevara, D., 2017. Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre Cepas de *Salmonella*. *Revista Investigación Veterinaria Perú*, 28 (4): 987-993.
- o Moreno, K.M., 2013. Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 70 (608): 599-605.
- o Murillo, N., Palioff, C., 2021. Una sola salud: la interdisciplina como base para los diseños tecnológicos. *Visión Rural*, 139.
- o OJEU., 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Journal of European Union*, 268: 29-43.
- o OMS, 2001. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos.
- o OMS., 2004. Caracterización de peligros de patógenos en los alimentos y el agua. *Serie de evaluación de riesgos microbiológicos*, 3.
- o OMS, 2016. Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos (Link de acceso: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf?sequence=1>).
- o OMS, 2021a. Resistencia a los antimicrobianos. (Link de acceso: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>).
- o O'Neil, J., 2016. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations, UK Government. *Review on Antimicrobial Resistance*, 1-84.
- o ONU, OMS, 2003. Caracterización de peligros de patógenos en los alimentos y el agua. (Link de acceso: <https://www.fao.org/sustainability/es/>).
- o Oromí, A., Antani, J.D., Turner, P.E., 2023. Developing Phage Therapy That Overcomes the Evolution of Bacterial Resistance. *Annual Review of Virology*, 10: 503-524.
- o Otero, J.P., 2018. Enfermedades bacterianas más communes en la larvicultura del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y sus métodos de control. *Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias*.
- o Pavlov, A., Lashev, L., Vachin, I., Rusev, V., 2008. Residues of antimicrobial drugs in chicken meat and offals. *Trakia Journal of Sciences*, 6 (1): 23-25.
- o Pérez, J.N., 2017. Efecto del agente antimicrobiano del aceite esencial de canela y aceite esencial de limón en la cobertura comestible y el tiempo de

almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, recuento de mohos y levaduras y aceptibilidad general en rodajas de banana (*Musa Paradisiaca*).

o Ponce de León, S., Arredondo, R., López, Y., 2015. La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global. *Gaceta Médica de México*, 151: 681-689.

o Pruden, A., Larsson, J., Amézquita, A., Collignon, P., Brandt, K.K., Graham, D.W., Lazorchak, J.M., Suzuki, S., Silley, P., Snape, J.R., Topp, E., Zhang, T., Zhu, Y.G., 2013. Management Options for Reducing the Release of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes to the Environment. *Environmental Health Perspectives*, 121 (8): 878-885.

o Reyes, M., Elorza, P., Gonzále, A.R., 2017. Alternativas de manejo In vitro de *Erwinia* spp. patogénica en *Saintpaulia ionantha*. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 5 (2).

o Rocha, C., Reynolds, N.D., Simons, M.P., 2015. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*, 32 (1): 139-145.

o Ruiz, L., Martínez, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D., Ochoa, T.J., Ruiz, J., Pons, M.J., 2018. Presencia de *Enterobacteriaceae* y *E. coli* multirresistentes a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Perú Med Exp Salud Pública*, 35 (3): 425-432.

o Sarmah, A.K., Meyer, M.T., Boxall, A.B.A., 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. *Chemosphere*, 65 (5): 725-759.

o Schwarz, S., Loeffler, A., Kadlec, K., 2017. Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Veterinary Dermatology*, 28 (1): 82-e19.

o Shange, N., Makasi, T., Gouws, P., Hoffman, L.C., 2019. Preservation of previously frozen black wildebeest meat (*Connochaetes gnou*) using oregano (*Oreganum vulgare*) essential oil. *Meat Science*, 148: 88-95.

o Sieiro, C., Areal, L., Pichardo, Á., Almuiña, R., de Miguel, T., Sánchez, S., Sánchez, Á., Villa, T.G., 2020. A Hundred Years of Bacteriophages: Can Phages Replace Antibiotics in Agriculture and Aquaculture?. *Antibiotics*, 9 (8): 493.

o Silva, J., Jiménez, I., Vivas, J., Mayer, L., Figueredo, A., 2021. Algunas experiencias usando ácidos orgánicos para optimizar el desempeño de una larvicultura comercial de camarón blanco, *Penaeus vannamei*. *El acuicultor*, 1: 11-19.

- o Silva, C.C.G., Silva, S.P.M., Ribeiro, S.C., 2018. Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation. *Frontiers in Microbiology*, 9: 594.
- o Soto, S., 2021. One Health (una sola salud) o cómo lograr a la vez una salud óptima para las personas, los animales y nuestro planeta.
- o Steenackers, H., Hermans, K., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S.C.J., 2012. *Salmonella* biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Research International*, 45: 502-531.
- o Suárez, H., Martínez, Y.C., 2019. Capacidad antimicrobiana de bioconservantes utilizados en recubrimientos comestibles en nuggets de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 7 (1): 1-9.
- o Taype, O., 2021. Agronegocios del tomate cherry (*Colanum lycopersicum*) producido bajo invernadero en el mercado local de Acobamba-Huancavelica.
- o Téllez, S., Rodríguez, E.A., Jiménez, J.N., 2023. Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias. *Infectio*, 27 (2): 78-85.
- o Vanegas, M., Correa, N., Morales, A., Martínez, A., Rúgeles, L., Jiménez, F., 2009. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. *Revista MVZ Córdoba*, 14 (2): 1677-1683.
- o Vergara, Y.A., 2019. Efecto de la concentración de aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) en la cobertura comestible y del tiempo de almacenamiento sobre la pérdida de peso, color, firmeza, recuento de mohos y levaduras y aceptabilidad general en trozos de piña (*Ananas comosus*) golden, mínimamente procesada.
- o Weber, D.J., Rutala, W.A., Miller, M.B., Huslage, K., Sickbert, E., 2010. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: *Norovirus*, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *American Journal of Infection Control*, 38: 25-33.
- o Yilmaz, D., Jasinskas, A., 2016. Effect of harvest date and stalk section on selected strength characteristics of turkish oregano (*Origanum onites* L). *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 13 (4): 191-198.
- o Zhang, J., Ma, S., Du, S., Chen, S., Sun, H., 2019. Antifungal activity of thymol and carvacrol against postharvest pathogens *Botrytis cinerea*. *Journal of Food Science Technology*, 56 (5): 2611-2620.