



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS AISLADAS DE PRODUCTOS CÁRNICOS

Alumno/a: Peláez Salas, Natalia

Tutor/a: Rosario Lucas López

Dpto: Ciencias de la Salud



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS AISLADAS DE PRODUCTOS CÁRNICOS

Alumno/a: Peláez Salas, Natalia

Tutor/a: Rosario Lucas López

Dpto: Ciencias de la Salud

Índice

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 La carne.....	2
1.1.1 Composición de la carne.....	2
1.1.2 Microbiología de la carne.....	5
1.1.2.1 Tipos de microorganismos dependiendo de los efectos que causan	5
1.1.2.2 Microorganismos habituales en la carne.....	5
1.1.3 Alteraciones	7
1.1.4 Patógenos.....	9
1.2 Resistencia a agentes microbianos.....	11
1.2.1 Biocidas	11
1.2.1.1 Mecanismo de acción de los biocidas.....	19
1.2.1.2 Tolerancia y resistencia a biocidas.....	21
1.2.2 Antibióticos.....	22
1.2.2.1 Resistencia a antibióticos.....	22
1.2.2.2 Mecanismo de acción de los antibióticos.....	24
1.2.2.3 Mecanismos de resistencia a antibióticos.....	25
1.2.2.4 Tipos de resistencia bacteriana a los antibióticos.....	27
1.2.2.5 Antibióticos en animales productores de alimentos.....	31
1.2.2.6 Uso de agentes antimicrobianos en alimentación animal.....	33
1.2.2.7 Vigilancia.....	35
1.2.2.8 Medidas para el buen uso de antibióticos.....	36
1.2.2.9 Reducir el uso de antibióticos en ganadería.....	37
1.2.2.10 Papel de los antibióticos en el medio ambiente.....	39
1.3 Biopelículas.....	40
1.3.1 Intercambio genético.....	41
1.3.2 Biofilms y resistencia a antibióticos.....	42

2. OBJETIVO.....	43
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	44
3.1. Resistencia a antimicrobianos.....	44
3.1.1 <i>Materiales</i>	44
3.1.2 <i>Métodos</i>	49
3.2 Resistencia a biocidas.....	53
3.1.1 <i>Materiales</i>	53
3.1.2 <i>Métodos</i>	53
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
5. CONCLUSIONES.....	65
6. BIBLIOGRAFÍA.....	67

RESUMEN

Las infecciones por consumo de alimentos contaminados continúan siendo una constante relevante en el ámbito sanitario de la Unión Europea. Una preocupación en el sector cárnico es el aumento de cepas resistentes o multirresistentes a los agentes antimicrobianos en la cadena alimentaria. La tolerancia a biocidas, junto con la resistencia a los antibióticos en la cadena alimentaria, ha suscitado una preocupación por la posible selección de cepas resistentes a antibióticos y por el uso indiscriminado de biocidas. Para obtener un buen producto final, los alimentos deben estar bien controlados en términos de preparación, conservación o cocción. La carne puede propagar microorganismos como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* etc. a los consumidores.

Uno de los principales objetivos de este estudio fue determinar la resistencia de diferentes cepas microbianas aisladas de productos cárnicos a biocidas y antibióticos.

Palabras clave: carne, antibióticos, biocidas, resistencia.

ABSTRACT

Contaminated food consumption infections remain a significant steadily in the health field of the European Union. A concern in the meat sector is the increase of resistant or multidrug-resistant strains to antimicrobial agents in the food chain. Biocide tolerance, along with antibiotic resistance in the food chain, has raised concerns about the possible selection of antibiotic-resistant strains and the indiscriminate use of biocides. To obtain a good final product, food must be well controlled in terms of preparation, preservation or cooking. Meat can spread microorganisms such as *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* etc to consumers.

One of the main objectives of this study was to determine the resistance of different microbial strains isolated from meat products to biocides and antibiotics.

Key words: meat, antibiotics, biocides, resistance.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La carne

La carne puede definirse como la parte comestible de los músculos de animales de abasto que hayan sido sacrificados en circunstancias higiénicas. Este término comprende carne de oveja, cabra, vaca, cerdo, caballo, camélidos sanos, animales de corral, caza, de pelo y plumas y mamíferos marinos que sean aptos para el consumo humano (Jorge, 2005). Se incluyen en esta idea las partes de grasa, piel, cartílago, tendones, hueso aponeurosis, vasos sanguíneos y linfáticos que están incluidas en los músculos y que no se disgregan del musculo en los procesos de manipulación, preparación y transformación de la carne (Pascual *et al*, 2002).

1.1.1 Composición de la carne

Por otra parte, la carne ayuda a satisfacer las necesidades nutricionales del ser humano. Sus componentes son mayormente, dependiendo del origen de la especie, agua 65-80%, proteínas 16-22% y grasas del 1 al 15%. Estos porcentajes pueden variar dependiendo del sexo, edad, el tipo de alimento suministrado al animal y la raza de este (Horcada Ibáñez & Polvillo Polo, 2010). Según los resultados recogidos en Lawrie & Ledward (2014), la composición química del musculo mamífero adulto típico después del rigor mortis, pero antes de los cambios degradantes post mortem son las siguientes:

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y BIOQUÍMICA DE LA CARNE	
AGUA	75%
PROTEINAS: I. Miofibrilar 11,5% II. Sarcoplasmáticas 5,5% III. Tejido conectivo y orgánulos 2%	19%
LÍPIDOS: I. Lípidos neutros II. Fosfolípidos III. Ácidos grasos IV. Sustancias liposolubles	2,5%
CARBOHIDRATOS: I. Ácido láctico 0,9% II. Glucosa -6- fosfato 0,15% III. Glucógeno 0,1% IV. Glucosa, traza de otros intermediarios glucolíticos 0,05%	1,2%
SUSTANCIAS DIVERSAS NO PROTEICAS SOLUBLES: I. Nitrogenados 1,65% II. Inorgánicos 0,65%	2,3%
VITAMINAS: I. B6 II. B12 III. Retinas IV. Tiamina	

Tabla 1. Composición de la carne. Fuente: Lawrie & Ledward (2014).

El agua constituye la parte más importante de la carne, inmediatamente después de sacrificio contiene entorno a un 75% del agua (Lawrie & Ledward, 2014), que se pierde por diferentes procesos como por ejemplo durante el enfriamiento se produce evaporación. Pero el proceso que mayor pérdida de agua ocasiona es el cocinado de la carne que puede superar el 40% (Offer, 1988).

Las proteínas de la carne, son el mayor aporte de proteínas de alta calidad en la dieta humana (Prändl, 1994). Las principales proteínas cárnicas que influyen en la calidad

final de la carne son la miosina, que posee una mayor capacidad de la retención de agua, emulsión y gelificación las cuales son tecnologías muy importantes en tecnología de alimentos, la actina, la tropomiosina, troponina, actinas, que se encarga de regular el estado físico de la actina, proteínas reguladoras menores que están asociadas a filamentos de miosina o actina como son las proteínas C, M, F y I, proteínas del citoesqueleto, proteínas del musculo, mioglobina que es la responsable del color de la carne y sirve como depósito o transportador de O₂ en el musculo vivo y por último el colágeno que es la proteína más abundante en los mamíferos y una de sus características es que posee menos capacidad para la retención del agua (Onega Pagador, 2004).

Uno de los compuestos primordiales en la canal de los animales de abasto es la grasa, el termino asignado como “grasa animal” reúne todas las especies de lípidos, triglicéridos que son los más abundantes, ésteres de esterol y esteroides (Love & Pearson, 1971). Los lípidos de la carne son solubles en disolventes orgánicos que tienen en su composición ácidos grasos. En la carne, hay esfingomielinas y fosfolípidos, siendo la concentración de fosfolípidos y colesterol estable en el músculo esquelético. La composición en ácidos grasos, participa en la calidad organoléptica. Cuánto más alta es la presencia de ácidos grasos no saturados, más alta es la probabilidad de oxidación en detrimento de la calidad. El colesterol, tiene importantes funciones fisiológicas y aparece en todos los tejidos animales como componente esencial de la membrana celular (Onega Pagador, 2004).

En cuanto a los carbohidratos el contenido en glúcidos en los tejidos animales únicamente representa el 1% del peso húmedo del animal. Aunque el porcentaje en cuanto a glúcidos es bajo, gran cantidad de moléculas presentes en el organismo que desempeñan un papel importante en la actividad del metabolismo, o que tienen una función estructural, actuando como componentes estructurales, contienen una porción glucídica. La abundancia de glucógeno presente en el sacrificio y la velocidad y extensión producida en la glicolisis post mortem, ejercen un cambio en el color del musculo, textura, en la capacidad de retención del agua, en la capacidad emulsionante y en la vida útil (Prändl, 1994). También influyen sobre la dureza de la carne, ya que los glucosaminoglicanos y proteoglicanos son glúcidos unidos a otras moléculas y asociados a la matriz extracelular de los tejidos conectivos (Merckel, 1994).

En los compuestos inorgánicos, como los minerales y las vitaminas, la carne y los productos cárnicos son un recurso para que el cuerpo humano pueda afrontar sus necesidades nutricionales (Borwell *et al*, 1986). La concentración de compuestos con fosfato inorgánico regula las reacciones glucogenolíticas. El magnesio, sodio, potasio y calcio están involucrados en procesos de contracción del músculo vivo (Prändl, 1994). El magnesio y el calcio participan en el estado de contracción post mortem, afectando a la dureza de la carne (Price & Schweighet, 1994). El procesado y cocinado de la carne no tiene consecuencias en la abundancia o disponibilidad de los minerales presentes, salvo cuando se añaden sales minerales en la preparación y curado de los productos cárnicos.

1.1.2 Microbiología de la carne

1.1.2.1 Tipos de microorganismos dependiendo de los efectos que causan

Los microorganismos capaces de producirse en la carne pueden diferenciarse en tres grupos.

- I. Los patógenos, que son aquellos que causan enfermedades a los humanos.
- II. Microorganismos que causan alteraciones, y originan pérdidas económicas de gran importancia en la industria.
- III. Microorganismos que causan efectos beneficiosos, por ejemplo, para solucionar defectos producidos en la maduración del producto en numerosas ocasiones se utilizan microorganismos que tienen una actividad beneficiosa sobre la fermentación del embutido (Martín Juárez, 2005).

1.1.2.2 Microorganismos habituales en la carne

Los géneros bacterianos que se suelen encontrar con mayor frecuencia en las carnes frescas según el autor Jay (1987) son:

Bacterias:

- G+:
 - *Brochotrix Thermosphacta*.
 - *Staphylococcus*.
 - *Bacterias lácticas. Lactobacillaceae*.
 - *Micrococcus sp*.

- G-:
 - *Enterobacteriaceae*.
 - *Pseudomonas*.
 - *Moraxella*.
 - *Acinetobacter*.
 - *Aeromonas*.
 - *Flavobacterium*.
 - *Alcaligenes*.

Hongos

- *Alternaria, monilia*.
- *Sporotrichum, mucor, penicilliu*.
- *Thamindium, cladosporium, geotrichium*.

Levadduras:

- *Trichosporon scotti*.

Las particularidades microbiológicas y la composición química de la carne hacen que sea un buen sustrato para los microorganismos, una de las características más importantes de la carne es su elevado contenido en agua, que facilita el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos (Hirooka *et al*, 1982). Como hemos podido observar en la tabla 1 el agua se encuentra en el musculo entorno al 75%, con distintos sustratos de crecimiento y otros micro-nutrientes, por lo que hace que el músculo sea un medio favorable para el crecimiento de gran variedad de microorganismo, en especial los que se ven beneficiados por la presencia de humedad. La carne puede ser objeto para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (Bhandare *et al*, 2007).

En condiciones naturales, el pH post mortem que presenta la carne es de 6-6,5, pH que se considera óptimo para gran cantidad de microorganismos patógenos, o que causan alteraciones, un pH alrededor de 5,5 es desfavorable para el desarrollo de gran cantidad de bacterias, que, si le sumamos otro tipo de condiciones como temperaturas bajas, puede ser capaz de eliminar el número de bacterias en la carne en casi su totalidad. Aunque hay que tener en cuenta que algunas cepas como

Pseudomonas, *Enterobacter* y *Micobacterium thermosphactum*, crecen en un rango comprendido entre 5,5 y 7 a su máxima velocidad (Gill & Newton, 1977).

Los tejidos animales sanos contienen pocos microorganismos, debido a los mecanismos de defensa animal que controlan los agentes infecciosos, a excepción del tracto digestivo y respiratorio y la superficie externa. Después del sacrificio y anterior al eviscerado la superficie de la carne contiene una gran cantidad de microorganismos procedentes del aire, agua, suelo, mientras que en el músculo esquelético la contaminación es prácticamente nula. Los microorganismos patógenos y causantes de deterioros aumentan su relevancia durante el proceso de eviscerado de la canal, aumentando la probabilidad de que los microorganismos tanto de la superficie como como de las vísceras del animal, lleguen a contaminar el músculo como puede ser algunas enterobacterias como es el caso de *Salmonella spp.* El peligro de contaminación aumenta durante la manipulación del canal y en la entrada de la carne en las vías de distribución, aunque durante el transporte se utilice la refrigeración normalmente aumenta la carga microbiana en las superficies de corte. La microbiota que la carne adquiere es muy diversa, pero la gran parte de las alteraciones pueden agruparse dentro de los psicotróficos, *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas spp.* y microorganismos G+ como el caso de *Bochothrix thermosphacta*. También podemos encontrar G+ que son causantes de toxiinfecciones e infecciones alimentarias como *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli enterohemorrágica*, *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes*. También puede darse el crecimiento de mohos y levaduras, aumentando en la etapa de almacenamiento de la carne, alterando las características organolépticas de la carne, como puede ser los géneros como *Penicillium* y *Mucor* y *Candida* y *Debaryomyces* (Martín Juárez, 2005)

1.1.3 Alteraciones

En el desarrollo de la maduración de la carne se puede llegar a producir una serie de alteraciones a causa de la degradación de la carne, que puede suponer un beneficio o ser perjudicial para las características del producto, aunque no supone un riesgo para la salud del consumidor.

Según la autora Pascual & Calderón (2000) las características fisicoquímicas, producidas por microorganismos aerobios puede afectar a:

- I. Viscosidad.
- II. Decoloración.
- III. Pigmentación.
- IV. Enranciamiento.
- V. Enmohecimiento.
- VI. Lipólisis.
- VII. Fosforescencias.
- VIII. Olores anormales.
- IX. Sabores anormales.

Y si el microorganismo es anaerobio:

- I. Agriado.
- II. Putrefacción.
- III. Hueso hediondo.

Los microorganismos pueden contaminar la carne produciendo alteraciones por dos vías, una vía cuando el animal aún está vivo, denominado vía endógena y otras una vez que el animal ha sido sacrificado, vía exógena (Pardo *et al*, 1998).

El almacenamiento de la carne a temperaturas entre 0° y 5° C reduce el número de alteraciones, evita el crecimiento de la mayoría de la flora inicial, la mayoría de los cuales son mesófilos, pero si es posible que crezcan organismos psicrotróficos cuando se produce un aumento de la temperatura y de la actividad del agua (a_w) en el tejido superficial. Cuando se produce una alteración se pueden apreciar colonias viscosas y que producen malos olores cuando los recuentos de colonias alcanzan los 10^7 microorganismos/cm². Cuando la actividad del agua es menor en la superficie, las colonias son pequeñas y no tan visibles. Las alteraciones comienzan a producirse en las zonas con humedad como puede ser la cavidad abdominal de las ovejas o el cuello. En la flora alterante destacan los bacilos psicrotrofos aerobios, Gram -, que se clasifican como *Acinetobacter* y *Psychrobacter immobilis*, *Pseudomonas spp.*, estas últimas son el 50% de la flora destacando *Pseudomonas fragi* (Dainty & Mackey, 1992). Predominan las *enterobacteriaceas* y *Acinetobacter spp.* a unas temperaturas de almacenamiento sobre los 25° C. Cuando la superficie permanezca seca en el proceso de almacenamiento aparecen colonias de micrococos, levaduras y mohos. (Gill & Newton, 1980).

1.1.4 Patógenos

La carne aparte de ser altamente susceptible de deterioro, puede llegar a ser una vía para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (Bhandare *et al*, 2007).

La aparición de patógenos en la cadena de producción de un producto, encontrándose en bajas cantidades, se considera como una de las mayores fuentes de enfermedades gastrointestinales por todo el mundo (McDonald & Sun, 1999)

La procedencia de la gran parte de los patógenos son los intestinos de las aves y mamíferos. La contaminación por los patógenos a la carne se alcanza indirectamente por las heces o plumas que se diseminan en el sacrificio. Por otro lado, las técnicas deficientes en el matadero aumentan la probabilidad de contaminación directa de la carne o de instalaciones con los intestinos de los animales sacrificados. El procesado de las aves puede dar lugar a la propagación de *Salmonella* desde los intestinos de las aves que estén infectadas, en el caso de los cerdos puede suceder durante el escaldado (Condo Silva, 2014).

Se tiene que tener en cuenta que las instalaciones y equipos de procesado permiten la supervivencia de patógenos, que pueden actuar como foco de contaminación. Se ha detectado contaminación por *Listeria monocytogenes* en las instalaciones de procesado y puede que los métodos de limpieza húmeda para el control de *Salmonella* sean inapropiados para *Listeria*, ya que en los equipos de limpieza se puede formar películas de microorganismos que incluyen patógenos y pueden actuar como foco de contaminación (Condo Silva, 2014).

Siguiendo el manual común de manipulación de alimentos de la junta de Andalucía los patógenos que podemos encontrar son los siguientes:

Gram negativos:

- *Yersinia enterocolitica*

Bacilo G-, anaerobio facultativo. Este patógeno produce un cuadro clínico que se caracteriza por diarreas líquidas o mucoides con aparición en las heces de leucocitos polimorfos y se puede acompañar de dolor abdominal y fiebre. Se identifica como causa de enfermedad diarreica aguda (Rodríguez Fernández *et al*, 2007). Se considera principalmente una zoonosis que afecta a mamíferos (Yagüe-Muñoz *et al*,

2019). El cerdo es considerado el principal reservorio de *Y. enterocolitica*, la vía de contaminación es primordialmente fecal-oral, afecta al ser humano cuando este ingiere alimentos contaminados (Ortiz Tapia, 2019).

- *Salmonella*

Bacilo G-, aerobio facultativo, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Los productos cárnicos son los vehículos más comunes de salmonelosis (Leiva *et al*, 2018). El cuadro clínico de la infección dura de cuatro a siete días y presenta náuseas, vómitos, diarreas, fiebre, cefalea, y en casos graves puede llegar a ser potencialmente mortal, como el síndrome de Reiter o deshidratación severa (Salgado Barreno & Sigcho Arevalo, 2017).

- *Escherichia coli*.

Bacilo G-, anaerobio facultativo. Aunque *E. coli* se encuentra presente en la microbiota tanto de humanos como de animales, existen cepas patógenas causantes de diarreas, vómitos y fiebre, la cepa patógena que se encuentra normalmente en la carne es *E. coli* O157:H7 (Heredia *et al*, 2014).

- *Campylobacter jejuni*

Bacilo G-, microaerofilicos y termotolerantes. La infección por *Campylobacter* en el ser humano se cataloga como una zoonosis y es una causa común de diarrea en todo el mundo (García, 2009).

Gram positivos:

- *Clostridium botulinum*

Bacilo G-, anaerobio estricto y formador de esporas. Produce una toxina denominada toxina botulínica. *Clostridium botulinum* puede producir en el hombre una intoxicación que se produce por la ingestión de una toxina preformada en el alimento contaminado. Cuatro días después de la absorción del alimento contaminado y un periodo de incubación de 24h causa la enfermedad que puede provocar la muerte en 24h por parálisis flácida que ocasiona insuficiencia respiratoria. Los síntomas comienzan con la afectación de nervios craneales que causan náuseas, vómitos, dolor abdominal, mareos, ptosis y pupila dilatada o fija (Pérez, 2003).

- *Clostridium perfringens*

Bacilo G-, bacteria anaerobia, comúnmente presente en los alimentos al por menor. Es capaz de producir enterotoxinas, esto unido a su corto tiempo de generación, la capacidad de crecer a temperaturas elevadas y la capacidad de formación de esporas, que le permiten sobrevivir a las temperaturas de procesamiento de alimentos, contribuyen a ser una causa común de enfermedad bacteriana transmitida por los alimentos. El cuadro clínico que produce esta infección en humanos consiste en diarreas y dolor abdominal con un periodo de incubación de 8 a 24h (Labbe, 2017).

- *Listeria monocytogenes*

Patógeno intracelular facultativo, catalasa positiva, oxidasa negativa, anaerobio facultativo, no formador de esporas, móvil. Esta bacteria puede atravesar la barrera intestinal, la placenta y la barrera hemato-encefálica produciendo gastroenteritis, infecciones materno-fetales y meningoencefalitis (Rodríguez-Auad, 2018).

- *Staphylococcus aureus*

Microorganismo facultativo, catalasa y coagulasa positivos, no esporulados, es uno de los patógenos humanos más importantes y el más patógeno de su grupo (Hurtado, 2002).

1.2 Resistencia agentes microbianos

Para combatir la acción de los microorganismos nocivos, tanto patógenos como alterantes en la cadena alimentaria y mejorar la higiene se usan sustancias y preparados como son los biocidas (Jiménez *et al*, 2011)

1.2.1 Biocidas

En la permanente lucha para controlar los patógenos en la cadena alimentaria se han necesitado diferentes métodos para eliminar los microorganismos patógenos, por lo cual ha llegado a ser indispensable el uso de sustancias que son capaces de inhibir la acción de los patógenos (Patiño Bello *et al*, 2018).

Los biocidas puede definirse como sustancias activas y preparados que posean una o más sustancias activas, que se encargan de contrarrestar, destruir, neutralizar e impedir la actividad que puede llevar a cabo o establecer un control de otro tipo sobre

organismos que se consideren nocivos por medios químicos o biológicos (García Martín, 2011).

Según García Martín (2011) los biocidas se pueden clasificar por su naturaleza en:

- Biológicos

Engloba los seres vivos o sus productos que se ha comprobado eficientes para combatir a los microorganismos nocivos. Forman un grupo heterogéneo. En este grupo se pueden encontrar especies que actúan como enemigos depredadores o naturales, pesticidas, insecticidas etc.

- Químicos

- Naturales: La gran mayoría son extractos de plantas de tipo alcaloide como es la estricnina y nicotina o no alcaloides como piretrina o rotenona.

- Sintéticos: Son los más usados en la actualidad y en este grupo hay que destacar distintas familias como:

- Compuestos inorgánicos y organometálicos: Se reconocen compuestos de gran cantidad de metales, por su toxicidad destaca los derivados del As, Ag Pb, Hg, Ta, P.

- Compuestos organoclorados: Los que forman este grupo son los HCH, DDT, toxofén y aldrín. En cuanto a los derivados del fenol y benceno están el PCph, HCB y ácidos 2,4-D y 3,4,5-T.

- Compuestos organosforados: grupo más extenso y utilizado. Cabe destacar el diclorvós, mevinfos, malation, diazinon, paratión y demetón.

- Carbamatos: inhaladores de la colinesterasa utilizados como inhaladores o los que son utilizados como fungicidas y herbicidas.

- Compuestos nitrofenólicos: lo forman un conjunto de fenoles sustituidos: halofenoles, dinitrofenoles y mononitrofenoles.

-Piretroides de síntesis: los constituyen aquellos de función éster como resmetrina, aletrina y bioletrina, y también entra el grupo piretroides fotoestables de síntesis posterior como decametrina, cipermetrina y permetrina.

-Derivados bupiridílicos.

-Derivados dicimarinílicos.

Los biocidas pueden clasificarse en distintos grupos según el uso al que van dirigidos, según el Real Decreto 1054/2002, de 11 de octubre, por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas, anexo V:

GRUPO PRINCIPAL 1: Desinfectantes y biocidas generales:

Excluyen productos de limpieza que no buscan un efecto biocida, se engloban los detergentes tanto líquidos como en polvo y productos similares.

- Tipo de producto 1: Biocidas destinados a la higiene humana.

Los biocidas de este grupo son los empleados con fines de higiene humana.

- Tipo de producto 2: Desinfectantes utilizados en los ámbitos de la vida privada y de la salud pública y otros biocidas.

Productos empleados para la desinfección de superficies, materiales, aire, equipos y muebles que no se utilicen en contacto directo con alimentos o piensos en zonas de la esfera privada, pública e industrial, incluidos los hospitales.

- Tipo de producto 3: Biocidas empleados en la higiene veterinaria.

Están incluidos los productos empleados en las zonas que se alojan, mantienen o transportan animales.

- Tipo de producto 4: Desinfectantes usados para las superficies que están en contacto con alimentos y piensos.

Empleados para la desinfección de equipos, recipientes, utensilios para el consumo, superficies y tuberías relacionados con la producción, transporte, almacenamiento o consumo de alimentos, piensos o bebidas para el consumo de las personas o animales.

- Tipo de producto 5: Desinfectantes para agua potable.

Productos empleados para la desinfección del agua potable, para seres humanos y animales.

GRUPO PRINCIPAL 2: Conservantes

- Tipo de producto 6: Conservantes para productos envasados.

Se utiliza para la conservación de productos elaborados que no sean alimentos o piensos que se encuentran dentro de recipientes, para el control del deterioro microbiano para prolongar su vida útil.

- Tipo de producto 7: Conservantes para película.

Usados para la conservación de películas o recubrimientos mediante el control del deterioro microbiano con el fin de proteger las propiedades iniciales de la superficie de los materiales u objetos como pinturas, plásticos, selladores, adhesivos murales, cubiertas, papeles, obras de arte.

- Tipo de producto 8: Protectores para maderas.

Productos empleados para la protección de la madera, desde la fase del aserradero inclusive, o los productos derivados de la madera, mediante el control de los organismos que destruyen o alteran la madera. Se incluyen en este tipo de productos tanto los de carácter preventivo como curativo.

- Tipo de producto 9: Protectores de fibras, cuero, caucho y materiales polimerizados.

Productos empleados para la conservación de materiales fibrosos o polimerizados, como los productos de cuero, caucho, papel o textiles y la goma mediante el control del deterioro microbiano.

- Tipo de producto 10: Protectores de mampostería.

Usados para la conservación y tratamiento reparador de los materiales de mampostería u otros materiales de construcción distintos de la madera mediante el control del deterioro microbiano y la afectación por algas.

- Tipo de producto 11: Protectores para líquidos utilizados en sistemas de refrigeración y en procesos industriales.

Productos empleados para la conservación del agua u otros líquidos utilizados en sistemas de refrigeración y de elaboración industrial mediante el control de los

organismos nocivos como microbios, algas y moluscos. No se incluyen en este tipo de productos los empleados para la conservación del agua potable.

- Tipo de producto 12: Productos antimoho.

Productos empleados para la prevención o el control de la proliferación de mohos sobre los materiales, equipos y estructuras utilizados en procesos industriales, por ejemplo, sobre la madera y pulpa de papel, estratos de arena porosa en la extracción de petróleo.

- Tipo de producto 13: Protectores de líquidos de metalistería.

Productos empleados para la conservación de los líquidos de metalistería mediante el control del deterioro microbiano.

GRUPO PRINCIPAL 3: Plaguicidas.

- Tipo de producto 14: Rodenticidas.

Productos empleados para el control de los ratones, ratas u otros roedores.

- Tipo de producto 15: Avicidas.

Productos empleados para el control de las aves.

- Tipo de producto 16: Molusquicidas.

Productos empleados para el control de los moluscos.

- Tipo de producto 17: Piscicidas.

Productos empleados para el control de los peces; se excluyen de estos productos los empleados para tratar las enfermedades de los peces.

- Tipo de producto 18: Insecticidas, acaricidas y productos para controlar otros artrópodos.

Productos empleados para el control de los artrópodos.

- Tipo de producto 19: Repelentes y atrayentes.

Productos empleados para el control de los organismos nocivos mediante repulsión o atracción, incluidos los empleados, directa o indirectamente, para la higiene veterinaria o humana.

GRUPO PRINCIPAL 4: Otros biocidas.

- Tipo de producto 20: Conservantes para alimentos o piensos

Productos empleados para la conservación de alimentos o de piensos mediante el control de los organismos nocivos.

- Tipo de producto 21: Productos antiincrustantes.

Productos empleados para el control de la fijación y crecimiento de organismos incrustantes (microbios o formas superiores de especies animales o vegetales) en barcos, equipos de acuicultura u otras estructuras acuáticas.

- Tipo de producto 22: Líquidos para embalsamamiento y taxidermia.

Productos empleados para la desinfección y conservación de cadáveres animales o humanos o de parte de los mismos.

- Tipo de producto 23: Control de otros vertebrados.

Productos empleados para el control de los parásitos.

Cuando se desinfectan las zonas de superficies con las cuales contactan los alimentos, no suele esterilizarse completamente, lo que se busca es reducir el número de microorganismos para que no tengan influencia en la calidad microbiológica de los alimentos que contactan con las superficies (Tezel & Pavlostathis, 2015)

En la industria alimentaria los biocidas deben cumplir una serie de determinadas características (González *et al*, 2012; Willians *et al*, 2000):

- Amplio espectro de acción biocida, teniendo la misma eficiencia para bacterias Gram-positivas que para Gram-negativas. Deben destruir la mayoría de las esporas fúngicas, y esporas bacterianas.
- Acción rápida.
- Sin olor y no desprender olores desagradables.
- Compatible con una amplia variedad de materiales.
- Compatibles con la formulación de componentes (agentes de limpieza, buffers, geles, espumas).
- Solubles en agua y de fácil lavado.
- Estables durante su almacenamiento.
- Fáciles de usar (diluir, aplicar directamente).
- De uso seguro por el manipulador, no ser tóxicos, ni irritables para los ojos ni para la piel.
- No ser productores de residuos peligrosos que puedan afectar al consumidor.
- Sin efectos adversos sobre las características de los productos (sabor, apariencia, textura).

- Atractivos económicamente es decir que sean competitivos económicamente y tener una buena relación precio/calidad.

Los biocidas son altamente utilizados en la industria alimentaria para el saneamiento, para proporcionar a los consumidores productos sanos y seguros, es muy importante controlar la mayoría de los microorganismos incluidas bacterias entéricas, en granjas y en las superficies de procesamiento como en productos alimentarios (Ueda & Kuwabara, 2007). Están autorizados para incorporarse en materiales que están en contacto con alimentos como contenedores de almacenamiento de alimentos o tablas de cortar (Yazdankhah, 2006).

Cuando se utilizan concentraciones subinhibitorias de biocidas o desinfectantes durante los procesos de limpieza y desinfección dan lugar a cepas con susceptibilidad reducida a la exposición de desinfectantes y biocidas (Karatzas *et al*, 2007).

Los tipos de biocidas según el autor Aguayo *et al*, (2010) son los siguientes:

- Sales cuaternarias de amonio

Estos compuestos catiónicos son los más eficaces contra bacterias de pH alcalino. Forman enlaces electrostáticos que causan tensiones en la pared de la célula bacteriana. Disminuye la permeabilidad, paraliza el flujo normal de compuestos que sostienen la vida. Activas frente a Gram positivas y Gram negativas.

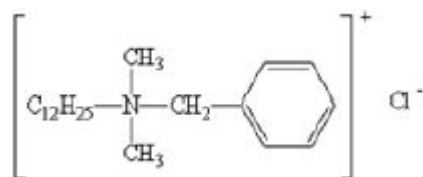


Figura 1. Cloruro bezalconio. (Fuente: Aguayo *et al*, 2010)

Activo frente a bacterias hongos y virus.

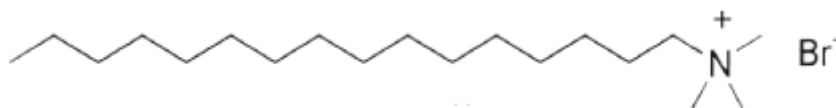


Figura 2. Cetrímid. (Fuente: Aguayo *et al*, 2010)

Actúa frente a Gram negativas y Gram positivas.

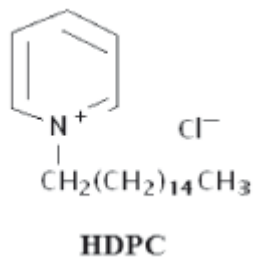


Figura 3. Hexadecilpiridinio. (Fuente: Aguayo *et al*, 2010)

Actúa frente algunas especies de *Bacillus*.

- Biguaninas

De amplio espectro, aunque carecen de actividad frente a virus, microbacterias, esporas y hongos, actúan en un rango limitado de pH.

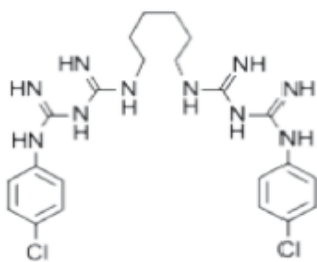


Figura 4. Clorhexidina. (Fuente: Aguayo *et al*, 2010)

Activa frente Gram positivas y Gram negativas.

- Bis-fenoles

Frente virus envueltos tienen actividad bacteriana, tuberculocida, fungicida, rivicida. También altera la permeabilidad.

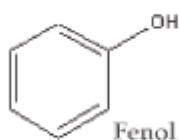


Figura 5. Hexaclorofeno. (Fuente: Aguayo *et al*, 2010)

Actúa principalmente frente a gram positivas y esporas.

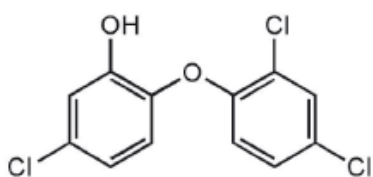


Figura 6. Triclosan. (Fuente: Aguayo *et al*, 2010)

Ataca a la membrana plasmática bloqueando la síntesis de lípidos y actúa sobre la síntesis de ácidos nucleicos, ARN y proteínas.

- P3- oxonia active.

Ataca los componentes esenciales de los microorganismos.

1.2.1.1 Mecanismos de acción de los biocidas

Los biocidas, actúan sobre diferentes dianas. Por ejemplo, los agentes electrofílicos incluyen iones inorgánicos como plata, cobre y mercurio, y orgánicos, biocidas como el formaldehído y las isotiazolonas. Estos biocidas reaccionan covalentemente con nucleófilos celulares para inactivar enzimas y hay evidencia de que inician la formación de radicales libres intracelulares que contribuyen a su letalidad. Biocidas activos de membrana catiónica tales como clorhexidina y compuestos de amonio cuaternario, y alcoholes como el fenoxietanol desestabilizan las membranas que conducen a una lisis celular rápida. Los ácidos débiles, como los ácidos sórbico y benzoico, interfieren con la capacidad de la membrana celular para mantener un equilibrio de pH adecuado, lo que provoca la acidificación del interior de la célula y la interrupción generalizada del metabolismo. Un trabajo sugiere que el 5-cloro-2-fenol, un biocida ampliamente utilizado en pasta de dientes, jabones y otros productos en el ámbito del consumidor, puede ser un biocida único al poseer la especificidad del sitio objetivo único de antibióticos. Por lo tanto, el mecanismo de acción dependerá del tipo de microorganismos sobre el que actúe, debido a sus características metabólicas, fisiológicas etc. (Chapman, 2003).

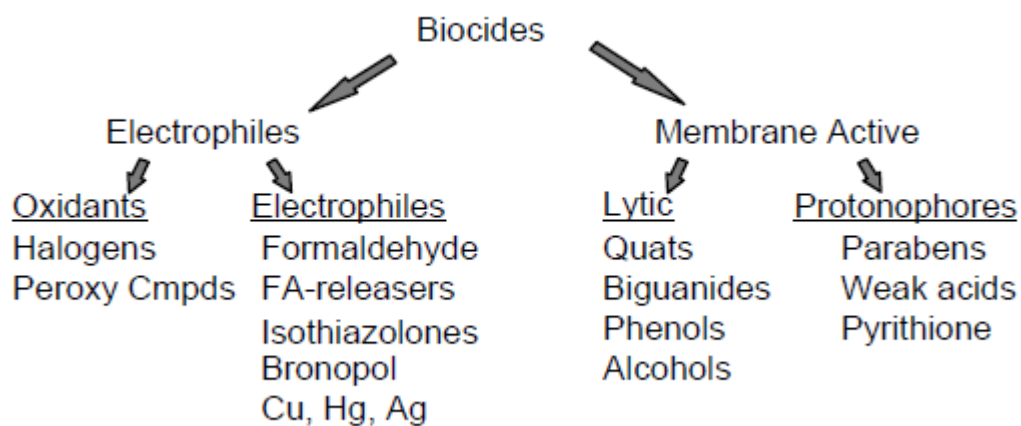


Figura 7. Mecanismo de acción de los biocidas. (Fuente: Chapman (2003)).

Para llevar a cabo el mecanismo de acción, los biocidas primero interaccionan con la superficie celular, pero una vez en el interior pueden causar daño a uno o más componentes celulares mediante tres mecanismos de acción que siguiendo a Russel (1995) son:

1. Envenenar los sistemas enzimáticos.
2. Alterar la permeabilidad de la membrana celular.
3. Coagulación y precipitación de proteínas.

Los biocidas también se pueden clasificar atendiendo a la función de su acción como:

- Agentes oxidantes: Son aquellos que interfieren en la síntesis proteica de la célula, actúa únicamente sobre la superficie de la biopelícula y mantienen el interior microbiológicamente activo, donde oxidan todo tipo de materia orgánica que produce la muerte de los microorganismos. En este grupo encontramos algunas sales halógenas y de peróxido como ya el mencionado P3-oxonia active además de cloro, yodo, dióxido de cloro, ozono, bromo y peróxido de hidrógeno conjuntamente (Patiño Bello *et al*, 2018).
- Agentes no oxidantes: Alteran el metabolismo de la célula y penetra en esta para alterar el ADN y ARN y los sistemas de defensa celulares mediante un envenenamiento lento de las células (Patiño Bello *et al*, 2018). Dentro de este grupo están las sales amonio cuaternario, cloruro de benzalconio, fenoles, triclosan, cetrimida, biguaninas, hexachlorofeno, clorhexidia (Almeida *et al*, 2012)

1.2.1.2 Tolerancia y resistencia a biocidas.

Los biocidas, más concretamente antisépticos y desinfectantes constituye la primera línea de defensa para evitar la diseminación de patógenos resistentes. Entre los más utilizados se encuentran los compuestos catiónicos de amonio cuaternario. El uso y abuso diario de estos compuestos ha llevado a la selección de cepas bacterianas resistentes (Ramos & Alonso, 2011).

La exposición de una mayor tolerancia a los biocidas por las bacterias zoonóticas transmitidas por los alimentos tiene importantes implicaciones para la salud pública. Sin duda, esta característica comprometería el papel de los desinfectantes como un medio eficaz para controlar estos peligros bacterianos. Cualquier falla o tolerancia alterada a estos agentes biocidas podría facilitar la supervivencia de los organismos patógenos y contribuir a la aparición de cepas persistentes (Condell *et al*, 2012).

La resistencia puede ser definida como la supervivencia de una cepa bacteriana que a una concentración determinada de biocida, inhibe al resto de la población bacteriana. Mientras que la tolerancia se refiere a la inhibición de un microorganismo sin causarle la muerte (Russel, 2014).

La resistencia puede ser una propiedad natural de un organismo denominada intrínseca o producida por obtención de plásmidos, mutación, o transposones, llamada adquirida (Cabrera *et al*, 2007).

Siguiendo a Patiño *et al*, (2018):

- Resistencia intrínseca, se refiere a un estado normal de tipo genético, fisiológico o estructural, es una característica natural, heredada invariable, relacionado con G⁺ y G⁻. El mecanismo más común es el cambio de permeabilidad de la envoltura microbiana, encargado de limitar la penetración del biocida en la célula, por lo que disminuye la cantidad del biocida en su interior.
- Resistencia adquirida, la resistencia puede surgir de dos maneras, bioquímicas o genéticas, la última por mutación o adquisición de material genérico. Esta resistencia se genera para evitar que la sustancia biocida se incorpore a la célula.

Otro parámetro a tener en cuenta es la concentración mínima inhibitoria que tiene cada microorganismo, que define la capacidad de inhibir el crecimiento microbiano de cada biocida (Russel & McDonnell, 2000).

Agente químico	Concentración mínima inhibitoria (CIM) (mg/ml)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
Cloruro de benzalconio	0.5	0.5	0.5
Cloruro de benzeltonio	0.5	0.5	0.5
Cetrimida	4	4	4
Clorexidina	0.5-1	0.5-1	0.5-1
Hexaclorofeno	0.5	0.5	0.5
Fenol	2.000	2.000	2.000
o- fenilfenol	100	100	100
Isetionato de propamina	2	2	2
Isetionato de dibromopropamida	1	1	1
Triclosán	0.1	0.1	0.1

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria de antisépticos contra bacterias gram – y gram +. (Fuente: Cabrera (2007)).

1.2.2 Antibióticos

1.2.2.1 Resistencia a antibióticos

El descubrimiento de la penicilina tuvo lugar en 1928 por Fleming, quien observó que un moho contaminante (*Penicillium notatum*) del que produce la penicilina, había inhibido el crecimiento de una cepa de *Staphylococcus aureus* en una placa de cultivo (Monnet, 2005). Con el descubrimiento de la penicilina y la aparición en 1930 de las sulfonamidas adquirieron un papel decisivo en la salud humana como antimicrobianos (Davies & Davies, 2010). Fleming advirtió que el mal uso de la penicilina podría provocar de cepas mutantes resistentes de *Staphylococcus aureus*, que podrían provocar infecciones difíciles de tratar. Un año después del uso generalizado de la penicilina se produjo un aumento significativo de la prevalencia de cepas resistentes. Más del 50% de las cepas de *S. aureus* de origen clínico dejaron de ser susceptibles al antibiótico (Levy, 2002).

Los antibióticos son sustancias químicas producidas naturalmente por diversas especies de microorganismos como bacterias, hongos actinomicetos y estreptomicetos que matan o inhiben el crecimiento de otros microorganismos. Las principales fuentes de antibióticos engloban *Streptomyces*, *Penicilliums*, *Actinomycetes* y *Bacilli* (Bbosa & Mwebaza, 2013).

Existen problemas higiénico-sanitarios producidos por el uso de antibióticos en animales productores de alimentos, determinados por dos tipos de efectos.

- Efectos directos: provienen del uso de antibióticos a dosis terapéuticas y su persistencia posterior en alimentos, cuando no se respeten los tiempos de espera, ni los problemas legales que puede acarrear.
- Efectos indirectos: se relacionan con la actividad negativa en los estudios bacteriológicos en alimentos, las propiedades alergizantes, capacidad de inducir resistencia a antibióticos etc, ya que a dosis suficientes los antibióticos pueden interponerse en el proceso de crecimiento microbiano (Hernández-Rodríguez *et al*, 1999).

Hay un problema desde el punto de vista clínico ya que las infecciones producidas por microorganismos resistentes, tienen consecuencias en la mortalidad y morbilidad (Rice, 2009). La World Health Organization (2014) declara que hay una amenaza para la salud pública, la resistencia de los microorganismos a los antibióticos, ya que los tratamientos para las infecciones comunes pueden no surgir efecto.

Un microorganismo resistente puede definirse como aquel al que un agente antibacteriano no inhibirá o matará a las concentraciones del fármaco que pueden obtenerse en el cuerpo después una dosis normal (Fernández Márquez, 2018)

El uso a gran escala de antibióticos para la producción primaria de alimentos, es una de las grandes causas del incremento de bacterias resistentes en poblaciones humanas, que se transmiten a través de alimentos de origen animal que estén contaminadas (Capita González, 2013).

En cuanto a veterinaria, el continuo uso de antibióticos para controlar o prevenir enfermedades aumenta la aparición de nuevas cepas que son resistentes a antibióticos y que pueden ser transmitidas a lo largo de la cadena alimentaria (Teale, 2002). Se ha demostrado que tienen más probabilidad de resistencia a antibióticos las cepas aisladas del intestino de animales expuestos a antibióticos que de otras poblaciones microbianas que no están expuestas a antibióticos (Sarmah *et al*, 2006).

En las explotaciones ganaderas ha aumentado la prevalencia de genes resistentes a antibióticos en reservorios ambientales, el uso masivo de antibióticos puede

enriquecer la población con microorganismos resistentes y reducir la susceptibilidad (Guerrero-Ramos *et al*, 2016).

Las bacterias que tienen genes de resistencia en elementos genéticos móviles son un peligro para la salud pública, ya que se convierte en reservorios que favorecen la propagación de resistencia por transferencia horizontal a otros microorganismos, por lo tanto, son una gran preocupación los alimentos colonizados por bacterias que albergan elementos genéticos móviles (Marty *et al*, 2012; Talon & Leroy, 2011).

1.2.2.2 Mecanismos de acción de los antibióticos

Se ha comprobado que las bacterias tienden a desarrollar resistencia a cada agente nuevo que se introduce. La incidencia cada vez mayor de resistencia, con una menor velocidad de desarrollo de agentes antibacterianos nuevos para luchar contra las cepas resistentes, se reconoce ahora en todo el mundo como una seria amenaza al tratamiento de infecciones que ponen en peligro la vida (Fernández Márquez, 2018).

En las funciones vitales de los microorganismos los antimicrobianos tienen una toxicidad selectiva, sin afectar a las funciones del hospedador o con resultados mínimos. Los agentes microbianos pueden tener un efecto bactericida o bacteriostático. La acción bactericida inactiva la bacteria independiente de la acción del sistema inmune del hospedador. Sin embargo, la acción bacteriostática inhibe solo la multiplicación o el crecimiento dando tiempo al sistema inmune para eliminarlas del hospedador (Sosa *et al*, 2009).

La clasificación más común de los antibióticos se realiza siguiendo sus mecanismos de acción:

- Bloqueo de la síntesis de factores metabólicos

La síntesis de folatos es importante para las bacterias, que necesitan elementos esenciales como pueden ser las vitaminas, bases purínicas etc. Las Dianopirimidinas, trimetoprim y pirimetamina, compiten por la enzima dihidrofolatorreductasa. El trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol) actúa en dos etapas de la síntesis de ácido fólico. Así, impiden la formación de precursores del ácido fólico estos grupos antimicrobianos (Calvo & Martínez-Martínez, 2009).

- Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

La transcripción y la replicación del ADN se produce en varias fases, en las que actúan los antibióticos sobre lugares diana, y así impiden la síntesis del ADN. Las rifamicinas bloquean la subunidad beta de la ARN polimerasa, impidiendo el inicio de la transcripción. Las quinolonas y fluoroquinolonas bloquean las topoisomerasas II y IV. Estos grupos ejercen su acción sobre enzimas, pero existen otros grupos que ejercen su acción directamente sobre el ADN. Los nitroimidazoles provocan la liberación de radicales nitritos que dañan el ADN por oxidación. Los nitrofuranos generan derivados tóxicos que dañan el ADN (Calvo & Martínez-Martínez, 2009).

- Inhibición de la síntesis de la pared celular

La pared celular protege la entereza anatomofisiológica de la bacteria y soporta su presión osmótica interna (Dover *et al*, 2007). Se ha demostrado recientemente que los cambios en la fluidez de las membranas celulares pueden ejercer un importante papel en la adaptación de *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes* a algunos descontaminantes de la carne de ave (Alonso-Hernando *et al*, 2010).

- Inhibición de la síntesis proteica

La inhibición selectiva de la síntesis proteica se produce gracias a las diferencias estructurales en medio de los ribosomas eucariotas y bacterianos. Los ribosomas bacterianos están formados por dos subunidades, 30S y 50S, que tienen ARN ribosómico y distintas proteínas. Los antibióticos detienen la traducción uniéndose al ribosoma, concretamente a una de las subunidades ribosómicas, por lo que se inhibe la síntesis proteica al imposibilitar la formación del complejo de iniciación 70S (Calvo & Martínez-Martínez, 2009).

1.2.2.3 Mecanismos de resistencia a antibióticos

Según Betancor *et al*, (2008), las bacterias son capaces de adaptarse a condiciones ambientales diferentes. Poseen un material genético que cuando se transfiere a otros organismos, son capaces de colonizar los tejidos del hospedador, producen sustancias tóxicas y lo invaden al hospedador, causando enfermedades.

- Cambios en la permeabilidad bacteriana.

Cada tipo de bacterias son susceptibles a las acciones de una determinada gama de agentes microbianos. Las bacterias Gram-positivas poseen una gruesa pared celular alrededor de la membrana plasmática. Mientras que las Gram negativas,

presentan la pared celular (capa de peptidoglicano) entre dos membranas. Por lo tanto, el acceso del antimicrobiano a los sitios donde produce su función en la bacteria no ocurre de la misma manera en ambos grupos de bacterias, se puede decir que la susceptibilidad de las bacterias a determinados antimicrobianos se ve afectada por esta diferencia estructural. La membrana de las bacterias Gram negativas establece una barrera de protección frente a agentes tóxicos que se encuentran en el medio, y un grupo complejo de mecanismos que posibilitan el paso de moléculas imprescindibles para la bacteria. La labor de diversos antibióticos es dependiente de estos mecanismos de transporte de membrana, que regulan la concentración intracelular de la molécula antibacteriana (Durán, 2017; Livermore, 2003).

- Bombas de expulsión.

Estas bombas son proteínas de transporte que se ocupan de eliminar activamente distintas sustancias que se introducen en la célula, disminuyendo así su concentración intracelular. El cometido esencial de estos sistemas es igual a pesar de su fuente de energía y su variedad estructural. Esta función es oponerse a un acopio de distintos sustratos intracelulares, como son: metales pesados, antibióticos, detergentes, etc (Paulsen *et al*, 1997).

Está descrito que las bombas de exporte participan en la resistencia bacteriana intrínseca a antibióticos (Poole *et al*, 1993).

En las bacterias Gram negativas, las bombas de flujo se forman por complejos proteicos ternarios con una bomba transmembranal, una porina de la membrana externa y una proteína periplásmica de unión. Esto junto con la impermeabilidad de la bacteria Gram negativa da la resistencia natural a muchos antibióticos. En las bacterias Gram positivas, sin embargo, por la carencia de sistemas de flujo de salida en la membrana externa, de la que carecen, utilizan solo a una bomba de salida introducida en la membrana citoplasmática (Cattoir, 2004).

- Modificación directa del antibiótico

Se obtiene por una interacción directa con el antibiótico. La inactivación del antibiótico se puede producir por diferentes maneras. En una de ellas se producen reacciones de hidrólisis, el ejemplo más significativo de esto son las β -lactamasas, que hidrolizan

los antibióticos β -lactámicos. En otras ocasiones por la transferencia de un grupo químico. El agregado de grupos químicos a lugares frágiles de la molécula del antibiótico por enzimas bacterianas da lugar a la resistencia ya que evita la unión del antibiótico a su lugar diana (Blair *et al*, 2015).

- Modificación / protección de los lugares diana / desvío / alteración/ superproducción

Aparecen mutaciones en receptores intracelulares de las bacterias que provocan a veces la pérdida del lugar diana y efectividad del antimicrobiano. Ejemplos de esto son:

1. Provocan resistencia a los antibióticos aminoglucósidos, macrólidos y tetraciclinas la modificación en los ribosomas.
2. Provoca resistencia a las fluoroquinolonas, las modificaciones en la enzima ADN-girasa.
3. Se observada algunos tipos de resistencia a antibióticos la modificación de las proteínas de anclaje de las penicilinas (Alanis, 2005).

1.2.2.4 Tipos de resistencia bacteriana a los antibióticos

Frente a un grupo de antibióticos, las bacterias pueden tener entre dos y cuatro mecanismos de resistencia (Durán, 2017).

- Resistencia intrínseca.

La resistencia a un compuesto antimicrobiano específico es considerada "intrínseca" en el momento que es inherente a una especie bacteriana, cuando se encuentra en todas sus cepas. Estas bacterias se encuentran viables en presencia de un compuesto antimicrobiano particular por poseer en su cromosoma unos determinados genes. El motivo de este tipo de resistencia está relacionado con la aparición de lugares diana de baja afinidad, producción innata de enzimas que inactivan el antimicrobiano, ausencia de lugares diana para el antimicrobiano o inaccesibilidad del antimicrobiano en la célula bacteriana por una reducción de la captación del antimicrobiano (Kumar & Schweizer, 2005).

La resistencia intrínseca tiene un potencial mínimo de propagación horizontal entre diferentes especies bacterianas, por ejemplo, con el cromosoma que confiere

resistencia a la vancomicina, determinante de resistencia de la cepa GG de *Lactobacillus rhamnosus* (Tynkkynen *et al*, 1998).

- Resistencia adquirida

La resistencia a un antimicrobiano específico se considerada "adquirida" si la bacteria, originalmente sensible, se convierte en resistente a un antimicrobiano específico en mayor o menor grado. Esta circunstancia se debe a diferentes mecanismos, como la presencia de una enzima que inactiva el agente antimicrobiano, una mutación en el lugar diana del agente antimicrobiano, la reducción de la unión del agente antimicrobiano, la impermeabilidad de la superficie celular, la modificación post-transcripcional o post-traducciona del lugar diana del antimicrobiano, que reduce la unión del agente antimicrobiano, la reducción de la captación del agente antimicrobiano, la expulsión del agente antimicrobiano o la sobreproducción del lugar diana del agente antimicrobiano (Sosa *et al.*, 2009; Capita González, 2013).

La resistencia adquirida, tiene un potencial bajo de propagación horizontal cuando es producto de una mutación cromosómica. Por otra parte, se estima que la resistencia adquirida posee un mayor potencial de difusión horizontal en el momento en que los genes de resistencia se encuentran presentes en elementos genéticos móviles (plásmidos y transposones) (Van Reenen & Dicks, 2011; Devirgiliis *et al*, 2013).

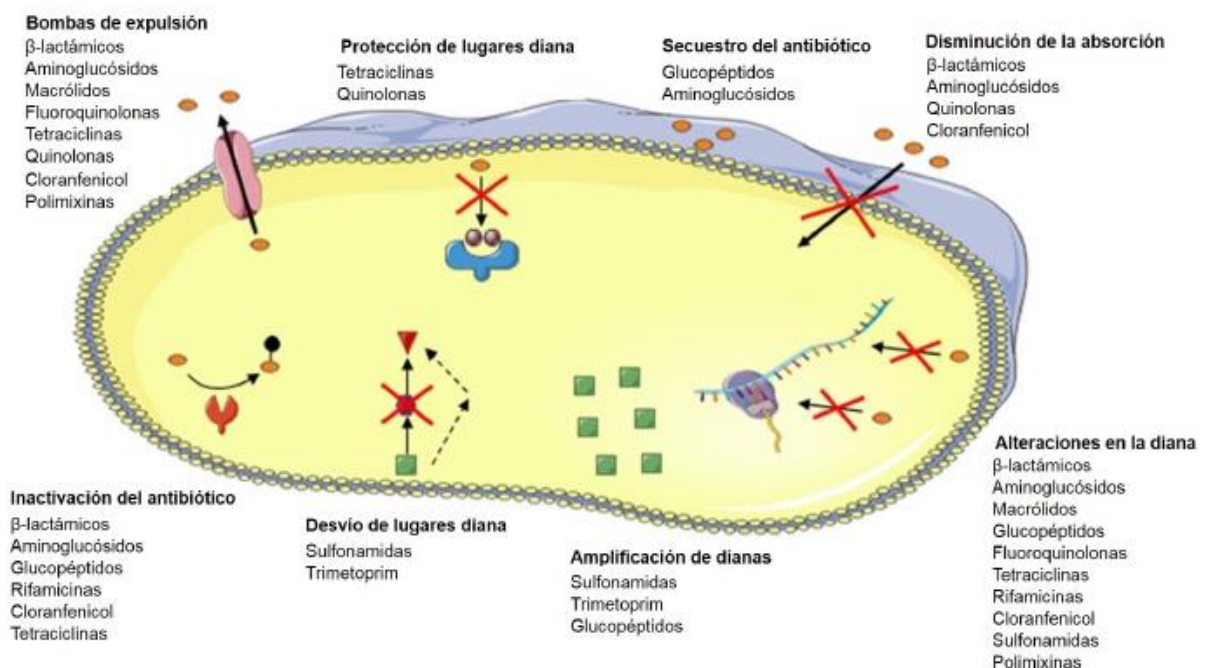


Figura 8. Mecanismos de resistencia bacteriana frente a diferentes clases de antibióticos. (Fuente: Durán (2017)).

La transmisión de una bacteria a otra por diferentes mecanismos hace que se transmitan los genes de resistencia a antibióticos a través de una transferencia horizontal del material genético. La transferencia de ADN por transmisión o por transformación no son, supuestamente, mecanismos de importancia en relación con la transferencia de resistencia a los antibióticos (Ammor & Mayo, 2007). Sin embargo, el método conocido como la conjugación que consiste en el contacto directo de célula a célula, puede lograr la transferencia horizontal de múltiples genes entre una amplia gama de microorganismos (Courvalin, 1994).

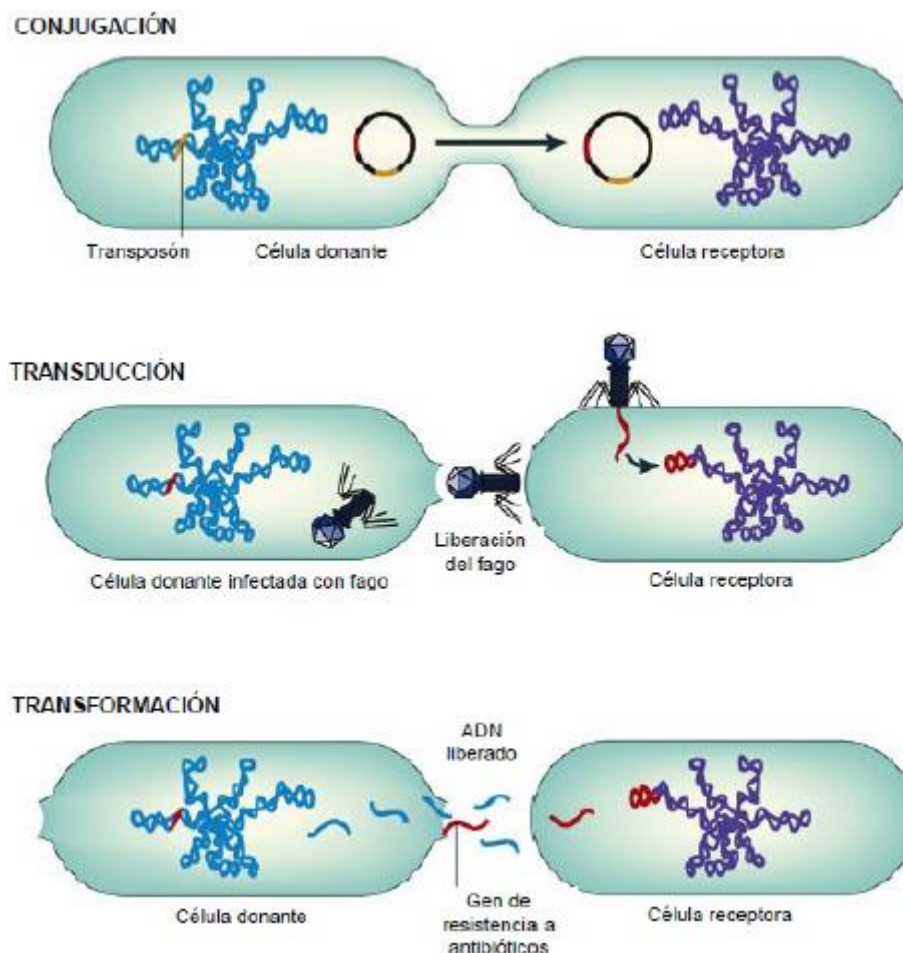


Figura 9. Mecanismos de transferencia horizontal de genes entre bacterias. (Fuente: Durán (2017)):

En el sistema alimentario, la transferencia horizontal de genes es un peligro para el consumidor. La aparición de microorganismos patógenos resistentes a los antibióticos en los alimentos, provocan infección por ingestión o contacto, se considera un peligro directo (EFSA, 2008). Hay un peligro indirecto que viene de la transferencia horizontal de genes que codifican resistencia a antibióticos desde una bacteria no patógena

hasta otra patógena, transferencia que puede ocurrir en cualquier punto a lo largo de la cadena alimentaria (Lester *et al*, 2006).

Un factor que influye la propagación de resistencia es el uso de antimicrobianos en el pienso de animales que son usados para obtener alimentos, ya que estos alimentos se introducen en la cadena alimentaria humana transmitiéndose la resistencia de los animales a las personas. Por otra parte, preocupa la posible adquisición de resistencia de los patógenos que se encuentran en el ambiente ya que una vez administrados los antibióticos en veterinaria se excretan al ambiente sin sufrir modificaciones y persisten en el ambiente, dando la oportunidad para la selección de resistencia en las poblaciones bacterianas expuestas. Otra forma en la que se contaminan los alimentos es por los manipuladores de la industria alimentaria, por lo que los alimentos actúan como reservorio y fuente de transmisión de resistencias (Rosenblatt-Farrell, 2009; Durán, 2017).

Hay genes de resistencia a antibióticos que solo se usan en veterinaria que se han aislado en cepas de microorganismos de origen humano, en patógenos zoonóticos y microbiota comensal y en patógenos estrictamente humanos como *Shigella*. Esto muestra que entre seres humanos y animales se produce el paso de genes de resistencia (Van den Bogaard & Stobberingh, 2000).

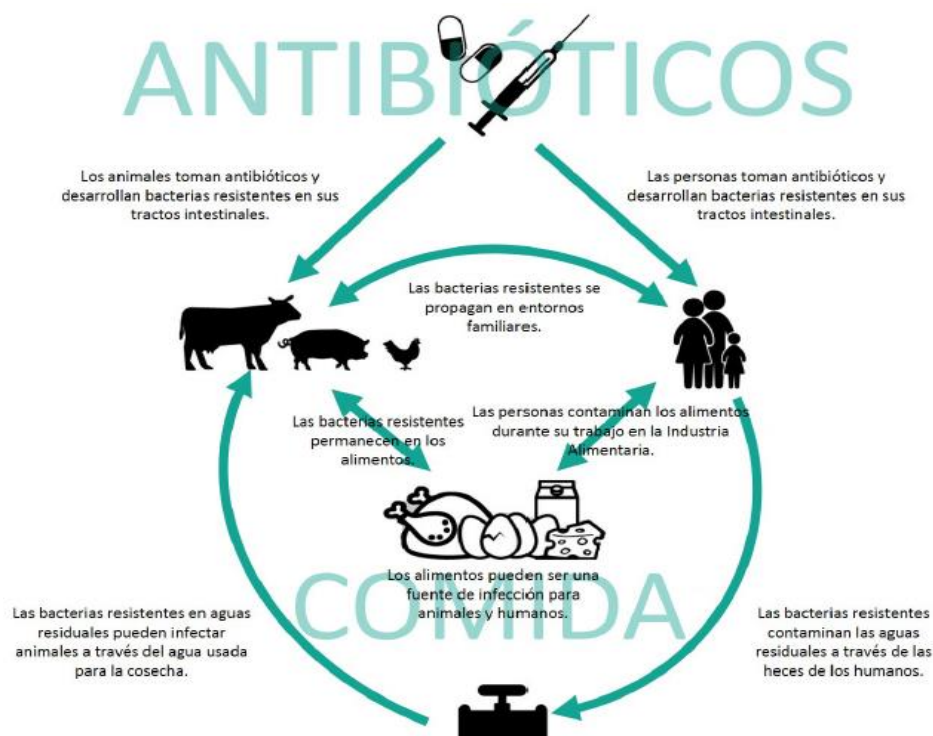


Figura 10. Diseminación de resistencia a antibióticos (Fuente: Kirbis & Krizman, 2015).

1.2.2.5 Antibióticos en animales productores de alimentos

La administración de agentes antimicrobianos, usados como promotores del crecimiento, a animales se han utilizado desde hace aproximadamente 50 años. En la década de los 60 su uso comercial se encontraba extensamente dilatado en Europa. Se utilizaban sustancias que a mayores dosis tenían acciones terapéuticas (Cepero Briz, 2006). Produciendo beneficios en la producción animal y en el desarrollo económico (Flynn, 2012). Son diferentes los agentes antimicrobianos que se emplean a nivel mundial en el tratamiento de enfermedades bacterianas de animales, particularmente en aquellos empleados en la producción de alimentos (tabla 3). Se comenzaron a criticar estas prácticas, manifestando posibles peligros para la salud humana, siendo un motivo la posibilidad que en el intestino de los animales se ocasione una selección de bacterias con resistencia a antibióticos, y las bacterias se transfieran al ser humano por los alimentos, causando infecciones complicadas de tratar (Van den Bogaard & Stobberingh, 2000).

Principalmente los residuos contaminantes originarios de los medicamentos y que aparecen en los animales para el consumo humano son los antibióticos. Su utilización como estimulantes de la producción animal está aceptado desde 1996, señalando las siguientes ventajas económicas:

- Aumento de la ganancia media diaria de las producciones animales entre un 5% y un 15%.
- Aumento del índice de conversión del pienso.
- Rapidez de crecimiento, aproximando la tasa de crecimiento al potencial genético.
- Gasto de menor cantidad de alimento por kilogramo de ganancia corporal.
- Menor mortalidad y morbilidad.

Relación positiva eficacia/coste (Walton, 1996; Duran, 2017).

La utilización de antibióticos a cantidades subterapéuticas favorece a la selección de resistencia, impulsa la selección y diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos y de genes de resistencia.

Tabla 3. Antimicrobianos aprobados por la *Food and Drug Administration*, como aditivos en alimentación (Allen y Stanton, 2014).

Antimicrobial	Uses/therapies ^c
Clopidol, narasin, nicarbazin, robenidine, salinomycin, semduramicin	Prevent coccidiosis (C)
Decoquinate	Prevent coccidiosis (C, BC)
Didazuril, halofuginone, zoalene	Prevent coccidiosis (C, T)
Amprolium	Prevent coccidiosis (C, T, BC, DC)
Lasalocid	Prevent coccidiosis (C, T, BC), increase rate of weight gain/feed efficiency (BC)
Clopidol	Prevent leucocytozoonosis (<i>Leucocytozoon smithii</i>) (T)
Bacitracin (BMD) Bacitracin (Zn)	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T, S) Increase egg production (C) Aid to prevent/control enteritis (C,T) Treat chronic respiratory diseases (air sacculitis) and blue comb (C) Control swine dysentery, clostridial enteritis (S) Reduction in feedlot liver abscesses (BC) Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T, S, BC)
Bambermycin	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T, S, BC)
Carbadox	Increase rate of weight gain/feed efficiency (S) Control swine dysentery (<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>), enteritis (salmonellosis) (S)
Chlortetracycline ^d	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T, S, BC) Control infectious synovitis (mycoplasma) (C, T) Control respiratory diseases: air sacculitis (C), shipping fever (BC), <i>Pasteurella pneumonia</i> (S) Reduce mortality of <i>Escherichia coli</i> infections (C) Control hexamitiasis and blue comb (T) Control of anaplasmosis: <i>Anaplasma marginale</i> infections (BC) Reduce mortality of <i>Salmonella enterica</i> Typhimurium infections (T) Decrease incidence of jowl abscesses (Group E <i>Streptococcus</i>), leptospirosis (S) Treatment and control of bacterial enteropathies: <i>Lawsonia intracellularis</i> (S), <i>E. coli</i> (BC, S)
Florfenicol	Control respiratory diseases (S)
Laidlomycin	Increase rate of weight gain/feed efficiency (BC)
Lincomycin	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, S) Treat and control swine dysentery (<i>B. hyodysenteriae</i>) (S), <i>Lawsonia proliferative ileitis</i> Reduce severity of mycoplasma pneumonia (S)
Monensin	Prevent coccidiosis (C, T, BC) Increase rate of weight gain/feed efficiency (BC) Increase milk production efficiency (DC)
Neomycin/oxytetracycline ^e	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T, S) Control infectious synovitis, fowl cholera, and chronic respiratory diseases, air sacculitis (<i>Mycoplasma</i> and <i>E. coli</i>) (C) Control hexamitiasis (<i>Hexamita meleagridis</i>) and infectious synovitis (<i>Mycoplasma synoviae</i>) (T) Treat bacterial enteritis, bacterial pneumonia Control colibacillosis (<i>E. coli</i>) (S, BC) Control and treat leptospirosis (S) Increase rate of weight gain/feed efficiency (BC) Reduce liver abscesses (BC)

Antimicrobial	Uses/therapies ^c
Penicillin	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T, S)
Roxarsone ^f	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, T) Treat swine dysentery (<i>B. hyodysenteriae</i>) (S)
Sulfadimethoxine/ormetoprim	Prevent coccidiosis (C, T) Aid to prevent infectious coryza (<i>Haemophilus gallinarum</i>), colibacillosis (<i>E. coli</i>), fowl cholera (<i>Pasteurella multocida</i>) (C, T)
Tiamulin	Control of swine dysentery (<i>B. hyodysenteriae</i>), proliferative ileitis (<i>L. intracellularis</i>) (S)
Tilmicosin	Control of respiratory diseases (S, BC, BD)
Tylosin	Increase rate of weight gain/feed efficiency (C, S) Aid in control of chronic respiratory diseases (C) Control of swine dysentery (<i>B. hyodysenteriae</i>) and proliferative ileitis (<i>L. intracellularis</i>) (S) Reduce liver abscesses (BC)
Tylosin/sulfamethazine	Lower incidence and severity of atrophic rhinitis (<i>Bordetella bronchiseptica</i>) (S) Prevent swine dysentery (<i>B. hyodysenteriae</i>) Control bacterial pneumonias (<i>P. multocida</i> , <i>Arcanobacterium pyogenes</i>) Reduce incidence of jaw abscesses (Group E <i>Streptococcus</i>)
Virginiamycin	Increase rate of weight gain/feed efficiency (not used in egg layers) (C, T, S, BC) Prevent necrotic enteritis (<i>Clostridium perfringens</i>) (C) Control and treatment of swine dysentery (<i>B. hyodysenteriae</i>) (S) Reduce liver abscesses (BC)

Los antibióticos promotores del crecimiento, la medicación en masa empleada para tratar simultáneamente a varios animales, la aplicación de antibiótico en el agua de bebida, favorecen la diseminación de determinantes de resistencia a antibióticos (Teale, 2002; WHO, 2009). La aplicación de bajas dosis de antibióticos durante un tiempo largo crea condiciones idóneas para la selección de resistencias, lo que asienta el primordial argumento de los defensores de la prohibición de los antibióticos promotores del crecimiento (Bywater, 2005). Se ha declarado un paralelismo en el tiempo entre el aumento de bacterias resistentes en la microbiota intestinal animal y humana y el uso de antibióticos promotores del crecimiento (Cepero Briz, 2006).

1.2.2.6 Uso de agentes antimicrobianos en alimentación animal

Como se ha comentado anteriormente los antibióticos que son empleados en la producción de alimentos se usan como promotores del crecimiento, tratamiento en animales enfermos y como preventivos de enfermedades, desencadenando así un uso abusivo. El problema llega cuando los antibióticos usados de mala manera en la ganadería, son los mismos que se utilizan en clínica humana, aumentando el peligro de bacterias resistentes, provocando infecciones en el hombre y los animales (WHO, 2012, 2014).

A todo esto, debemos sumar el incremento en el uso de biocidas en la desinfección de superficies en la industria alimentaria y su presencia en numerosos productos del día a día.

La producción a gran escala de clortetradina mediante cultivos de *Streptomyces aureofaciens* eran eficientes para el crecimiento de pollo deficientes en B12. También se demostró que aumentaba la tasa de crecimiento en pollos, la estreptomicina o sulfariotiazol, al igual que la aureomicina purificada y la penicilina, beneficiosas para el crecimiento de pollos y cerdos. Entre las sustancias utilizadas en el pienso como promotores de crecimiento destacan: penicilina, oxitetraciclina, kanamicina, espiramicina, el combinado de tetraciclina, sulfonamida y penicilina y preparados a base de dióxidos de quinoxalina (Márquez, 2017).

El 4/5 de los antibióticos producidos a nivel mundial son suministrados a animales (World Health Organization, 2011). Según los autores Bbosa & Mwebaza, (2013), Graham *et al*, (2007) y Giguère, (2006) se usaban en animales por diferentes causas:

1. Las bacterias estimulan la síntesis intestinal de vitaminas.
2. En el tracto gastrointestinal, se reduce el número total de bacterias. Bajando la competencia por los nutrientes entre el hospedador y microorganismos.
3. Inhibición de bacterias perjudiciales.
4. La ureasa bacteriana se inhibe.
5. La eficiencia energética del intestino mejora.
6. La actividad de la colitaurina hidrolasa bacteriana se inhibe.
7. Ahorro de nutrientes y mejora de la farmacocinética de los nutrientes.
8. La actividad enzimática intestinal se modifica.
9. La estimulación inmune disminuye debida al estrés causado por la aglomeración de los animales.

A finales de los años noventa, la Unión Europea empezó a prohibir el uso de antibióticos usados como promotores del crecimiento. Se comenzó a pedir el uso adecuado en las granjas de los antibióticos.

La FDA ha dado pautas para impulsar el uso adecuado de antimicrobianos de trascendencia médica en la cría de animales:

- a) Excluir en la producción animal el uso de antimicrobianos para aumentarla.
- b) Para el control o la prevención de enfermedades, trabajar con un amparo científico.

c) La Directiva Veterinaria de piensos debe ser la encargada de la comercialización de antimicrobianos en el caso de antimicrobianos que se administran con los piensos, o aquellos que se administran con el agua, que exista supervisión por un veterinario (FDA, 2013; Márquez, 2017).

1.2.2.7 Vigilancia

Según la WHO (2012), la vigilancia implica la recopilación y el análisis sistemáticos de datos relacionados con la salud y la difusión a quienes los utilizarán en la toma de decisiones sobre cuestiones de salud pública. La vigilancia continua y rutinaria de la resistencia a los antimicrobianos permite analizar las tasas de resistencia a los antimicrobianos entre las bacterias que infectan o colonizan a individuos en lugares determinados durante los períodos de tiempo definidos. Mediante la vigilancia del uso de antimicrobianos se realiza un seguimiento tanto de la cantidad de antimicrobianos que se utilizan como de que manera los utilizan los pacientes y los proveedores de atención de la salud. El alcance de las actividades abarca desde instalaciones sanitarias o a nivel comunitario local hasta dominios más amplios a nivel subnacional y nacional o más allá. Las unidades locales de vigilancia podrían vincularse a nivel nacional e internacional para proporcionar información de vigilancia nacional, regional y mundial. El objetivo final de la vigilancia del uso de los antimicrobianos y la resistencia a los antimicrobianos es proporcionar la información, los conocimientos y las herramientas necesarias para orientar la política sobre el uso adecuado de los antimicrobianos e informar y evaluar las intervenciones de contención de la resistencia a nivel local, nacional y mundial. Las decisiones sobre las intervenciones deben equilibrar la necesidad de proporcionar una terapia antimicrobiana eficaz a los pacientes de hoy con la necesidad de preservar la utilidad de los medicamentos para las generaciones futuras.

La información generada a través de la vigilancia del uso y de la resistencia puede considerarse complementaria. A nivel local, los datos se utilizan para formular recomendaciones para el uso racional de antibióticos y directrices estándar de tratamiento y para garantizar que los proveedores de atención de la salud cumplan con las recomendaciones. A nivel subnacional o nacional, los datos sobre resistencia y uso conjunto informan decisiones políticas como el desarrollo o la revisión de listas

de medicamentos esenciales, e identifican prioridades para la acción de salud pública, como campañas de educación o medidas reglamentarias (WHO, 2012)

A nivel regional y mundial, los datos de vigilancia han demostrado ser herramientas de promoción inestimables para estimular a los políticos y a los proveedores de atención de la salud a tomar medidas urgentes, como se ejemplifica en este y otros trabajos. Por el contrario, la falta de vigilancia puede conducir a políticas mal dirigidas e ineficaces, pérdida de recursos limitados, terapia inadecuada y, en última instancia, sufrimiento humano y muerte a través de la incapacidad de proporcionar un medicamento eficaz a los pacientes necesitados (WHO, 2012).

1.2.2.8 Medidas para el buen uso de antibióticos

La resistencia a los antimicrobianos es una consecuencia del uso de antimicrobianos, y existe una clara relación entre el uso y la aparición de resistencia tanto a nivel individual como poblacional. Los antibióticos más utilizados, especialmente cuando se utilizan indebidamente, son aquellos que tienen una mayor presión selectiva ejercida sobre las bacterias para adquirir genes de resistencia, de ahí la necesidad de limitar el uso de estos medicamentos a lo necesario y apropiado. El uso racional de medicamentos requiere que los pacientes reciban medicamentos adecuados a sus necesidades clínicas, en dosis que satisfagan sus propios requisitos individuales durante un período de tiempo adecuado y al menor costo para ellos y su comunidad (WHO, 2012).

Hay al menos dos factores adicionales que deben tenerse en cuenta en relación con el uso racional de antibióticos:

- Para que un antibiótico sea eficaz debe ser de buena calidad, y las bacterias que causan la infección deben ser susceptibles a él. Por lo tanto, el uso racional de antibióticos requiere información derivada de pruebas de susceptibilidad microbiológica y una calidad garantizada del antibiótico utilizado (WHO, 2012).
- El uso de antibióticos tiene consecuencias tanto para el paciente individual como para la sociedad. El uso individual puede conducir a la selección de bacterias resistentes a los antibióticos que luego pueden infectar a otros miembros de la población, causando infecciones que pueden ser difíciles de tratar. Los antimicrobianos son la única clase de medicamentos de hoy en día para los que la obsolescencia resulta del uso (WHO, 2012).

1.2.2.9 Reducir el uso de antibióticos en ganadería

Los antibióticos se han utilizado durante mucho tiempo para tratar enfermedades, prevenir enfermedades y mejorar la eficiencia alimenticia en la producción convencional de ganado y aves de corral. Se estimó que los antibióticos administrados a los cerdos ahorran hasta un 20% de alimento por libra de aumento de peso (Allen *et al*, 2013).

Los antibióticos se utilizan ampliamente y en grandes cantidades para garantizar la salud y promover el crecimiento del ganado y aves de corral criados para la producción de alimentos. El hecho de que se utilicen mayores cantidades en animales sanos que en seres humanos no sanos es motivo de grave preocupación, ya que se ha demostrado que los animales pueden transmitir patógenos resistentes a los humanos. Algunos países han prohibido el uso de antibióticos como promotores del crecimiento, pero la práctica sigue siendo generalizada. La legislación y la reglamentación con respecto a la observancia son necesarias para controlar el uso de antibióticos para estos fines en muchos países (WHO, 2012).

- Reducir los antimicrobianos usados en ganadería para minimizar el problema de la resistencia a antibióticos

Al igual que en la atención médica para las personas, la introducción de antimicrobianos fue un hito importante en la práctica veterinaria. Al igual que en los seres humanos, estos medicamentos se utilizan para el tratamiento de enfermedades infecciosas en mascotas domésticas individuales y en animales agrícolas y productores de alimentos para garantizar el bienestar animal y la producción mundial de alimentos. Por lo tanto, el desarrollo y la propagación de la resistencia a antibióticos también son preocupantes en la medicina veterinaria. Además, las bacterias resistentes transportadas por animales productores de alimentos pueden propagarse a las personas, principalmente a través del consumo de alimentos cocidos inadecuadamente, la manipulación de alimentos crudos o por contaminación cruzada con otros alimentos, pero también a través del medio ambiente (por ejemplo, agua contaminada) y mediante el contacto directo con los animales (WHO, 2012).

- Posición actual a las recomendaciones

Los grupos de trabajo organizados por la OMS, la Organización de las Naciones Y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) han propuesto opciones para que las autoridades nacionales e internacionales adopten medidas (WHO, 2012).

En varios países ya se están incoando intervenciones a gran escala, dirigidas principalmente a reducir el uso de clases específicas de agentes antimicrobianos, especialmente los utilizados en la práctica clínica humana. Las medidas a seguir incluyen la introducción y aplicación de reglamentos, métodos para promover el uso prudente de antibióticos y medidas para mejorar la salud animal, de modo que se necesite menos tratamiento con antibióticos. Varias de estas intervenciones han llevado a una reducción demostrable de la resistencia a los antibióticos, aunque no siempre es así (WHO, 2012).

- Mejorar la salud animal

Para reducir el uso de los antimicrobianos, es necesario descender su utilización. Para llevar a cabo esto, es necesario asegurar la salud animal para ello la mejor opción es mediante la inmunización de infecciones. La gran parte de los antimicrobianos se utilizan como profilácticos y promotores del crecimiento sin que se tenga constancia de su necesidad ni de su beneficio, por este motivo no es seguro que el consumo de antimicrobianos se reduzca, aunque se promueva la salud animal (Lavilla Lerma *et al*, 2014).

- Alternativas al uso de antimicrobianos en ganadería

Son necesarias nuevas alternativas en la utilización de antibióticos en la industria alimentaria. El conocimiento de los mecanismos por el que los antibióticos favorecen el crecimiento animal, es un importante tema. Varios de los mecanismos pueden ser: eliminación de patógenos, la reducción de la carga bacteriana, modulación directa del sistema inmune y estrechamiento de la capa mucosa (Allen *et al.*, 2012; Lavilla Lerma *et al*, 2014).

- Aditivos alimentarios: la suplementación de prebióticos o ácidos orgánicos, provoca la disminución y limita la supervivencia de patógenos en el intestino, los probióticos serían favorables al ser capaces de colonizar el intestino. Hay que mencionar que el uso de prebióticos y probióticos para esta causa no han

aportado concluyentes resultados. Por otra parte, añadir prebióticos como fibra, puede regular la microbiota intestinal en favor del hospedador o estimular la fabricación de metabolitos beneficiosos (WHO, 2012).

- Fagos: esta estrategia implica el uso de virus bacterianos, para actuar frente a una determinada bacteria, por lo que no se producen daños de disbiosis. Los inconvenientes podrían derivar de la neutralización de los fagos por el sistema inmune tras tratamientos repetidos, y el desarrollo de resistencias a los fagos. También podrían darse transferencia de factores de virulencia o genes de resistencia desde el fago a la bacteria hospedadora (WHO, 2012).

- Vacunas: esta medida favorecería a la reducción del uso de antibióticos debido a la disminución de infecciones (WHO, 2012).

1.2.2.10 Papel de los antibióticos en el medio ambiente

El uso excesivo de agentes antimicrobianos para tratar tanto a humanos como a animales también ha causado la acumulación de estos compuestos en el medio ambiente, y el impacto de dicha acumulación en la aparición de resistencia a los antibióticos no debe subestimarse. Los agentes antibacterianos tienen varias vías de entrada al medio ambiente diferentes (imagen 11), como las aguas residuales de la comunidad u hospitales a través del estiércol y cuerpos de agua.

La acumulación de agentes antibacterianos selecciona aún más los microorganismos resistentes, convirtiendo el medio ambiente en un depósito gigantesco para los genes de resistencia a los antibióticos que se alimenta de la constante y creciente contaminación ambiental. Las plantas de tratamiento de aguas residuales se han convertido en un punto caliente para la transferencia horizontal de genes y la coselección de determinantes genéticos que proporcionan resistencia a antibióticos, contaminantes, metales pesados, biocidas y desinfectantes o detergentes. La legislación actual sobre la calidad del agua se centra principalmente en la presencia de microorganismos indicadores, pero no aborda las concentraciones de antibióticos de las aguas residuales y las plantas de tratamiento (Roca *et al*, 2015)

Las bacterias resistentes a antibióticos viven y permanecen de modo estable en el medio ambiente, También, en los ecosistemas del intestino de los animales. En las granjas donde se ha limitado el empleo de antibióticos persisten genes comunes de resistencia a antibióticos. alguna de las explicaciones a esta persistencia en la resistencia son, que entre ellas sobresalen la abundancia de subespecies bacterianas existentes, la estimulación de la transferencia horizontal de genes por concentraciones subinhibitorias de antibióticos y la coselección de clusters de genes de adaptabilidad. Las bacterias resistentes a los antibióticos presentes en animales de granja son soltadas al medio. El medio ambiente brinda una ocasión para la coexistencia de bacterias originarias de fuentes dispares, combinando heterogéneas fuentes de genes de resistencia (Márquez, 2017).

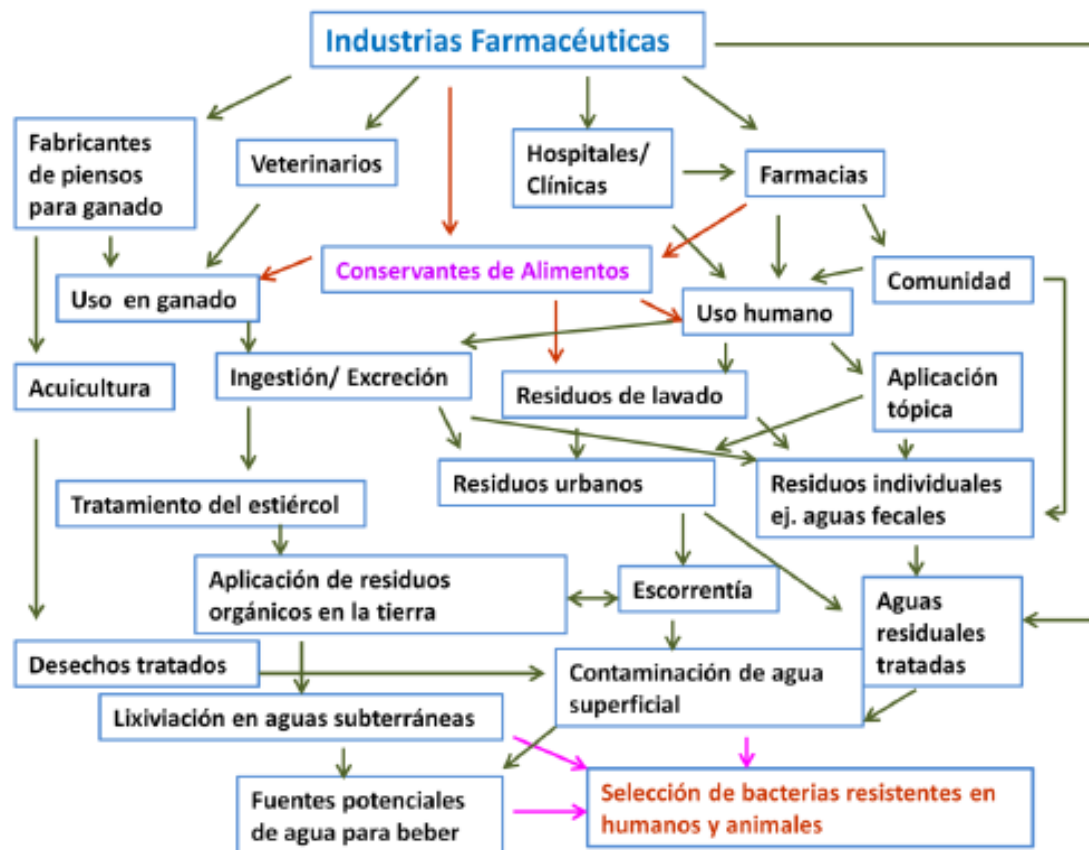


Figura 11. Distribución de antibióticos. (Fuente: Bbosa & Mwebaza, 2013; Márquez 2017).

1.3 Biopelículas

Las biopelículas o biofilms, puede definirse según Mah & O'Toole, (2001), como:

Una comunidad bacteriana sumida en un medio líquido, distinguida por bacterias que se encuentran unificadas a un sustrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes. (pág. 34).

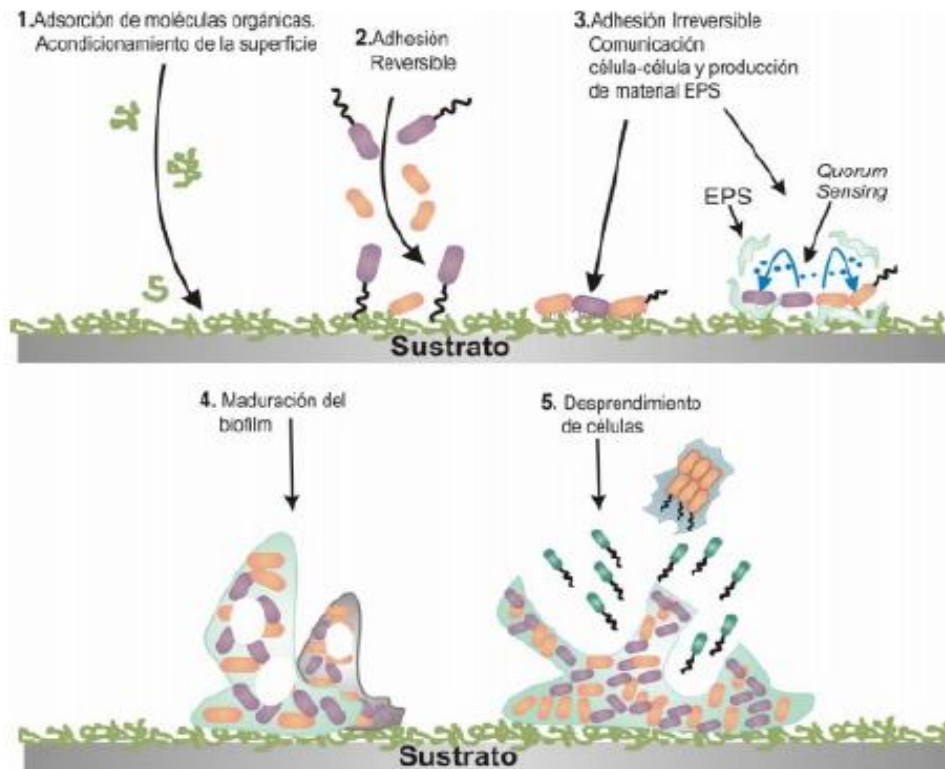


Figura 12. Esquema representando las etapas presentes durante el desarrollo de un *biofilm* sobre un sustrato (Díaz, 2011).

Los biopelículas están compuestos por muchos microorganismos, de igual o de diferente especie, que luchan entre ellos por los nutrientes y el oxígeno (Nivens *et al*, 1995). En general, la gran parte de los microorganismos presentes en biopelículas son aerobios, también existen microorganismos anaerobios, puede deberse a que aunque el oxígeno se distribuye a través de los canales, en la zona interior de las biopelículas es más difícil su difusión y por esta causa existe una baja concentración del gas (Genigeorgis, 1995).

1.3.1 Intercambio genético

Las bacterias tienen la facultad de transferir genes por procesos de transposones, transferencia de plásmidos, transformación y de conjugación. La transferencia génica mediada por plásmidos ha aumentada entre las bacterias de las biopelículas (Ghigo, 2001). Viven genes que se encuentran relacionados con la resistencia a antibióticos, si estos genes se transfieren entre los microorganismos de las biopelículas y se expresan, causarán una ampliación de la capacidad de resistencia a uno o varios antibióticos.

1.3.2 Biofilms y resistencia a antibióticos

Hay distintas teorías que explican por qué el desarrollo de las bacterias en las biopelículas incrementa su resistencia a los antibióticos:

1. El grosor las biopelículas y el glicocálix dificulta el acceso de los antibióticos a las células de las biopelículas (Stewart, 1996).
2. Cuando hay limitación de nutrientes se produce un crecimiento lento de las células. La ausencia de crecimiento produce un aumento de resistencia a antibióticos. Puede ser debido al cambio fisiológico provocado por el estrés (Tuomanen *et al*, 1986).
3. La localización de cada célula dentro de la biopelícula tiene una respuesta diferente a los antimicrobianos, son más resistentes las células de la zona interna (Mah & O'Toole, 2001).
4. Hay antibióticos inducen la expresión de genes que provocan un aumento de la resistencia a antibióticos, un ejemplo de esto se ve en *Escherichia coli* que, en respuesta al cloranfenicol, induce la expresión de bombas de expulsión inespecíficas, que dan multirresistencia a diferentes compuestos (Moreira *et al*, 2005).
5. Los antibióticos incitan el crecimiento de las biopelículas. Los antibióticos inducen la formación máxima del biofilm a concentraciones inferiores o iguales a la CMI/2, pero algunos inducen la máxima formación a concentraciones superiores a la CMI/2 (Kaplan, 2011).
6. En las biopelículas hay transferencia de genes de resistencia por plásmidos conjugativos. Este mecanismo de transferencia horizontal de genes de resistencia está incrementado respecto a las bacterias planctónicas (Moreira *et al*, 2005).

2. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo se centra en una revisión de la resistencia a antimicrobianos en bacterias aisladas de productos cárnicos, ya que la industria alimentaria es un ambiente adecuado para el desarrollo de resistencia a biocidas y antibióticos. Tendrá los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar la incidencia de resistencia a antibióticos y tolerancia a biocidas en bacterias procedentes de productos cárnicos.
2. Conocer la biodiversidad bacteriana de potenciales microorganismos patógenos, portadores de resistencias.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Resistencia a antimicrobianos

En los estudios realizados en España por la autora Durán (2017) a la carne, en este caso carne de pollo, los materiales y métodos usados fueron los siguientes:

3.1.1 Materiales

Se usaron distintos medios de cultivo:

- PCA

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

AGAR	15 g
PEPTONA	5 g
GLUCOSA	1 g
EXTRACTO DE LEVADURA	2.5 g

Se añaden los componentes al agua destilada y se lleva el volumen hasta 1 L. A continuación, se homogeniza y una vez homogenizado se calienta suavemente hasta que llegue a ebullición. Se distribuye en tubos o matraces que se autoclavan durante 15 min a 15 psi de presión y a 121 °C. Por último, se vierte en placas de Petri estériles (Ronald, 2010).

Este medio se usa para estudiar la microbiota aerobia variable que necesita un tiempo de incubación de 30°C durante unos 72h (Jay, 2002) y psicrotrofos que necesitan una temperatura de 7°C y un tiempo de unos 10 días (Cousin *et al*, 2001).

- VRBGA

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

AGAR	12 g
GLUCOSA	10 g
PEPTONA	7 g
NaCl	5 g
EXTRACTO DE LEVADURA	3 g
SALES BILIARES	1.5 g
ROJO NEUTRO	0.03 g
CRISTAL VIOLETA	2 mg

Se añaden los componentes al agua destilada y se lleva el volumen hasta 1 L. A continuación, se homogeniza y una vez homogenizado se calienta suavemente hasta que llegue a ebullición. No se autoclava. Y por último se vierte en placas de Petri o se distribuye en tubos estériles (Ronald, 2010).

Este medio se usa para el cultivo de *enterobacteriaceae*, el cual necesita una incubación a 35°C durante 24h (Baird *et al*, 1987).

- VRBA

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

AGAR	15 g
LACTOSA	10 g
GLUCOSA	10 g
PEPTONA	7 g
NaCl	5 g
EXTRACTO DE LEVADURA	3 g
SALES BILIARES	1.5 g
ROJO NEUTRO	0.03 g
CRISTAL VIOLETA	2 mg

Se añaden los componentes al agua destilada y se lleva el volumen hasta 1 L. A continuación, se homogeneiza y se calienta suavemente mientras remueves y llega a la ebullición. Se distribuye en tubos o matraces y se autoclavan durante 15 min a 15 psi de presión y 121°C. Y por último se vierte en placas de Petri o distribuye en tubos estériles (Ronald, 2010).

Este medio se usa para el cultivo de *Coliformes fecales* a 45°C durante 24 horas (Baird *et al*, 1987).

- KAA

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

CASEINA DE DIGESTIÓN PANCREÁTICA	20 g
AGAR	10 g
NaCl	5 g
EXTRACTO DE LEVADURA	5 g
ESCULINA	1 g
CITRATO DE SODIO	1 g
CITRATO DE AMONIO FÉRRICO	0.5 g
NaN ₃	0.15 g
SOLUCIÓN DE SULFATO DE KANAMICINA	10 ml

Se añaden los componentes al agua destilada y se lleva el volumen hasta 1 L. A continuación, se homogeneiza y se calienta hasta llegar a la ebullición. Se distribuye en tubos o matraces y se autoclavan durante 15 min a 15 psi de presión y 121°C. Y por último se vierte en placas de Petri o distribuye en tubos estériles (Ronald, 2010).

Este medio se usa para el cultivo de *Enterococcus* a 42°C durante 24 horas (Baird *et al*, 1987).

- CFC

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

PEPTONA	16 g
AGAR	11 g
CASEINA DE DIGESTIÓN PANCREÁTICA	10 g
K ₂ SO ₄	10 g
MgCL ₂ ·6H ₂ O	1.4 g
SUPLEMENTO CFC	10 ml
GLICEROL	10 ml

Se añaden los componentes al agua destilada, excepto el suplemento selectivo CFC, y se lleva el volumen a 990 mL, se homogeneiza y se calienta hasta llegar a la ebullición. Se distribuye en tubos o matraces y se autoclavan durante 15 min a 15 psi de presión y 121°C. Se enfría a 45°C-50°C. Se añaden asépticamente el suplemento selectivo de CFC estéril. Homogeneizar. Y por último se vierte en placas de Petri o distribuye en tubos estériles (Ronald, 2010).

Este medio se usa para el cultivo de *Pseudomonas spp.* a 25°C durante 48 horas (Baird *et al*, 1987).

- OGYEA

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

GLUCOSA	20 g
AGAR	12 g
EXTRACTO DE LEVADURA	5 g
BIOTINA	0.1 mg
SOLUCIÓN DE OXITETRACICLINA	10 ml

Se añaden los componentes al agua destilada, excepto la solución de oxitetraciclina, y se lleva el volumen a 990 mL, se homogeneiza y se calienta hasta llegar a la

ebullición. Se distribuye en tubos o matraces y se autoclavan durante 10 min a 10 psi de presión y 115°C. Se enfría a 45°C-50°C. Se añaden asépticamente la solución de oxitetraciclina de CFC estéril. Homogeneizar. Y por último se vierte en placas de Petri o distribuye en tubos estériles (Ronald, 2010).

Este medio se usa para el cultivo de Mohos y levaduras. a 25°C durante 5 días (Baird *et al*, 1987).

- BP

Para llevar a cabo la preparación de este medio son necesarios:

Composición por litro:

AGAR	17 g
GLICINA	12 g
PIRUVATO DE SODIO	10 g
CASEINA DE DIGESTIÓN PANCREÁTICA	10 g
EXTRACTO DE CARNE DE VACA	5 g
LiCl	5 g
EXTRACTO DE LEVADURA	1 g
SOLUCIÓN DE SULFADIMIDINA	10 ml

Se añaden los componentes al agua destilada, excepto la solución de sulfadimidina, y se lleva el volumen a 990 mL, se homogeneiza y se calienta hasta llegar a la ebullición. Se distribuye en tubos o matraces y se autoclavan durante 15 min a 15 psi de presión y 121°C. Se enfría a 45°C-50°C. Se añaden asépticamente la solución de sulfadimidina estéril. Homogeneizar. Y por último se vierte en placas de Petri o distribuye en tubos estériles (Ronald, 2010). Este medio se usa para el cultivo de *Staphylococcus aureus* (Durán, 2017)

Por otra parte, para determinar la susceptibilidad a antibióticos por el medio de difusión por disco-placa se usarán los siguientes materiales:

- Tubos con suero fisiológico.
- Escobillones estériles.
- Medio de cultivo (agar Mueller-Hinton).
- Discos de antibióticos

3.1.2 Métodos

En esta parte se va a hacer referencia a los métodos más utilizados para el estudio de resistencia a antimicrobianos.

En los ensayos de Durán (2017), se tomaron muestras de carne de diferentes establecimientos comerciales. Se pesaban unos 300 g de cada muestra y se introdujeron de forma inmediata en bolsas de plástico estéril y se transportó al laboratorio en una nevera portátil, donde se almacenaron entre 4 ± 1 °C para posteriormente poder realizar los análisis microbiológicos.

Se tomaron alícuotas de 10 g de cada una de las muestras, junto con 90 ml de agua de peptona al 0,1% se homogenizaron con ayuda de un stomacher. Una vez que la muestra estaba homogenizada se hicieron diluciones decimales en el mismo diluyente utilizado en los ensayos anteriores. Las siembras se realizaron por duplicado en las placas de Petri con los distintos medios de cultivo y se incubaron en condiciones aeróbicas.

Posteriormente se realizó un recuento de las UFC/ml de los medios ensayados. Para el recuento de las colonias de *Pseudomonas fluorescens* que crecieron en el medio CFC fue necesario una luz ultravioleta.

Las cepas fueron caracterizadas por el método de tinción de Gram, actividad oxidativa y la producción de catalasa. Los aislamientos correspondientes con cocos Gram-positivos, catalasa positiva y oxidasa negativa se identificaron con un sistema API.

Además, en cada una de las placas se realiza un recuento de unidades formadoras de colonias de Psicrotrofos, *Enterobacteriaceae*, Coliformes fecales, Enterococos, *Pseudomonas* spp, Mohos y levaduras y *Staphylococcus aureus* Durán (2017).

Después de esto se determinó la susceptibilidad a antibióticos por el medio de difusión por disco-placa que está basado en los métodos de Kirby-Bauer que es recomendado para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Este método se basa en inocular una placa de Petri, que posee una superficie con agar, con un

microorganismo y a continuación depositar discos de papel secante que contienen diferentes antibióticos, cuando este se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, este absorbe agua y el antibiótico se difunde por el medio. El antibiótico difunde a partir del disco a través del espesor del agar formándose un gradiente de concentración. Pasadas de 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición.

Para determinar la resistencia a antibióticos en enterobacterias, enterococos, estafilococos y bacilos gram-negativos se procederá de la siguiente forma:

Se toman varias colonias de una placa de cultivo con un asa de siembra y se ajusta el inóculo a una turbidez igual al 0.5 de la escala de MacFarland en suero fisiológico. Agitar. A continuación, se introduce un escobillón dentro de la suspensión y se inoculan las placas de Mueller-Hinton, deslizando el escobillón por la superficie del agar, rotando la placa unos 60° cada vez para conseguir una siembra uniforme y a continuación depositar los discos.

Se colocan los discos manualmente con pinzas estériles o dispensadores. Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie del agar. A continuación, se incuban las placas invertidas, a 35°C en atmósfera aeróbica. Las placas se incubarán 16-18 horas. Por último, se procede a lectura de los resultados, en la cual se tiene en cuenta el diámetro del halo. Comparando los diámetros del halo de inhibición con las cargas mínimas inhibitorias, se han fijado unos parámetros para clasificar las cepas estudiadas. De esta forma se han fijado tres categorías: sensible (S), intermedia (I) y resistentes (R) (Cantón *et al*, 2020)

ANTIBIOGRAMA DE DISCOS

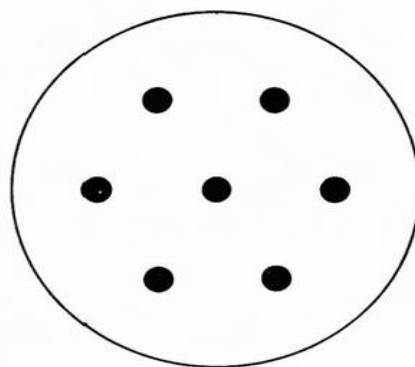


Figura 13. Patrón de distribución de los discos de antibióticos en el medio de cultivo. (Fuente: Bernal & Guzmán (1984)).

En la mayoría de los estudios (Durán, 2017) se suele ensayar la susceptibilidad de las cepas aisladas frente a diferentes antimicrobianos en agar Mueller-Hinton, empleando los siguientes discos de antibióticos:

- Amikacina
- Gentamicina
- Tobramicina
- Estreptomicina
- Ampicilina
- Oxacilina
- Penicilina G
- Cefazolina
- Cefoxitina
- Ceftazidima
- Imipenem
- Sulfametoxazol-trimetoprim
- Teicoplanina
- Vancomicina
- Eritromicina
- Cloranfenicol,
- Ácido nalidíxico
- Ciprofloxacina
- Tetraciclina
- Rifampicina

Tras incubar las placas a 35 °C durante 18-24 horas, se toman las medidas de los halos de inhibición y las cepas se clasifican como susceptibles, de susceptibilidad intermedia o resistentes en base a los criterios del CLSI.

Por otro lado, para determinar la presencia de genes de resistencia a antibióticos, se puede aplicar el método que fue usado en los estudios realizados por Lavilla Lerma *et al*, (2014) utilizando ensayos de PCR en tiempo real para la cuantificación de genes de resistencia a antibióticos como tetraciclinas, betalactámicos y sulfonamidas en productos cárnicos comerciales entre otras cosas.

La distribución de nueve determinantes genéticos dirigidos a la resistencia a la tetraciclina (tet), las betalactamasas de espectro extendido (bla) y la resistencia a la sulfonamida (sul) se seleccionaron sobre la base de la resistencia incrementada informada a dichos antibióticos en bacterias transmitidas por los alimentos. En particular, se analizaron los siguientes determinantes genéticos: dos genes de resistencia a betalactámicos (bla TEM y bla CTX), cuatro determinantes de genes de resistencia a la tetraciclina (tet A, tetB, tetO y tetQ) y tres determinantes de resistencia a la sulfonamida (sulI, sulII y sulIII) y el gen *pheS* (fenilalanil-tRNA sintasa). Para cada determinante de resistencia, se ensayaron por duplicado 25 µl de mezcla de reacción que incluye 3.75 µl de ADN, 1.25 µl de mezcla de cebador a 10 mM (para cada cebador directo e inverso), se analizaron 12,5 µl de 2x qPCR Master Mix con SYBR Green para BioRad iCycler y 7,5 µl de agua de grado molecular. Los análisis se realizaron utilizando un sistema y software de detección de PCR en tiempo real.

Las condiciones de reacción incluyeron desnaturalización inicial a 95 ° C (1 minuto y 30 segundos para todos los genes de resistencia y 2 minutos para el gen *pheS*), y luego 40 ciclos de 95 ° C (30 segundos) para los genes tet y sul , 50 ciclos de 95 ° C (30 segundos) para bla TEM y 45 ciclos de 95 ° C (30 segundos) para el gen bla CTX y 35 ciclos de 95 ° C (1 min) para el gen *pheS* , temperaturas de recocido, durante 30 segundos y 72 ° C durante 30 segundos para todos los genes excepto *pheS* (durante 35 segundos). Todas las reacciones se realizaron con estándares específicos diluidos en serie de cantidad conocida para cada gen como se describe en otra parte incluyendo el control negativo en cada ejecución. La curva estándar se generó clonando segmentos de genes en un vector plasmídico. Los plásmidos se purificaron y el ADN se cuantificó con un espectrofotómetro UV, y se diluyeron en serie para generar concentraciones para la curva estándar. Los coeficientes de correlación (r^2) para las curvas estándar fueron > 0,99 para las curvas de calibración, la eficiencia varió del 95 al 103% y el registro. Los valores de abundancia genética siempre estuvieron dentro del rango lineal de detección. Las abundancias del gen de resistencia a los antibióticos (ARG) se normalizaron a las abundancias del gen de mantenimiento de *pheS*.

3.2. Resistencia a biocidas

En un estudio reciente (Garrido *et al*, 2015), debido a que los biocidas se usan ampliamente para la desinfección, se determinó la tolerancia a los biocidas de *Salmonella* en los aislamientos disponibles de la provincia de Jaén.

3.2.1 Materiales

Para llevar a cabo el estudio se utilizó cloruro de benzalconio, cetrimida, cloruro de hexadecilpiridinio, triclosan y hexaclorofeno. Y las cepas aisladas provinieron de diferentes muestras de carne como carne de cerdo fresca, chorizo fresco, pechuga de pollo fresca y otros.

3.2.2 Métodos

Los cultivos overnight se inocularon aproximadamente 1×10^6 log₁₀ unidades formadoras de colonias (UFC) / ml en caldo BHI suplementado con diluciones en serie de diez veces de los siguientes biocidas: cloruro de benzalconio (BC), cetrimida (CT), cloruro de hexadecilpiridinio (HDPC), triclosán (TC) y hexaclorofeno (CF).

Las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) que se define como la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de la incubación durante 24 horas (López Aguayo, 2010), se determinaron por el método de microtutilación en microplacas de 96 pocillos después de 24 h de incubación a 37 ° C. Se incluyeron controles de crecimiento y esterilidad para cada aislado. Cuando con la MIC se inhiben la mayor parte de las cepas se considera que el microorganismo no es tolerante a los biocidas, mientras que más se tenga que aumentar la cantidad de MIC para inhibir el crecimiento de las cepas se considera que el microorganismo puede llegar a ser resistente a los biocidas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los estudios realizados por Villalpando-Guzmán *et al*, (2017) se determina la capacidad de susceptibilidad antimicrobiana y adherencia de cepas aisladas de *Salmonella enterica* en pollo, carne de res y carne de cerdo molida. De 2.592 muestras, *S. enterica* se aisló de 511 de todas las muestras analizadas (19,7%), de las cuales 244 (47,7%), 152 (29,7%) y 115 (22,5%) correspondía a carne molida de pollo, carne de res y cerdo, respectivamente. La frecuencia de resistencia de *S. enterica* a los antimicrobianos fue 95% por ciento (132/139) de las cepas aisladas de carne molida de pollo fueron resistentes a ampicilina 10 µg, seguido de cloranfenicol 30 µg con 82% de resistencia (114/139). El 100% de las cepas aisladas de carne molida de cerdo (101/101) fueron resistentes a carbenicilina 100 µg, ampicilina 10 µg, cloranfenicol 30 µg, cefotaxima 30 µg y perfloxacin 5 µg. En carne molida de res, 92,4% (109/118) fueron resistentes a perfloxacin 5 µg y 92,4% lo fueron a ampicilina 10 µg. (Villalpando-Guzmán *et al*, 2017).

En otros estudios realizados por Izzo *et al*, (2011) se estudió la prevalencia de resistencia a los antimicrobianos en aislamientos de *Salmonella* en terneros en Australia, la prevalencia fue la siguiente. La mayoría de los aislamientos de *Salmonella* no fueron resistentes a ninguno de los antimicrobianos probados. No se observó resistencia a la amikacina ni al ácido nalidíxico, y solo un aislado fue resistente al ceftiofur o al ácido amoxicilina-clavulánico. La resistencia antimicrobiana más común fue la estreptomicina, la ampicilina o las sulfonamidas combinadas. Se detectó resistencia a múltiples fármacos en *S. ser. Anatum*, *S. ser. Bovismorbificans*, *S. ser. Muenster*, *S. ser. Newport* y *S. ser. Typhimurium*. Los aislamientos de las propiedades de la carne de vaca lechera tenían más probabilidades de ser resistentes a la ampicilina, la kanamicina, la neomicina, el sulfametoxazol / trimetoprima y la tetraciclina y tenían más probabilidades de presentar resistencia a múltiples fármacos.

En china también se estudió la susceptibilidad a antimicrobianos en distintas cepas de *Salmonella* en pollos, vacas y cerdos. En las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, el 41.14% de *Salmonella* spp. fueron susceptibles a todos los agentes antimicrobianos, 48.14% fueron resistentes a al menos uno y 34.72% fueron resistentes a más de tres clases. Las cepas fueron altamente resistentes a sulfametoxazol-trimetoprima (39,61%), ácido nalidíxico (39,17%), doxiciclina (28,22%)

y tetraciclina (27,58%). La resistencia a las cefalosporinas y fluoroquinolonas varió de 5,25 a 7,44% y de 19,04 a 24,51%, respectivamente. Entre las cepas resistentes a la penicilina y cefalosporina, 25 aislamientos produjeron β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Las cepas de *Salmonella* multirresistente y productora de BLEE Las identificadas en animales sanos representan un desafío para la medicina veterinaria y la cría de animales de granja, y también podrían representar una amenaza para la salud pública. El nivel de resistencia a los antibióticos observado en este estudio destaca aún más la necesidad de un uso cuidadoso y selectivo de los antibióticos (Hui, 2015).

Escherichia coli es uno de los principales patógenos transmitidos por los alimentos a nivel mundial, que infecta a una amplia gama de animales y contamina sus productos cárnicos. *E. coli*, puede conducir a una alta morbilidad y mortalidad con una gran pérdida económica, especialmente si las enfermedades transmitidas por los alimentos están asociadas con patógenos resistentes a múltiples fármacos y multirresistentes (Ali et al, 2020).

Se tomaron muestras de preparaciones de carne de res, se analizaron un total de treinta muestras de preparaciones de carne producidas en tres establecimientos minoristas en la ciudad de León, en el noroeste de España. Los establecimientos involucrados fueron dos carnicerías y un supermercado. Se seleccionó un total de cuarenta aislamientos de *E. coli* y se utilizó el método de difusión de disco en agar Mueller-Hinton para comprobar la resistencia a distintos antibióticos como gentamicina, penicilina G, cefazolina, cefoxitina, cefotaxima, cefalotina, cefepima, cloranfenicol, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, tetraciclina, ampicilina-sulbactam y amoxicilina-ácido clavulánico. Solo tres cepas de *E. coli* (7.5%) fueron susceptibles a todos los antibióticos, cuatro (10.0%) fueron resistentes o intermedias a un antibiótico, y treinta y tres (82.5%) fueron multirresistentes (resistentes o intermedias a dos o más antibióticos). De estas últimas cepas treinta y tres cepas, seis (15%) mostraron resistencia o susceptibilidad reducida a dos antibióticos, ocho (20%) a tres antibióticos, cinco (12.5%) a cuatro antibióticos, siete (17.5%) a cinco antibióticos, dos (5%) a seis antibióticos, tres (7.5%) a siete antibióticos y dos (5%) a ocho antibióticos. Entre los resultados, cabe destacar el alto porcentaje de aislamientos con resistencia o susceptibilidad reducida a cefalotina (33 cepas, 82.5% de aislamientos) y tetraciclina (22 cepas, 55.0% de aislamientos) (González-Gutiérrez, 2020).

En los estudios realizados por Ruiz-Roldan *et al*, (2018) se estableció la resistencia de *Enterobacteriaceae* en distintos tipos de carne. Se recolectaron un total de 138 muestras de carne, 30 (21,7%) de carne de cerdo (chuleta), 44 (31,9 %) de carne de res (lomo) y 64 (46,4 %) de pollo (pierna). Los niveles de resistencia a los antimicrobianos fueron altos frente a trimetoprima-sulfametoxazol, tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacino y ácido nalidíxico. Los niveles de resistencia a múltiples antimicrobianos fueron particularmente altos en pollo y cerdos. En las muestras de cerdo, el 95 % fueron resistentes a ampicilina, el 90 % a tetraciclina, el 59,1 % a ácido nalidíxico y el 54,5 % a cloranfenicol y cotrimoxazol. En los aislados de *E. coli* de muestras de pollo, el 100 % fueron resistentes a cotrimoxazol, más del 90 % fueron resistentes a ampicilina y tetraciclina, más del 80 % fueron resistentes a quinolonas (ácido nalidíxico y ciprofloxacina) y cloranfenicol. En los antibióticos restantes, los niveles de resistencia fueron menores al 40 %, destacando la ausencia de resistencia a imipenem. Además, la presencia de β -lactamasas en *E. coli* aisladas de carne de pollo fue del 59,4 %. Y por último en las muestras de vacuno, el 52 % fueron resistentes a tetraciclina, el 48 % a ciprofloxacino y el 44 % a ampicilina.

Campylobacter jejuni es la causante de enterocolitis en humanos. La campilobacteriosis se ha descrito como zoonosis cuyo reservorio se encuentra en la microbiota intestinal de las aves de corral. Con el motivo de valorar la susceptibilidad de *C. jejuni*, por la manifestación de resistencia a los fármacos usados normalmente en el tratamiento de la diarrea aguda, se ejecutaron los sucesivos estudios (García, 2009). Se aislaron 73 cepas de *C. jejuni*. Los antimicrobianos que se usaron fueron eritromicina, azitromicina, ciprofloxacina y ampicilina, 32,4% de las cepas fue resistente a ciprofloxacina y 6,4% mostró susceptibilidad a ampicilina. No se vio resistencia a eritromicina ni azitromicina (García, 2009).

En los estudios de resistencia realizados a *C. jejuni* se usaron dos de los antibióticos más utilizados para terapia animal y humana como son norfloxacina y eritromicina. Las cepas de *C. jejuni* fueron aisladas de distintas partes de carne de pollo. De las 120 muestras, se aislaron 42 muestras de la especie *C. jejuni*. Se eligieron 28 cepas por su resistencia al ácido nalidíxico para ver la susceptibilidad a la eritromicina y norfloxacina. El 71,4 % de las cepas resistentes al ácido nalidíxico lo fue además para la eritromicina. Todas las cepas mostraron resistencia a la norfloxacina. Se concluye que la alta resistencia registrada para los distintos antimicrobianos en carne eleva el

riesgo de transferir *Campylobacter* con esta resistencia al humano, dificultando el éxito en la terapia antibacteriana (Giacoboni et al, 2001).

Es conveniente efectuar una vigilancia de resistencia antimicrobiana en *C. jejuni* para conocer aquellos antimicrobianos que provocan susceptibilidad y evaluar aquellos antimicrobianos usados en el tratamiento de la enterocolitis bacteriana (García, 2009).

Listeria monocytogenes, causante de la listeriosis tiene un impacto a nivel de salud afectando principalmente a personas de riesgo causando patologías como abortos, partos prematuros, septicemia y meningitis (Niño Jiménez et al, 2012).

Para el tratamiento de la listeriosis se usan medicamentos como penicilina, ampicilina y trimetoprim/sulfametoxazol (Niño Jiménez et al, 2012). En los estudios de Niño Jiménez et al, (2012) se tomaron muestras de carne de cerdo de diferentes puntos de venta, se encontró una incidencia del 33,3% de *L. monocytogenes* en las muestras de carne de cerdo. A continuación, se aislaron 45 muestras de *L. monocytogenes*, con respecto a la ampicilina y la penicilina todas las muestras fueron susceptibles con una MIC₉₀ DE 0,5 µg/mL. En el caso de rimetoprim/sulfametoxazol un 2,3% aislamiento fue resistente al antibiótico. Por último, el 100% de los aislados mostraron sensibilidad a amoxicilina, ácido clavulánico, rifampicina, meropenem, vancomicina y tetraciclina. Entre un 90-98% mostraron sensibilidad a cloranfenicol, azitromicina, ciprofloxacina y eritromicina. Mientras que un 75,6% mostraron resistencias a la clindamicina, se vió que los aislamientos de *L. monocytogenes* fueron sensibles a los antibióticos más usados habitualmente para tratar la listeriosis humana.

Estos estudios estuvieron en concordancia con los de otros autores. Carrascal (2012) describió un 100% de susceptibilidad para ambos antibióticos y los realizados por Ruiz et al, (2011) determinaron sensibilidad de un 84% a la penicilina y un 100% de susceptibilidad de las cepas para ampicilina.

Staphylococcus aureus, es un patógeno oportunista presente normalmente en las fosas nasales, piel y pelo de personas y animales, y es causa varias enfermedades, como enfermedades piógenas en piel, osteomielitis, abscesos, neumonía etc (Satuala Lofa, 2017).

Se aisló, identificó, cuantificó y evaluó el perfil de sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* de 24 muestras de carne de cabra fresca y fría, vendidas en mercados y supermercados. Se aislaron 27 muestras de *S. aureus*. Los antibióticos más eficaces fueron norfloxacin y vancomicina (100%), tetraciclina y sulfa + trimetoprim (96,30%) y oxacilina (87,50%). Por otro lado, amoxicilina (59,26%), penicilina (70,37%) y novobiocina (55,55%) mostraron diferentes porcentajes de resistencia a las muestras (Moura et al, 2006).

En los estudios de Conislla Vigo & Guerra Caballero (2019) recolectaron 60 muestras que se distribuyó en tres grupos de 20 muestras de carne fresca de pollo y de cerdo. Y se aislaron cepas de *S. aureus* y *L. monocytogenes*. Se determinó la sensibilidad antimicrobiana por el método de Kirby Bauer. Se encontró incidencia de 75% para *S. aureus* y 13,33% para *L. monocytogenes* en las muestras obtenidas. Las cepas de *S. aureus*, presentaron resistencia a la penicilina (75,56%) y tetraciclina (28,89%); 97,78% al sulfametoxazol-trimetoprim, 82,22% para gentamicina y ciprofloxacino y 77,78% a la clindamicina. El 75% de las cepas de *L. monocytogenes* presentaron una resistencia a la clindamicina y ninguna presentó resistencia a la ampicilina, penicilina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprim, gentamicina, eritromicina y vancomicina.

La yersiniosis causada por *Yersinia enterocolitica*, que se considera la infección gastrointestinal más frecuente después de la campilobacteriosis y la salmonelosis en los países industriales (Younis & Awad, 2019). En los estudios de Younis & Awad (2019), se investigaron la prevalencia y la resistencia a antimicrobianos de *Yersinia enterocolitica* en carne de pollo al por menor, carne de res molida se recogieron un total de 210 muestras de diferentes puntos de venta y mercados. Alrededor del 80%, 70%, 63.33% y 50% de los aislados de *Y. enterocolítica* fueron sensibles a la ciprofloxacina, gentamicina, cefotaxima y estreptomycin, respectivamente, mientras que el 83.33% de los aislados de *Y. enterocolítica* fueron resistentes tanto a la ampicilina como a la cefalotina.

En cuanto a la resistencia de *Clostridium* a antimicrobianos en carne, en los estudios de Bakri, (2018), se recolectaron un total de 600 muestras de carne cruda de vaca, oveja y cabra y se estudió la resistencia a antibióticos de *C. difficile*. 9 de 600 muestras de carne (1.5%) estaban contaminadas con *C. difficile*. Se aislaron 18 muestras de *C. difficile*. Se probaron los siguientes agentes antimicrobianos: ácido nalidíxico (30 µg),

ciprofloxacina (5 µg), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg), doxiciclina (30 µg), gentamicina (10 µg), metronidazol (5 µg), ampicilina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), vancomicina (30 µg), piperacilina-tazobactam (10 µg), cefoxitina (15 µg) y clindamicina (2 µg). Las cepas de *C. difficile* mostraron alta resistencia a la ampicilina (72,22%), gentamicina (83,33%), eritromicina (50,00%) y ácido nalidíxico (77,78%). La mayoría de los aislamientos de *C. difficile* fueron susceptibles al metronidazol, el cloranfenicol y la vancomicina, como se observó en otros estudios. El metronidazol y la vancomicina son los medicamentos que se usan con más frecuencia para tratar a los pacientes con diarrea por *C. difficile*, pero no se usan en la alimentación de los animales.

Otros estudios comprobaron la eficacia de biocidas en diferentes cepas, por ejemplo, en los estudios realizados por Skowron *et al*, (2019). Se usaron en total 13 desinfectantes de cinco grupos diferentes (compuestos de amonio cuaternario, agentes ionizantes, compuestos clorados, compuestos de yodo y nanopartículas) contra *Listeria monocytogenes* en distintos compuestos, entre ellos carne, y se aislaron cuatro cepas de listeria en carne. Las cepas aisladas de carne se caracterizaron dando una gran resistencia a estos biocidas con unas concentraciones mínimas inhibitorias de 1.96 µg/cm³, siendo la resistencia más alta en los grupos derivados del cloro (ChC1).

Se determinaron los perfiles de susceptibilidad frente a 22 desinfectantes y 9 antimicrobianos para 111 cepas de *Campylobacter coli* obtenidas en 1998 a 1999 y 2015 de cerdos y chuletas de cerdo en edad de mercado. Se observó resistencia a la tetraciclina (TET) en el 44,4% de las cepas de 1998 a 1999, y el perfil de resistencia a los antibióticos fue TET. Pero las cepas obtenidas en 2015 de chuletas de cerdo porcinas y minoristas tenían un 75% de resistencia a TET, seguido de azitromicina-eritromicina-TET-telitromicina-clindamicina. La resistencia a los antimicrobianos aumentó en las cepas de 2015. Todas las cepas fueron resistentes al triclosán. El 84.1% y 95.8% de las cepas en 1998 a 1999 y 2015, respectivamente, fueron resistentes a la clorhexidina. Todas las cepas fueron susceptibles al cloruro de benzalconio. Hubo un cambio hacia una mayor susceptibilidad a la clorhexidina, triclosán, P-128, OdoBan, CPB (cetylpyridinium bromide hydrate) y CPC (hexadecylpyridinium chloride) en las cepas de cerdo de 2015 en comparación con las cepas de 1998 a 1999. Los desinfectantes Tek-Trol y providona-yodo, tris

(hidroximetil) nitrometano (THN) y formaldehído demostraron las más altas susceptibilidades. El cloruro de didecil dimetil amonio (C10AC) parecía ser casi tan efectivo como el cloruro de bencil dimetil tetradecil amonio (C14BAC) para inhibir *C. coli*, y ambos fueron más efectivos que dioctyl dimethyl ammonium chloride, (C8AC) y benzyl dimethyl dodecyl ammonium chloride (C12BAC), pero benzyl dimethyl hexadecyl ammonium chloride (C16BAC) no fue capaz de inhibir a *C. coli*. No se observó resistencia cruzada entre antibióticos y desinfectantes (Beier, 2019).

En un ensayo de nueve cepas de *Escherichia coli* incluyendo *E. coli* 0157:H7 y cepas productoras de beta-lactamasas, se emplearon biocidas representativos de diferentes grupos químicos. Los biocidas empleados en este trabajo fueron derivados de amonio cuaternario (cloruro de benzalconio, cetrimida, hexadecilpiridinio), biguaninas (clorhexidina), bis-fenoles (hexaclorofeno, triclosan), agentes oxidantes (P3-oxonia avtive). Determinados biocidas como cloruro de benzalconio, cetrimida, triclosan y hexadecilpiridinio inhibían a la mayoría de las cepas a una concentración de 0,00 25%. Por otra parte, se vieron niveles de resistencia más altos, como en el caso de los biocidas hexaclorofeno y clorhexidina que se observó que era necesario concentraciones de 0,025% de biocida para impedir el crecimiento de las cepas. En algunos casos se observó a un crecimiento de alguna de las cepas a concentraciones de 0,25 % de clorhexidina. Se pudo concluir que los biocidas triclosan, hexadecilpiridinio y cetramida son los biocidas que muestran un mayor efecto frente a las de *E. coli*. Los biocidas usados en este estudio eran eficaces frente a la diseminación a través de la cadena alimentaria de las cepas de *E. coli* que constituye un riesgo para la salud humana (Aguayo, 2010).

Los serotipos de *Salmonella* muestreados de productos cárnicos en el sur de España (Andalucía) durante el período 2002-2007 se analizaron en los estudios de Garrido et al, (2015). Los serotipos detectados con mayor frecuencia fueron Typhimurium, Enteritidis, Derby, Anatum y Rissen. Los aislamientos (n=43) se probaron para determinar la sensibilidad a los biocidas, incluidos los compuestos de amonio cuaternario cloruro de benzalconio (BC), cetrimida (CT) y cloruro de hexadecilpiridinio (HDP) y los bisfenoles triclosán (TC) y hexaclorofeno (CF). La concentración inhibitoria mínima (MIC) para los compuestos de amonio cuaternario estuvo en el rango de 25 a 50 mg/ L para la mayoría de los aislamientos, aunque algunos

aislamientos requirieron concentraciones mucho más altas, hasta 250 mg/L. Los bisfenoles mostraron una mayor actividad inhibitoria, con una MIC de 2.5 a 25 mg/L. Algunos aislamientos mostraron un "tipo no salvaje" MIC para TC de hasta 250 mg/L. Estos resultados indican una baja incidencia de tolerancia hacia compuestos de amonio cuaternario y triclosán entre *Salmonella* de carnes y productos cárnicos.

En los estudios realizados por Long *et al*, (2016) se utilizaron cepas de *Salmonella* recolectados de cadenas de producción de pollo. Los desinfectantes, cloruro de benzalconio (BC), bromuro de benzalconio (BAB), bromuro de didecildimetilamonio (DDAB) y gluconato de clorhexidina (CHX), se utilizaron en este estudio. Entre los cuatro desinfectantes, se descubrió que el DDAB es el más efectivo, los aislamientos mostraron una alta susceptibilidad al bromuro de didecildimetilamonio (DDAB) pero una baja susceptibilidad al cloruro de benzalconio (BC), bromuro de benzalconio (BAB) y clorhexidina (CHX). *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* fueron más resistentes a BC y BAB.

En los estudios de Humayoun *et al*, (2018) se diseñó un panel de 96 pocillos de 17 biocidas comunes de uso doméstico y comercial para determinar las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de estos compuestos para *Salmonella*. El panel contenía diluciones en serie de productos químicos que incluyen cloruro de dodeciltrimetilamonio (DC), cloruro de benzalconio (BKC), cloruro de cetilpiridinio (CPC), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HB), Cloruro de hexadeciltrimetilamonio (HC), ácido acético (AA), ácido láctico (LA), ácido cítrico (CA), ácido peroxiacético (PXA), clorito de sodio acidificado (ASC), hipoclorito de sodio (SHB), 1,3 dibromo, 5, 5 dimetilhidantoína (DBH), clorhexidina (CHX), metasilicato de sodio (SM), fosfato trisódico (TSP), arsenito (ARI) y arseniato (ARA). El ensayo se usó para evaluar la susceptibilidad de 88 aislamientos de *Salmonella* de origen animal resistentes a múltiples fármacos (MDR). Los biocidas para los que se detectaron aislamientos resistentes incluyeron CPC (n = 1 aislado), HB (1), CA (18), ASC (7), CHX (22), ARA (16) y ARI (4). No se detectó correlación entre la susceptibilidad a biocidas de los aislados de *Salmonella* y la resistencia a los antibióticos.

En cuanto a la acción de los biocidas contra los biofilms, actualmente las superficies de las instalaciones de procesamiento de alimentos están expuestas a regímenes regulares de limpieza y desinfección (C&D), se usan ampliamente desinfectantes en

la industria alimentaria utilizando biocidas que son altamente efectivos contra las bacterias como el ácido peracético (PAA), los compuestos de amonio cuaternario (QAC), y el cloruro de benzalconio. Sin embargo, las bacterias que crecen en comunidades asociadas a la superficie (biopelículas) suelen ser más tolerantes a regímenes regulares de limpieza y desinfección que sus células libres, y la supervivencia de patógenos como *L. monocytogenes* puede verse afectada por las interacciones entre especies dentro de las biopelículas. La microbiota que se encuentra en las superficies de las plantas de procesamiento de alimentos después de C&D es comúnmente descrita como diversa e incluye patógenos transmitidos por los alimentos y bacterias que descomponen los alimentos. Los géneros predominantes en las plantas de procesamiento de carne después de C&D incluyen *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Serratia* (Fagerlund, 2017)

En otro estudio de Fagerlund *et al*, (2017), los géneros más frecuentes aislados que sobrevivieron en cintas transportadoras sometidas a regímenes regulares de limpieza y desinfección en plantas procesadoras de carne fueron *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *L. monocytogenes* aparecieron tanto en suspensiones como en biopelículas formadas en las cintas transportadoras. Cuando las biopelículas se expusieron a ciclos diarios de C&D que imitaban los tratamientos utilizados en la industria alimentaria, los niveles de *Acinetobacter* y *Pseudomonas mandelii* disminuyeron, y las biopelículas fueron dominadas por *Pseudomonas putida* (65 a 76%), *Pseudomonas fluorescens* (11 a 15%) y *L. monocytogenes* (3 a 11%). En biofilms de una sola especie, *L. monocytogenes* desarrolló una mayor tolerancia al C&D con el tiempo, tanto para el ácido peracético como para los desinfectantes de amonio cuaternario. En la industria alimentaria, la higiene de producción eficiente es una medida clave para evitar la acumulación de bacterias dañinas y eliminar los patógenos. Sin embargo, la persistencia de bacterias es un problema permanente en los entornos de procesamiento de alimentos.

En los estudios realizados por Durán (2017) se empleó una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina aislada de una hamburguesa de carne de ave. Esta cepa mostro resistencia a diferentes antibióticos como a amikacina, tobramicina, ampicilina, estreptomicina, ampicilina-sulbactam, oxacilina, penicilina G, trimetoprim-sulfametoxazol, eritromicina, amoxicilina-ácido clavulánico, cloranfenicol, ácido nalidíxico, tetraciclina, fosfomicina y vancomicina. Frente a esta cepa se ensayaron

tres biocidas que fueron fosfato trisódico (FTS), cloruro de benzalconio (CB), hipoclorito sódico (HIP). Los cultivos previamente expuestos a CB o FTS mostraron una capacidad para formar biofilm inferior a las células no expuestas. Por el contrario, la adaptación previa a HIP potenció la formación de biofilm. Se observó porcentajes similares de bacterias inactivadas en ausencia de biocidas o en presencia de concentraciones subinhibitorias de CB o FTS. Por el contrario, los cultivos crecidos en presencia de HIP presentaron un mayor porcentaje de células muertas en el biofilm. No obstante, la cantidad total de células vivas en las biopelículas formadas en presencia de HIP fue mayor que en las formadas en presencia de otros compuestos (CB o FTS) o en ausencia de biocidas. El porcentaje de bacterias muertas en los biofilms fue, sin biocida del 10%; CB, cloruro de benzalconio (9%); FTS, fosfato trisódico (10%); HIP, hipoclorito sódico (20%). Los biofilms formados en presencia de CB o FTS indican que las membranas celulares de la mayoría de las células no están dañadas. Sin embargo, el bajo biovolumen y escaso porcentaje de superficie cubierta observado en comparación con los encontrados en las muestras control (no expuestas a biocidas) ponen de manifiesto una escasa capacidad de multiplicación en el caso de las células de los biofilms formados en presencia de CB o FTS. Lo que ocurre, aparentemente, es que la mayoría de las células en los biofilms tratados con CB o FTS son resistentes a concentraciones subinhibitorias de dichos compuestos.

Esto indica la importancia de elegir una concentración adecuada de los desinfectantes usados para la descontaminación de los alimentos, ya que las bajas concentraciones podrían favorecer el crecimiento. La concentración es un aspecto fundamental a tener en cuenta cuando se usan agente descontaminante (Capita *et al*, 2001).

5. CONCLUSIONES

1. Casi la totalidad de los patógenos que encontramos en la carne suelen ser resistentes a uno o más antibióticos.
2. *Salmonella* se suele encontrar con frecuencia en pollo, res, y cerdo. En los aislados encontrados en diferentes países se muestra que son resistentes a diferentes antibióticos entre los cuales los más comunes son ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol/trimetoprim y tetraciclina.
3. La incidencia de *Escherichia coli* es particularmente alta en carne de pollo y cerdo. En los estudios de resistencia a antibióticos probados en *E.coli* se vio resistencia a distintos antibióticos entre los que se destacan cefalotina, tetraciclina, cotrimoxazol, tetraciclina, ampicilina, clorofenicol, ciprofloxacina, ácido nalidíxico y sulfametoxazol/trimetoprim. En cerdos fue resistente a ampicilina, tetraciclina, ácido nalidíxico, cloranfenicol y cotrimoxazol. Y en pollos fueron resistentes a cotrimoxazol, ampicilina, tetraciclina, quinolonas y cloranfenicol.
4. *Campylobacter jejuni* mostró resistencia a ciprofloxacina, y aquellas cepas que eran resistentes a nalidíxico lo eran también a eritromicina y norfloxacina.
5. El estudio mostró que los aislamientos de *L. monocytogenes* fueron sensibles a los antibióticos más comúnmente utilizados para tratar la listeriosis humana (ampicilina, penicilina y sulfametoxazol/trimetoprim). Las cepas analizadas fueron sensibles al cloranfenicol, tetraciclina y rifampicina, antibióticos de segunda elección para la listeriosis, pero de los cuales se han descrito cepas resistentes.
6. Las muestras de *Staphylococcus aureus* mostraron resistencia a ampicilina, amoxicilina, tetraciclina, neomicina, sulfametoxazol/trimetoprim, gentamicina, ciprofloxacina y clindamicina.
7. *Yersinia enterocolitica* mostró resistencia a ampicilina y cefalotina.
8. *Clostridium* mostró resistencia a ampicilina, gentamicina, eritromicina y ácido nalidíxico, la mayoría susceptible a metronidazol y la vancomicina que son los medicamentos que se usan en pacientes con diarrea.

9. Con el mal uso y abuso de antimicrobianos se puede favorecer que las bacterias tiendan a encontrar rápidamente formas de evitar sus efectos.
10. El uso masivo de antibióticos para evitar y tratar infecciones en animales de granja ha aumentado la selección de microorganismos resistentes, patógenos y no patógenos, que se pueden transmitir a los humanos a través del contacto directo, a través de la cadena alimentaria o al desechar los desechos.
11. En los aislados de *Salmonella* investigados, una baja proporción de bacterias puede tolerar los biocidas derivados del amonio cuaternario. La exposición a estos biocidas puede conducir a la selección de microorganismos que puede tolerar concentraciones más altas de biocidas. Por lo tanto, la posible contribución de la tolerancia a los biocidas a la persistencia de microorganismos en la cadena alimentaria debe estudiarse más a fondo. Existe la preocupación de que la tolerancia a los biocidas pueda elegir conjuntamente los determinantes de la resistencia a los antibióticos en la cadena alimentaria.
12. La formación de biopelículas puede tener implicaciones importantes para la salud pública y la seguridad alimentaria. Esto resalta la importancia del uso adecuado de desinfectantes para evitar concentraciones subletales, porque las concentraciones subletales pueden aumentar la capacidad de las bacterias para formar biopelículas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aguayo, M. C. L., Burgos, M. J. G., López, R. L., & Gálvez, A. (2010). Resistencia a biocidas de diferentes cepas de *Escherichia coli*. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, (23), 121-136.

Alanis, A. J. (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Archives of Medical Research*, 36 (6), 697-705.

Allen, H. K., Levine, U. Y., Looft, T., Bandrick, M., & Casey, T. A. (2013). Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends in microbiology*, 21 (3), 114-119.

Almeida González, L. B. A., Márquez, M. L. F., Aguayo, M. C. L., López, R. L., Garrido, A. M., del Postigo Ruiz, A. G., & Burgos, M. J. G. (2012). Resistencia a biocidas en cepas de *Salmonella* sp. aisladas de huevo. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, (25), 159-172.

Alonso-Hernando, A., Alonso-Calleja, C., Capita, R. (2010). Effects of exposure to poultry chemical decontaminants on the membrane fluidity of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 37 (2-3), 130-136.

Ammor, M. S., & Mayo, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: *Meat Science*, 76, 138–146.

Baird, R. M., Corry, J. E. J., & Curtis, G. D. W. (1987). Pharmacopeia of culture media for food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 5, 221–222.

Bakri M. (2018). Prevalencia de *Clostridium difficile* en carne cruda de vaca, oveja y cabra en Jazan, Arabia Saudita. *Revista saudita de ciencias biológicas*, 25 (4), 783–785.

Bbosa, G. S., & Mwebaza, N. (2013). Global irrational antibiotics/antibacterial drugs use: a current and future health and environmental consequences. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Formatex, Badajoz*.

Beier, R. C., Harvey, R. B., Hernandez, C. A., Andrews, K., Droleskey, R. E., Hume, M. E., Maureen K. D., Sonya, B. J., Shenja, Y., Robin, C. A., & Nisbet, D. J. (2019).

Disinfectant and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Campylobacter coli* Isolated in 1998 to 1999 and 2015 from Swine and Commercial Pork Chops. *Journal of food science*, 84 (6), 1501-1512.

Bernal, M., & Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*, 4 (3-4), 112-121.

Betancor, L., Gadea, M., & Flores, K. (2008). Genética bacteriana. *Instituto de Higiene, Facultad de Medicina (UDELAR). Temas de Bacteriología y Virología Médica. 3ra Ed. Montevideo: Oficina del Libro FEFMUR*, 65-90.

Bhandare, S. G., Sherikar, A. T., Paturkar, A. M., Waskar, V. S., & Zende, R. J. (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, 18(7), 854-858.

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature* 13, 42-51.

Bodwell, C. E., & Anderson, B. A. (1986). Nutritional composition and value of meat and meat products. *Muscle as Food*, 321-369.

Bywater, R. J. (2005). Identification and surveillance of antimicrobial resistance dissemination in animal production. *Poultry Science* 84, 644-648.

Cabrera, Cristina Eugenia, Gómez, Rommel Fabián, & Zúñiga, Andrés Edmundo. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 38(2), 149-158.

Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 27 (1), 44–52.

Cantón, R., García, J. E., Gómez, L., Martínez, L., Rodríguez, C., Vila, J., & García, J. A. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. *Métodos Básicos Para el Estudio de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editor Picazo JJ*.

Capita González, R. (2013). Papel de la Industria Alimentaria en el control de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Discurso de Toma de Posesión como Académica Correspondiente. Universidad de León, León.

Capita, R., Alonso-Calleja, C., García-Fernández, M.C., & Moreno, B. (2001). Influencia de la cepa y la concentración de fosfato trisódico en los parámetros de crecimiento de *Listeria monocytogenes* in vitro. *Cartas en microbiología aplicada*, 32 (6), 428-432.

Carrascal, A. (2012). factores de riesgo de *Listeria monocytogenes* en la industria cárnica colombiana. *Seminario de actualización 3M Bogotá Mayo*.

Cepero Briz, R. C. (2006). Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la unión europea: causas y consecuencias. *Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza*, 3-7.

Condell, O., Iversen, C., Cooney, S., Power, K. A., Walsh, C., Burgess, C., & Fanning, S. (2012). Efficacy of biocides used in the modern food industry to control *Salmonella enterica*, and links between biocide tolerance and resistance to clinically relevant antimicrobial compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (9), 3087-3097.

Condo Silva, R. C. (2014). Microbiología de la carne, productos cárnicos y del pescado.

Courvalin, P. (1994). Transfer of antibiotic resistance genes between gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38 (7), 1447-1451.

Cousin, M. A., Jay, J. M., & Vasavada P. C. (2001). Psychrotrophic microorganisms. Pages 159-166 in *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 4th ed. F. P. Downes, and K. Ito, eds. American Public Health Association, Washington, D.C.

Conislla Vigo, A. N., & Guerra Caballero, R. K. (2019). *Resistencia microbiana y capacidad de formación de biopelículas de cepas de Staphylococcus aureus y Listeria monocytogenes aisladas de carnes frescas provenientes de mercados de Lima Metropolitana*. (Tesis doctoral). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.

Dainty, R. H., & Mackey, B. M. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 103-114.

- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74 (3), 417-433.
- Devirgiliis, C., Zinno, P., & Perozzi, G. (2013). Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. *Frontiers in Microbiology*, 4, 301.
- Dover, L. G., Alderwick, L. J., Brown, A. K., Futterer, K., & Besra, G. S. (2007). Regulation of cell Wall synthesis and growth. *Current Molecular Medicine*, 7 (3), 247-276.
- Durán, L. B. (2017). Resistencia a antibióticos y capacidad para formar biofilm en cepas de MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) y *Salmonella* de origen alimentario (Tesis doctoral). Universidad de León. León.
- EFSA -European Food Safety Authority- (2008). Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. *EFSA Journal*, 765, 1-87.
- Fagerlund, A., Møretrø, T., Heir, E., Briandet, R., & Langsrud, S. (2017). Cleaning and disinfection of biofilms composed of *Listeria monocytogenes* and background microbiota from meat processing surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83 (17), 1046-17.
- Fernández Márquez, M. L. (2018). *Resistencias a agentes antimicrobianos en bacterias de origen lácteo y avícola*. (Tesis doctoral). Universidad de Jaén. Jaén.
- FDA (Food and Drug Administration). (2013). New Animal Drugs and New Animal Drug Combination Products Administered in or on Medicated Feed or Drinking Water of Food-Producing Animals: Recommendations for Drug Sponsors for Voluntarily Aligning Product Use Conditions with GFI #209. Guidance #213.
- Flynn, W.T. 2012. The Judicious Use of Medically Important Antimicrobial Drugs in Food-Producing Animals. *Center for Veterinary Medicine (HFV-1), Food and Drug Administration. U.S. Department of Health and Human Services*.
- García Martín, S. (2011). *Los biocidas: incidencia normativa y social: situación en la Comunidad de Madrid*. (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- García, P., Valenzuela, N., Rodríguez, L., Victoria, M., León, E., & Fernández, H. (2009). Susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* aislado de coprocultivos en Santiago de Chile. *Revista chilena de infectología*, 26 (6), 511-514.

- Garrido, A. M., Burgos, M., Márquez, M., Aguayo, M., Pulido, R. P., del Árbol, J. T., Gálvez, A., & López, R. L. (2015). Biocide tolerance in *Salmonella* from meats in Southern Spain. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46 (4), 1177-1181.
- Genigeorgis, C. (1995). Biofilm: Their significance to cleaning in the meat sector. *New challenges in meat hygiene: specific problems in cleaning and disinfection*, 28-49.
- Giacoboni, G., Cerdá, R. O., & López, C. (2001). Emergencia a la resistencia antibiótica en cepas de *Campylobacter jejuni* aisladas de carne de pollo. *Analecta Veterinaria*, 21
- Giguère, S. (2006). Antimicrobial drug action and interaction: an introduction. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*, 1-10.
- Gill, C. O., & Newton, K. G. (1977). The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 43 (2), 189-195.
- Gill, C. O., & Newton, K. G. (1980). Growth of bacteria on meat at room temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 49 (2), 315-323.
- González, L. B. A., Márquez, M. L. F., Aguayo, M. C. L., López, R. L., Garrido, A. M., del Postigo Ruiz, A. G., & Burgos, M. J. G. (2012). Resistencia a biocidas en cepas de *Salmonella* sp. aisladas de huevo. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, (25), 159-172.
- González-Gutiérrez, M., García-Fernández, C., Alonso-Calleja, C., & Capita, R. (2020). Microbial load and antibiotic resistance in raw beef preparations from northwest Spain. *Food Science & Nutrition*, 8 (2), 777-785.
- Graham, J.P., Boland, J.J., & Silbergeld, E. (2007). Growth promoting antibiotics in food animal production: An economic analysis. *Public Health Reports*, 12, 79–87.
- Heredia, N., Aviña, J. E. D. J. D., Soto, L. S., & García, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacamed*, 8 (1), 20-42.
- Hernández-Rodríguez, & M., Sastre-Gallego, A. (1999). *Tratado de Nutrición*. 1ª ed. Díaz Santos. Madrid.

Hirooka, E. Y., Muller, E. E., & Santo, A. E. (1982). Bacterimetría de *Staphylococcus aureus* en productos cárneos comercializados en Londina, Paraná. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*, 2, 111-122.

Horcada Ibáñez, A. L., & Polvillo Polo, O. (2010). Conceptos básicos sobre la carne. *La Producción de carne en Andalucía*.

Hui, Y. Z. (2015). Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from farm animals in China. *Frontiers in microbiology*, 6, 602.

Humayoun, S. B., Hiott, L. M., Gupta, S. K., Barrett, J. B., Woodley, T. A., Johnston, J. J., Jackson, C. R., & Frye, J. G. (2018). An assay for determining the susceptibility of *Salmonella* isolates to commercial and household biocides. *PloS one*, 13(12).

Hurtado, M. P., de la Parte, M. A., & Brito, A. (2002). *Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 22(2), 112-118.

Izzo, M., Mohler, V., & House, J. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates recovered from calves with diarrhoea in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 89, 402-408.

Jay, J. M. (2002). A review of aerobic and psychrotrophic plate count procedures for fresh meat and poultry products. *Journal of food protection*, 65(7), 1200-1206.

Jiménez, A. Z., Otazua, M. F., Maiztegi, P. G., Serrano, E. I., Juaristi, A. A., & Santa, L. M. R. (2011). Situation of environmental and food area disinfectants registered in Spain under directive 98/8/CE. *Revista española de salud pública*, 85(2), 175-188.

Jorge, L. C. T, (2005). Carne y sus derivados. *Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales*, 1-32.

Kaplan, J. B. (2011). Antibiotic-induced biofilm formation. *International Journal of Artificial Organs*, 34, 737-751.

Karatzas, K.A.G., Webber, M.A., Jorgensen, F., Woodward, M.J., Piddock, L.J. V., & Humphrey, T.J. (2007). Prolonged treatment of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with commercial disinfectants selects for multiple antibiotic resistance, increased efflux and reduced invasiveness. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 947-955.

Karatzas, K.A., Randall, L.P., Webber, M., Piddock, L.J., Humphrey, Labbe, R. G., & Juneja, V. K. (2017). *Clostridium perfringens*. *Foodborne diseases. Academic Press*, 235-242.

Kumar, A., & Schweizer, H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Review*, 57, 1486–1513.

Lavilla Lerma, L., Benomar, N., Knapp, C. W., Correa Galeote, D., Gálvez, A., & Abriouel, H. (2014). Diversity, distribution and quantification of antibiotic resistance genes in goat and lamb slaughterhouse surfaces and meat products. *PloS one*, 9(12).

Lawrie, R. A., & Ledward, D. (2014). *Lawrie's meat science*. 7 th ed. Woodhead Publishing.

Leiva, J., Alonso, M. F., Rubio, M., & Ruiz-Bravo, A. (2018). Infecciones por *Salmonella* y *Yersinia*. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(50), 2941-2951.

Lester, C. H., Frimodt-Møller, N., Sørensen, T. L., Monnet, D. L., Hammerum, A. M. (2006). In vivo transfer of the *vanA* resistance gene from an *Enterococcus faecium* isolate of animal origin to an *E. faecium* isolate of human origin in the intestines of human volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(2), 596-599.

Levy, S. B. (2002). From tragedy the antibiotic era is born. *The antibiotic paradox: how the misuse of antibiotics destroys their curative powers*, 2nd ed. Cambridge, MA: Perseus Publishing, 1-14.

Livermore, D. M. (2003). Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clinical Infectious Disease*, 36, 1-23.

Long, M., Lai, H., Deng, W., Zhou, K., Li, B., Liu, S., Fan, L., Wang, H., & Zou, L. (2016). Disinfectant susceptibility of different *Salmonella* serotypes isolated from chicken and egg production chains. *Journal of applied microbiology*, 121(3), 672–681.

Love, J. D., & Pearson, A. M. (1971). Lipid oxidation in meat and meat products—A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48(10), 547-549.

Mah, T. F. C., & O'Toole, G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*, 9 (1), 34-39.

- Márquez, M. L. F. (2017). *Resistencias a agentes antimicrobianos en bacterias de origen lácteo y avícola* (Tesis Doctoral), Universidad de Jaén. Jaén
- Martín Juárez, B. (2005). *Estudio de las comunidades microbianas de embutidos fermentados ligeramente acidificados mediante técnicas moleculares. Estandarización, seguridad y mejora tecnológica*. Universitat de Girona.
- Marty, E., Buchs, J., Eugster-Meier, E., Lacroix, C., & Meile, L. (2012). Identification of staphylococci and dominant lactic acid bacteria in spontaneously fermented Swiss meat products using PCR– RFLP. *Food Microbiology*, 29 (2), 157-166.
- McDonald, K., & Sun, D. W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 52(1-2), 1-27.
- Merckel, R. A. (1994). Química de los tejidos animales. Parte 3. Carbohidratos. *Price, JF, Schweigert, BS Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Monnet, D. L. (2005). Antibiotic development and the changing role of the pharmaceutical industry. *International Journal of Risk and Safety Medicine*, 17, 133-145.
- Moreira, M. A. S., Oliveira, J. A., Teixeira, L. M., & Moraes, C. A. (2005). Detection of a chloramphenicol efflux system in *Escherichia coli* isolated from poultry carcass. *Veterinary Microbiology*, 109 (1), 75-81.
- Moura, A. P. B. L., Acioli, R., Duarte, D. A. M., JW Pinheiro Junior, J. W., Alcântara, J. S., & Mota, R. A. (2006). Caracterização e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de amostras de carne caprina comercializadas em mercados e supermercados em Recife, PE. *Arquivos Instituto Biológico de São Paulo*, 73(1), 7-15.
- Nivens, D. E., Palmer Jr., R. J., & White, D. C. (1995). Continuous nondestructive monitoring of microbial biofilms: a review of analytical techniques. *Journal of Industrial Microbiology*, 15 (4), 263-276.
- Offer, G. (1988). The structural basis of water-holding in meat. Part I: General principles and water uptake in meat processing. *Developments in meat science* ,4, 63-171. Ed. R. Lawrie. Elsevier, Oxford.

Onega Pagador, M. E. (2004). *Evaluación de la calidad de carnes frescas: aplicación de técnicas analíticas, instrumentales y sensoriales*. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones.

Ortiz Tapia, D. S. (2019). *Aislamiento y caracterización de Yersinia enterocolitica patogénica de cerdos en la empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito* (Tesis de licenciatura). Universidad de Quito. Ecuador.

Pardo, J. E., Pérez, J. I., Parra, V., & Legorburo, A. (1998). La industria cárnica: El sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos. *Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España*.

Pascual, M., & Calderón, V. (2000). Microbiología alimentaria. *Metodología Analítica para alimentos y bebidas*. Edit. Díaz de Santos. Madrid.

Patiño Bello, D. P., Pérez Acevedo, L. V., Torres Caycedo, M. I., Rosas Leal, D. A., & Di Filippo Iriarte, G. (2018). Uso de biocidas y mecanismos de respuesta bacteriana. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 37(3), 1-17.

Paulsen, L. T., Park, J. H., Choi, P. S., & Saier, M. H. (1997). A family of gram-negative bacterial outer membrane factors that function in the export of proteins, carbohydrates, drugs and heavy metals from gram negative bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 156 (1), 1-8.

Pérez, H. P., Rubio, C., Pozuelo, M. R., Revert, C., & Hardisson, A. (2003). Botulismo y toxina botulínica. *Revista de Toxicología*, 20(1), 8-12.

Poole, K., Krebs, K., McNally, C., Neshat, S. (1993). Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for involvement of an efflux operon. *Journal of Bacteriology*, 175 (22), 7363-7372.

Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T., & Sinell, H. J. (1994). *Tecnología e higiene de la carne*. Zaragoza: Acribia.

Price, J. F., & Schweighet, B. S. (1994). *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. Acribia,

Ramos, Y., & Alonso, G. (2011). Evaluación de la resistencia a agentes desinfectantes de bacterias aisladas de ambientes naturales. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(2), 130-137.

Rice, L. B. (2009). The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Current Opinion in Microbiology* 12 (5), 476-481.

Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., Cohen, J., Findlay, D., Gyssens, I., Heure, O.E., Kahlmeter, G., Kruse, H., Laxminarayan, R., Liébana, E., López-Cerero, L., MacGowan, A., Martins, M., Rodríguez-Baño, J., Rolain, J.M., Segovia, C., Sigauque, B., Taconelli, E., Wellington, E., & Vila, J. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbe and New Infect*, 6, 22–29.

Rodríguez Fernández, O. M., Sanchén Casas, A., Hernández Cisnero, R. I., & Cordero Rodríguez, M. (2007). *Yersinia enterocolítica*. Reporte de dos casos con enfermedad diarreica aguda. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 11(2).

Rodríguez-Auad, J. P. (2018). Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 649-657.

Ronald, M. (2010). *Handbook of microbiological media* (Vol.4).CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.

Rosenblatt-Farrell, N. (2009). The landscape of antibiotic resistance. *Environmental Health Perspectives*, 117 (6), 245-250.

Ruiz-Bolivar, Z., Neuque-Rico, M. C., Poutou-Pinales, R. A., Carrascal-Camacho, A. K., & Mattar, S. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* food isolates from different cities in Colombia. *Foodborne pathogens and disease*, 8 (8), 913-919.

Russel, A.D. (1995). Mechanism of Bacteria Resistance to Biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 36,247–265.

Russel, A.D., & McDonnell, G. (2000). Concentration: a major factor in studying biocidal action. *Journal of Hospital Infection*, 44, 1–3.

Salgado Barreno, V. P., & Sigcho Arevalo, M. J. (2017). *Salmonelosis por contaminación de agua y alimentos en la provincia del Guayas* (Tesis de licenciatura). Universidad estatal de milagro. Ecuador.

Sarmah, A. K., Meyer, M. T., & Boxall, A. B. (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.

Satuala Lofa, A. M. (2017). *Tipificación y susceptibilidad a antimicrobianos naturales en cepas de Staphylococcus aureus de cerdo y carne de cerdo*. (Tesis doctoral). Universidad de Concepción Facultad de Agronomía. Chile.

Skowron, K., Walecka-Zacharska, E., Grudlewska, K., Białucha, A., Wiktorczyk, N., Bartkowska, A., Kowalska, M., Kruszewski, & Gospodarek-Komkowska, E. (2019). Biocidal Effectiveness of Selected Disinfectants Solutions Based on Water and Ozonated Water against *Listeria monocytogenes* Strains. *Microorganisms*, 7(5), 127.

Sosa, A. D. J., Amábile-Cuevas, C. F., Byarugaba, D. K., Hsueh, P. R., Kariuki, S., & Okeke, I. N. (2009). Antimicrobial resistance in developing countries. Springer, New York.

Stewart, P. S. (1996). Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40 (11), 2517-2522.

Talon, R., & Leroy, S. (2011). Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentations. *Meat Science*, 89 (3), 303-309.

Teale, C. J. (2002). Antimicrobial resistance and the food chain. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 85S–89S.

Tezel, U., & Pavlostathis, S.G. (2015). Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 296-304.

Tuomanen, E., Durack, D. T., & Tomasz, A. (1986). Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30 (4), 521-527.

Tynkkynen, S., Singh, K. V., & Varmanen, P. (1998). Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus* GG in relation to enterococcal vancomycin resistance (*van*) genes. *International Journal of Food Microbiology*, 41 (3), 195-204.

Ueda, S., & Kuwabara, Y. (2007). Susceptibility of biofilm *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* to detergents and sanitizers. *Biocontrol science*, 12(4), 149-153.

- Van den Bogaard, A. E., & Stobberingh, E. E. (2000). Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14 (4), 327-335.
- Van Reenen, C. A., & Dicks, L. M. (2011). Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. *Archives of Microbiology*, 193 (3), 157-168.
- Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2017). Frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo, res y cerdo de la Ciudad de México. *Revista chilena de infectología*, 34(5), 458-466.
- Walton, J. R. (1996). Benefits of antibiotics in animal feed, pp. 19-46. En: Gainswothy, P. C., Wiseman, J. (eds.), *Recent advances in animal nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham.
- Willians, J., Worley, S. (2000). Types of biocides. *Encyclopedia of Food Microbiology - Process Hygiene*, Academic
- World Health Organization. (2011). *Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe*. World Health Organization. Regional Office for Europe.
- World Health Organization (2012). The evolving threat of antimicrobial resistance. Options for action. World Health Organization, Switzerland.
- World Health Organization (2014). Antimicrobial Resistance: Global Report on surveillance. WHO Press, Geneva- Switzerland.
- Yagüe-Muñoz, A., Arnedo-Pena, A., Herrera-León, S., Meseguer-Ferrer, N., Vizcaíno-Batlles, A., Romeu-García, M. À., Safont-Adsuara, L., & Bellido-Blasco, J. B. (2019). Epidemiología descriptiva de infección por *Yersinia enterocolitica* en un área de alta incidencia durante 8 años, 2006-2013. Proyecto EDICS. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(7), 441-447.
- Yazdankhah, S.P., Scheie, A.A., Høiby, E.A., Lunestad, B.T., Heir, E., Fotland, T.O., Naterstad, K., & Kruse, H. 2006. Triclosan and antimicrobial resistance in bacteria: an overview. *Microbial Drug Resistance*, 12, 83–90.

Younis, G., Mady, M., & Awad, A. (2019). *Yersinia enterocolitica*: Prevalence, virulence, and antimicrobial resistance from retail and processed meat in Egypt. *Veterinary world*, 12(7), 1078