



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

Resistencia microbiana a antibióticos betalactámicos y
carbapenémicos en carnes de consumo.

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR/A: Badea, Ionut Adrian

Tutor/a: Montes Estellés, Rosa M^a

Cotutor/a: Jiménez Belenguer, Ana Isabel

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

RESISTENCIA MICROBIANA A ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS Y CARBAPENÉMICOS EN CARNES DE CONSUMO.

RESUMEN

En los últimos años la resistencia de las bacterias a los antibióticos se ha posicionado como un gran problema de salud pública, suponiendo cada año más de 2,8 millones de infecciones resistentes a los antimicrobianos. En Europa 33000 personas fallecen anualmente como consecuencia de infecciones hospitalarias causadas por bacterias resistentes a los antibióticos.

Recientes estudios han observado que la resistencia antibiótica no solo se da en el ámbito humano debido al uso indebido de antibióticos en clínica, sino que el uso en todos los ámbitos, incluyendo la producción primaria de alimentos: ganadería, agricultura, y uso veterinario de los mismos, puede suponer una vía de entrada de estas bacterias portadoras de genes de resistencia antibiótica en la cadena alimentaria y suponer un riesgo para el consumidor.

En el presente trabajo se estudia la calidad microbiológica de distintos cortes de carnes destinadas al consumo humano y la presencia de patógenos como *Listeria monocytogenes* mediante la ISO 11290:2017, siendo que el 23,33% de las muestras contenían alguna cepa de *Listeria*. Se aislaron 11 bacterias de medios suplementados con cefalosporinas de 3^o generación y antibióticos carbapenémicos a los que una vez identificados se procedió al estudio de sus perfiles de resistencia mediante antibiograma. Se detectaron 8 cepas de bacterias diferentes, siendo la mayoría de ellos resistentes a Ampicilina y Amoxicilina. Una de estas bacterias, *Rauoutella ornithinolytica*, fue resistente a 3 grupos de antibióticos diferentes, clasificándose así como multirresistente. Este estudio se le realizó también a las 29 cepas de *E. coli* para identificar su resistencia fenotípica a los 12 antibióticos de interés clínico. La mayor resistencia presentada por estas bacterias fue a la Amoxicilina (68,97%) seguida por el Ácido Nalidíxico (55,17%). Una de estas cepas presentó resistencia a 4 antibióticos, siendo 3 de ellos de diferente grupo antibacteriano, por lo que se clasificó como multirresistente. Un brote provocado por algunas de estas bacterias resistentes a antibióticos, especialmente por las multirresistentes, ya que no se han empleado buenas prácticas en la preparación, puede suponer un gran problema por la dificultad de su tratamiento.

Para que este problema no se agrave se deben promover prácticas de desarrollo sostenibles en todo el mundo. Esto se puede conseguir siguiendo algunos de los Objetivos de Desarrollo Sostenibles (ODS) propuestos por las Naciones Unidas como son el ODS 4: Educación de calidad ODS; el 9: Industria, innovación e infraestructura; el ODS 12: Producción y consumo responsables; ODS 17: Alianzas para lograr los objetivos. Si se consiguen promover estos y hacer que se reduzca el problema esto afectará a otros ODS a cumplirse y a no agravarse como los son el ODS 1: Fin de la pobreza; ODS 2: Hambre cero; ODS 3: Salud y bienestar; ODS 6: Agua limpia y saneamiento; ODS 8: Trabajo decente y crecimiento económico; ODS 10: Reducción de las desigualdades.

Palabras clave: Resistencia antibióticos; bacterias; betalactámicos; carbapenemos; *Listeria*.

MICROBIAL RESISTANCE TO BETA-LACTAM AND CARBAPENEM ANTIBIOTICS IN CONSUMER MEATS.

ABSTRACT

In recent years, bacterial resistance to antibiotics has become a major public health problem, with more than 2.8 million antimicrobial-resistant infections occurring each year. In Europe 33,000 people die annually as a result of hospital infections caused by antibiotic-resistant bacteria.

Recent studies have observed that antibiotic resistance not only occurs in the human field due to the misuse of antibiotics in the clinic, but also the use in all areas, including primary food production: livestock, agriculture, and veterinary use of antibiotics, may represent a route of entry for these bacteria carrying antibiotic resistance genes into the food chain and pose a risk to the consumer.

In the present study, the microbiological quality of different cuts of meat intended for human consumption and the presence of pathogens such as *Listeria monocytogenes* are studied using ISO 11290:2017, with 23.33% of the samples containing some strain of *Listeria*. Eleven bacteria were isolated from media supplemented with 3rd generation cephalosporins and carbapenem antibiotics. Once identified, their resistance profiles were studied using an antibiogram. 8 different strains of bacteria are detected, most of them resistant to Ampicillin and Amoxicillin. One of these bacteria, *Rauoutella ornithinolytica*, was resistant to 3 different groups of antibiotics, thus being classified as multi-resistant. This study was also carried out on the 29 *E. coli* strains to identify their phenotypic resistance to the 12 antibiotics of clinical interest. The greatest resistance presented by these bacteria was to Amoxicillin (68.97%) followed by Nalidixic Acid (55.17%). One of these strains presented resistance to 4 antibiotics, 3 of them from a different antibacterial group, which is why it was classified as multiresistant. An outbreak caused by some of these antibiotic-resistant bacteria, especially the multi-resistant ones, since good preparation practices have not been used, can be a big problem due to the difficulty of treating it.

So that this problem does not worsen, sustainable development practices must be promoted throughout the world. This can be achieved by following some of the Sustainable Development Goals (SDG) proposed by the United Nations, such as SDG 4: Quality education SDG; 9: Industry, innovation and infrastructure; SDG 12: Responsible consumption and production; SDG 17: Partnerships to achieve the goals. If these are promoted and the problem is reduced, this will affect other SDGs to be met and not worsen, such as SDG 1: End of poverty; SDG 2: Zero hunger; SDG 3: Health and well-being; SDG 6: Clean water and sanitation; SDG 8: Decent work and economic growth; SDG 10: Reduction of inequalities.

Key words: Antibiotic resistance; bacteria; beta-lactams; carbapenems; *Listeria*.

RESISTÈNCIA MICROBIANA ALS ANTIBIÒTICS BETALACTÀMICS I CARBAPENÈMICS EN CARNES DE CONSUM.

RESUM

En els darrers anys, la resistència dels bacteris als antibiòtics s'ha posicionat com un gran problema de salut pública, suposant cada any més de 2,8 milions d'infeccions resistents als antimicrobians. A Europa 33.000 persones moren anualment com a conseqüència d'infeccions hospitalàries causades per bacteris resistents als antibiòtics.

Estudis recents han observat que la resistència antibiòtica no només es dona en l'àmbit humà a causa de l'ús indegut d'antibiòtics a la clínica, sinó que l'ús en tots els àmbits, incloent la producció primària d'aliments: ramaderia, agricultura, i ús veterinari dels mateixos pot suposar una via d'entrada d'aquests bacteris portadors de gens de resistència antibiòtica a la cadena alimentària i suposar un risc per al consumidor.

En aquest treball s'estudia la qualitat microbiològica de diferents talls de carns destinats al consum humà i la presència de patògens com ara *Listeria monocytogenes* mitjançant la ISO 11290:2017, sent que el 23,33% de les mostres contenien algun cep de *Listeria*. Es van aïllar 11 bacteris de mitjans suplementats amb cefalosporines de 3a generació i antibiòtics carbapenèmics als quals una vegada identificats es va procedir a estudiar els seus perfils de resistència mitjançant antibiograma. Es detecten 8 ceps de bacteris diferents, i la majoria són resistents a Ampicilina i Amoxicilina. Un d'aquests bacteris, *Rauoutella ornithinolytica*, va ser resistent a 3 grups d'antibiòtics diferents, classificant-se així com a mutirresistent. Aquest estudi es va realitzar també als 29 ceps d'*E. coli* per identificar-ne la resistència fenotípica als 12 antibiòtics d'interès clínic. La resistència més gran presentada per aquests bacteris va ser a l'Amoxicil·lina (68,97%) seguida per l'Àcid Nalidíxic (55,17%). Un d'aquests ceps va presentar resistència a 4 antibiòtics, sent 3 d'ells de diferent grup antibacterià, per la qual cosa es va classificar com a multiresistent. Un brot provocat per alguns d'aquests bacteris resistents a antibiòtics, especialment pels multiresistents, ja que no s'han fet servir bones pràctiques en la preparació, pot suposar un gran problema per la dificultat del tractament.

Perquè aquest problema no s'agreugi s'han de promoure pràctiques de desenvolupament sostenibles a tot el món. Això es pot aconseguir seguint alguns dels Objectius de Desenvolupament Sostenibles (ODS) proposats per les Nacions Unides com són l'ODS 4: Educació de qualitat ODS; el 9: Indústria, innovació i infraestructura; l'ODS 12: producció i consum responsables; ODS 17: Aliances per assolir els objectius. Si s'aconsegueixen promoure aquests i fer que es redueixi el problema això afectarà altres ODS a complir-se i no agreujar-se com els són l'ODS 1: Fi de la pobresa; ODS 2: Fam zero; ODS 3: Salut i benestar; ODS 6: Aigua neta i sanejament; ODS 8: Treball decent i creixement econòmic; ODS 10: Reducció de les desigualtats.

Paraules clau: Resistència antibiòtics; bacteris; betalactàmics; carbapenens; *Llisteria*.

ALUMNO: Badea, Ionut Adrian

TUTOR: Prof. Dña. Montes Estellés, Rosa María

COTUTOR: Dña. Jiménez Belenguer, Ana Isabel

CURSO:2022/2023.

Valencia, julio 2023

ÍNDICE	I
LISTADO DE FIGURAS	II
LISTADO DE TABLAS	II
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ONE HEALTH	1
1.2. CALIDAD DE CARNES DE CONSUMO HUMANO	1
1.2.1. Consumo de carne	2
1.2.2. Patógenos comunes	2
1.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	3
1.2.4. <i>E. coli</i>	4
1.3. RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS	5
1.3.1 El uso de Antimicrobianos.....	6
1.3.2 Tipos de Antimicrobianos.....	6
1.3.3. Formación de cepas con resistencias.....	7
1.3.4. Resistencia antimicrobiana en patógenos cárnicos	8
1.4. OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE (ODS)	8
2.OBJETIVOS	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. MUESTREO, AISLAMIENTO Y RECuento DE LOS MICROORGANISMOS ..	12
3.2. TEST DE SUSCEPTIBILIDAD FENOTÍPICA A ANTIMICROBIANOS	14
4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1. RECuento DE MICROORGANISMOS Y <i>E. COLI</i>.	15
4.2. RECuento DE CEPAS DE <i>LISTERIA</i>.	17
4.3. ANÁLISIS DE RESISTENCIA FENOTÍPICA	18
4.3.1. Presencia de Enterobacterias en ESBL	18
4.3.2. <i>E. coli</i> en CC	22
5.CONCLUSIÓN	27
6.BIBLIOGRAFIA	28

LISTADO DE FIGURAS

FIGURA 1. Resultados de las pruebas de la tira API de <i>Listeria</i> ®	12
FIGURA 2. Resultado de pruebas oxidasa con tiras oxidasa.....	13
FIGURA 3. Resultados las pruebas de la tira API 20E®	14
FIGURA 4. Resistencias de las cepas de <i>E. coli</i> de CC	23

LISTADO DE TABLAS

TABLA 1. Procedencia de las muestras y cuantificación de coliformes y <i>E. coli</i>	15
TABLA 2. Procedencia de las muestras y presencia de <i>Listeria</i>	17
TABLA 3. Patrón de resistencia de cepas aisladas del medio ESBL y resultados antibiogramas de estas cepas.	19
TABLA 4. Patrón de resistencia de las cepas de <i>E. coli</i>	25

1. INTRODUCCIÓN

Los problemas a los que se enfrenta actualmente el mundo son varios. Proteger los derechos humanos, salvaguardar, la paz, promover el progreso social y económicos, el cambio climático, la pobreza, el agua, la alimentación o la salud siendo algunos de ellos (UN, s/f-f). Dentro de cada uno de ellos hay más problemas. Dentro del problema de salud se pueden encontrar problemas como el COVID-19, suicidio, resistencia antimicrobiana, zoonosis o patógenos alimentarios (OMS, s/f-a). La zoonosis se produce cuando una enfermedad infecciosa pasa de un animal a los humanos (OMS, 2020b). Una de las vías más comunes por las que se transmiten estas infecciones a los humanos son los alimentos (Bantawa, *et al.*, 2018). 600 millones de personas enferman, 420.000 mueren y se pierden unos 110.000 millones de dólares en productividad y gastos médicos debido a infecciones producidas por la ingesta de alimentos contaminados (OMS, 2020a). Algunas de las cepas que pueden estar en los alimentos pueden desarrollar resistencia a antibióticos. Esto puede ser muy peligroso porque son más difíciles de tratar y suponen un alto coste para las economías nacionales tanto por los tratamientos más prolongados, intensivos y costos, como por la reducción de la productividad del afectado (Jiménez-Belenguer *et al.*, 2016; OMS, 2021a). Para combatir los problemas que afectan a diversos sectores, como pueden ser la zoonosis, los patógenos alimentarios y la resistencia antimicrobiana, se creó el programa One Health.

1.1. ONE HEALTH

One health es una iniciativa para diseñar e implementar programas, políticas, legislación e investigación para que varios sectores se comuniquen y trabajen juntos para mejorar la salud pública. Especialmente para la salud ambiental, animal y humana que están entrelazadas y deben trabajar en conjunto para abordar las amenazas (OMS s/f-b).

Para esto se deben tener en cuenta áreas como la seguridad alimentaria, la resistencia antimicrobiana, la salud ambiental, las enfermedades tropicales desatendidas, los servicios de laboratorio y el control de enfermedades zoonóticas, especialmente las que pueden pasarse a humanos (OMS, s/f-b).

La OMS, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la Organización Mundial de Sanidad Animal y el Programa de las Naciones Unidas para el medio Ambiente. Estas cuatro organizaciones trabajan juntas para que los sectores afronten conjuntamente las amenazas que puedan afectar a la salud pública. Especialmente para brindar asesoramiento técnico sobre cómo reducir los riesgos que se puedan producir (OMS s/f-b).

Por ejemplo, alguna de las soluciones para combatir la resistencia antimicrobiana, las enfermedades zoonóticas y los patógenos alimentarios son: vigilar la aparición de cepas resistentes, reducir el uso de antibióticos en la veterinaria, mejorar las medidas de prevención y control en los hospitales para reducir las infecciones intrahospitalarias, buscar nuevos tratamientos y antibióticos y educar a la población del correcto uso de los antibióticos. Todas ellas de diferentes sectores, pero incidiendo en un mismo problema (Fernández *et al.*, 2003).

1.2. CALIDAD DE CARNES DE CONSUMO HUMANO

Hablando de los problemas actuales, uno es la zoonosis, esto es problemático en la industria alimentaria, donde puede llegar a través de la carne, huevos, lácteos. Si llega alguna enfermedad zoonótica a la industria puede producir brotes que afecten a muchas personas (OMS, 2020a).

1.2.1. Consumo de carne

El sector cárnico es uno de los más importantes a nivel mundial. Da empleo a más de mil millones de personas en todo el mundo y por lo tanto es una gran fuente de ingresos para muchas personas y países (Parlasca *et al.*, 2022). En las últimas dos décadas se ha aumentado el consumo de carne en un 58% llegando a 360 millones de toneladas, siendo las más consumidas las de carnes de pollo y de cerdo. Esta tendencia se estima que seguirá aumentando hasta el 2050 (Whitnall *et al.*, 2019; Parlasca *et al.*, 2022). El aumento se ha producido debido especialmente a Asia, con predominancia de la de cerdo en el este del continente; América Latina y África, y serán los que harán que se siga aumentando. Se ha observado además que la relación que hay entre los ingresos y el consumo de carne es lineal, en cuanto más altos son los ingresos, mayor es el consumo, pero hay un punto en el que, con ingresos altos, se produce un estancamiento o en algunos países decrece la cantidad de carne consumida por cápita (Spiller & Nitzko, 2015; Parlasca *et al.*, 2022).

En la Unión Europea, en 2018, el consumo de carne fue de aproximadamente 76 kilos por persona al año. Esto sitúa a la UE por encima de la media mundial, aunque algunos países como Rumanía, Bulgaria, Eslovaquia y Bélgica el consumo es menor al del mundo. En España es donde más se consume, con casi 99 kilogramos por persona al año aunque en los últimos años ha disminuido. Entre el 2020 y 2021 se redujo un 10,2% la compra de carne en cuanto al volumen total y un 8,2% en cuanto a la facturación que implicaba. En el mismo periodo, la cantidad de carne fresca vendida disminuyó un 11,5% mientras que la transformada un 6,5% (Marín, 2022; MAPA, 2022).

El consumo de carne de pollo sigue encabezando la lista de carnes consumidas, seguida por la de cerdo y por último la de vacuno. Aunque la carne de pollo siga siendo la más consumida en el territorio español, su consumo ha disminuido un 11,5% desde el año 2020. La carne de cerdo también se ha reducido un 11,7% en el mismo periodo de tiempo (MAPA, 2022). Esto concuerda con que desde el 1990 en los países de América del Norte, Europa y Oceanía está estancado el consumo de estos productos, e incluso en algunos casos disminuyendo (Parlasca *et al.*, 2022). En España desde el 2008 el consumo de carne está disminuyendo en los hogares, con la excepción del año 2020 que debido a la pandemia aumentó. En el año 2021 se retomó la tendencia que se estaba produciendo (MAPA, 2022).

1.2.2. Patógenos comunes

Uno de los riesgos de seguridad alimentaria que el consumo de carne tiene es la posible presencia de agentes patógenos. Esto es especialmente peligroso si no se almacena, prepara y cocina de forma adecuada (Abebe *et al.*, 2020). Aunque se tenga cuidado para consumir esta carne, también si no se cuida la adecuada limpieza de los utensilios puede ocurrir una contaminación cruzada (Signorini *et al.*, 2009).

Las bacterias patógenas más importantes que se pueden encontrar especialmente en las carnes son *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* y *Yersinia* (Heredia *et al.*, 2014; Bantawa *et al.*, 2018).

En 2019 se informaron por parte de los 27 Estados pertenecientes a la Unión Europea 5.175 brotes de toxiinfección de origen alimentario, aunque solo 716 de ellos se consideraron de “evidencia sólida”. Un total de 13.686 personas fueron infectadas por estos brotes, de los cuales 1.567 tuvieron que ser hospitalizados y 38 pacientes murieron. Del 60% del total de los brotes en el que los agentes patógenos se identificaron, el 45,7% resultaron ser causados por bacterias o toxinas producidas por éstas (Lianou *et al.*, 2023).

Además, en un estudio realizado en Estados Unidos por Painter *et al.*, se estimó que, de todos los productos alimentarios, los productos cárnicos y avícolas, es decir, carne de res, caza, cerdo y aves, representaron el 22% de las hospitalizaciones producidas por infecciones alimentarias. En cuanto a las muertes, los productos provenientes de aves de corral son los que más han producido, representando el 19% de las muertes producidas por infecciones alimentarias. Los productos avícolas asimismo suponen el 18% de las enfermedades registradas producidas solo por bacterias mientras que las de res un 13%, siendo los productos con más alta incidencia junto a los lácteos, con un 18% también (Painter *et al.*, 2013).

Algunos de los patógenos más comunes y de mayor preocupación de la carne son *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* y *E. coli* (Lianou *et al.*, 2023). *Salmonella spp.* produce uno de cada siete brotes de intoxicación alimentaria, siendo la más común de todas las infecciones en la Unión Europea (UE) (EFSA & ECDC, 2019). Es un género bacteriano gram negativo, anaerobio facultativo, con flagelos peritricos perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Suelen ser patógenos comunes en animales y personas. Puede producir salmonelosis tifoideas y no tifoideas. La fiebre tifoidea provoca diarreas fugaces que pueden provocar deshidratación, perforaciones y hemorragias intestinales, y en algunos casos puede producir neumonía, meningitis, espondilitis, encoraditis, abscesos, o shocks endotóxicos. La salmonelosis no tifoidea provoca gastroenteritis aguda, bacteriemias, e infecciones focales extradigestivas (Terrier *et al.*, 2006; Jiménez *et al.*, 2010; Heredia *et al.*, 2014).

1.2.3. *Listeria monocytogenes*

Como se ha comentado en el punto anterior uno de los patógenos comunes y de preocupación de los productos cárnicos es *Listeria spp.* (Liano *et al.*, 2023). Este género consta de 21 especies y 6 subespecies, aunque solo dos de ellas se consideran patógenas: *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivnovii* (Orshi & Wiedmann, 2016; Carlím *et al.*, 2021). Este género se caracteriza por ser bacterias bacilo gram positivas, con un crecimiento óptimo entre 30°C y 37°C, pero capaces de crecer también a temperaturas bajas como las de refrigeración, motilidad flagelar, no formadoras de esporas, capaces de crecer a pH bajos y valores de actividad de agua de hasta 0,9, catalasa positivas y oxidasa negativas (Rubén *et al.*, 2007; Orshi & Wiedmann, 2016; Lianou *et al.*, 2023).

De las 21 especies la más importante es *L. monocytogenes*. Esta bacteria llega a los humanos principalmente a través de los alimentos que han estado en contacto con superficies contaminadas (Martín *et al.*, 2014; OMS, 2018b). Si llega al ser humano puede provocar listeriosis, que se presenta en adultos provocando gastroenteritis típica, fiebre, dolores de cabeza y dolores musculares. En las personas de riesgo, es decir, embarazadas, pacientes con sistemas inmunitarios debilitados, niños y adultos de avanzada edad puede además provocar septicemia y meningitis. En las embarazadas puede hacer que el feto muera o que el bebé muera pocas horas después del nacimiento (Pamer, 2004; Lianou *et al.*, 2023; OMS, 2018b)

Actualmente *L. monocytogenes* produce menos infecciones que *Campylobacter*, *Salmonella*, *E. coli*, pero su mortalidad es más alta del 13% , llegando al 30% en las personas de riesgo. En 27 estados europeos se notificaron 1876 casos de listeriosis en 2020, números inferiores a 2019, pero siguiendo la tendencia de los últimos años (Gómez *et al.*, 2014; OMS, 2018b; EFSA & ECDC, 2021).

Ocurren casos de *Listeria* en toda Europa y gracias a la Red de Alerta Alimentaria Europea (RASFF) se notifica a todos los países que forman parte de posibles alertas alimentarias. El 24 de septiembre del 2022 la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) gracias a la RASFF anunció la presencia de *L. monocytogenes* en salchichas procedentes de Italia aunque no hubo constancia de ningún caso notificado (AESAN, 2022a). El 30 de septiembre de 2022 la AESAN fue anunciada a través del Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información (SCIRI) de la

presencia de *L. monocytogenes* en morcilla de la marca Chacinas del Bosque. En este caso tampoco se notificaron casos en personas (AESAN, 2022b). El 23 de diciembre del 2022 la AESAN anunció gracias al SCIRI la presencia de *L. monocytogenes* en carne de cabeza de cerdo cocida. Las autoridades sanitarias del País Vasco detectaron la presencia del patógeno, aunque no notificaron ningún caso de infección (AESAN, 2022c). El 9 de marzo de 2023 AESAN anunció que en la cecina con aceite de oliva de la marca Friber S.A. contiene *L. monocytogenes*. La AESAN fue notificada a través del SCIRI, pero no se notificó ningún caso de infección (AESAN, 2023).

Uno de los casos más importantes en los últimos años ocurrió en Andalucía, en el verano de 2019. El 15 de agosto de 2019 la Consejería de Salud y Familias confirmó que un brote de *L. monocytogenes* que se generó debido a la presencia de este patógeno en un producto de carne mechada producida por Magrudis con el nombre comercial: “La Mechá”. Este brote afectó a 197 personas, muchas de ellas necesitaron ser hospitalizadas, incluyendo a 28 embarazadas (Junta de Andalucía, 2019).

1.2.4. *E. coli*

Como se ha comentado anteriormente una de las bacterias que se pueden encontrar en la carne es *E. coli*. Forma parte de la familia Enterobacteriaceae, gram negativo, anaerobio facultativo y con algunas cepas patógenas, incluso algunas de ellas con resistencia a antibióticos. Se suele encontrar en los tractos intestinales de humanos y animales de sangre caliente pero no suelen causar enfermedades en personas sanas. Cuando son patógenas puede producir infecciones en el tracto urinario e intestinal y producir enfermedades como la enteritis, meningitis, miositis, osteomielitis (Rodríguez-Angeles, 2002; Meng *et al.*, 2012; Allocati *et al.*, 2013; Heredia *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2016; Vila *et al.*, 2016).

Las cepas de *E. coli* se clasifican en seis grupos: la enterotoxigénica (ETEC), la enterohemorrágica (EHEC), la enteroinvasiva (EIEC), la enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC) (Rodríguez-Angeles, 2002; Meng *et al.*, 2012; Allocati *et al.*, 2013; Heredia *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2016; Vila *et al.*, 2016).

Las EPEC provoca diarrea, fiebre, vómitos, dolor abdominal y en los casos más graves desnutrición. La forma en la que provocan la diarrea es adhiriéndose y destruyendo las células epiteliales del intestino delgado, pero no produce toxinas. Las ETEC son los más comunes y causa diarrea, especialmente en niños de países en desarrollo, y la del viajero, es decir, diarrea acuosa. También puede producir fiebre, calambres abdominales, malestar general y náuseas. Se unen a la mucosa de intestino delgado y producen enterotoxinas termolábiles y termoestables. Las EHEC causan colitis hemorrágicas, es decir, diarrea acuosa con sangre. Producen una toxina llamada verotoxina, que es similar a la producida por *Shigella dysenteriae*, que es la causante de la diarrea. *E. coli* O157:H7 forma parte de este grupo. Las EIEC causan diarrea, con y sin sangre, igual que lo hace *Shigella spp.* Provocan la diarrea adhiriéndose e invadiendo a las células epiteliales del colon y una vez consiguiendo eso destruyen las células de alrededor. Las EAEC provocan diarreas, especialmente en niños y en pacientes infectados por VIH, incluso llegando a ser de color verdoso. Las DAEC causan diarrea acuosa sin sangre. Todavía se necesitan más estudios sobre este grupo porque es difícil de identificar y clasificar (Rodríguez-Angeles, 2002; Meng *et al.*, 2012; Allocati *et al.*, 2013; Vila *et al.*, 2016; OMS, 2018a; Lianou *et al.*, 2023).

El grupo más preocupante en los alimentos son las EHEC, que además son peligrosas porque pueden crecer entre 7°C y 50°C y a pH bajo de hasta 4,4. Llegan a los alimentos a través de: la contaminación de los animales a causa de sus alimentos o agua infectados, las heces de los animales, equipamiento de procesado contaminado, contaminación cruzada o trabajadores. Esto es un problema si no se

cocinan adecuadamente los productos. Las EHEC provocan diarreas graves sanguinolenta y síndrome urémico hemolítico, ambas potencialmente mortales especialmente en niños y en adultos de países en desarrollo (Meng *et al.*, 2012; Allocati *et al.*, 2013; OMS, 2018a; Lianou *et al.*, 2023). En Europa se identificaron 4446 casos de infecciones en 2020, similar a los últimos años siguiendo la tendencia entre 2016 y 2020. Estos 4446 casos vienen de 34 brotes transmitidos por alimentos y agua (EFSA & ECDC, 2021).

Para tratar la infección de *E. coli*, cuando no es autolimitante, lo más común es que se utilicen antibióticos. Pero esto supone otro problema, si la cepa que infecta al paciente es resistente al antibiótico utilizado, resulta más difícil de curar. (Hannaoui Rodríguez & Villalobos, 2009; MSF, 2019). Un estudio reciente realizado por la Universidad de Santiago de Compostela-Lugo evaluó que el 40% de las muestras que analizaron contenían *E. coli* con resistencia múltiples a antibióticos. Se estudiaron 100 muestras de distintas cadenas presentes en todo el territorio nacional español. En general los productos no tenían un elevado nivel de *E. coli* ya que se encontraban en los límites de seguridad, pero sí que muchas tenían resistencias a varios antibióticos (Chiappe, 2023).

1.3. RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Otro de los problemas actuales es la resistencia a antibióticos de las bacterias. (OMS, s/f-a). El gran aumento y rápida propagación de las cepas multirresistentes y panresistentes, que son las que no pueden tratarse con antibióticos ya que son resistentes a todos, puede ser muy peligroso para los humanos (OMS 2017; OMS, 2021a).

El escaso desarrollo de nuevos antibióticos y la rápida propagación de cepas resistentes hacen que las infecciones se vuelvan más difíciles de tratar y por tanto aumentar la mortalidad. Si los nuevos antibióticos que se están creando no se usan adecuadamente y de forma más racional, tendrán el mismo destino que los actuales, volviéndose al poco tiempo ineficaces, ya que las bacterias desarrollarán resistencias a estos también (OMS, 2021a).

Las resistencias repercuten en las economías y sistemas de salud de todos los países porque afecta a la productividad de los pacientes y de las personas que les cuidan. Se prolongan las estancias en los hospitales, se requiere más atención y está será más cara e intensiva (OMS, 2021a).

Esta situación puede llegar a ser muy problemática ya que heridas menores y infecciones comunes se pueden volver mortales (MSF, 2019). En Estados Unidos ocurren 2,8 millones de infecciones resistentes a los antimicrobianos, de las cuales se producen 35.000 muertes. En Europa mueren 33.000 personas debido a bacterias resistentes. Esto supone alrededor de 1.100 millones de euros en costes sanitarios y unos 3.000 millones de euros en pérdidas de Producto Interno Bruto de la Unión Europea. Para el 2030 se estima que 24 millones de personas estarán en la pobreza debido a enfermedades provocadas por estas bacterias, y que para el 2050 serán la principal causa de mortalidad a nivel mundial (Rivas, 2019). En 2019 se estima que 1,27 millones de muertes son causadas directamente por infecciones multirresistentes en el mundo y que en 2050 serán de 10 millones (CE, s/f; Rodríguez, 2022).

Las cepas se pueden propagar entre personas, a través de animales, de alimentos o a través de hospitales (OMS, 2021a). Estas cepas se pueden originar por:

- El uso indebido y excesivo de antimicrobianos.
- La falta de agua limpia, saneamiento e higiene para personas y animales.
- La adopción de medidas deficientes de prevención y control de enfermedades e infecciones en centros de salud y explotaciones agrícolas.

- El acceso deficiente a medicamentos, vacunas y medios de diagnóstico asequibles y de calidad.
- La falta de sensibilización y conocimiento.
- El incumplimiento de la legislación.

1.3.1 El uso de Antimicrobianos

Los antimicrobianos se utilizan en muchos ámbitos, uno de ellos siendo la veterinaria. En este ámbito se utiliza para promover el crecimiento, la profilaxis, tratar enfermedades y mejorar la eficiencia alimenticia. En 2006 se prohibió el uso de los antibióticos para promover el crecimiento, pero aun así el 23% de los países que forman parte del acuerdo todavía los siguen usando. El abuso de estos hace tiene dos problemas. El primero es que las bacterias que infectan al animal pueden desarrollar resistencia y estas bacterias resistentes pueden llegar a los humanos. El segundo es que residuos de las fábricas y restos de los antibióticos que es excretan por orina y heces de los animales llegan al ambiente donde puede haber bacterias que adquieran resistencias (Leckshmi *et al.*, 2017; OMS, 2017; EMA, 2020; OMS, 2021a; PRAN, 2022).

Esto es especialmente preocupante ya que el uso es muy alto, en 2010 se usaron 63.200 toneladas de antibióticos en el ganado a nivel mundial, y se prevé que para el 2030 se utilicen 105.600 toneladas. En 31 estados europeos se declaró que en 2018 se usaron 6501 toneladas, de las cuales 1725 toneladas solo fueron usadas en España. Otro dato preocupante es que en Estados Unidos más del doble de antibióticos son consumidos por los animales que por los humanos (RAM, 2015; Leckshmi *et al.*, 2017; EMA, 2020; PRAN, 2022).

1.3.2 Tipos de Antimicrobianos

Hay diferentes tipos de antimicrobianos, cada uno con un mecanismo de acción distinta. Según su mecanismo de acción cada grupo tiene un nombre, los grupos son: beta-lactamasas, sulfonamidas, trimetoprima, macrolidos, tetracilinas, fluorquinolonas, nitroimidazoles, aminoglicosidos. Además, dentro del grupo de betalactamasas se encuentran las penicilinas, cefalosporinas, las carbapenemicos y los inhibidores de betalactamasas (Marín & Guidol, 2003; Russell, 2004; Bayarski, 2006; Calvo & Martínez-Martínez, 2009; Odonkor & Addo, 2011; Dowling *et al.*, 2017)

Las fluoroquinolonas inhiben la producción de ADN debido a que no dejan funcionar adecuadamente a las enzimas. Se utilizan para tratar infecciones del tracto urinario, respiratorias y de piel (Russell, 2004; Bayarski, 2006; Odonkor & Addo, 2011; Dowling *et al.*, 2017).

Las betalactámicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana hecha de peptidoglucano. Al no formarse adecuadamente la pared, esta se queda debilitada y así romperse con la presión osmótica intracelular. Son usados para tratar muchos tipos de infecciones, tanto de bacterias gram positivas como gram negativas. Son de acción lenta y presentan poca toxicidad para las personas. De este grupo forman parte las penicilinas, cefalosporinas y los carbapenémicos (Marin y Guindol, 2003; Russell, 2004; Bayarski, 2006; Odonkor & Addo, 2011; Dowling *et al.*, 2017).

Las penicilinas al ser parte del grupo betalactámicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana. En este grupo se encuentra el primer antibiótico descubierto, la penicilina. Se utiliza para todo tipo de infecciones (Russell, 2004; Bayarski, 2006; Odonkor & Addo, 2011; Dowling *et al.*, 2017).

Las cefalosporinas al ser parte del grupo betalactámicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana. Se dividen a su vez en grupos según su generación. Las generaciones dependen de como de efectivas sean contra las bacterias gram negativas, siendo que las nuevas son más efectivas. (Russell, 2004; Bayarski, 2006; Odonkor & Addo, 2011; Dowling *et al.*, 2017).

Los carbapenémicos hacen parte de los betalactámicos, pero tienen mayor espectro, actividad y resistencia. Están formados por un carbapenem unido a un anillo betalactámico y esto les protege de las betalactamasas. Como son más resistentes se suelen utilizar en infecciones invasivas y peligrosas (Russell, 2004; Bayarski, 2006; Odonkor & Addo, 2011; Monge, 2013; Dowling *et al.*, 2017; Codjoe & Donkor, 2017).

Los inhibidores de betalactamasas inhiben las enzimas betalactamasas de las bacterias, que son las que eliminan los antibióticos betalactámicos. Los derivados ácidos de la penicilina son inhibidores de betalactamasas sintéticos (Russell, 2004; Calvo & Martínez-Martínez, 2009; Dowling *et al.*, 2017)

1.3.3. Formación de cepas con resistencias

Las bacterias pueden ser resistentes a antibióticos de forma intrínseca o adquirirla a través de mutaciones y/o transferencia horizontal. La intrínseca es la que tiene la bacteria sin haberse expuesto antes al antibiótico, mientras que la adquirida es cuando algún microorganismo obtiene resistencia a cierto antimicrobiano mediante modificaciones genéticas como mutaciones, transposones, integrones o plásmidos. También puede ser que la bacteria al no estar dividiéndose, el antibiótico no puede hacer efecto, a esto se le llama indiferencia al fármaco (Tafur y Villegas, 2008; Becerra *et al.*, 2009; Dowling *et al.*, 2017).

Hay cuatro mecanismos por los que la bacteria hace frente a los antibióticos. La modificación enzimática del antibiótico, en la que enzimas presentes en la bacteria pueden modificar la estructura del antibiótico, normalmente rompiendo el anillo betalactámico, de forma que este ya no sea efectivo. Las bombas de salida hacen que se expulse al antibiótico fuera de la célula. Si se expulsa el antibiótico ya no llega al sitio de acción y no pueda ser efectivo. Los cambios en la permeabilidad de la membrana externa permiten que los antibióticos no lleguen dentro de la célula, a los sitios activos, esto se consigue, especialmente con las porinas. Las alteraciones del sitio de acción hacen que el antibiótico no se pueda unir al sitio activo ya que este es diferente. Los antibióticos se unen a una estructura terciaria determinada, si esta cambia el antibiótico ya no puede realizar su función (Marin & Guidol, 2003; Tafur & Villegas, 2008; Odonkor *et al.*, 2011; Schwarz *et al.*, 2017; De Oliveira *et al.*, 2020)

Otra forma por la que las bacterias obtienen resistencia a antibióticos es por la introducción al material genético de la célula de genes resistentes, a partir de mutaciones propias o por agentes externos como bacteriófagos, plásmidos, transposones o integrones. Esta transferencia de agentes externos se puede hacer a través de la transducción, la transformación o la conjugación (Torreón, 2011; Schwarz *et al.*, 2017).

- La transducción se realiza a través de bacteriófagos. En este proceso se produce la transferencia de material genético de un microorganismo, donador, a otro, receptor. En este caso de un bacteriófago a una bacteria. Los bacteriófagos son partículas víricas que se replican en otras bacterias. Si estos virus entran en una bacteria y contienen un gen de resistencia a algún antibiótico pueden traspasar este gen a la bacteria y por tanto hacer que la bacteria adquiera la resistencia (Betancor *et al.*, 2008; Segundo-Arizmendi *et al.*, 2010; Schwarz *et al.*, 2017; Madrid, 2018);
- La transformación es el método por el cual algunas bacterias incorporan ADN que se encuentra en el medio suelto, a su propio ADN. La bacteria fagocita el material genético y lo añade al suyo (Betancor *et al.*, 2008; Schwarz *et al.*, 2017; Madrid, 2018).
- La conjugación es método por el cual una bacteria recibe información genética de otra por contacto de las superficies, normalmente a través del pili. En este caso una bacteria pasa información a la otra mediante plásmidos, transposones, integrones o cassettes genéticos,

es decir, parte de un cromosoma. Esto hace que, si la bacteria donadora tenía una resistencia a algún antibiótico, la receptora la pueda adquirir mediante este método (Betancor *et al.*, 2008; Schwarz *et al.*, 2017; Madrid, 2018).

Los elementos más comunes que hacen posible la inserción del nuevo material genético al de la bacteria receptora son los plásmidos, transposones, integrones o cassettes genéticos. Los plásmidos son cadenas de ADN extracromosomal que suelen contener genes que aportan beneficios al hospedador. Uno de estos beneficios puede ser resistencia a antibióticos, que puede ser transferida a otras bacterias mediante la conjugación. Los transposones son segmentos de ADN móviles, que se mueven entre diferentes partes del genoma bacteriano, o entre plásmidos y el genoma. Cuando se mueve modifica el ADN de su alrededor, pudiendo mover o eliminar genes codificadores de diferentes propiedades. Los integrones son sistemas capaces de integrar y expresar genes de resistencia a través de la incorporación de cassettes genéticos al genoma. Para que este sistema funcione es necesaria la intervención de la integrasa. Los cassettes genéticos son trozos pequeños de ADN que se recombinan gracias a los integrones. Pueden estar también incorporadas a plásmidos o a zonas no específicas del genoma bacteriano (Betancor *et al.*, 2008; Schwarz *et al.*, 2017; Madrid, 2018; De Oliveira *et al.*, 2020).

1.3.4. Resistencia antimicrobiana en patógenos cárnicos

En los últimos años han aparecido bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae productoras de carbapenemasas. Esto supone un grave problema de salud pública ya que estos antibióticos son los que se usan en caso de tratar infecciones bacterianas resistentes (Chowdhury *et al.*, 2022). Una encuesta realizada en 36 países europeos en 2019 por la ECDC demostró que el gen NDM-5 se convirtió en la carbapenemasa que se encontraba con mayor frecuencia en las cepas de *E. coli* notificadas. Se encontró en 83 tipos de secuencias de *E. coli* diferentes, y sugiere que las cepas portadoras del gen bla_{NDM-5} ha sufrido una rápida expansión. Estas cepas además tenían resistencias a otros compuestos como fluoroquinolonas y trimetoprim sulfametaxazol. (ECDC, 2023).

En otro estudio realizado por Bastidas-Caldes *et al.* se estudiaron muestras fecales de humanos, pollos y cerdos entre abril y agosto de 2020 en Ecuador. De estas el 86,3% contenían *E. coli* y el 37,4% *Klebsiella pneumoniae*. El gen mcr-1, que proporciona resistencia a colistina, se presentó en 90% de las cepas de *E. coli* y en el 19,5% de las de *K. pneumoniae*. De estas muestras dos de *E. coli* presentaban resistencia fenotípica y el gen mcr-1 mientras que dos de las muestras de *K. pneumoniae* tenían resistencia fenotípica, pero esta vez sin el gen (Bastidas-Caldes, 2023).

K. pneumoniae contiene la carbapenemasa más común en Estados Unidos, Esta utiliza serina para facilitar la hidrólisis de antibióticos betalactámicos. Otras enterobacterias contienen metalo-β-lactamasas de clase B de Ambler, que son un tipo de carbapenemasas. Estas están presentes en muchos lugares del mundo y con una rápida propagación (Gupta *et al.*, 2011).

En un estudio realizado por Jiménez-Belenguer (2017) demostró la existencia de cepas resistentes a antibióticos de *E. coli* en pollos de un día de edad. Estos no habían sido expuestos a ningún antibiótico lo que indica que se pueden haber transmitido desde parvadas de los padres (Jiménez-Belenguer, 2016) con lo que estas resistencias se mantienen a lo largo de la vida de dichos animales y pueden llegar a suponer un riesgo para el consumidor.

1.4. OBJETIVO DE DESARROLLO SOSTENIBLE (ODS)

La comunidad internacional reconoce la urgencia para abordar la problemática de la resistencia antimicrobiana. Las Naciones Unidas buscan promover el desarrollo sostenible en todo el mundo y se ha de tener en cuenta para prevenir y controlar este problema. En el Anexo I se encuentra el

desglose de la relación de este estudio con todos los ODS. Solucionar este problema pretende cumplir varios ODS (ODS, 2021):

ODS 1.- Fin de la pobreza. Los tratamientos más caros y prolongados producidos por infecciones bacterianas resistentes hacen que los pacientes, mientras están enfermos, no sean productivos haciendo perder dinero a su familia y a los hospitales, que tienen que destinar más recursos a estos pacientes. La pobreza afecta a 700 millones de personas, tanto de países desarrollados como de los de menores ingresos. La meta de este ODS es acabar con la pobreza extrema y proporcionar servicios básicos a las personas en esta situación (OMS, 2021a; UN, s/f-i)

ODS 2.- Hambre cero. 680 millones de personas sufren de hambre en todo el mundo y unos 135 millones de personas de hambre severa debido a conflictos, cambios climáticos y recesiones económicas. Se necesita proporcionar ayuda humanitaria y alimentos a los 250 millones de personas al borde de la hambruna. Si estos alimentos están contaminados por cepas resistentes pueden hacer enfermar a las personas, o se pueden desechar muchos alimentos, en cualquier parte de la cadena alimentaria, que si no lo estuviese se podrían usar para alimentar a las personas que padecen hambre. Esto ocurre porque una de las vías más comunes de transmisión de enfermedades, especialmente las resistentes, es a través de alimentos contaminados. La meta de este ODS es poner fin al hambre, asegurar el acceso a todas las personas a una alimentación sana y nutritiva y acabar con las malnutriciones. Todo esto intentando mantener la sostenibilidad de los sistemas de producción y la diversidad genética de los animales y plantas de producción (OMS, 2021a; UN, s/f-f).

ODS 3.- Salud y bienestar. El problema de las cepas resistentes es uno de los grandes problemas de salud actuales. Muchas personas mueren cada año debido a infecciones producidas por estas bacterias. Además, no es solo un problema de salud sino económico. Ese dinero que se gasta en los tratamientos más caros y en el tiempo que están de más que los pacientes en el hospital comparado con bacterias no resistentes se puede destinar a otras cosas. Además, el largo tiempo en el hospital puede traer otros problemas de infecciones o de salud mental tanto al paciente como a las personas que lo acompañan. Este ODS tiene como objetivo reducir la mortalidad materna, la prematura, las muertes de recién nacidos, la muerte y lesiones por accidentes de tráfico, las adicciones a estupefacientes, las muertes y enfermedades por productos químicos peligrosos y un servicio de salud para todos. (OMSa, 2021; OMS, s/f-a; UN, s/f-k).

ODS 4.- Educación de calidad. Con una educación de calidad se puede hacer que la gente sea más consciente del problema y que se deje de abusar del uso de los antibióticos y hacer un uso racional de los mismos. Este ODS tiene como objetivo que todas las personas indiferentemente de su género y edad puedan acceder a formación de calidad y que para el 2030 todos los alumnos adquieran conocimientos básicos para promover el desarrollo sostenible. (Fernández *et al.*, 2003; OMS, 2021a; UN, s/f-e).

ODS 6.- Agua limpia y saneamiento. Si las cepas resistentes llegan a los sistemas de abastecimiento de ciudades e industrias, como aguas de riego, puede hacer multiplicar las infecciones por bacterias resistentes. Además del desperdicio de energía para depurar esa agua. Este ODS tiene como objetivo mejorar la calidad del agua, el acceso para todo el mundo y los recursos hídricos (UN s/f-a).

ODS 8.- Trabajo decente y crecimiento económico. Si el problema no se erradica puede afectar de forma muy dramática al crecimiento económico mundial. La larga hospitalización, los tratamientos caros, y la falta al puesto de trabajo o la posible muerte de los afectados por infecciones de cepas resistentes puede hacer perder miles de millones de euros/dólares a muchísimos países como ya lo

está haciendo. Este ODS tiene como objetivo mantener el crecimiento y productividad económico (OMS, 2021a; UN, s/f-c).

ODS 9.- Industria, innovación e infraestructura. Se necesita de innovación para crear nuevos antibióticos y para idear formas para reducir el consumo de estos. Para que esto funcione se debe crear una infraestructura que permita la implementación de estas nuevas ideas. Este ODS tiene como objetivo desarrollar infraestructuras fiables y sostenibles, aumentar pequeñas industrias y aumentar la investigación científica, (Fernández *et al.*, 2003; OMS, 2021a; UN, s/f-h).

ODS 10.- Reducción de las desigualdades. A los países subdesarrollados el problema de las bacterias resistentes les afecta más gravemente ya que si alguna de estas cepas se propaga a estas poblaciones puede ser devastadoras debido a la falta de recursos para combatirlas. Esto aumenta la brecha entre países. Este ODS tiene como objetivo promover y potenciar las oportunidades en todos los ámbitos de todas las personas y controlar los mercados financieros globales (OMS, 2021a; UN, s/f-j)

ODS 12.- Producción y consumo responsables. Si se consigue que la producción de alimentos sea responsable y que en esta no se usen antibióticos puede hacer que se reduzca el problema de las resistencias. Si se hace un consumo responsable de antibióticos en todos los ámbitos también puede ayudar a reducir la probabilidad de aparición de cepas resistentes. Este ODS tiene como objetivo gestionar de forma sostenible los recursos, como los alimentos, la energía, los desechos, el agua y los productos químicos. (OMS, 2021a; OMS, 2017; PRAN, 2022; UN, s/f-d).

ODS 17.- Alianzas para lograr los objetivos. Porque se necesita el conjunto de todo el mundo, tanto países como empresas para lograr el objetivo de reducir el consumo de antibióticos y aumentar la investigación de nuevos. Este ODS tiene como objetivo mejorar y promover la creación de alianzas entre empresas y organizaciones del mismo y/o diferentes sectores (Fernández *et al.*, 2003; OMS, s/fa; UN, s/f-b).

2. OBJETIVOS

La resistencia a los antibióticos de microorganismos patógenos presente en alimentos cárnicos es un problema de Salud Pública. El mal almacenaje, preparación y cocción de los productos cárnicos puede infectar a los consumidores y la resistencia a antibióticos de estos puede hacer que a los infectados no dispongan de una terapia antibiótica eficaz, poniendo en serio riesgo sus vidas.

El objetivo principal de este estudio es analizar la calidad microbiológica de diferentes muestras de carne en comercios de la Comunidad Valenciana y el estudio de la resistencia que presentan a varios antibióticos de microorganismos indicadores presentes en las mismas

El objetivo es analizar 30 muestras de carne para determinar posibles patógenos comunes como *Listeria* y *E. coli*.

Los objetivos específicos de este estudio son:

- Aislamiento y recuento de coliformes y *E. coli* a partir de muestras de carne comercializadas en comercios de la Comunidad Valenciana
- Aislamiento de *Listeria* y otras enterobacterias que pueden suponer un riesgo para el consumidor y que indica su estado higiénico-sanitario.
- Estudiar y analizar las resistencias fenotípicas de las enterobacterias aisladas a 12 antimicrobianos distintos de interés clínico.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MUESTREO, AISLAMIENTO Y RECuento DE LOS MICROORGANISMOS.

Se ha analizado un total de 30 muestras, 16 procedentes de pollo y 14 de cerdo. Estas muestras provenían de diferentes partes de los animales y de diversos comercios de la Comunidad Valenciana, conservadas en refrigeración hasta su análisis. En el Anexo III está presente un desglose de la procedencia de las muestras.

Las muestras se cortaron asépticamente tomando 50g representativos de cada muestra y se depositaron en asepsia 25g en una bolsa stomacher para hacer el análisis de *Listeria* spp según la ISO 11290-1 y 25g en otra bolsa stomacher para realizar el análisis de coliformes y de resistencia bacteriana a antibióticos.

En la bolsa del análisis de *Listeria* se añadió 225mL de caldo Half Fraser (Scharlau, Barcelona), se introdujeron en el homogeneizador de paletas durante 3 minutos y se incubó a 30°C durante 24h ± 3h. Después de la incubación en la estufa se procedió a sembrar con triple estría en placas de Agar *Listeria* Ottoviani & Agoti (ALOA) (OXOID, Reino Unido) y PALCAM (Scharlau, Barcelona), que se dejaron a 37°C durante 48h ± 3h. Además, se añadieron 0,1mL del preenriquecimiento a un tubo de caldo Fraser (Scharlau, Barcelona), que se dejó 24h a 37°C. Del tubo de Fraser se volvió a sembrar en triple estría en ALOA y PALCAM durante 48h ± 3h a 37°C. De las placas de ALOA se buscaron colonias azules con halos y de las de PALCAM se buscaron las que tenían coloración negra. Estas colonias se resembrarán en una línea en una placa de Agar Sangre (Scharlau, Barcelona) para observar si las colonias elegidas producen hemólisis. Después de esto se realiza una tira API de *Listeria*® (Biomerièux, Francia).

La tira API de *Listeria*® es una tira de que contiene 10 pruebas bioquímicas liofilizadas en unos microtubos. Las pruebas son: amilasa (DIM), esculina, α-manosidasa, D-arabitol, D-xilosa, L-ramnosa, α-metil-D-glucósido, D-ribosa, glucosa-1-fosfato y D-tagatosa. Una vez rellenadas todas las pruebas con el líquido que contiene la cepa se incubó durante 24h a 37°C. Una vez incubado se añaden el reactivo a todas las pruebas. Por último, se comprueba cada prueba bioquímica si es positiva o negativa, como se puede observar en la Figura 1, y se comprueba en la página web Biomerièux (<https://www.biomerieux.es/node/1041>) la cepa bacteriana.

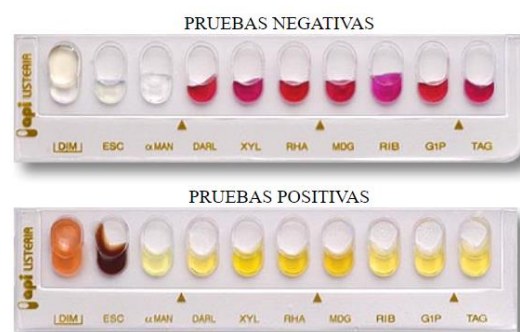


Figura 1. Resultados de las pruebas de la tira API de *Listeria*® (Biomerièux, s/f-a).

En la otra bolsa se añadió 225mL de Agua Peptonada y se introdujo en el homogeneizador de paletas durante 3 minutos. Después de estos 3 min se hicieron disoluciones decimales seriadas de 10⁻¹, 10⁻² y 10⁻³ y se sembró 1mL por duplicado en placas de Microinstant Chromogenic Coliforms Agar Base (CC) (Scharlau, Barcelona). Las placas de las disoluciones decimales seriadas y la bolsa stomacher se incubaron a 37°C durante 24h ± 2h.

En las placas de CC pueden crecer colonias de diferente color: blancas, rojas, azules y moradas. Las colonias que son de color azul son porque reducen β -D-glucuronidasa y las que son de color rojo porque reducen β -D-galactosidasa y por tanto las colonias que reducen las dos son de color morado. Estas últimas son sospechosas de ser *E. coli*.

El recuento de coliformes totales con el resultado en unidades formadoras de colonias se realiza contando las colonias azul oscuras/violetas sospechosas de *E. coli* más las rojas, es decir las coliformes. De las tres disoluciones realizadas se considera para el resultado las placas de las disoluciones que se contienen entre 15 y 150 colonias características y menos de 300 totales.

De la bolsa incubada se siembran en triple estría en placas de CHROMagar™ Orientation (ESBL) (CHROMagar™, Francia) y CHROMagar™ mSuperCARBA base (SC) (CHROMagar™, Francia). En un estudio paralelo se sembró también en medio MacConkey más meropenem (MC+M) y más cefataxima (MC+C) (Scharlau, Barcelona). Se incuban a 37°C durante 24h \pm 2h. Si de estos medios se consiguen colonias que puedan ser de interés, y que están bien separadas, se resiembran en Agar Plate Count (Scharlau, Barcelona).

Las colonias sospechosas de *E. coli* y las de interés resembradas en Agar Plate Count se incubaron durante 24h \pm 2h a 37°C para a continuación comprobar si eran oxidasa negativa con las tiras oxidasa (OXOID, Reino Unido), es decir que no cambiaban de color la tira, como se observa en la Figura 2; si eran catalasa positiva con H₂O₂, es decir que al sumergir la colonia en el peróxido de hidrogeno creaban burbujas; y si la bacteria era Gram negativa con una tinción Gram. Si eran oxidasa negativa, catalasa positiva y Gram negativa se hizo una tira API 20E® (Biomerièux, Francia), para confirmar que tipo de bacteria era.

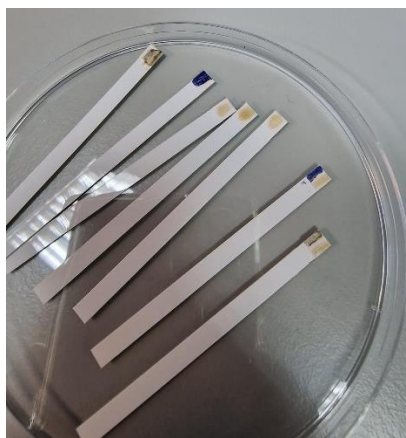


Figura 2. Resultado de pruebas oxidasa con tiras oxidasa. Las azules son pruebas positivas y las que no han cambiado de color, es decir, siguen blancas o amarillas son pruebas negativas.

La tira API 20E® es una tira de plástico que contiene 20 pruebas bioquímicas secas en unos microtubos. Estas pruebas son: *o*-nitrophenil- β -D-galactosidasa (ONPG), arginina dihidrolasa, lisina descarboxilasa, ornitina descarboxilasa, citrato, H₂S, ureasa, triptofandeaminasa, indol, Vogues-Proskauer, gelatinasa, glucosa, manitol, inositol, sorbitol, ramnosa, sacarosa, melibiosa, amigdalina, arabinosa. Una vez incubado se añaden el reactivo a las pruebas necesarias. Por último, se comprueba cada prueba bioquímica si es positiva o negativa, como se puede observar en la Figura 3, y se comprueba en la página web Biomerièux (<https://www.biomerieux.es/node/1041>) la cepa bacteriana.



Figura 3. Resultados las pruebas de la tira API 20E® (Biomerièux, s/f-b).

3.2. TEST DE SUSCEPTIBILIDAD FENOTÍPICA A ANTIMICROBIANOS.

Para estudiar la resistencia fenotípica a antibióticos comunes y de espectro extendido de las diferentes cepas aisladas de las muestras se realizó una prueba de susceptibilidad fenotípica a antimicrobianos. Esto se realizó mediante la técnica Bauer-Kirby o de disco-placa (CLSI, 2014). Consiste en poner 6 discos de 6mm de diámetro de diferentes antibióticos de una cierta concentración conocida y de uso en clínica, que permite una determinar el halo de inhibición que se produce con cada microorganismo.

Se utilizaron doce antibióticos probados para cepas de enterobacterias: Cloranfenicol 30µg (C), Cefotaxima 30µg (CTX), Amoxicilina 30µg (AMC), cefotaxima + ácido clavulánico 40µg (CTL), Ampicilina 10µg (AMP), Ceftazidima + ácido clavulánico 40µg (CAL), Ceftazidima 30µg (CAZ), Levofloxacino 5µg (LEV), Ciprofloxacino 5µg (CIP), Ceftriaxona 30ug (CRO), Ácido Nalidíxico 30ug (NA) e Imipenem 10ug (IPM). Todos estos antibióticos de la casa comercial OXOID, Reino Unido, menos CAL y CTL que son de Liofilchem S.L.R, Italia.

Este análisis consiste en coger cada colonia aislada con un asa de siembra y disolverla en un tubo de suero fisiológico, es decir con un 0,85% de NaCl, hasta llegar al equivalente de turbidez de 0,5 en la escala McFarland. Una vez obtenido esto se introdujo un algodón estéril, se escurre un poco con las paredes del tubo y se siembra en tres direcciones para cubrir toda la superficie del agar Mueller-Hinton. Se siembran por duplicado y se colocan los doce discos de antibióticos de seis en seis. C, CTX, AMC, CTL, AMP y CAL en una placa y CAZ, LEV, CIP, CRO, NA y IMP en otra. Se incubarán a 37°C durante 24h ± 2h.

Después de las 24 horas se miden los diámetros de las zonas de inhibición de cada disco en mm con una regla. En la medición se incluyen los 6 mm del disco. Los resultados se han clasificado según sensibles o resistentes. Como control de calidad se han utilizado los límites aceptables de los diámetros de inhibición establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2014) para la cepa de *E. coli* ATCC 25922.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RECUENTO DE MICROORGANISMOS Y *E. COLI*.

Se analizaron 30 muestras de dos tipos de carne, 16 de pollo y 14 de cerdo, procedentes de 10 comercios diferentes, que están desglosados en la Tabla 1. A estas muestras se les realizó los procedimientos explicados en el apartado 3. Materiales y Métodos para obtener los resultados explicados a continuación.

En la Tabla 1 además se puede observar el recuento de coliformes y la presencia y cuantificación de *E. coli*.

Tabla 1. Procedencia de las muestras y cuantificación de coliformes y *E. coli*.

Muestras	Comercio	Tipo de Carne	Tipo de muestra	Presencia de <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> UFC/g	Coliformes UFC/g
C1	A	Cerdo	Carne picada solo cerdo lomo cabeza	No	<1,5E+03	5,00E+01
C2	C	Cerdo	Carne picada solo cerdo	No	<1,5E+03	1,20E+02
C3	A	Cerdo	Carne picada solo cerdo cinta	No	<1,5E+03	2,30E+03
C4	D	Pollo	Cuello pollo	No	<1,5E+03	2,80E+02
C5	A	Pollo	Muslos de pollo (mezcla para guiso, con ternera)	Si	<1,5E+03	1,00E+02
C6	A	Pollo	Muslos de pollo	No	<1,5E+03	3,00E+03
C7	A	Pollo	Cuarto trasero	No	<1,5E+03	9,80E+04
C8	B	Cerdo	Secreto	No	<1,5E+03	2,00E+02
C9	D	Pollo	Carne picada de pollo	No	<1,5E+03	5,40E+04
C10	D	Cerdo	Carne picada de cerdo	No	<1,5E+03	4,00E+02
C11	E	Cerdo	Cabeza de lomo fileteada	No	<1,5E+03	2,80E+05
C12	E	Cerdo	Costilla de cerdo troceada	No	<1,5E+03	9,60E+04
C13	H	Pollo	Muslitos de pollo	No	<1,5E+03	5,00E+02
C14	H	Cerdo	Cabeza de lomo	No	<1,5E+03	1,00E+02
C15	F	Cerdo	Cerdo a tacos	No	<1,5E+03	4,90E+03
C16	I	Pollo	Hígado	Si	<1,5E+03	7,00E+03
C17	A	Pollo	Cuarto trasero	Si	<1,5E+03	8,50E+02
C18	F	Pollo	Solomillos de pollo	Si	<1,5E+03	0,00E+00
C19	F	Cerdo	Filetes de lomo	No	<1,5E+03	1,50E+02
C20	F	Pollo	Alitas de pollo	Si	<1,5E+03	1,00E+03
C21	J	Cerdo	Cerdo a tacos	No	<1,5E+03	2,50E+04
C22	J	Pollo	Carcasas de pollo	Si	<1,5E+03	3,70E+03
C23	A	Cerdo	Estofado de cerdo	Si	<1,5E+03	1,00E+02
C24	A	Pollo	Hígado de pollo	No	<1,5E3	7,70E+05
C25	G	Cerdo	Troceado para guisar de cerdo	Si	<1,5E3	1,00E+05
C26	I	Pollo	Cuarto trasero de pollo	Si	4,0E+03	3,80E+04
C27	A	Pollo	Cuarto trasero de pollo	Si	<1,5E+03	1,20E+05
C28	G	Pollo	Jamoncitos de pollo	No	<1,5E+03	2,20E+03
C29	B	Cerdo	Chuletas aguja cerdo	Si	<1,5E+03	7,50E+03
C30	B	Pollo	Alas partidas	Si	<1,5E+03	5,00E+01

Se observó que 12 de las 30 muestras presentaban cepas de *E. coli*, aunque de las 18 restantes no se puede decir con certeza que no la presentan sino que fue insuficiente para detectarla, no llegándose al límite de detección. De las que contienen cepas de *E. coli*, excepto la muestra C26 que obtuvo 4,0E3 UFC/g, en el resto no se detecta *E. coli* por recuento en placa. De las 12 en las que se detectó la presencia de *E. coli*, 10 se hicieron a partir de las placas CC y las otras 2 a partir de ESBL y MC+C. Las muestras en las que no se encontró *E. coli* en CC pero si en otros medios fueron la C5, que se encontró en el medio ESBL, y la C18, que se encontró en MC+C. En las muestras en las que se encontró *E. coli* en CC también hubo algunas que se encontró en otros medios. En la C17 se encontró en ESBL y en la C29 en MC+C. Las cepas aisladas de medios de cultivo suplementados con cefalosporinas de 3ª generación, como es el caso de las placas de ESBL y MC+C, presentaron más resistencia, especialmente a la ceftazidima, que es una cefalosporina.

De las muestras totales de pollo, un 56,25% presentaron cepas de *E. coli*, mientras que las de cerdo se obtuvo un porcentaje menor (21,43%). De las muestras totales de cerdo, en el 21,42% se aisló *E. coli*. De las muestras que presentaron *E. coli*, el 25% provenían de carne de cerdo, mientras que el resto provenía de pollo. De las muestras de pollo el 33,33% de muestras con presencia de *E. coli* se aislaron de cuartos traseros de pollo, esto significa que, de las muestras analizadas, el 75% de las provenientes de los cuartos traseros presentaron cepas de *E. coli*. Esto puede ser debido a que esta zona se encuentra cerca de la cloaca, cavidad final del tracto digestivo del pollo, donde se pueden acumular más bacterias fecales. Considerando que en los comercios A y B se obtuvieron los mismos productos, nos indica que el 58,3% de los productos analizados de estos comercios contienen *E. coli*. El mal almacenamiento puede provocar el aumento de cantidad de colonias en la carne, que junto al cocinado incorrecto o la contaminación cruzada puede provocar infecciones en el consumidor, pudiendo llegar a causar varios brotes alimentarios.

Los resultados obtenidos en este trabajo se encuentran en el punto medio de otros estudios, ya que, algunos estudios obtienen porcentajes mayores de muestras contaminadas con *E. coli*, como por ejemplo los realizados por Ruiz-Roldán *et al.* (2018) y Méndez *et al.* (2013) en los que el 84,1% y el 87,18% de las muestras contenían *E. coli*; y sin embargo, otros encontraron menos carga de *E. coli* como el estudio realizado por Uthil *et al.* (2001) en el que el 17,55% de las muestras estaban contaminadas por el patógeno (Uthil *et al.*, 2001; Méndez *et al.*, 2013; Ruiz-Roldán *et al.*, 2018) .

Ninguna de estas muestras contiene más *E. coli* UFC/g de lo que marca el criterio microbiológico aplicado a los productos alimenticios (Reglamento (CE) 2073/2005). Este criterio establecido por la Comisión Europea indica que las carnes separadas mecánicamente y la carne picada debe contener menos de 500UFC/g (Reglamento (CE) 2073/2005). Para la carne fresca los criterios no marcan un límite para la presencia de *E. coli*. Esto significa que a pesar de detectarse *E. coli*, todas las muestras cumplen con los requisitos microbiológicos y son aptos para el consumo (Reglamento (CE) 2073/2005). El criterio microbiológico establece además que la carne picada y la carne separada mecánicamente no debe contener más de 5,0E6 UFC/g colonias aerobias (Reglamento (CE) 2073/2005). Sin embargo, para los canales de pollo y cerdo no se establecen valores de *E. coli* y colonias aerobias, solo de *Salmonella spp.*, que se realizó en un estudio paralelo (Reglamento (CE) 2073/2005).

4.2. RECUENTO DE CEPAS DE *LISTERIA*.

La detección de *Listeria spp.* se realizó sobre las 30 muestras de pollo y cerdo, en la Tabla 2 se observa el desglose de las muestras por su origen y el resultado del análisis.

Tabla 2. Procedencia de las muestras y presencia de *Listeria*.

Muestra	Comercio	Tipo carne	Tipo de muestra	Presencia de <i>Listeria</i>	<i>Listeria</i>	% ID
C1	A	Cerdo	Carne picada solo cerdo lomo cabeza	No		
C2	C	Cerdo	Carne picada solo cerdo	No		
C3	A	Cerdo	Carne picada solo cerdo cinta	No		
C4	D	Pollo	Cuello pollo	No		
C5	A	Pollo	Muslos de pollo (mezcla para guiso, con ternera)	Si	<i>L. monocytogenes</i> <i>L. monocytogenes</i>	98,5% 98,5%
C6	A	Pollo	Muslos de pollo	No		
C7	A	Pollo	Cuarto trasero	No		
C8	B	Cerdo	Secreto	Si	<i>L. innocua</i>	99,6%
C9	D	Pollo	Carne picada de pollo	No		
C10	D	Cerdo	Carne picada de cerdo	No		
C11	E	Cerdo	Cabeza de lomo fileteada	No		
C12	E	Cerdo	Costilla de cerdo troceada	No		
C13	H	Pollo	Muslitos de pollo	Si	<i>L. innocua</i> <i>L. welshimeri</i>	99,6% 99,6%
C14	H	Cerdo	Cabeza de lomo	No		
C15	F	Cerdo	Cerdo a tacos	No		
C16	I	Pollo	Hígado	No		
C17	A	Pollo	Cuarto trasero	No		
C18	F	Pollo	Solomillos de pollo	No		
C19	F	Cerdo	Filetes de lomo	No		
C20	F	Pollo	Alitas de pollo	No		
C21	J	Cerdo	Cerdo a tacos	No		
C22	J	Pollo	Carcasas de pollo	No		
C23	A	Cerdo	Estofado de cerdo	No		
C24	A	Pollo	Hígado de pollo	No		
C25	G	Cerdo	Troceado para guisar de cerdo	Si	<i>L. welshimeri</i> <i>L. welshimeri</i>	99,9% 99,9%
C26	I	Pollo	Cuarto trasero de pollo	Si	<i>L. innocua</i> <i>L. monocytogenes</i>	99,6% 98,5%
C27	A	Pollo	Cuarto trasero de pollo	Si	<i>L. grayi</i>	98,5
C28	G	Pollo	Jamoncitos de pollo	No		
C29	B	Cerdo	Chuletas aguja cerdo	No		
C30	B	Pollo	Alas partidas	Si	<i>L. monocytogenes</i> <i>L. welshimeri</i>	98,5% 99,9%

Como se observa en la Tabla 2, de las 30 muestras, 7 de ellas contenían cepas de *Listeria*. Estas 7 muestras contenían 12 cepas diferentes de *Listeria spp.* Esto supone el 23,33% de las muestras

contenían alguna cepa de *Listeria*. De las muestras que contienen *Listeria spp.* el 71,42% provienen del pollo, siendo todas las *L. monocytogenes* del pollo.

Las doce cepas se confirmaron con tiras API de *Listeria*[®]. Todas ellas con más de un 98% de certeza. De estas cepas de *Listeria* 4 eran de *L. monocytogenes*, 4 de *Listeria welshimeri*, 3 de *Listeria innocua* y una de *Listeria grayi*.

L. welshimeri, *L. innocua* y *L. grayi* son especies del género *Listeria*, presentes en todo el mundo (Orsi et. al., 2016). Estas se consideran no patógenas, por lo que no suelen producir problemas en seres humanos. *L. welshimeri* es una especie perteneciente al género *Listeria* muy poco conocida, pero sigue siendo gram positiva no formadora de esporas. Además, puede crecer a bajas temperaturas, incluso las refrigeradas (Gilot et. al., 2002; Hain et. al., 2006). Aunque no suele ser patógena si que ha habido algunos casos que se han detectado infecciones por esta cepa (Perrin et. al., 2003). *L. grayi* y *L. innocua*, aun sin ser patógenos, también se han detectado casos en los que estas dos cepas han producido infecciones e incluso muertes (Perrin et. al., 2003; Rapose et. al., 2008; Orsi et. al., 2016).

Estos resultados son similares a los observados en otros estudios como el realizado por Uyttendaele et al. (1999) en que se determinó que el 13,71% de la muestra de carne cruda presenta *L. monocytogenes*, y el realizado por Liu et al. (2020) en el que el 8,5% de las muestras que se analizaron contenían *L. monocytogenes* (Uyttendaele et al., 1999; Liu et al., 2020). Si alguna de estas cepas llega al consumidor, porque no se han empleado buenas prácticas a la hora del cocinado y del almacenamiento, puede provocar infecciones. Esto puede ser especialmente problemático si estas personas son embarazadas o personas mayores con sistemas inmunes más comprometidos.

4.3. ANÁLISIS DE RESISTENCIA FENOTÍPICA.

4.3.1. Presencia de Enterobacterias en ESBL

En cuanto a bacterias encontradas en los medios ESBL y SC nos encontramos con 51 posibles cepas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae con potencial patógeno. De estas 53, 32 fueron oxidasa positivas y 21 oxidasa negativas. Las oxidasas-negativas fueron catalasa positivo y 19 de 21 fueron gram positivo. Una vez cumplido que las bacterias eran oxidasa negativo, catalasa positivo y gram negativo, se les procedió a realizar una tira API 20E para identificarlas. De las 19 que cumplieron todos los requisitos se confirmó la presencia de 11 cepas identificadas con un porcentaje de identificación por encima del 92%, procedentes de 9 muestras diferentes, mientras que los 9 aislados restantes, provenientes de 7 muestras diferentes, no fueron identificadas con un porcentaje lo suficientemente preciso. De estas últimas para determinar de forma inequívoca de qué cepa bacteriana se trataba se realizó una secuenciación en un estudio paralelo. En la Tabla 3 se observan las 11 cepas aisladas e identificadas, con la resistencia/sensibilidad a los 12 antibióticos de interés clínico.

De las 11 cepas que se identificaron 7 pertenecían a pollo y 4 a cerdo. 5 de las cepas, provenientes de 4 muestras distintas, pertenecen al comercio A, es decir que de las 9 muestras del comercio A, 4 de ellas contienen al menos una cepa bacteriana de la familia Enterobacteriaceae. Estas cepas fueron tres de *E. coli*, una de *Klebsiella oxytoca* y una *Raoultella ornithinolytica*.

Se identificaron cepas de la familia Enterobacteriaceae: *Klebsiella pneumoniae spp ozaenae*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia fonticola*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia liquefaciens*, *Raoultella ornithinolytica*. Además, se identificó una *Stenotrophomonas maltophilia*. La información de que muestra proviene cada una se encuentra en la Tabla 3 y 4. La presencia de estas bacterias se ha determinado en otros estudios. *E. coli* se ha determinado en un estudio realizado por Bantawa

et al. (2018). En este estudio también se detectó la presencia de *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (Bantawa et al., 2018). En un estudio realizado por Wieler et al. (2011) se determinó la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* (Wieler et al., 2011). La presencia de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* también se determinó en un estudio realizado por Kim et al. (2013) (Kim et al., 2013).

Tabla 3. Patrón de resistencia de cepas aisladas del medio ESBL y resultados antibiogramas de estas cepas. NA; Ácido Nalidíxico; AMC: Amoxicilina; AMP: Ampicilina; CTX: Cefotaxima; CTL: Cefotaxima + Ácido Clavulánico; CAZ: Ceftazidima; CAL: Ceftazidima + Ácido Clavulánico; CRO: Ceftriaxona; C: Cloranfenicol; IMP: Imipenem; LEV: Levofloxacino

Nº de Resistencias	Nº de cepas aisladas	% de Resistencias	Resistencias	
			Antibiótico	Cepas resistentes
1	2	18,18	AMC	<i>S. liquefaciens</i>
			AMP	<i>K. oxytoca</i>
2	4	36,36	AMP, CAZ	<i>S. fonticola</i> (C28)
			AMC, AMP	<i>E. coli</i> (C17), <i>S. fonticola</i> (C16)
			NA, AMC	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
3	3	27,27	AMC, AMP, CAZ	<i>E. coli</i> (C5 ¹), <i>E. coli</i> (C5 ²), <i>K. ozaenae</i>
4	2	18,18	NA, AMC, AMP, CAZ	<i>Rauoutella ornithinolytica</i>
			AMC, AMP, CAZ, CRO	<i>Acinetobacter baumannii</i>

Stenotrophomonas maltophilia es una bacteria que se encuentra en muchos ambientes, incluso extremos, aunque lo más común es encontrarlos en plantas. Es muy importante en los ecosistemas ya que fija el nitrógeno y azufre en la tierra además de degradar contaminantes ambientales. En pocos casos provoca problema en los humanos. Estos pocos casos ocurren en hospitales, donde es un patógeno oportunista. Produce infecciones en cualquier tipo de tejido, en especial del tracto respiratorio (Brooke et al., 2012; An & Berg et al., 2018; Lai et al., 2022). En la Tabla 3 se puede observar que la cepa aislada de esta bacteria es resistente al Ácido Nalidíxico y a la Amoxicilina. En otros estudios, como en el realizado por Lai et al. (2022), se observó que esta bacteria podía desarrollar resistencias a varios antibióticos ya que puede presentar Carbapenemasas, como la Metallo- β -lactamasas (Lai et al., 2022). También puede ser resistente a Ciprofloxacino, Quinolonas, Aminoglucósidos y Colistina, como en los resultados obtenidos por Brooke et al. (2012) (Brooke et al., 2012). En los estudios anteriores se demostró que esta bacteria podía presentar β -lactamasas, por lo que puede ser resistente a Amoxicilina, y también que puede tener resistencia a quinolonas, como es el caso del Ácido Nalidíxico.

K. oxytoca es una bacteria gram negativa que pertenece a la microbiota intestinal humana, pero puede ser patógena en algunos casos, especialmente en personas inmunocomprometidas. En los últimos años se están produciendo infecciones adquiridas en hospitales debido a esta bacteria, produciendo en los pacientes diferentes tipos de sintomatologías, como diarreas, colitis, endocarditis infecciosa o meningitis, aunque normalmente produce infecciones en el tracto urinario y respiratorio. Además, esta bacteria suele presentar varias resistencias a diferentes antibióticos, ya que producen β -lactamasas de espectro extendido, carbapenemasas, lactamasas y enzimas modificadoras de aminoglucósidos (Chakraborty et al., 2016; Singh et al., 2016; Neog et al., 2021;

Yang *et al.*, 2022). En la Tabla 3 y 4 se puede observar que esta bacteria es resistente a Ampicilina e intermedia de Amoxicilina. Estas son las resistencias más comunes en la familia Enterobacteriaceae, pero se puede observar que, comparada con otras cepas de la misma bacteria aislada en otros estudios, no presenta tantas resistencias (Paterson, 2006; Chakraborty *et al.*, 2016). En un estudio realizado por Singh *et al.* (2016) se determinó que el 58% de las cepas aisladas de *K. oxytoca* eran resistentes a Imipenem, Meropenem y Ciprofloxacina, y el 72% resisten la Gentamicina y Ceftriaxona (Singh *et al.*, 2016). En otro estudio realizado por Chakraborty *et al.* (2016) se determinó que el 100% de las cepas aisladas eran resistentes a Ampicilina, el 75% a Amoxicilina y Ácido nalidixico, el 50% a Ciprofloxacina, y un 25% a Ceftriaxona (Chakraborty *et al.*, 2016). Comparando estos estudios con los resultados obtenidos en nuestro estudio se observa que la cepa aislada presentó las resistencias más comunes obtenidas en otros estudios, pero menos resistencias totales.

K. pneumoniae spp. ozaenae es una subespecie de la especie *K. pneumoniae* de la que hay muy poca constancia. Se suele asociar con enfermedades de las vías respiratorias como rinoscleroma o la oca, que se produce en la nariz, pero estas enfermedades no suelen ser comunes (De Champs *et al.*, 2005; Paterson, 2006; Abera *et al.*, 2016; Botelho-Nevers *et al.*, 2007; Gonzales & Murali, 2016). Tal y como muestran nuestros resultados, la cepa *K. pneumoniae spp. ozaenae* aislada resultó ser resistente a Amoxicilina, Ampicilina, Ceftazidima, resistencias que se han determinado e. En un estudio realizado por Goldstein *et al.* (1978) determinó que el 76% de las muestras aisladas eran resistentes a Ampicilina y el 79% a Tetraciclinas (Goldstein *et al.*, 1978). Murray *et al.* (1981) determinó que las cepas que aislaron, más del 80% era resistente a Ampicilina y Carbenicilina (Murray *et al.*, 1981). Recientemente, en un estudio realizado por Gonzales y Murali (2016), se llegó a los mismos resultados, que *K. ozaenae* era resistente a Ampicilina (Gonzales & Murali, 2016). Comparando los resultados obtenidos en nuestro estudio con los estudios anteriormente mencionados, se determinó que *K. ozaenae* es resistente a Ampicilina y, al tratarse de una bacteria de la familia Enterobacteriaceae, las resistencias más comunes a esta familia son a Amoxicilina, igual que a las cefalosporinas de primeras generaciones, aunque en este caso Ceftazidima es de tercera generación (Goldstein *et al.*, 1978; Murray *et al.*, 1981; Paterson, 2006; Abera *et al.*, 2016; Gonzales & Murali, 2016).

Raoultella ornithinolytica es un bacilo gram negativo, aerobio, no móvil. Se suele encontrar en ambientes acuáticos y en insectos. En muy pocos casos se han dado casos de infecciones en humanos, pero esto puede deberse a la dificultad de identificación. Esta bacteria es resistente intrínsecamente a aminopenicilinas, porque producen β -lactamasas. Las infecciones producidas por la familia *Raoultella spp.* se han tratado con cefalosporinas y quinolonas de tercera y cuarta generación, pero algunas cepas son resistentes a estos antibióticos (Haruki *et al.*, 2014; Seng *et al.*, 2016; Hajjar *et al.*, 2020). En la Tabla 3 y 4 se puede observar que la *Raoultella ornithinolytica* aislada de pollo es resistente al Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Amoxicilina y Ceftazidima. Como de las cuatro resistencias que presentó esta bacteria provienen de tres grupos diferentes de antibiótico, esta bacteria es multirresistente (López-Pueyo *et al.*, 2011). En un estudio realizado por Seng *et al.* (2016) se determinó que el 95% de los aislados de *R. ornithinolytica* eran resistentes a la Amoxicilina (AMC), el 10% a cefalosporinas de tercera generación y el 6% a quinolonas (Seng *et al.*, 2016). En otro estudio realizado por Haruki *et al.* (2014) se determinó que todas las cepas identificadas eran resistentes a Ampicilina (AMP), mientras que eran sensible a Cefotaxima y Levofloxacina (Haruki *et al.*, 2014). En otros dos estudios realizados por Abbas *et al.* (2018) y Khajuria *et al.* (2013) se aislaron cepas de esta bacteria multirresistentes (Abbas *et al.*, 2018; Khajuria *et al.*, 2013). Comparando estos resultados con los obtenidos en nuestro estudio se puede observar que la cepa que se ha aisló en nuestro estudio es resistente a los antibióticos a los que *R. ornithinolytica* es frecuentemente

resistente, AMC y AMP, pero también a otros antibióticos a los que no son tan frecuentes, como el Ácido Nalidíxico, que es una quinolona a la que este tipo de bacteria no suele ser resistente, y la Ceftazidima, que es una cefalosporina a los que poco casos de esta bacteria presentaron resistencia (Haruki *et al.*, 2014; Seng *et al.*, 2016).

Serratia fonticola es una bacteria que se encuentra en todos los ámbitos, incluyendo en los humanos, aunque no suele ser patógeno. Suele producir infecciones de piel y tejidos blandos (Van Hoek *et al.*, 2014; Aljorayid *et al.*, 2016; Hai *et al.*, 2020). En los resultados obtenidos en nuestro estudio se puede observar que *S. fonticola* es resistente a Amoxicilina y Ampicilina, que coincide con los resultados de otros estudios. En estos estudios además se detectaron más resistencias, pero la cepa detectada en nuestro estudio solo tenía las resistencias comunes a todas las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, Amoxicilina y Ampicilina (Paterson, 2006; Aljorayid *et al.*, 2016). En un estudio realizado por Aljorayid *et al.* (2016) se determinó que las cepas de *S. fonticola* aisladas eran resistentes a Ampicilina, Ampicilina-sulbactam Cefazolina y a otros más (Aljorayid *et al.*, 2016). En otro estudio realizado por Van Hoek *et al.* (2015) se determinó que las cepas determinadas eran resistentes a β -lactámicos de espectro extendido, en este caso relacionadas a las cefalosporinas (Van Hoek *et al.*, 2014). En un estudio realizado por Hai *et al.* (2020) se determinó que una cepa de *S. fonticola*, aislada de una paciente que sufría de una infección del tracto biliar, era resistente a todos los antibioticos con los que se probó: Ceftazidima, Impinem, Meropenem, Levofloxacin, Ciprofloxacino y otros antibióticos no testados en este trabajo (Hai *et al.*, 2020). Comparando estos se puede observar que la colonia aislada en nuestro estudio no presentó tantas resistencias como lo hacen cepas observadas en otros estudios, siendo que en estos *S. fonticola* resistía a varias familias de antibióticos.

Serratia liquefaciens causa infecciones de torrente sanguíneo y sepsis, aunque no suele ser detectada debido a la falta de sistemas de identificación disponibles. Se puede encontrar en alimentos como la leche y en productos del mar (Stock *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2015; Amaretti *et al.*, 2020; Begrem *et al.*, 2021; Salgado *et al.*, 2021). En la Tabla 3 se puede observar que la colonia aislada de *Serratia liquefaciens* resultó ser resistente a Ampicilina y Amoxicilina, que es la resistencia común en la familia Enterobacteriaceae, además de otros estudios también se demostró que había cepas con la resistencia a Amoxicilina (Stock *et al.*, 2003; Paterson, 2006). En un estudio realizado por Amaretti *et al.* (2020), una cepa de *S. liquefaciens* resultó ser resistente a Amoxicilina-Ácido Clavulánico (Amaretti *et al.*, 2020). En otro estudio realizado por Stock *et al.* (2003) se detectó que las cepas identificadas de *S. liquefaciens* eran resistentes a Amoxicilina, Amoxicilina-Ácido Clavulánico y otros antibióticos que no se realizaron en nuestro estudio (Stock *et al.*, 2003). Comparando estos estudios con los resultados obtenidos son los esperados ya que en todos los estudios las cepas de esta bacteria resistían a Amoxicilina, y la resistencia a la Ampicilina es una de las más comunes que presenta la familia Enterobacteriaceae (Paterson, 2006).

Acinetobacter baumannii es un cocobacilo, gram negativo, sin flagelo y patógeno oportunista que se puede encontrar en casi todos los ambientes. Esta bacteria es de interés clínico ya que puede, gracias a su genoma especialmente plástico, adquirir rápidamente resistencias a muchos antibióticos, siendo ya una de las más importantes bacterias multirresistentes. Esta bacteria puede producir infecciones de piel, de ojos, de tejido blando o enfermedades como neumonía, meningitis y endocarditis (Howard *et al.*, 2012; Antunes *et al.*, 2014; Karumathil *et al.*, 2016; Harding *et al.*, 2018; De Oliveira *et al.*, 2020; Ababneh *et al.*, 2022; Whiteway *et al.*, 2022). En la Tabla 3 y 4 se puede observar que la colonia aislada es resistente a Amoxicilina, Ampicilina, Ceftriaxona, Ceftazidima, e intermedia para Impinem. Esto concuerda con los resultados de estudios anteriores, ya que el Impinem es una Carbapenemasa, la Ceftriaxona es una Cefalosporina, la Ceftazidima es

una Cefalosporina, y la Ampicilina y Amoxicilina son antibióticos β -betalactámicos (Karumathi *et al.*, 2016; De Oliveira *et al.*, 2020). Según un estudio realizado por De Oliveira *et al.* (2020) *A. baumannii* resultó ser resistente a muchos antibióticos, algunos de ellos siendo Carbapenems, Aminoglucósidos, Cloranfenicol, β -Lactámicos, Ceftazidima y Cefalosporinas de 4ª generación (De Oliveira *et al.*, 2020). En otro estudio realizado por Karumathil *et al.* (2016) se determinó que cepas de *A. baumannii* procedentes de lechugas eran resistentes a Ampicilina, Cloranfenicol, Amoxicilina-Clavulánico y otros antibióticos no realizados en nuestro estudio (Karumathil *et al.*, 2016). En otro estudio realizado por Ababneh *et al.* (2022) se determinó que cuatro cepas de *A. baumannii* resistió a 16 antibióticos, incluyendo Carbapenems, como el Imipenem (Ababneh *et al.*, 2022). Comparando los resultados obtenidos en nuestro estudio con los realizados por otras personas, la cepa aislada en nuestro estudio resultó ser resistente a dos familias de antibióticos y intermedia para otra, sin embargo, en otros estudios las cepas fueron resistentes a 5 familias, muchas de las cuales incluían antibióticos de nuevas generaciones.

Las dos cepas de *E. coli* de la muestra C5 tenían las mismas resistencias, Amoxicilina, Ampicilina, Ceftazidima, e intermedia para Ceftriaxona y Cefotaxima. En cambio, la cepa proveniente de la muestra C17 solo presentó resistencia a Amoxicilina. Esto concuerda con los estudios de Ezekiel *et al.* (2011), en el que se encontró resistencia a Ceftriaxona y Amoxicilina en el 66,7% y 93,3% de las cepas analizadas respectivamente (Ezekiel *et al.*, 2011). Otro estudio realizado en Etiopia por Abera *et al.* (2016) obtuvo resultados similares para el Cloranfenicol del 41,6% (Abera *et al.*, 2016). La Ampicilina es una resistencia común en la familia Enterobacteriaceae (Paterson, 2006). En cuanto a la resistencia a Ceftazidima, un 3% de las cepas de *E. coli* son resistentes (Roth *et al.*, 2019). También se han detectado casos en los que el 1,7% de las cepas presentaron estas resistencias, y en los que es superior, con un 9,8% (Abbassi *et al.*, 2017; Yassin *et al.*, 2017). La resistencia de cepas a la Cefotaxima en países europeos como Noruega es de 1,5% (Kaspersen *et al.*, 2018), pero en otros es más alta, llegando al 43% en Brasil (Abbassi *et al.*, 2017). La resistencia de cepas de *E. coli* a Ceftriaxona es del 24%, 48% y del 68% en los estudios realizados por Roth *et al.* (2019), Korb *et al.* (2015) y Ezekiel *et al.* (2011), respectivamente (Ezequiel *et al.*, 2011; Korb *et al.*, 2015; Roth *et al.*, 2019).

Si cualquiera de los microorganismos anteriores llega a infectar al consumidor porque no se han empleado buenas prácticas para su preparación, puede provocar enfermedades difíciles de tratar ya que todas ellas tienen resistencia a al menos un antibiótico, y muchas de ellas son poco conocidas en infecciones humanas.

4.3.2. *E. coli* aislados en medio CC

De las placas sembradas en CC que dieron positivo para *E. coli*, se aislaron dichas cepas. A estas cepas se les realizó antibiogramas para descubrir si alguna presentaba resistencia a alguno de los antibióticos testados. En la Figura 5 se pueden observar las 29 cepas identificadas de *E. coli*, su procedencia y la resistencia a los 12 antibióticos de interés clínico.

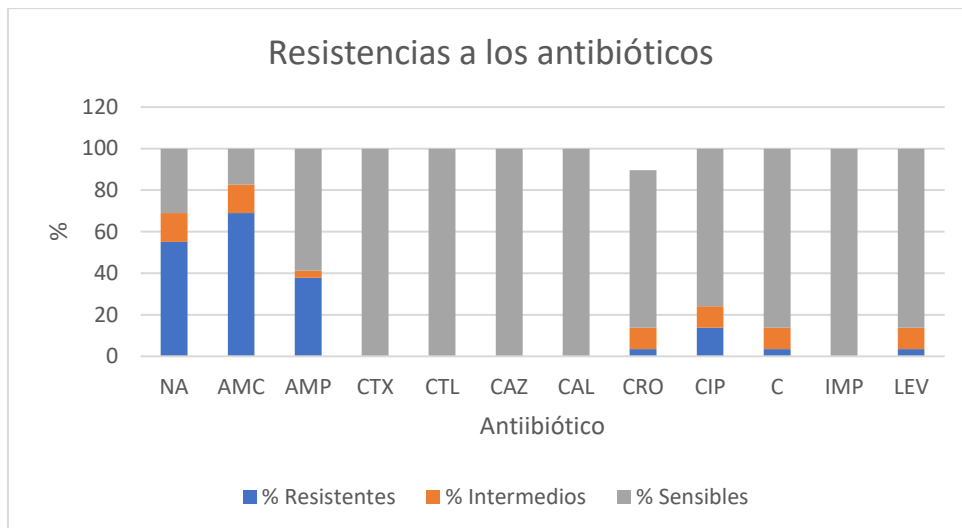


Figura 4. Resistencias de las cepas de *E. coli* de CC. NA; Ácido Nalidíxico; AMC: Amoxicilina; AMP: Ampicilina; CTX: Cefotaxima; CTL: Cefotaxima + Ácido Clavulánico; CAZ: Ceftazidima; CAL: Ceftazidima + Ácido Clavulánico; CRO: Ceftriaxona; CIP: Ciprofloxacino; C: Cloranfenicol; IMP: Imipenem; LEV: Levofloxacino.

En la Figura 4 se puede observar que todas las cepas aisladas resultaron ser sensibles a Imipenem, a Ceftazidima, Ceftazidima más Ácido Clavulánico, Cefotaxima, Cefotaxima más Ácido Clavulánico. Las cepas de *E. coli* que se aislaron en medios suplementados con cefalosporinas, como el ESBL, sí eran resistentes a la Ceftazidima. No se aisló ninguna cepa de *E. coli* de los medios suplementados con carbapenems (SC), ya que no presentaban resistencia a este tipo de antibióticos, como puede ser al Imipenem. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Shams *et al.* (2018), en el que solo el 3% de las cepas aisladas de *E. coli* tenían resistencia a Imipenem (Shams *et al.*, 2018). También se han detectado pocas cepas resistentes a Ceftazidima. En pollo, en un estudio de Roth *et al.*, 2019 en muestras de diferentes partes del mundo, se detectó que el 3% de las cepas aisladas resistían a la Ceftazidima (Roth *et al.*, 2019). En Túnez las cepas resistentes son menores porcentualmente a la global, con un 1,7; mientras que, en China, es ligeramente superior para las cepas detectadas en carne de pollo, con un 9,8%, e inferior para la carne de cerdo con un 1,8% (Abbassi *et al.*, 2017; Yassin *et al.*, 2017). La resistencia a Cefotaxima varía en todo el mundo, siendo inferior en las cepas aisladas en Túnez (2,3%) y en Noruega (1,5%), y superior en las aisladas en Brasil (43%) y China (21,3%) (Korb *et al.*, 2015; Abbassi *et al.*, 2017; Yassin, *et al.* 2017; Kaspersen *et al.*, 2018). Globalmente, en muestras de pollo, la presencia de resistencia en cepas de *E. coli* es de 23% (Roth *et al.*, 2019). La combinación de Ceftazidima y Cefotaxima con Ácido Clavulánico se utiliza para estudiar si la cepa es resistente a cefalosporinas de espectro extendido. En este caso ninguna de las cepas era resistente a ninguna de estas dos cefalosporinas, ni a la mezcla con Ácido Clavulánico.

De las cepas aisladas en este trabajo, el 3,45 % resultaron ser resistentes al Cloranfenicol, Levofloxacino y a la Ceftriaxona. Esto es bastante diferente a estudios que se han hecho en China y Etiopia, ya que en estos se obtuvo que alrededor del 50% de las cepas aisladas eran resistentes a Cloranfenicol (Jiang *et al.*, 2011; Abera *et al.*, 2016; Yassin *et al.*, 2017). Otro estudio realizado por Roth *et al.* (2019) obtuvo resultados parecidos en muestras de pollo de diferentes zonas del mundo, con un 52% de las cepas aisladas siendo resistentes al Cloranfenicol (Roth *et al.*, 2019). En cambio, si que se asemejan con los resultados obtenidos por Hussain *et al.* (2017) en India y por Kaspersen *et al.* (2018) en Noruega con el 8% y el 1,5% de las cepas resistentes al Cloranfenicol (Hussain *et al.*, 2017; Kaspersen *et al.*, 2018). En cuanto al Levofloxacino también se observa menor resistencia que en otros estudios. En un estudio realizado por Miura *et al.* (2008) que se hizo sobre unas pocas

muestras analizadas de pacientes con infecciones producidas por *E. coli*, se determinó que todas las cepas aisladas eran resistentes a Levofloxacino (Miura *et al.*, 2008). En Corea del Sur, en un estudio realizado por Jang *et al.* (2011) que analizó la resistencia a Levofloxacino de las cepas aisladas durante varios años se determinó que en el 2005 y 2006 eran resistentes el 29,49% y 26,51%, respectivamente, datos que aumentaron hasta el 40,21% y 43,20% los años 2007 y 2008, respectivamente, (Jang *et al.*, 2011). El aumento de las cepas resistente a las bacterias se debe al creciente uso de los antibióticos, que proporciona a las bacterias a más exposición a estos antibióticos para adquirir resistencia a estos (Klein *et al.*, 2018). En cuanto a la resistencia a la Ceftriaxona se obtuvieron resultados parecidos a los obtenidos en el estudio realizado en China por Yassin *et al.* (2017) en el que el 2,7% de las cepas aisladas de cerdo son resistentes a Ceftriaxona. Esto cambia para las muestras de pollo que el 18,2% de las cepas aisladas son resistentes (Yassin *et al.*, 2017). En otros estudios realizados por Roth *et al.* (2019), Korb *et al.* (2015) y Ezekiel *et al.* (2011), el 24%, 48% y 68% de las cepas eran resistentes a este antibiótico, respectivamente (Ezequiel *et al.*, 2011; Korb *et al.*, 2015; Roth *et al.*, 2019).

De las cepas aisladas el 13,79% eran resistentes a la Ciprofloxacino, que es similar a varios estudios. Estos estudios realizados por Ezekiel *et al.* (2011) en Nigeria, Abbassi *et al.* (2017) en Túnez y Korb *et al.* (2015) en Brasil detectaron que, respectivamente, el 6,7%, 18,4% y 23% de las cepas eran resistentes a la Ciprofloxacina (Ezekiel *et al.*, 2011; Korb *et al.*, 2015; Abbassi *et al.*, 2017). Sin embargo, en otros estudios se observó que el número de cepas resistentes a este antibiótico es más alto, del 40% (Abera *et al.*, 2016), 44,2% (Yassin *et al.*, 2017), 53% (Roth *et al.*, 2019), 55,6% (Yassin *et al.*, 2017) y 84% (Hussain *et al.*, 2017)

En cuanto la resistencia a Ampicilina se determinó que el 37,93% de las cepas aisladas contenían esta resistencia. Estos datos son similares a los obtenidos en Noruega por Kaspersen *et al.* (2018), en el que de las cepas aisladas el 21,5% eran resistentes a Ampicilina (Kaspersen *et al.*, 2018). En otros estudios sí que la resistencia a este antibiótico ha sido más alta, 60,2% (Yassin *et al.*, 2017), 69% (Roth *et al.*, 2019), 74,8 (Yassin *et al.*, 2017), 99,5% (Jiang *et al.*, 2011) y 100% (Korb *et al.*, 2015). Esto ocurre porque la Ampicilina es uno de los antibióticos a los que la familia Enterobacteriaceae, de la que forma parte *E. coli*, suele ser resistente a Ampicilina y Amoxicilina (Paterson, 2006; Abera *et al.*, 2016).

El Ácido Nalidíxico ha presentado resistencia en el 55,17% de las cepas aisladas, siendo el segundo más resistente en el presente estudio. Este valor es similar a los obtenidos por Roth *et al.* (2019) en muestras de pollo obtenidas de diferentes partes del mundo y a los de Korb *et al.* (2015) en muestras de pollo en Brasil. Estos estudios obtuvieron que, de las cepas aisladas, el 40% y el 62%, respectivamente, eran resistentes a este antibiótico. También hay estudios en los que el porcentaje de cepas resistentes es menor, como el que realizó Abbassi *et al.* (2017) en Túnez que obtuvo que el 28,5% de las cepas eran resistentes a este antibiótico; y mayores como los que realizó Yassin *et al.* (2017) en China, que obtuvo que el 81,2% de las cepas aisladas de pollo, y el 84,1% de las cepas aisladas de cerdo, eran resistentes al Ácido Nalidíxico (Yassin *et al.*, 2017). Por lo que nuestros resultados están en consonancia con la presencia de Ac. Nalidíxico en muestras de pollo, aunque hay países con menos regulación del uso de los mismos que obtienen resultados mucho mayores como es el caso de China.

La Amoxicilina es el antibiótico al que más resistencias se detectaron, siendo el 68,97% de las muestras aisladas resistentes. Esto es similar a los estudios realizados por Abbassi *et al.* (2017) en Túnez, Roth *et al.* (2019) en muestras de todo el mundo y Jiang *et al.* (2011) en China que obtuvieron que el 40,2 %, el 65% y 65,1% de las cepas aisladas eran resistentes a la Amoxicilina (Jiang *et al.*, 2011; Abbassi *et al.*, 2017; Roth *et al.*, 2019). En otro estudio realizado por Ezekiel *et al.* (2011) en

Nigeria se determinó que de las cepas que se aislaron el 93,3% eran resistentes a Amoxicilina (Ezekiel *et al.*, 2011). Igual que ocurre con la Ampicilina, la Amoxicilina también es una resistencia común en la familia Enterobacteriaceae (Paterson, 2006; Abera *et al.*, 2016).

De las cepas aisladas, el 79,31% mostraron resistencia frente al menos uno y el 62,07% mostraron resistencia a más de uno de los antibióticos probados. De las cepas que resistentes, el 21,74% lo era solo a un antibiótico, el 34,78% a dos, el 30,43% a tres y el 13,04% a cuatro. En la tabla 4 se puede observar las resistencias de cada cepa y en el Anexo IV la procedencia de cada cepa.

Tabla 4. Patrón de resistencia de las cepas de *E. coli*. NA: Ácido Nalidíxico; AMC: Amoxicilina; AMP: Ampicilina; CTX: Cefotaxima; CTL: Cefotaxima + Ácido Clavulánico; CAZ: Ceftazidima; CAL: Ceftazidima + Ácido Clavilánico; CRO: Ceftriaxona; CIP: Ciprofloxacino; C: Cloranfenicol; IMP: Imipenem; LEV: Levofloxacino;

Nº de Resistencias	Nº de cepas aisladas	% de Resistencias	Resistencias	
			Antibiótico	Cepa
0	6	20,69	-	E4, E5, E19, E25, E26, E27
1	5	17,24	NA	E11
			AMC	E7, E9, C30
			LEV	E20
2	8	27,59	NA, AMC	E13, E14, E15, E16, E17, E18
			AMC, AMP	E8
			AMP, CRO	E10
3	7	24,14	NA, AMP, AMC	E1, E2, E3, E6, E12, E22
			AMC, CIP, C	E29
4	3	10,34	NA, AMC, AMP, CIP	E21, E23, E24

Observando los resultados se puede apreciar que de las cepas aisladas la combinación de resistencia que predominó es la del Ácido Nalidíxico con la Amoxicilina, habiendo 6 cepas que la presentaban y otras 6 que, además de estas dos, resistía a la Ampicilina. Esto ocurre porque estas resistencias son las que más suelen presentarse en *E. coli* (Ezekiel *et al.*, 2011; Jiang *et al.*, 2011; Yassin *et al.*, 2017).

Los resultados obtenidos del estudio mostraron que el 3,45% de las cepas aisladas fueron multirresistentes. Una cepa multirresistente es una que es resistente a tres o más familias de antibióticos (López-Pueyo *et al.*, 2011). En el estudio se observa que la cepa E29 presentó resistencia a tres antibióticos pertenecientes a 3 grupos antibacterianos diferentes: la Amoxicilina, del grupo de las penicilinas; el ciprofloxacino, de las quinolonas; y el cloranfenicol, de las anfenicoles. El resto de las cepas, aun presentando resistencia a varios antibióticos, éstos no eran de tres grupos diferentes. Comparando los resultados obtenidos en nuestro estudio con otros estudios, la presencia de cepas multirresistentes es inferior. En otros estudios realizados por Basak *et al.* (2016), Molton *et al.* (2013), Abbassi *et al.* (2017) se determinó que el 37,1%, 44%, 44,2% de las bacterias eran multirresistente, respectivamente (Molton *et al.*, 2013; Basak *et al.*, 2016; Abbassi *et al.* 2017). La aparición de cepas multirresistentes se debe principalmente al uso de antibióticos como promotores de crecimiento de animales y la prevención de enfermedades, tanto en humanos como en animales (Hussain *et al.*, 2017). La baja aparición en nuestro estudio puede estar relacionada a la prohibición de antibióticos como promotores del crecimiento en la UE. El riesgo de la multirresistencia se produciría en una infección provocada por alguna cepa de *E. coli* resistente o multirresistente en un brote alimentario lo que haría su tratamiento con antibióticos más

complicado, Pudiendo incluso provocar en individuos inmunocomprometidos complicaciones so incluso la muerte.

5. CONCLUSIONES

Todas las muestras de este estudio cumplieron con el criterio microbiológico, por lo que resultaron ser aptas para el consumo, lo que teniendo en cuenta que uno de los problemas más importantes en la aparición de brotes de toxiinfección de la actualidad son las zoonosis junto al consumo de alimentos en mal estado, especialmente las carnes, hace que su consumo sea seguro siempre que se cumplan las normas de higiene y manipulación de estos productos y se evite la contaminación cruzada.

La detección de *E. coli* en las muestras fue independiente del comercio en el que se compraron, pero sí hubo relación en cuanto al tipo de carne, ya que se han detectado más cepas en la carne de pollo. En el caso de *Listeria* ocurrió lo mismo, ya que se detectaron más cepas en la carne del pollo, sin relación al comercio del que provenía.

De las muestras de *E. coli* que se aislaron, el 79,31% de las cepas mostraron un perfil fenotípico de al menos un antibiótico, y un 62,07% a más de uno. Una de las cepas presentó resistencia a cuatro antibióticos, siendo 3 de ellos de diferente grupo, por lo que se clasificó como multirresistente lo que podría dificultar su tratamiento en caso de toxiinfección.

En general de todas las cepas de *E. coli* aisladas de medios sin suplementación antibiótica presentaron mayor resistencia al Ácido Nalidíxico y Amoxicilina. Los que menos resistencia presentaron fueron el Imipinem y las cefalosporinas de tercera generación, incluyendo la mezcla de estas con el Ácido Nalidíxico. Este resultado indica que la mayoría de *E. coli* aislados, no suponen un mayor riesgo ya que fueron sensibles a carbapenemes y cefalosporinas de tercera generación, ambas familias de antibióticos de uso en clínica.

Se identificaron diferentes cepas de la familia Enterobacteriaceae con potencial patógeno. Estas fueron: *Klebsiella pneumoniae spp ozaenae*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia fonticola*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia liquefaciens*, *Raoutella ornithinolytica*. Además, se identificó una *Stenotrophomonas maltophilia*. Estas cepas aisladas de ESBL, medio suplementado con cefalosporinas de tercera generación, los antibióticos a los que más resistencia presentaron fueron a Ampicilina y Amoxicilina. De estas bacterias la *Raoultella ornithinolytica* fue resistente a tres grupos de antibióticos, por lo que se consideró multirresistente. Este resultado puede ser preocupante ya que son antibióticos de uso en clínica y los carbapenemes de última línea de tratamiento por lo que es necesaria una vigilancia de la aparición de resistencias a dichos antibióticos para que su uso se pueda seguir considerando como seguro.

6. REFERENCIAS

ABABNEH, Q., AL-ROUSAN, E., & JARADAT, Z. (2022). Fresh produce as a potential vehicle for transmission of *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Food Contamination*, 9(1), 1-9.

ABBAS, A., & AHMAD, I. (2018). First report of neonatal early-onset sepsis caused by multi-drug-resistant *Raoultella ornithinolytica*. *Infection*, 46(2), 275-277.

ABBASSI, M. S., KILANI, H., ZOUARI, M., MANSOURI, R., OUSSAMA, E. F., HAMMAMI, S., & CHEHIDA, N. B. (2017). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry, bovine and ovine in Tunisia: a real animal and human health threat. *J Clin Microbiol Biochem Technol*, 3(2), 019-123.

ABEBE, E., GUGSA, G., & AHMED, M. (2020). Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. *Journal of tropical medicine*, 2020.

ABERA, B., KIBRET, M., & MULU, W. (2016). Extended-Spectrum beta (β)-lactamases and Antibiogram in Enterobacteriaceae from clinical and drinking water Sources from Bahir Dar City, Ethiopia. *PLoS one*, 11(11), e0166519.

ABERA, B., KIBRET, M., & MULU, W. (2016). Extended-Spectrum beta (β)-lactamases and Antibiogram in Enterobacteriaceae from clinical and drinking water Sources from Bahir Dar City, Ethiopia. *PLoS one*, 11(11), e0166519.

AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN (AESAN). (2022a, septiembre 24). *Alerta por presencia de Listeria monocytogenes en salchichas procedentes de Italia (Ref. ES2022/270)*. Gob.es. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/2022_270.htm

AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN (AESAN). (2022b, septiembre 30). *Alerta por presencia de Listeria monocytogenes en morcilla (embutido de hígado) procedente de España (Ref. ES2022/275)*. Gob.es. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/2022_275.htm

AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN (AESAN). (2022c, diciembre 23). *Alerta por presencia de Listeria monocytogenes en carne de cabeza de cerdo cocida procedente de España*. Gob.es. https://www.aesan.gob.es/va/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/cabeza_cerdo.htm

AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN (AESAN). (2023, marzo 9). *Alerta por presencia de Listeria monocytogenes en cecina en lonchas con aceite de oliva procedente de España (Ref. ES2023/050)*. Gob.es. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/2023_03.htm

AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN (AESAN). (2020, octubre 30). *Alerta por presencia de Escherichia coli productora de toxinas Shiga en queso Brie procedente de Francia (ES 2020/191)*. Gob.es. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/queso_Brie.htm

ALJORAYID, A., VIAU, R., CASTELLINO, L., & JUMP, R. L. (2016). *Serratia fonticola*, pathogen or bystander? A case series and review of the literature. *IDCases*, 5, 6-8.

- ALLOCATI, N., MASULLI, M., ALEXEYEV, M. F., & DI ILIO, C. (2013). Escherichia coli in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10(12), 6235-6254.
- AMARETTI, A., RIGHINI, L., CANDELIERE, F., MUSMECI, E., BONVICINI, F., GENTILOMI, G. A., ... & RAIMONDI, S. (2020). Antibiotic resistance, virulence factors, phenotyping, and genotyping of non-Escherichia coli Enterobacterales from the gut microbiota of healthy subjects. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1847.
- AN, S. Q., & BERG, G. (2018). Stenotrophomonas maltophilia. *Trends in microbiology*, 26(7), 637-638.
- ANTUNES, L. C., VISCA, P., & TOWNER, K. J. (2014). Acinetobacter baumannii: evolution of a global pathogen. *Pathogens and disease*, 71(3), 292-301.
- BANTAWA, K., RAI, K., SUBBA LIMBU, D., & KHANAL, H. (2018). Food-born bacterial pathogens in marketed raw meat of Dharan, eastern Nepal. *BMC Res Notes*, 11(1), 618.
- BASAK, S., SINGH, P., & RAJURKAR, M. (2016). Multidrug resistant and extensively drug resistant bacteria: a study. *Journal of pathogens*, 2016.
- BASTIDAS-CALDES, C., GUERRERO-FREIRE, S., ORTUÑO-GUTIÉRREZ, N., SUNYOTO, T., GOMES-DIAS, C. A., RAMÍREZ, M. S., ... & CALVOPIÑA, M. (2023). Colistin resistance in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in humans and backyard animals in Ecuador. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, e48.
- BAYARSKI, Y. (2006). Antibiotics and Their Types, Uses and Side Effects. *Dari: <http://hamiltoncountypreppers.org/>. Diakses, 12.*
- BECERRA, G., PLASCENCIA, A., LUÉVANOS, A., DOMÍNGUEZ, M., & HERNÁNDEZ, I. (2009). Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 29(2), 70-76.
- BEGREM, S., JÉRÔME, M., LEROI, F., DELBARRE-LADRAT, C., GROVEL, O., & PASSERINI, D. (2021). Genomic diversity of Serratia proteamaculans and Serratia liquefaciens predominant in seafood products and spoilage potential analyses. *International Journal of Food Microbiology*, 354, 109326.
- BETANCOR, L., GADEA, M. P., & 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.
- BIOMÉRIEUX (s/f-a). *apiweb™*. Biomerieux.com. Recuperado el 13 de julio de 2023, de <https://apiweb.biomerieux.com/colorCheck/21?v=2>
- BIOMÉRIEUX (s/f-b). *apiweb™*. Biomerieux.com. Recuperado el 13 de julio de 2023, de <https://apiweb.biomerieux.com/colorCheck/1?v=2>
- BOTELHO-NEVERS, E., GOURIET, F., LEPIDI, H., COUVRET, A., AMPHOUX, B., DESSI, P., & RAOULT, D. (2007). Chronic nasal infection caused by Klebsiella rhinoscleromatis or Klebsiella ozaenae: two forgotten infectious diseases. *International journal of infectious diseases*, 11(5), 423-429.
- BROOKE, J. S. (2012). Stenotrophomonas maltophilia: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 25(1), 2-41.
- CALVO, J., & MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(1), 44-52.

- CHAKRABORTY, S., MOHSINA, K., SARKER, P.K., ALAM, MD. Z., KARIM, M.I.A, & SAYEM, S.M.A. (2016) Prevalence, antibiotic susceptibility profiles and ESBL production in *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* among hospitalized patients. *Period Biol* 118:53-58. <https://doi.org/https://doi.org/10.18054/pb.2016.118.1.3160>
- CHIAPPE, D. (2023, abril 15). *Una superbacteria contamina el 40% de la carne vendida en España*. Heraldo de Aragón. <https://www.heraldo.es/noticias/salud/2023/04/15/superbacteria-contamina-carne-vendida-espana-1645014.html>
- CHOWDHURY, G., RAMAMURTHY, T., DAS, B., GHOSH, D., OKAMOTO, K., MIYOSHI, S. I., DUTTA, S., & MUKHOPADHYAY, A. K. (2022). Characterization of NDM-5 Carbapenemase-Encoding Gene (*bla_{NDM-5}*) - Positive Multidrug Resistant Commensal *Escherichia coli* from Diarrheal Patients. *Infection and drug resistance*, 15, 3631–3642. <https://doi.org/10.2147/IDR.S364526>
- CODJOE, F. S., & DONKOR, E. S. (2017). Carbapenem resistance: a review. *Medical Sciences*, 6(1), 1.
- COMISIÓN EUROPEA (CE), (s/f). *Acción de la UE en materia de resistencia a los antimicrobianos*. Public Health. Recuperado el 8 de julio de 2023, de https://health.ec.europa.eu/antimicrobial-resistance/eu-action-antimicrobial-resistance_es
- DE CHAMPS, C., VELLIN, J. F., DIANCOURT, L., BRISSE, S., KEMENY, J. L., GILAIN, L., & MOM, T. (2005). Laryngeal scleroma associated with *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*. *Journal of clinical microbiology*, 43(11), 5811-5813.
- DE OLIVEIRA, D. M., FORDE, B. M., KIDD, T. J., HARRIS, P. N., SCHEMBRI, M. A., BEATSON, S. A., ... & WALKER, M. J. (2020). Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Clinical microbiology reviews*, 33(3), 10-1128.
- DOWLING, A., O'DWYER, J., & ADLEY, C. (2017). Antibiotics: mode of action and mechanisms of resistance. *Antimicrobial research: Novel bioknowledge and educational programs*, 1, 536-545.
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC) (2023, mayo 11). *Increase in Escherichia coli isolates carrying bla_{NDM-5} in the European Union/European Economic Area, 2012–2022*. ECDC Surveillance Report. doi: 10.2900/72700
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, 16(12).
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) & EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). (2021). The European Union one health 2020 zoonoses report. *EFSA Journal*, 19(12), e06971.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) (2020). Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018. *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*. EMA/24309/2020
- EZEKIEL, C. N., OLARINMOYE, A. O., OYINLOYE, J. M. A., OLAOYE, O. B., & EDUN, A. O. (2011). Distribution, antibiogram and multidrug resistance in Enterobacteriaceae from commercial poultry feeds in Nigeria. *Afr j microbiol res*, 5(3), 294-301.
- FERNÁNDEZ RIVERÓN, F., LÓPEZ HERNÁNDEZ, J., PONCE MARTÍNEZ, L. M., & MACHADO BETARTE, C. (2003). Resistencia bacteriana. *Revista cubana de medicina militar*, 32(1), 0-0.

- GILLOT, P., & CONTENT, J. (2002). Specific identification of *Listeria welshimeri* and *Listeria monocytogenes* by PCR assays targeting a gene encoding a fibronectin-binding protein. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), 698-703.
- GODFRAY, H. C. J., AVEYARD, P., GARNETT, T., HALL, J. W., KEY, T. J., LORIMER, J., ... & JEBB, S. A. (2018). Meat consumption, health, and the environment. *Science*, 361(6399), eaam5324.
- GOLDSTEIN, E. J., LEWIS, R. P., MARTIN, W. J., & EDELSTEIN, P. H. (1978). Infections caused by *Klebsiella ozaenae*: a changing disease spectrum. *Journal of Clinical Microbiology*, 8(4), 413-418.
- GOMES, T. A., ELIAS, W. P., SCALETSKY, I. C., GUTH, B. E., RODRIGUES, J. F., PIAZZA, R. M., ... & MARTINEZ, M. B. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 3-30.
- GÓMEZ, D., AZÓN, E., MARCO, N., CARRAMIÑANA, J. J., ROTA, C., ARIÑO, A., & YANGÜELA, J. (2014). Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. *Food microbiology*, 42, 61-65.
- GONZALES ZAMORA, J., & MURALI, A. R. (2016). Rhinoscleroma with pharyngolaryngeal involvement caused by *Klebsiella ozaenae*. *Case reports in infectious diseases*, 2016.
- GRAY, M. L., & KILLINGER, A. H. (1966). *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriological reviews*, 30(2), 309-382.
- GRUPO DE TRABAJO DE RESISTENCIAS EN EL MEDIOAMBIENTE PLAN NACIONAL DE RESISTENCIA DE ANTIBIÓTICOS (PRAN) (2022). Estudio de las principales fuentes de emisión, rutas de dispersión y vías de exposición a los antimicrobianos, bacterias resistentes y genes de resistencia antimicrobiana para personas y animales. *PRAN Medioambiente* 1 (1).
- GUPTA, N., LIMBAGO, B. M., PATEL, J. B., & KALLEN, A. J. (2011). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clinical infectious diseases*, 53(1), 60-67.
- HAI, P. D., HOA, L. T. V., TOT, N. H., PHUONG, L. L., QUANG, V. V., THUYET, B. T., & SON, P. N. (2020). First report of biliary tract infection caused by multidrug-resistant *Serratia fonticola*. *New Microbes and New Infections*, 36, 100692.
- HAIN, T., STEINWEG, C., KUENNE, C. T., BILLION, A., GHAI, R., CHATTERJEE, S. S., ... & CHAKRABORTY, T. (2006). Whole-genome sequence of *Listeria welshimeri* reveals common steps in genome reduction with *Listeria innocua* as compared to *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, 188(21), 7405-7415.
- HAIJAR, R., AMBARAGHASSI, G., SEBAJANG, H., SCHWENTER, F., & SU, S. H. (2020). *Raoultella ornithinolytica*: emergence and resistance. *Infection and drug resistance*, 1091-1104.
- HANNAOUI RODRÍGUEZ, E. J., & VILLALOBOS, L. B. (2009). *Escherichia coli* shigatoxigénica: Patogénesis, diagnóstico y tratamiento. *Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(1), 13-20.
- HARDING, C. M., HENNON, S. W., & FELDMAN, M. F. (2018). Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 16(2), 91-102.
- HARUKI, Y., HAGIYA, H., SAKUMA, A., MURASE, T., SUGIYAMA, T., & KONDO, S. (2014). Clinical characteristics of *Raoultella ornithinolytica* bacteremia: a case series and literature review. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(9), 589-591.

- HEREDIA, N., AVIÑA, J. E. D. J. D., SOTO, L. S., & GARCÍA, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8(1), 20-42.
- HOWARD, A., O'DONOGHUE, M., FEENEY, A., & SLEATOR, R. D. (2012). *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3), 243-250.
- HUSSAIN, A., SHAIK, S., RANJAN, A., NANDANWAR, N., TIWARI, S. K., MAJID, M., ... & AHMED, N. (2017). Risk of transmission of antimicrobial resistant *Escherichia coli* from commercial broiler and free-range retail chicken in India. *Frontiers in microbiology*, 8, 2120.
- JANG, W. H., YOO, D. H., & PARK, S. W. (2011). Prevalence of and risk factors for levofloxacin-resistant *E. coli* isolated from outpatients with urinary tract infection. *Korean journal of urology*, 52(8), 554-559.
- JIANG, H. X., LÜ, D. H., CHEN, Z. L., WANG, X. M., CHEN, J. R., LIU, Y. H., ... & ZENG, Z. L. (2011). High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. *The veterinary journal*, 187(1), 99-103.
- JIMÉNEZA, R. J., MUÑOZA, C. A., DOBLAS, A., DELGADOB, A. R., & TORRE-CISNEROSA, J. (2010). Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas. *Medicine*, 10(52), 3497-501.
- JIMÉNEZ-BELENGUER, A., DOMÉNECH, E., VILLAGRÁ, A., FENOLLAR, A., & FERRÚS, M. A. (2016). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated in newly-hatched chickens and effect of amoxicillin treatment during their growth. *Avian Pathology*, 45(4), 501-507.
- JOHNSON, J. L., DOYLE, M. P., & CASSENS, R. G. (1990). *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* in meat and meat products a review. *Journal of Food Protection*, 53(1), 81-91.
- JUNTA DE ANDALUCÍA (2019, agosto 29). *SITUACIÓN DEL BROTE DE LISTERIOSIS*. Juntadeandalucia.es.
<https://www.juntadeandalucia.es/organismos/saludyconsumo/servicios/actualidad/noticias/detalle/219413.html>
- KARUMATHIL, D. P., YIN, H. B., KOLLANOOR-JOHN, A., & VENKITANARAYANAN, K. (2016). Prevalence of multidrug-resistant bacteria on fresh vegetables collected from farmers' markets in Connecticut. *Journal of food protection*, 79(8), 1446-1451.
- KASPERSEN, H., URDAHL, A. M., SIMM, R., SLETTEMEÅS, J. S., LAGESEN, K., & NORSTRÖM, M. (2018). Occurrence of quinolone resistant *E. coli* originating from different animal species in Norway. *Veterinary microbiology*, 217, 25-31.
- KHAJURIA, A., PRAHARAJ, A. K., GROVER, N., & KUMAR, M. (2013). First report of bla_{NDM-1} in *Raoultella ornithinolytica*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(2), 1092.
- KIM, B., KIM, J., SEO, M. R., WIE, S. H., CHO, Y. K., LIM, S. K., ... & PAI, H. (2013). Clinical characteristics of community-acquired acute pyelonephritis caused by ESBL-producing pathogens in South Korea. *Infection*, 41, 603-612.
- KLEIN, E. Y., VAN BOECKEL, T. P., MARTINEZ, E. M., PANT, S., GANDRA, S., LEVIN, S. A., ... & LAXMINARAYAN, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(15), E3463-E3470.
- KORB, A., NAZARENO, E. R. D., COSTA, L. D., NOGUEIRA, K. D. S., DALSENTER, P. R., TUON, F. F., & POMBA, M. C. (2015). Tipagem molecular e resistência aos antimicrobianos em isolados de

Escherichia coli de frangos de corte e de tratadores na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35, 258-264.

LAI, C. K., NG, R. W., LEUNG, S. S., HUI, M., & IP, M. (2022). Overcoming the rising incidence and evolving mechanisms of antibiotic resistance by novel drug delivery approaches—an overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 181, 114078.

LEKSHMI M., AMMINI P., KUMAR S., & VARELA MF (2017). The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. *Microorganisms* 5(1):11. doi: 10.3390/microorganisms5010011

LIANOU, A., PANAGOUE, E. Z., & NYCHAS, G. J. E. (2023). Meat safety—I foodborne pathogens and other biological issues. In *Lawrie's Meat Science* (pp. 549-590). Woodhead Publishing.

LIU, Y., SUN, W., SUN, T., GORRIS, L. G., WANG, X., LIU, B., & DONG, Q. (2020). The prevalence of *Listeria monocytogenes* in meat products in China: A systematic literature review and novel meta-analysis approach. *International journal of food microbiology*, 312, 108358.

LÓPEZ-PUEYO, M. J., BARCENILLA-GAITE, F., AMAYA-VILLAR, R., & GARNACHO-MONTERO, J. J. M. I. (2011). Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Medicina Intensiva*, 35(1), 41-53.

MACHADO, S. G., DA SILVA, F. L., BAZZOLLI, D. M., HEYNDRICKX, M., COSTA, P. M. D. A., & VANETTI, M. C. D. (2015). *Pseudomonas* spp. and *Serratia liquefaciens* as predominant spoilers in cold raw milk. *Journal of food science*, 80(8), M1842-M1849.

MADRID ÁLVAREZ, E. (2018). Resistencia a antibióticos y conjugación bacteriana: diseño de nuevos fármacos.

MARÍN, J. L. (2022, mayo 1). ¿Cuánta carne se consume en los países de la Unión Europea? Elordenmundial.com. <https://elordenmundial.com/mapas-y-graficos/cuanta-carne-se-consume-paises-union-europea/>

MARÍN, M., & GUDIOL, F. (2003). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 21(1), 42-55.

MARTÍN, B., PERICH, A., GÓMEZ, D., YANGÜELA, J., RODRÍGUEZ, A., GARRIGA, M., & AYMERICH, T. (2014). Diversity and distribution of *Listeria monocytogenes* in meat processing plants. *Food microbiology*, 44, 119-127.

MÉNDEZ, C. R., VERGARAY, G., MORANTE, H. Y., FLORES, P. R., & GAMBOA, R. A. (2013). Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157: H7 a partir de carne molida de bovino en Lima-Perú. *Revista peruana de biología*, 20(2), 159-164.

MENG, J., LEJEUNE, J. T., ZHAO, T., & DOYLE, M. P. (2012). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*, 287-309.

MEDICOS SIN FRONTERAS (MSF). (2019, febrero 20). La resistencia a los antibióticos, un problema de salud mundial en aumento. *Médicos Sin Fronteras*. <https://www.msf.es/noticia/la-resistencia-los-antibioticos-problema-salud-mundial-aumento>

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (MAPA), (2022). Informe del consumo de alimentación en España 2021. *Gobierno de España*, 186-195.

MIURA, T., TANAKA, K., SHIGEMURA, K., NAKANO, Y., TAKENAKA, A., & FUJISAWA, M. (2008). Levofloxacin resistant *Escherichia coli* sepsis following an ultrasound-guided transrectal prostate

biopsy: report of four cases and review of the literature. *International journal of urology*, 15(5), 457-459.

MOLTON, J. S., TAMBYAH, P. A., ANG, B. S., LING, M. L., & FISHER, D. A. (2013). The global spread of healthcare-associated multidrug-resistant bacteria: a perspective from Asia. *Clinical infectious diseases*, 56(9), 1310-1318.

MONGE, K. M. M. (2013). Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista médica de Costa Rica y centroamérica*, 70(608), 599-605.

MURRAY, K. A., CLEMENTS, B. H., & KEAS, S. E. (1981). Klebsiella ozaenae septicemia associated with Hansen's disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 14(6), 703-705.

NEOG, N., PHUKAN, U., PUZARI, M., SHARMA, M., & CHETIA, P. (2021). Klebsiella oxytoca and emerging nosocomial infections. *Current microbiology*, 78(4), 1115-1123.

OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE (ODS). (2021, septiembre 22). Objetivos de Desarrollo Sostenible. *Pacto Mundial*. <https://www.pactomundial.org/que-puedes-hacer-tu/ods/>

ODONKOR, S. T., & ADDO, K. K. (2011). Bacteria resistance to antibiotics: recent trends and challenges. *Int J Biol Med Res*, 2(4), 1204-1210.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS (2017). *Dejemos de administrar antibióticos a animales sanos para prevenir la propagación de la resistencia a los antimicrobianos*. (s/f). Who.int. Recuperado el 27 de junio de 2023, de <https://www.who.int/es/news/item/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance>

OMS (2020b, julio 29). *Zoonosis*. Who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>

OMS (2021a, noviembre 17). *Resistencia a los antimicrobianos*. Who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

OMS (2021b, noviembre 17). *Inocuidad de los alimentos*. Who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

OMS. (2018a, febrero 7). *E. coli*. Who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

OMS. (2018b, febrero 20). *Listeriosis*. Who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>

OMS. (2020a, abril 30). *Inocuidad de los alimentos*. Who.int. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

OMS. (s/fa). *Notas descriptivas*. Who.int. Recuperado el 6 de julio de 2023, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets>

OMS. (s/fb). *One health*. Who.int. Recuperado el 26 de junio de 2023, de <https://www.who.int/europe/initiatives/one-health>

ONE HEALTH. (s/f). Who.int. Recuperado el 26 de junio de 2023, de <https://www.who.int/europe/initiatives/one-health>

- ORSI, R. H., & WIEDMANN, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria spp.*, including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied microbiology and biotechnology*, *100*, 5273-5287.
- PAINTER, J. A., HOEKSTRA, R. M., AYERS, T., TAUXE, R. V., BRADEN, C. R., ANGULO, F. J., & GRIFFIN, P. M. (2013). Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998–2008. *Emerging infectious diseases*, *19*(3), 407.
- PAMER, E. G. (2004). Immune responses to *Listeria monocytogenes*. *Nature Reviews Immunology*, *4*(10), 812-823.
- PARLASCA, M. C., & QAIM, M. (2022). Meat consumption and sustainability. *Annual Review of Resource Economics*, *14*, 17-41.
- PATERSON, D. L. (2006). Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *American journal of infection control*, *34*(5), S20-S28.
- PATERSON, D. L., SIU, K. L., & CHANG, F. Y. (2014). Klebsiella species (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae* and *K. rhinoscleromatis*). *Antimicrobe*, *9*, 74-6.
- PERRIN, M., BEMER, M., & DELAMARE, C. (2003). Fatal case of *Listeria innocua* bacteremia. *Journal of clinical microbiology*, *41*(11), 5308-5309.
- RAPOSE, A., LICK, S. D., & ISMAIL, N. (2008). *Listeria grayi* bacteremia in a heart transplant recipient. *Transplant Infectious Disease*, *10*(6), 434-436.
- REGLAMENTO (CE) nº 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L 338, de 15 de noviembre de 2005.
- REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE (RAM), (2015). *Antimicrobials in Agriculture and the Environment: reducing unnecessary use and waste*. Amr-review.org. <https://amr-review.org/sites/default/files/Antimicrobials%20in%20agriculture%20and%20the%20environment%20-%20Reducing%20unnecessary%20use%20and%20waste.pdf>
- RIVAS GONZÁLEZ, R. (2022, noviembre 21). *Resistencia a los antibióticos: la OMS alerta de la que podría ser la primera causa de mortalidad*. OndaCero. https://www.ondacero.es/noticias/ciencia-tecnologia/resistencia-antibioticos-oms-alerta-que-podria-ser-primera-causa-mortalidad_20221121637ba3854a5f3000018a3f68.html
- RODRÍGUEZ, H. (2022, abril 3). En 2050 la resistencia a los antibióticos será responsable de 10 millones de muertes anuales. National geographic. https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/2050-resistencia-a-antibioticos-sera-responsable-10-millones-muertes-anuales_18090
- RODRÍGUEZ-ANGELES, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*, *44*, 464-475.
- ROTH, N., KÄSBOHRER, A., MAYRHOFER, S., ZITZ, U., HOFACRE, C., & DOMIG, K. J. (2019). The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry science*, *98*(4), 1791-1804.

- RUBÉN, C. R., SELENE, Á. A., GRACIELA, S. J., WENDY, C. P., GILDARDO, R. S., & VIRGILIO, B. G. (2007). Detección de *Listeria* sp y *Listeria monocytogenes* en muestras de pollo crudo y de cuerpos de agua de la región mediante PCR. *Bioquímica*, 32(SA), 114.
- RUIZ-ROLDÁN, L., MARTÍNEZ-PUCHOL, S., GOMES, C., PALMA, N., RIVEROS, M., OCAMPO, K., ... & PONS, M. J. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 35, 425-432.
- RUSSELL, A. D. (2004). Types of antibiotics and synthetic antimicrobial agents. *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*, 152-186.
- SALGADO, C. A., DE ALMEIDA, F. A., BARROS, E., BARACAT-PEREIRA, M. C., BAGLINIÈRE, F., & VANETTI, M. C. D. (2021). Identification and characterization of a polyurethanase with lipase activity from *Serratia liquefaciens* isolated from cold raw cow's milk. *Food Chemistry*, 337, 127954.
- SCHWARZ, S., LOEFFLER, A. & KADLEC, K. (2017). Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Veterinary Dermatology*, 28(1), 82-e19. <https://doi.org/10.1111/vde.12362>.
- SEGUNDO-ARIZMENDI, N.; HERNÁNDEZ-BALTAZAR, E.; VILLEGAS, O. & TORRES-ANGELES, O. (2010). *Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas Bacterianas (Fagoterapia)*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(3), 17-26.
- SEKOWSKA, A. (2017). *Raoultella* spp.—clinical significance, infections and susceptibility to antibiotics. *Folia microbiologica*, 62(3), 221-227.
- SENG, P., BOUSHAB, B. M., ROMAIN, F., GOURIET, F., BRUDER, N., MARTIN, C., ... & STEIN, A. (2016). Emerging role of *Raoultella ornithinolytica* in human infections: a series of cases and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*, 45, 65-71.
- SHAMS, S., HASHEMI, A., ESMKHANI, M., KERMANI, S., SHAMS, E., & PICCIRILLO, A. (2018). Imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* from Qom, Iran. *BMC Research Notes*, 11, 1-5.
- SIGNORINI, M. L., & FRIZZO, L. S. (2009). Modelo de contaminación cruzada por *Escherichia coli* verocitotoxigénica durante la elaboración de hamburguesas caseras y evaluación cuantitativa de riesgos. *Revista argentina de microbiología*, 41(4), 237-244.
- SINGH, L., CARIAPPA, M. P., & KAUR, M. (2016). *Klebsiella oxytoca*: An emerging pathogen?. *Medical journal armed forces india*, 72, S59-S61.
- SPILLER A., & NITZKO S. (2015). Peak meat: the role of meat in sustainable consumption. In *Handbook of Research on Sustainable Consumption*, ed. L Reisch, J Thøgersen, pp. 192–208. Cheltenham, UK: Edward Elgar
- STELLA, A. E., VITOR, T. L., GADELHA, D. F. B. G., MOREIRA, C. N., MEIRELLES-BARTOLI, R. B., & OLIVEIRA, A. F. (2013). *Escherichia coli* resistente a antimicrobianos isolada de bovinos e aves. *Ars Veterinaria*, 29(4), 14.
- STOCK, I., GRUEGER, T., & WIEDEMANN, B. (2003). Natural antibiotic susceptibility of strains of *Serratia marcescens* and the *S. liquefaciens* complex: *S. liquefaciens sensu stricto*, *S. proteamaculans* and *S. grimesii*. *International journal of antimicrobial agents*, 22(1), 35-47.

- TAFUR, J. D., TORRES, J. A., & VILLEGAS, M. V. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3), 227-232.
- TERRIER, B., & MARTÍNEZ, V. (2006). Salmonelosis. *EMC-Tratado de Medicina*, 10(4), 1-6.
- TORREÓN, U. (2011). Universidad Autónoma de Coahuila Facultad de Medicina. (January), 1–36
- UHITIL, S., JAKŠIĆ, S., PETRAK, T., & BOTKA-PETRAK, K. (2001). Presence of *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef and ground baby beef meat. *Journal of food protection*, 64(6), 862-864.
- UNITED NATIONS (UN) (s/f-a). *Agua y saneamiento*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>
- UN (s/f-b). *Alianzas*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/globalpartnerships/>
- UN (s/f-c). *Crecimiento económico*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/economic-growth/>
- UN (s/f-d). *Consumo y producción sostenibles*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/sustainable-consumption-production/>
- UN (s/f-e). *Educación*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/education/>
- UN (s/f-f). *Global Issues | Naciones Unidas*. Recuperado el 6 de julio de 2023, de <https://www.un.org/es/global-issues>
- UN (s/f-g). *Hambre y seguridad alimentaria*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/hunger/>
- UN (s/f-h). *Infraestructura*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/infrastructure/>
- UN (s/f-i). *Pobreza*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/poverty/>
- UN (s/f-j). *Reducir las desigualdades entre países y dentro de ellos*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/inequality/>
- UN (s/f-k). *Salud*. Desarrollo Sostenible. Consultado el 9 de julio de 2023 en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/health/>
- UYTTENDAELE, M., DE TROY, P., & DEBEVERE, J. (1999). Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *International journal of food microbiology*, 53(1), 75-80.
- VAN HOEK, A. H., VEENMAN, C., VAN OVERBEEK, W. M., LYNCH, G., DE RODA HUSMAN, A. M., & BLAAK, H. (2015). Prevalence and characterization of ESBL-and AmpC-producing Enterobacteriaceae on retail vegetables. *International journal of food microbiology*, 204, 1-8.
- VILA, J., SÁEZ-LÓPEZ, E., JOHNSON, J. R., RÖMLING, U., DOBRINDT, U., CANTÓN, R., ... & SOTO, S. M. (2016). *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS microbiology reviews*, 40(4), 437-463.
- WHITEWAY, C., BREINE, A., PHILIPPE, C., & VAN DER HENST, C. (2022). *Acinetobacter baumannii*. *Trends in microbiology*, 30(2), 199-200.

WHITNALL, T., & PITTS, N. (2019). Global trends in meat consumption. *Agricultural Commodities*, 9(1), 96-99.

WIELER, L. H., EWERS, C., GUENTHER, S., WALTHER, B., & LÜBKE-BECKER, A. (2011). Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *International journal of medical microbiology*, 301(8), 635-641.

YANG, J., LONG, H., HU, Y., FENG, Y., MCNALLY, A., & ZONG, Z. (2022). Klebsiella oxytoca complex: update on taxonomy, antimicrobial resistance, and virulence. *Clinical microbiology reviews*, 35(1), e00006-21.

YASSIN, A. K., GONG, J., KELLY, P., LU, G., GUARDABASSI, L., WEI, L., ... & WANG, C. (2017). Antimicrobial resistance in clinical Escherichia coli isolates from poultry and livestock, China. *PloS one*, 12(9), e0185