

Artículo Original/ Original Article

<http://dx.doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2022.020.03.51>

Resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* de muestras cecales de bovinos para carne faenados en frigoríficos de la zona del arroyo Mburicao, Asunción-Paraguay. Año 2021

Nancy Melgarejo-Touchet¹ , Sofía Busignani¹ , Pamela Dunjo¹ , Mariel Brítez¹ , Natalie Weiler¹ , Verónica Orrego¹ , Mirian Alonzo² , *Mario Martínez-Mora³ 

¹Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública. Av. Venezuela y Teniente Ecurra. Asunción, Paraguay.

²Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA), Dirección de Diagnóstico y Control de Productos Veterinarios, Departamento de Microbiología. Ciencias Veterinarias 265. San Lorenzo, Paraguay.

³Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Dr. Cecilio Báez c / Dr. Gaspar Villamayor. Campus Universitario San Lorenzo, Paraguay.

Cómo referenciar este artículo/
How to reference this article:

Melgarejo-Touchet N, Busignani S, Dunjo P, Brítez M, Weiler N, Orrego V, et al. Resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* de muestras cecales de bovinos para carne faenados en frigoríficos de la zona del arroyo Mburicao, Asunción-Paraguay. Año 2021. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2022; 20(3): 51-59.

RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos es una de las preocupaciones más importantes a nivel mundial, ya que determina un aumento de la morbimortalidad de los pacientes y el incremento de los costos de la atención de salud; problema cuyo abordaje debe ser realizado bajo el enfoque de Una Salud. El objetivo principal de este trabajo fue evaluar la resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* provenientes de muestras cecales de bovinos de carne faenados en frigoríficos de la zona del Arroyo Mburicao, Asunción-Paraguay, de setiembre a noviembre de 2021. Fueron colectadas 181 muestras de ganados provenientes de la Región Oriental y Occidental, y cultivadas en agar cromogénico suplementados con ciprofloxacina, colistina, cefotaxima y meropenem. Las colonias aisladas fueron identificadas, genotipificadas (PCR convencional) y sometidas a pruebas de susceptibilidad. El principal hallazgo fue la confirmación de la resistencia a las fluoroquinolonas en un 8,3% debida a la portación de los genes Qnr S, Qnr B y aac-6'-Ib-cr, involucrados en el mecanismo plasmídico de resistencia a quinolonas. Además, la resistencia acompañante encontrada en los aislamientos resistentes del 100% a tetraciclina y 53% a trimetoprim/sulfametoxazol. No se encontraron aislamientos con resistencia a cefotaxima, colistina y meropenem. Los resultados obtenidos son de suma relevancia para la generación de conocimiento sobre los perfiles de resistencia de microorganismos en el sector veterinario, pudiendo contribuir a la elaboración de guías nacionales para el uso prudente de antimicrobianos y apoyando al trabajo multisectorial en la lucha para la contención de la resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana, bovino para carne, *Escherichia coli*, arroyo Mburicao, Paraguay.

Fecha de recepción: octubre 2022. Fecha de aceptación: noviembre 2022

*Autor correspondiente: Mario Martínez Mora. Universidad Nacional de Asunción. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Dr. Cecilio Báez c / Dr. Gaspar Villamayor. Campus Universitario San Lorenzo, Paraguay.

Email: mfmarmora@gmail.com , mfmartinez@med.una.py



Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una Licencia Creative Commons

Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from cecal samples of cattle for meat slaughtered in meat processing plants of the Mburicao stream area, Asuncion, Paraguay. 2021

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is one of the most critical concerns worldwide since it determines an increase in patient morbidity and mortality and the increase in healthcare costs, a problem whose approach must be carried out under the One Health approach. The main objective of this work was to evaluate antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from cecal samples of cattle for meat slaughtered in meat processing plants in the Arroyo Mburicao area, Asunción-Paraguay, from September to November 2021. One hundred eighty one samples of cattle from the Eastern and Western Region were collected, and cultured on chromogenic agar supplemented with ciprofloxacin, colistin, cefotaxime, and meropenem. Isolated colonies were identified, genotyped (conventional PCR) and subjected to susceptibility tests. The main finding was the confirmation of resistance to fluoroquinolones in 8.3% due to the carrying of genes Qnr S, Qnr B and aac-6'-Ib-cr, involved in the plasmid mechanism of resistance to quinolones. In addition, the accompanying resistance found in the isolates was 100% resistant to tetracycline and 53% to trimethoprim/sulfamethoxazole. Isolates with resistance to cefotaxime, colistin and meropenem were not found. The results obtained are highly relevant for the generation of knowledge about the resistance profiles of microorganisms in the veterinary sector. It can contribute to the development of national therapeutic guidelines for the prudent use of antimicrobials, and supporting multisectoral work in the fight to contain antimicrobial resistance.

Keywords: Antimicrobial resistance, cattle for meat, *Escherichia coli*, Mburicao stream, Paraguay.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de resistencia a los antimicrobianos (RAM) en las bacterias es actualmente uno de los problemas de salud pública más importantes del mundo. El uso indiscriminado de agentes antimicrobianos en humanos y animales condujo a reducir el efecto potencial de estas drogas para el tratamiento eficaz de las infecciones en el hombre⁽¹⁾.

En el año 2010, bajo el concepto "Una Salud" la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) y expertos internacionales de salud pública, sanidad animal y medio ambiente declararon que la resistencia de bacterias a los antimicrobianos, junto con la rabia y la influenza de origen animal, son las tres principales amenazas mundiales emergentes y reconocieron una responsabilidad conjunta de hacer frente a las zoonosis y a otras enfermedades de alto impacto socioeconómico, con el objetivo a largo plazo y con colaboración internacional, de coordinar actividades a nivel mundial para superar los riesgos para la salud en la interfaz entre humanos, animales y ecosistemas⁽²⁾.

En mayo del 2015, se aprobó el Plan de acción mundial para la lucha contra la RAM en la 68ª Asamblea Mundial de la Salud; con el compromiso de los países miembros a trabajar en los planes nacionales⁽³⁾.

En Paraguay, el Plan Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos 2019-2023 fue aprobado en fecha 29 de abril del 2019 (Resolución S.G 163/2019 del Poder Ejecutivo)⁽⁴⁾, quedando encomendada la implementación y difusión al Comité Técnico multisectorial, bajo la coordinación de la Dirección General de Vigilancia de la Salud.

El uso y abuso de los antimicrobianos no sólo está limitado al ámbito humano; en medicina veterinaria también lo hacen con diferentes objetivos: terapéutico, profiláctico, metafiláctico y como promotor de crecimiento⁽⁵⁾. Los dos primeros se

comparten con la medicina humana, como prevención y tratamiento de una enfermedad infecciosa; en cuanto al tercero, es cuando se suministra antimicrobianos a un lote de animales por que han tenido contacto con el agente infeccioso y así evitar un brote; y el último, cuando se administra en dosis subterapéuticas, con el objetivo de mejorar la calidad del producto final y el control de bacterias zoonóticas⁽⁶⁾. Este uso indiscriminado en muchas investigaciones se asocia a la emergencia de la resistencia en medicina veterinaria⁽⁷⁾.

Estudios llevados a cabo por investigadores de la región demostraron la existencia de RAM en microorganismos que forman parte de la microbiota intestinal de bovinos, como *Escherichia coli* (*E. coli*), tanto de ganados bovinos para leche como para carne. Sin embargo, el nivel de resistencia es diferente entre ambos grupos. Aislamientos provenientes de ganados bovinos para leche presentan un perfil de RAM mayor que el del los de ganados para carne; pudiendo ello ser atribuido a diversas causas tales como, el tipo de alimentación (intensiva), confinamiento y la utilización de antimicrobianos en profilaxis y tratamiento de patologías infecciosas, como la mastitis^(8,9).

En nuestro país, los conocimientos sobre los perfiles de RAM en el sector veterinario son escasos, debido a la falta de difusión de los hallazgos.

Este trabajo de investigación llevado a cabo en aislamientos de *E. coli* provenientes de muestras cecales de ganado bovino para carne, se realizó con el objetivo de estudiar la presencia y prevalencia de resistencia a diferentes antimicrobianos de importancia en la salud pública.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio prospectivo, observacional, de corte transversal con muestreo no probabilístico por conveniencia.

Las instituciones que llevaron a cabo el trabajo de investigación fueron: Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) y Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA), en el marco del objetivo 2 para la implementación del Plan Nacional de Acción contra la Resistencia a los Antimicrobianos (RAM). El mismo fue presentado como propuesta de investigación por el Comité Técnico Nacional de RAM para su ejecución con la cooperación de Unión Europea (UE)-OPS/OMS-OIE-FAO, que brinda apoyo a varios países de la región bajo el lema "Trabajando juntos para combatir la resistencia a los antimicrobianos"⁽¹⁰⁾.

Población de estudio y muestreo

Fueron sujetos a estudio los bovinos faenados en 3 establecimientos frigoríficos que se encuentran ubicados en la zona de influencia del Arroyo Mburicao, sitios entre la Avenida Artigas y la desembocadura del Río Paraguay, provenientes de establecimientos de todo el país, tanto de la Región Oriental como de la Región Occidental.

Se les realizó la toma de muestra a los animales que llegaron vivos a la planta frigorífica y habían pasado la inspección *ante-mortem*, elegidos al azar, en el marco temporal comprendido entre setiembre y noviembre del año 2021.

La toma de muestras cecales de los bovinos de carne seleccionados fue realizada por inspectores veterinarios de la Dirección General de Laboratorios (DIGELAB) y Dirección General de Calidad e Inocuidad de Productos de Origen Animal (DIGECIPOA) de SENACSA, según el manual de procedimientos para la toma de muestra del Sistema Integrado Nacional de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana en la Cadena Agroalimentaria (SINMRA-Paraguay)⁽¹¹⁾.

Transporte de las muestras cecales al laboratorio

Una vez obtenidas las muestras cecales, fueron transportadas de manera refrigerada (2-8°C) al Dpto. de Bacteriología y Micología del Laboratorio Central de Salud Pública para su procesamiento, acompañadas de una ficha de recolección de datos en la que fueron registrados todos los datos individuales de cada animal.

Cultivo de las muestras cecales en medios selectivos

Las muestras fueron procesadas realizando cultivo en el medio cromogénico selectivo para aislamiento *E. coli* en base a triptona bilis x-glucorónido (TBX) de la marca OXOID® de la línea Thermo (UK), el cual fue suplementado con distintos antibióticos en concentraciones conocidas, a fin de seleccionar las cepas de *E. coli* resistentes a los antimicrobianos a estudiar, cuyas concentraciones finales en el agar fueron: 4 ug/mL cefotaxima (CTX), 1 ug/mL meropenem (MEM), 0.25 ug/mL ciprofloxacina (CIP) y 3 ug/mL colistina (COL). Las soluciones de los distintos antibióticos fueron preparadas en concentraciones 20 veces superior a las concentraciones finales en el agar^(12,13).

Las colonias desarrolladas fueron identificadas con pruebas bioquímicas convencionales, la evaluación de la portación de genes de resistencia a los antimicrobianos estudiados se hizo por reacción en cadena de la polimerasa de punto final, y el perfil de susceptibilidad por el método de difusión de Kirby-Bauer y microdilución en caldo.

Tamizaje fenotípico de resistencia a los antimicrobianos

El desarrollo de colonias de color azul verdoso en los medios cromogénicos suplementados fue utilizado como tamizaje fenotípico de resistencia de *E. coli* resistente a los distintos antimicrobianos.

Estudios fenotípicos a los aislamientos de *E. coli*.

Las identificaciones de los aislamientos fueron realizadas por pruebas bioquímicas convencionales y la determinación del perfil de susceptibilidad por las metodologías de Kirby Bauer y microdilución en caldo.

Para evaluar la portación de resistencia por la presencia de enzimas, fueron ensayadas las pruebas de sinergia con doble disco (DDST), utilizando discos de antibióticos y los diferentes inhibidores, ubicados estratégicamente; a fin de detectar los efectos sinérgicos entre ellos⁽¹⁴⁻¹⁸⁾.

La evaluación del perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos fue determinada por el método de difusión de Kirby Bauer siguiendo pautas del *Clinical Laboratory Standards Institute*⁽¹⁹⁾, a fin de evaluar el fenotipo de resistencia de los aislamientos seleccionados. Los antimicrobianos ensayados fueron: cefotaxima 30 ug (CTX), amoxicilina/ácido clavulánico 30 ug (AMC), ceftazidima 30 ug (CAZ), ácido nalidíxico 30 ug (NAL), ciprofloxacina 5 ug (CIP), ertapenem 10 ug (ERT), imipenem 10 ug (IMP), trimetoprim/sulfametoxazol 1.25/23.75 ug (SXT), gentamicina 10 ug (GEN), ampicilina 30 ug (AMK). Además, fue evaluada la colistina (COL) por el método de microdilución en caldo y la interpretación de los resultados fue realizada utilizando los criterios de EUCAST 2021⁽²⁰⁾.

Estudios genotípicos

Realizado por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final, utilizando cebadores específicos, a fin de evaluar los genotipos de mecanismos plasmídicos de resistencia a los antimicrobianos en estudio, con previa evaluación fenotípica⁽²¹⁾. Los genes evaluados fueron: *bla*_{CTX-M}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, Qnr A, Qnr B, Qnr S, aac-6'-Ib-cr y mcr.

Para la obtención del ADN, se utilizó el método de lisis bacteriana por ebullición durante 10 minutos de una suspensión bacteriana de aproximadamente 0,5 *Mac Farland* en 300 uL de agua libre de RNasa y centrifugada posteriormente a 10.000 rpm por 10 minutos. Las reacciones de amplificación de los genes se realizaron en un termociclador TC-PRO (BOECO Germany) y los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% en tampón TAE buffer (PanReac AppliChem - ITW Reagents). Las imágenes de los patrones electroforéticos fueron obtenidas con el equipo fotodocumentador Gel Doc™ EZ Imager (BIO-RAD) y analizadas con el programa Image Lab 6.0 (BIO-RAD).

Control de calidad

Las cepas utilizadas para el control de calidad fueron *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603™, BAA-1705 y OPS 229-Encuesta N° 23-Programa Latinoamericano de Control de Calidad en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos⁽²²⁾.

Tamaño de muestra

Teniendo en cuenta hallazgos publicados en el país y en la región, y la población de ganado bovino en Paraguay registrada en SENACSA, se llevaron a cabo los cálculos del tamaño de muestra, esperando un nivel de confianza del 95%.

Para la evaluación de resistencia a los antimicrobianos en *E. coli* aislados de muestras cecales de bovinos de carne para producción cárnica, el cálculo se realizó en base a estudios publicados por San Martín B *et al.*⁽⁸⁾ con el 11% de proporción esperada, nivel de confianza del 95%, efecto de diseño de 1 y precisión del 5%, dando como resultado de tamaño muestral de 151, lo cual fue considerado como mínimo para este trabajo, accediendo a la toma de 181 muestras.

Condiciones éticas

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Laboratorio de Salud Pública del MSPyBS, y cuenta con dictamen favorable Nro. 192/2021.

RESULTADOS

De las 181 muestras cecales de bovinos para carne procedentes de 23 establecimientos diferentes, 86 correspondieron a la Región Oriental y 95 a la Región Occidental; todas de ganado con el tipo de alimentación extensiva y sin antecedentes de tratamiento antimicrobiano previo en los últimos 2 meses; de ellos, 97 fueron machos y 84 hembras.

El promedio de edad de los bovinos machos fue de 29,8 meses (20 a 96 meses) y el peso promedio fue de 272,3 kilos (101,4 a 565,2 kilos). En cuanto a las hembras, el promedio de edad fue 30,9 meses (20 a 96 meses) y el peso promedio fue de 297,3 kilos (163 a 532 kilos).

Ninguna de las muestras estudiadas tuvo desarrollo de colonias en los medios cromogénicos suplementados con CTX, COL y MEM; obteniéndose desarrollo de *E. coli* sólo en los medios suplementados con CIP, de un total de 15 muestras (8,3%), en los que se confirmaron la portación de uno o más genes de resistencia plasmídica a las quinolonas.

De las 15 muestras positivas, 11 fueron procedentes de la Región Occidental (6 machos y 5 hembras) y 4 de la Región Oriental (solo hembras). Las hembras, con edad entre 24 a 60 meses y peso entre 168,2 y 532 kilos; y los machos 24 a 60 meses y 183 a 501,2 kilos. Tabla 1.

Tabla 1. Genes de resistencia plasmídica confirmada en aislamientos de *E. coli* de muestras cecales de ganado bovino para carne. Año 2021. N: 181.

IDENTIFICACIÓN	REGIÓN	EDAD (meses)	PESO (kilos)	SEXO	GENES DE RESISTENCIA PLASMÍDICA
F38	OC	24	501,2	M	Qnr S; aac-6'-Ib-cr
F50	OC	60	183	M	Qnr S; aac-6'-Ib-cr
F56	OR	60	444	H	Qnr S
F58	OR	36	532	H	Qnr S
F59	OR	36	416	H	Qnr S
F60	OC	60	168,2	H	Qnr S
F62	OC	24	176,8	H	Qnr B
F64	OC	24	223,6	H	Qnr S
F77	OC	36	178,8	H	Qnr S
F84	OR	24	330	H	Qnr S; Qnr B
F88	OC	24	381,2	H	Qnr B
F152	OC	24	271	M	Qnr B
F153	OC	24	217	M	Qnr B
F155	OC	48	237	M	Qnr B
F156	OC	24	241	M	Qnr B; Qnr S

OC: Occidental; OR: Oriental; M: macho; H: hembra.

Fuente: Dpto. Bacteriología y Micología. Laboratorio Central de Salud Pública.

Los genes de resistencia plasmídicos confirmados en los aislamientos resistentes a la CIP fueron: Qnr B, Qnr S y aac-6'-Ib-cr en la Región Occidental; y, Qnr B y Qnr S en la Región Oriental. En ambos casos fueron confirmados aislamientos con portación de más de 1 gen de resistencia plasmídica, detallados en la Tabla 1.

En cuanto al perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos, todos los aislamientos de *E. coli* con resistencia fenotípica a CIP, fueron susceptibles a las cefalosporinas de 3ra generación (CAZ y CTX), carbapenémicos (ERT, IMP) testados, así como a COL. Sin embargo, el 100% de los mismos resultaron resistentes a TET y NAL y el 53% a SXT. Los halos de inhibición de CIP arrojaron resultados cuyas interpretaciones fueron resistentes (2/15) y sensibilidad intermedia (13/15). Los resultados de las pruebas de susceptibilidad están resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Perfil de susceptibilidad de aislamientos de *E. coli*, portadores de resistencia plasmídica a quinolonas, de muestras cecales de ganado bovino par carne. Año 2021. N: 181.

IDENTIFICACIÓN	KIRBY BAUER (halo de inhibición)											MICRODILUCIÓN EN CALDO CIM (ug/mL)
	NAL	CIP	TET	SXT	CAZ	CTX	AMC	GEN	AMK	ERT	IMP	COL
F38	11	21	6	6	27	30	20	20	16	30	28	< 2
F50	11	21	6	6	27	30	20	20	16	30	28	< 2
F56	12	25	6	30	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F58	12	24	6	6	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F59	12	25	6	30	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F60	12	25	6	30	26	30	20	20	22	30	28	< 2
F62	12	24	6	6	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F64	12	25	6	6	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F77	12	24	6	30	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F84	13	24	6	30	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F88	12	25	6	6	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F152	12	25	6	6	27	32	23	20	20	30	28	< 2
F153	13	24	6	30	26	30	20	20	20	32	31	< 2
F155	12	25	6	6	27	30	20	20	22	30	28	< 2
F156	12	24	6	30	27	30	22	19	20	32	29	< 2

NAL: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; TET: tetraciclina; SXT: trimetoprim/sulfametoxazol; CAZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima; AMC: amoxicilina/ácido clavulánico; GEN: gentamicina; AMK: amicacina; ERT: ertapenem; IMP: imipenem; COL: colistina; CIM: Concentración Inhibitoria Mínima.

Fuente: Dpto. Bacteriología y Micología. Laboratorio Central de Salud Pública.

DISCUSIÓN

El principal hallazgo de este trabajo de investigación, llevado a cabo en muestras cecales de ganado bovino para carne, con procedencia de ambas regiones del país, faenados en 3 frigoríficos de la zona de influencia del arroyo Mburicao; fue la resistencia antimicrobiana a las fluoroquinolonas en un 8,3%; utilizando *E. coli* como bacteria indicadora, como así también la confirmación del mecanismo plasmídico de resistencia por la portación de los genes Qnr S, Qnr B y aac-6'-Ib-cr.

San Martín *et al.*, en un estudio llevado a cabo en Chile en el 2005 en aislados de *E. coli* de ganado bovino para carne, encontraron una resistencia antimicrobiana del 11 %, cercano a nuestro hallazgo en este trabajo.⁽⁸⁾

Por otro lado, no encontramos aislamientos de *E. coli* con resistencia a los otros antimicrobianos evaluados (cefotaxima, colistina, meropenem), resultado de gran relevancia debido a la creciente preocupación generada por la evolución de la resistencia antimicrobiana en las bacterias que habitan los diversos nichos ecológicos.

Un hallazgo preocupante es la resistencia acompañante encontrada en los aislamientos resistentes a las fluoroquinolonas; ya que todos ellos fueron resistentes a TET y el 53% resistentes a SXT. Estos datos generados deberían ser considerados para la elaboración de reglamentaciones nacionales para la comercialización y uso de estos antimicrobianos en medicina veterinaria y como agentes promotores de crecimiento. En nuestro país, solo está regulado el uso de la colistina. A partir del 2019, SENACSA, por Resolución N.º 1150/2019 prohibió la

elaboración, distribución, importación y tenencia de productos veterinarios que contengan en su formulación el principio activo de la colistina y sus sales, por ser considerado un antimicrobiano de última línea en el tratamiento de las enfermedades infecciosas graves en humanos y su uso descontrolado estaría promoviendo la selección y propagación de resistencia bacteriana⁽²³⁾.

La contención de la RAM requiere la toma de medidas con un enfoque multisectorial. La creación y funcionamiento de una Red de vigilancia de la RAM en el sector veterinario en el país es necesaria y urgente, a fin de generar conocimientos epidemiológicos de los gérmenes zoonóticos o comensales, los cuales podrán ser utilizados para la elaboración de guías terapéuticas locales para el uso prudente de antimicrobianos en ese sector, como así también poder determinar y monitorear el perfil de resistencia en estas bacterias.

Conflicto de interés: Ninguno.

Contribución de autores:

Melgarejo Touchet Nancy: Autor principal. Idea, Elaboración del Protocolo, recolección y análisis de los datos, presentación de resultados, redacción del manuscrito.

Martínez Mario: Asesoría, revisión crítica del manuscrito.

Busignani Sofía: Estudios microbiológicos fenotípicos de los aislamientos bajo investigación.

Pamela Dunjo: Estudios microbiológicos fenotípicos de los aislamientos bajo investigación.

Verónica Orrego: Estudios fenotípicos y genotípicos de los aislamientos bajo investigación.

Mariel Brítez: Estudios fenotípicos y genotípicos de los aislamientos bajo investigación.

Natalie Weiler: Coordinación laboratorial de los estudios microbiológicos.

Mirian Alonzo: Coordinación del muestreo en los frigoríficos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Donado-Godoy P, Castellanos R, León M, Arevalo A, Clavijo V, Bernal J, Perez-Gutierrez E. The establishment of the colombian integrated program for antimicrobial resistance surveillance (COIPARS): A pilot project on poultry farms, slaughterhouses and retail market. *Zoonoses and Public Health*. 2015; 62(s1), 58–69. Disponible en: <http://doi.org/10.1111/zph.12192>.
2. El concepto "Una sola salud". Boletín N° 2013-1. Organización Mundial de Sanidad Animal. ISSN 1684-3789. Disponible en: https://www.woah.org/fileadmin/Hom/e/esp/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2013-1-ESP.pdf
3. World Health Organization, 2015. Proyecto de plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. 68.ª ASAMBLEA MUNDIAL DE LA SALUD. A68/20. Disponible en: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/es/>
4. Poder Ejecutivo. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Resolución S.G. N° 163 "Por la cual se aprueba el Plan Nacional de Resistencia Antimicrobiana Paraguay 2019-2023" y se dispone su implementación y difusión en todo el territorio nacional. Disponible en: https://dqvs.mspbs.gov.py/files/documentos/Plan_RAM_RESOLUCION_SG_Nro_163_DE_2019.pdf
5. Errecalde, J. Uso de antimicrobianos en animales de consumo incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública. FAO 2004. ISBN 92-5-305150-7.
6. Giacoboni G. Resistencia a los antimicrobianos en medicina veterinaria y su relación con la salud pública. *Información Veterinaria (CMVPC)*, Boletín 2013;175:31-3.
7. Dunlop RH, Mc Ewen SA, Meek AH, Clarke SE, Black W, Friendship RM. Associations among antimicrobials drug treatments and antimicrobial resistente of fecal *E. coli* of swine on 34 farrow-finish farms in Ontario, Canadá. *Prev. Vet.Med.* 1997; 31:133-146.).
8. San Martín B, Bravo V, & Borie C. Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando *E. coli* como bacteria indicadora. *Archivos de medicina*

- veterinaria. 2005; 37(2): 117-23. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2005000200005>.
9. Jimenez R, Gudiño L, Aguilar J, Loeza P. Caracterización molecular de *Escherichia coli* resistente a antibióticos aislada de mastitis bovina en Michoacán, México. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 2017;8(4):387-96. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i4.4251>.
 10. Folleto Trabajando juntos para combatir la Resistencia a los antimicrobianos. Disponible en: <https://www.paho.org/es/juntos-contra-resistencia-antimicrobianos>
 11. Sistema Integrado Nacional de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana en la cadena agroalimentaria (SINMRA-Paraguay). Documento colaborativo entre el manual de procedimientos para la toma de muestra, y se dispone su implementación y difusión.
 12. Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán". Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. Enero 2012. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
 13. Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán". Método de Screening "COLISTIN AGAR-SPOT". Agosto 2017. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Agar-spot-COL-2017-version2-Agosto2017.pdf>
 14. Lezameta L, Gonzáles-Escalante E, Tamariz Jesús H. Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. Rev. peru. med. exp. salud pública. 2010 Jul;27(3):345-51. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342010000300006
 15. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, et al. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C beta - lactamase - producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 2005 Jun; 43(6): 2551-8. doi: 10.1128/JCM.43.6.2551-2558.2005. PMID: 15956362; PMCID: PMC1151917.
 16. Pasteran F, Méndez T, Guerriero L, Rapoport M, Corso A. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother 2009; 47: 1631-9.
 17. Das NK, Grover N, Sriram, Mahadevan Kumar R, Dudhat VL, et al. Prevalence of Carbapenem Resistance and Comparison between Different Phenotypic Methods for Detection of Metallo-B-Lactamases in Gram Negative Non-Fermentative Bacteria in the Acute Wards of a Tertiary Care Centre Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 2016; 5(5): 109-19. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.012>
 18. Pasteran F, Veliz O, Ceriana P, Lucero C, Rapoport M, Albornoz E, et al; ReLAVRA Network Group. Evaluation of the Blue-Carba test for rapid detection of carbapenemases in gram-negative bacilli. J Clin Microbiol. 2015 Jun;53(6):1996-8. doi: 10.1128/JCM.03026-14. PMID: 25809971; PMCID: PMC4432054.
 19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement, M100-Ed31; National Committee for Clinical Laboratory Standards: Wayne, PA, USA, 2021.
 20. EUCAST 2021 breakpoints table versión 11.0 (2021). https://eucast.org/clinical_breakpoint/s/
 21. Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán". Protocolos de métodos moleculares. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/category/protocolos-de-metodos-moleculares/>
 22. Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán". Programa Latinoamericano de Control de Calidad en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos. Disponible en:

<http://antimicrobianos.com.ar/2016/06/pccnac-boletin-informativo-nro-23-junio-2016/>

23. Poder Ejecutivo. Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA)- Resolución S.G. Nº 1150/2019. Di <https://www.facebook.com/Senacsa/posts/2659735957426645/>; http://www.arp.org.py/images/ima2019/1_RESISTENCIA_A_LOS_ANTIMICROBIANOS_Dra_Gloria_Alarcn_SENACSA.pdf