



UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL (UCI)

**RIESGOS DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE LOS
PRINCIPALES PATÓGENOS DE MASTITIS EN LOS PRODUCTOS LÁCTEOS**

RAFAEL ALBERTO MOLINA MONTERO

DIRECTOR:

VALENTINA FRANCO GUTIERREZ

SAN JOSE, COSTA RICA. 2021

UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL (UCI)

**RIESGOS DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE LOS
PRINCIPALES PATÓGENOS DE MASTITIS EN LOS PRODUCTOS LÁCTEOS**

RAFAEL ALBERTO MOLINA MONTERO

**PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PARA OPTAR AL TÍTULO DE MÁSTER EN GERENCIA DE
PROGRAMAS SANITARIOS EN INOCUIDAD DE ALIMENTOS.**

SAN JOSE, COSTA RICA. 2021

APROBACIÓN

Este proyecto final de graduación fue aprobado por la Universidad como requisito parcial para optar al grado de Máster en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos.

Valentina Franco Gutiérrez
Director de Trabajo de Grado

Andrés Cartín Rojas
Primer Lector

Segundo(a) Lector (a)

Rafael Alberto Molina Montero
Sustentante

DEDICATORIA

A Olga, Manu y Rafa, mi familia; por su amor y apoyo incondicional.

Son el motor de mi vida, mi bastión.

**“Que la comida sea tu alimento
y el alimento, tu medicina”**

Hipócrates

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso.

Valentina Franco Gutierrez, Coordinadora Proyecto Final de Grado de la Maestría de Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos de la Universidad para la Cooperación Internacional, por su asesoría durante el proceso.

A mi padre, por su tiempo, dedicación y apoyo incondicional. Pilar no solo para lograr concluir este proyecto; mi total admiración, amor y agradecimiento.

A don Ronald, mi mentor profesional. Gracias por enseñarme otros campos para ejercer mi profesión.

A mis profesores y compañeros del programa de maestría.

A todas aquellas personas que colaboraron de una u otra forma en el desarrollo de este trabajo.

Contenido

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ABREVIACIONES	viii
RESUMEN EJECUTIVO	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1-Planteamiento del problema:	3
1.2 Objetivos del proyecto:	3
2. METODOLOGÍA	4
3. DESARROLLO	5
3.1 La producción láctea y la seguridad alimentaria	5
3.2 Factores de riesgo para la transmisión de patógenos en la industria láctea	7
<i>3.2.1 Factores involucrados en la transmisión.</i>	9
3.3 La mastitis	12
<i>3.3.1 Diagnóstico de la mastitis.</i>	13
<i>3.3.2 Terapia para el tratamiento de la mastitis</i>	14
3.4 Los animales en la sociedad y el uso de antimicrobianos para su bienestar	16
3.5 Resistencia a los antimicrobianos	18
<i>3.5.1 Origen de los genes de resistencia</i>	20
<i>3.5.2 Rutas de transmisión de genes de RAM a través del sistema alimentario</i>	22
<i>3.5.3 Transferencia horizontal de genes (THG)</i>	24
<i>3.5.4 La influencia de las biopelículas</i>	25
<i>3.5.5 Pruebas para la detección de resistencia a los antimicrobianos</i>	25
<i>3.5.6 Resistencia a los antimicrobianos asociados con el uso de antibióticos en vacas lecheras.</i>	26
3.6 Avances y alternativas al uso de antibióticos	36
4. CONCLUSIONES	39
5. RECOMENDACIONES	40

6. BIBLIOGRAFIA	41
7. Anexos	51

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentración de antimicrobianos en materia fecal de animales de producción.....	11
Cuadro 2. Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Cuadro 3. Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para <i>Escherichia coli</i>	30
Cuadro 4. Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para <i>Streptococcus uberis</i>	31
Cuadro 5. Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para <i>Streptococcus agalactiae</i>	32
Cuadro 6: Principales mecanismos de RAM presentados por <i>Staphylococcus aureus</i> en mastitis bovina.....	33
Cuadro 7: Comparación de la tasa (%) entre gen de resistencia y sensibilidad a los antimicrobianos a diferentes antibióticos para <i>Staphylococcus spp.</i>	34
Cuadro 8: Principales mecanismos de RAM presentados para <i>Streptococcus agalactiae</i>	35
Cuadro 9: Genes de RAM encontrados para <i>Streptococcus uberis</i> en muestras de leche con mastitis.....	35

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rutas de transmisión de la RAM.....	9
Figura 2. Evolución de la RAM para distintas familias de compuestos importancia en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.....	19
Figura 3. El resistoma antibiótico y los distintos ámbitos implicados en el mismo.....	22

ÍNDICE DE ABREVIACIONES

ATB: Antibiótico.

ADN: Acido desoxirribonucleico.

CMT: Prueba para Mastitis de California.

CS: Células Somáticas

ETA's: Enfermedades Transmitidas por los Alimentos y el Agua

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

HACCP: Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

NAHMS: Sistema Nacional de Monitoreo de Sanidad Animal de los Estados Unidos de América.

NMC: Consejo Nacional de Mastitis.

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico.

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Prueba de Reacción a Cadenas de la Polimerasa.

RAM: Resistencia a los antimicrobianos

USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América

THG: Transmisión Horizontal de Genes

RIESGOS DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE LOS PRINCIPALES PATÓGENOS DE MASTITIS EN LOS PRODUCTOS LÁCTEOS

RESUMEN EJECUTIVO

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un fenómeno de la naturaleza que constituye en la actualidad una grave amenaza para la salud mundial.

La mastitis bovina es la enfermedad de mayor afectación de la salud y el bienestar de las vacas, así como de la producción de leche y su calidad, desafiando el éxito económico de las unidades de producción.

El uso frecuente de antibióticos (ATB) como primera opción para el tratamiento de la mastitis, se asocia directamente con el crecimiento de la RAM. A pesar de lo anterior, aún no se ha logrado establecer de manera clara el nivel de riesgo que representan las RAM provenientes de la actividad ganadera, hacia los humanos.

El objetivo general fue la revisión de la información científica sobre el riesgo potencial de transmisión de la RAM, a partir de la utilización de ATB en el tratamiento de la mastitis bovina. Además, se planteó la necesidad de analizar los riesgos inherentes del consumo de productos lácteos. También se incluyó la identificación de las posibles alternativas para mitigar las afectaciones inducidas por la RAM.

Se realizó una revisión de literatura científica de tipo exploratoria, no sistemática, en bases de datos como PubMed, MedLine, SciELO, Science Direct y en los sitios web de la OMS/OPS, utilizando el motor de búsqueda Google Académico, durante el periodo de octubre a diciembre del 2020. Se obtuvieron un total de 90 documentos seleccionando 79 para el análisis correspondiente, se excluyeron aquellos artículos que no incluyeron pertinencia, análisis de resultados y/o rigor metodológico.

Esta información es de utilidad para comprender la habilidad que poseen las bacterias para desarrollar cepas resistentes a los ATB y el papel potencial que juega la producción de leche y sus derivados como vector en la transmisión de genes de RAM tanto para los seres humanos como a otros animales.

El análisis de la información establece que el uso inapropiado y no terapéutico de los ATB, es un factor de riesgo para la inocuidad de los alimentos.

Aceptando que la evolución de la bacterias hacia la RAM es un fenómeno inevitable y de acuerdo a la información analizada se concluye que: a) No hay evidencia concretas sobre el impacto negativo que significa el uso de ATB en la agro cadena de producción de leche, b) Existe una respuesta variable a la RAM por parte de las bacterias, c) Los desafíos que plantea la RAM son múltiples y de alta complejidad, esto implica que la búsqueda de soluciones para mitigar su impacto debe tener un carácter holístico.

Palabras clave: resistencia antimicrobiana; mastitis, antibióticos, inocuidad.

1. INTRODUCCIÓN

Conforme sigue creciendo la población mundial, la perspectiva es que sobrepase los 9.000 millones de habitantes para el año 2050, la humanidad continúa enfrentándose a desafíos tan grandes e importantes como lo son el suministro de alimentos, la energía y el agua, dentro de un entorno seguro para la vida y sustentable para el ecosistema.

La industria láctea ha tenido un gran éxito en la producción de productos nutritivos y seguros, gracias a procesos como la pasteurización, sin embargo, el consumo de leche sin pasteurizar (cruda) sigue siendo un factor de riesgo bien identificado de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) y de la aparición de patógenos zoonóticos resistentes a los antimicrobianos, entre otros.

Cada vez son más los consumidores que conocen de los riesgos zoonóticos que representa el consumo de alimentos de origen animal, por lo que ha crecido la preocupación respecto a los niveles de resistencia a los antimicrobianos encontrados en bacterias aisladas de humanos, muestras de animales, de alimentos y del medio ambiente, abriendo un debate a nivel mundial sobre el beneficio real del uso de antibióticos en la producción ganadera.

Sin embargo y pese a los esfuerzos que se realizan dentro de este sector productivo para garantizar la calidad de la leche mediante el uso de nuevas tecnologías y de la estandarización de los diferentes procesos para la obtención de la leche, la mastitis sigue siendo la enfermedad más común de las vacas lecheras y en consecuencia, el tratamiento o prevención de esta enfermedad es la razón más común por la que se administran antibióticos a las vacas (Pol y Ruegg, 2007; Saini et al., 2012).

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria de la vaca, causada por una infección por microorganismos en su mayoría bacterianos y se presenta tanto en forma clínica como subclínica.

Las bacterias más recurrentes asociadas a esta enfermedad se clasifican en tres categorías: coliformes, estreptococos y estafilococos. Además, estos organismos se pueden propagar de los cuartos infectados a los cuartos no infectados de la misma vaca o bien a otras vacas por medio de equipo de ordeño, el medio ambiente o por los manipuladores de los animales enfermos, incluso debe considerarse de alto riesgo la propagación de estos microorganismos a las personas que manipulan esta leche o bien que consumen productos lácteos no pasteurizados.

Es bien conocido que el uso de antimicrobianos para el tratamiento de animales cuya producción se destina al consumo humano, está bajo un mayor escrutinio por parte de los consumidores, funcionarios e instituciones reguladoras en cada país, debido a la asociación reconocida entre las cantidades de antimicrobianos utilizados y la generación de bacterias resistentes a los antibióticos (RAM) (Aarestrup y Seyfarth, 2000), por lo que el uso de estos medicamentos debe estar bien justificado.

Durante los últimos 30 años numerosas investigaciones a nivel mundial han sido llevadas a cabo alrededor de la RAM, sobre todo para conocer los mecanismos y causas que hacen posible esta resistencia y como a partir de este nuevo conocimiento, se plantea la creación de nuevos productos farmacéuticos y naturales para hacerle frente.

Si bien los datos de prevalencia de RAM, pueden proporcionar alguna perspectiva sobre la ocurrencia y los cambios en la resistencia a lo largo del tiempo; las razones de este fenómeno son diversas y complejas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) como parte de la 68a Asamblea Mundial de la Salud celebrada en Ginebra, Suiza en el año 2015, acordó la necesidad de un plan de acción global para combatir la RAM, el cual, involucre a países de todas las regiones y que apunte en su estrategia a concientizar y educar sobre esta problemática, optimización del uso de los antimicrobianos, reducción de la incidencia de la infección hospitalaria y la diseminación de los microorganismos

resistentes, para asegurar una sostenible inversión para la lucha contra la resistencia antimicrobiana (Serra, 2017).

1.1-Planteamiento del problema:

En los últimos años la resistencia de las bacterias a los antibióticos ha sido reconocida como un problema de salud mundial, donde a millones de personas todos los años se ve complicado su estado de salud.

Mucho se debate sobre la prohibición del uso de los antibióticos en la actividad pecuaria, sin embargo, de cara al bienestar de los animales y mejoramiento productivo de estos, su uso se convierte en una clara necesidad.

Es de suma importancia entonces, concientizar a los actores involucrados en la cadena láctea: industria, productores y profesionales en la medicina veterinaria, en la necesidad de establecer mecanismos adecuados para un uso seguro de los ATB, que garanticen la salud de los animales y de las personas que consumen productos de origen animal, en consonancia con la agenda 2030 de las Naciones Unidas para el desarrollo sustentable.

1.2 Objetivos del proyecto:

1.1.1 Objetivo general

Analizar la resistencia a los antimicrobianos (RAM), generada por el uso terapéutico de antibióticos en el tratamiento de la mastitis bovina, para comprender los riesgos en la salud pública de los consumidores de productos lácteos.

1.1.2 Objetivos específicos

1. Comparar el nivel de prevalencia de RAM detectado a través de investigaciones realizadas en al menos dos países, para dimensionar la problemática en la actividad lechera.

2. Validar los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis bovina, que evidencian patrones de resistencia antimicrobiana, para guiar la terapia de manera responsable.
3. Describir las posibles alternativas existentes en el uso de antimicrobianos para mitigar el riesgo de generación de bacterias RAM.

2. METODOLOGÍA

Para la ejecución del proyecto de investigación en resistencia a los antimicrobianos utilizados en animales en la producción lechera, titulado "Riesgos de la resistencia a los antimicrobianos de los principales patógenos de mastitis en los productos lácteos ", se realizó una revisión de literatura científica de tipo exploratoria, no sistemática.

Para la búsqueda y selección de los artículos utilizados, fueron consultadas bases bibliográficas como: Scielo, Pubmed, MedLine, Science Direct y en los sitios web de la OMS/OPS, utilizando Google académico como motor de búsqueda.

Los descriptores utilizados fueron: Drug Resistance Bacterial, Bovine Mastitis, Dairy production, Dairy food safety, Resistencia antimicrobiana, mastitis bovina.

Fueron considerados artículos de investigación original y de revisión disponibles en inglés, español y portugués. Aquellos artículos que no incluyeran pertinencia, análisis de resultados y/o rigor metodológico se excluyeron. Se incluyeron algunas publicaciones fuera del rango de tiempo mencionado, las cuales se emplearon como referentes históricos o teóricos.

Se definió para la selección de las publicaciones utilizadas, un parámetro de fechas que va desde el año 2000 hasta el año 2020. Esta labor se realizó en el periodo de octubre a diciembre del 2020, donde se obtuvieron un total de 90 documentos de los cuales 79 fueron utilizados para el análisis correspondiente.

Los artículos seleccionados, fueron aquellos que indicaron aspectos tales como; rutas y mecanismos de transmisión de la RAM, pruebas de detección de RAM, alternativas al uso de antibióticos, relacionados con la resistencia de las bacterias causantes de mastitis a los tratamientos con antibióticos, mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos y el riesgo de consumir alimentos derivados de la industria láctea contaminados con bacterias multirresistentes por parte del ser humano.

3. DESARROLLO

3.1 La producción láctea y la seguridad alimentaria

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se estima que aproximadamente 150 millones de hogares alrededor del mundo se dedican a la producción de leche. Esta actividad en su gran mayoría se lleva a cabo en los países en vías de desarrollo con la participación de pequeños agricultores, quienes mediante el impulso de la actividad lechera obtienen los recursos económicos para el sustento de sus hogares.

En Costa Rica según información emanada por la Cámara Nacional de Productores de Leche, para el año 2019 se estableció una producción anual de 1154 millones de litros de leche provenientes de bovinos, cuyo destino se contabiliza en las 132 plantas industriales que procesan 646 millones de litros anuales y el restante 40% de la leche, es comercializada por la industria artesanal.

La industria láctea ha tenido un gran éxito en la producción de productos nutritivos y seguros, gracias a procesos como la pasteurización, sin embargo, el consumo de leche cruda sigue siendo un factor de riesgo bien identificado de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs).

Las ETAs, provocan importantes pérdidas económicas y sociales para los países, estimándose millones en pérdidas económicas al contabilizar el número de enfermos, hospitalizaciones y muertes cada año (Mead et al., 1999).

Los consumidores cada vez están más preocupados por la inocuidad y seguridad de los alimentos que consumen, interesándose en adquirir una mejor comprensión de las prácticas que se llevan a cabo en su consecución y elaboración de estos productos. Conocedores de las amenazas potenciales para la salud humana relacionada con los productos lácteos y la producción lechera, incluyendo errores en la pasteurización o bien consumo de productos lácteos sin pasteurizar y la aparición de patógenos zoonóticos resistentes a los antimicrobianos, entre otros.

Es en atención a estos requerimientos, que durante las últimas décadas la industria láctea se ha dado cuenta de la necesidad de la incorporación a sus procedimientos de un sistema de gestión de la inocuidad alimentaria como el HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) para garantizar que los productos lácteos seguros lleguen a la mesa de los consumidores.

Diferente a lo que se puede pensar, la mayoría de los productores de leche se sienten responsables de la seguridad de la leche y la carne de res que se produce en sus unidades productivas, sin embargo, la relación entre las buenas prácticas de producción pecuaria y la calidad de los productos procesados ha sido débil, debido quizás a la falta de interés de las plantas procesadores por generar políticas de certificación de estos procesos dentro de sus proveedores de leche.

La garantía de seguridad de los productos lácteos provenientes de las unidades de producción, puede ver mejoras, mediante la adopción de una serie de prácticas de gestión que involucren, la evaluación de elementos como la adopción de normas de higiene que puedan evaluarse fácilmente, la adopción uniforme de prácticas de ordeño que reduzcan la contaminación microbiana de la leche, se debe considerar una medición y determinación del límite reglamentario para el conteo de las células somáticas en la leche de tanque y el uso inadecuado o profiláctico de agentes antimicrobianos debe minimizarse para garantizar que no se desarrolle resistencia a los antimicrobianos en los patógenos que afectan a los animales.

En correspondencia con lo anterior, los productores de leche deben asumir un papel protagónico en la ejecución de acciones que propicien una producción de leche inocua y que a la vez sea amigable con el ambiente, de tal manera que se garantice la sostenibilidad de la actividad lechera.

3.2 Factores de riesgo para la transmisión de patógenos en la industria láctea

La leche y sus productos derivados pueden albergar una variedad de microorganismos y ser una importante fuente de transmisión de patógenos por los alimentos.

La presencia de patógenos transmitidos por la leche se debe al contacto directo de este alimento con fuentes contaminantes en el entorno de la finca lechera o bien a la excreción de la ubre de un animal infectado.

La prevalencia de estos patógenos ligados a la contaminación de la leche está influenciada por numerosos factores como tamaño de la unidad productiva y su número de animales, prácticas de higiene previo, durante y posterior al ordeño y de manejo agrícola, variación en muestreo y tipos de muestras evaluadas para el aseguramiento de la calidad de la leche cruda, las metodologías de análisis de detección utilizadas, ubicación geográficas y temporada.

Como mecanismo de aseguramiento de la calidad de la leche, la industria incorpora dentro de sus procesos productivos la pasteurización, método considerado como la alternativa más eficaz para eliminar patógenos y evitar que estos sean transmitidos por los alimentos.

Sin embargo, el creciente número de informes sobre la detección de enfermedades producto de alimentos contaminados por patógenos que se transmiten a través de la leche líquida pasteurizada y otros productos lácteos listos para consumir, indica claramente que la pasteurización por sí sola no es la solución final para el control de estas enfermedades de origen alimentario.

Ante este escenario, surge la inevitable pregunta: ¿si la leche está pasteurizada, entonces, por qué debería preocuparse la industria láctea por el aseguramiento de la calidad de la leche?

Hay varias razones válidas, que incluyen: 1. Entrada de patógenos transmitidos por los alimentos a través de la leche cruda contaminada a las plantas de procesamiento de alimentos lácteos, que pueden provocar la persistencia de estos patógenos en las biopelículas y la contaminación posterior de productos lácteos procesados y la exposición de los consumidores a genes de RAM. 2. Un proceso inadecuado de pasteurización no logrará destruir todos los patógenos.

Debe destacarse, la problemática causada por el consumo de leche no pasteurizada, conocida también como leche cruda y sus derivados. A estos productos se les atribuye la responsabilidad de ETAs, ya que ponen en riesgo a los colaboradores de las fincas y sus familias, vecinos y defensores de la leche cruda.

Aunque la verdadera incidencia de las enfermedades transmitidas por este tipo de leche y los subproductos elaborados a partir de esta no es clara; en los Estados Unidos diversos informes vinculan casos de ETAs, debido al consumo de leche inadecuadamente pasteurizada, o consumo de productos lácteos adulterados con leche cruda (Fleming et al., 1985; Fahey et al., 1995; Evans et al., 1996).

La información disponible respalda el modelo en el que la presencia de patógenos depende de la ingestión de alimento, seguido de amplificación en huéspedes bovinos y diseminación fecal en el entorno de las fincas.

El resultado final de este ciclo es un depósito de patógenos transmitidos por los alimentos que se mantiene constantemente y que puede llegar a los humanos por contacto directo, ingestión de leche, queso crudos o contaminados y por contaminación generada durante el procesamiento de productos lácteos. (Figura 1)

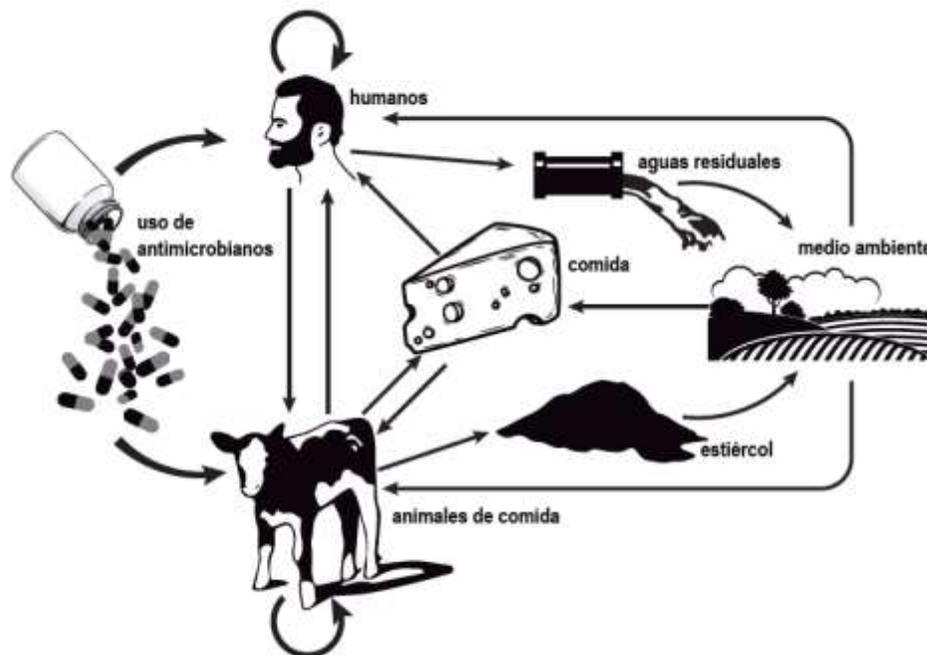


Figura 1. Rutas de transmisión de la RAM. Fuente: Woodlhouse M. et al; 2015

El aislamiento de patógenos bacterianos con biotipos similares encontrado en fincas lecheras y de brotes de enfermedades humanas, fundamenta la hipótesis antes señalada.

3.2.1 Factores involucrados en la transmisión.

Los estudios epidemiológicos han demostrado que el ganado probablemente se infecte por consumo de agua y piensos contaminados con heces y otras secreciones / excreciones del ganado. Una fuente adicional de contaminación lo constituyen las personas vinculadas con el manejo de los animales.

Y es que cada vez más se observa dentro de los sistemas de producción ganadero, la reincorporación de los purines a las áreas de pastoreo o siembra, práctica común en muchas partes del mundo; donde se utiliza principalmente como un fertilizante eficiente y económico; por ejemplo, en los Estados Unidos, este material es aplicado con frecuencia, incluso durante el invierno sobre la nieve (Kumar et al., 2005).

En un estudio realizado por Vázquez-Vázquez et al. (2011), se demostró que la aplicación de purines, además de proveer de materia orgánica y nutrientes de importancia agrícola, como el nitrógeno, los antibacterianos presentes en la materia fecal pueden prevenir, controlar e influenciar el grado de ataque de patógenos en plantas.

Los antimicrobianos administrados al ganado bovino posterior a su metabolización en el hígado, son excretados principalmente vía orina y materia fecal, entrando en contacto con el medio ambiente durante este proceso.

La concentración de los antibióticos (ATB) en materia fecal varía dependiendo de la estructura química de la droga y del individuo tratado. Estudios realizados para algunos compuestos señalan que, al no poderse metabolizar en el intestino, pueden ser excretados entre el 30 % y el 90 % (Kumar et al., 2005; Marshall y Levy, 2011).

Esto es un problema ya que los purines que contienen bacterias resistentes y antibióticos pueden ingresar al sistema de alcantarillado o fuentes de agua, lo que favorece a la presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos en el medio ambiente. Un resumen de este análisis se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Concentración de antimicrobianos en materia fecal de animales de producción.

Antibacteriano	Especie	Concentración	Vida media en el ambiente
Clortetraciclina	Pollos - Pavos	46 mg·L ⁻¹	100 días
	Cerdos	1 a 764,4 mg·L ⁻¹	100 días
	Bovinos	6,6 mg·kg ⁻¹	100 días
Doxiciclina	Cerdos	37 mg·L ⁻¹	100 días
Monensina	Bovinos	120 mg·kg ⁻¹	28 días
Oxitetraciclina	Pollos - Pavos	136 mg·L ⁻¹	21-35 días
	Cerdos	136 a 354 mg·L ⁻¹	21-35 días
	Terneros	10 mg·kg ⁻¹	21-35 días
Sulfadiazina	Cerdos	7,1 mg·L ⁻¹	8-30 días
Sulfonamidas	Cerdos	2 mg·kg ⁻¹	8 – 30 días
Tetraciclina	Cerdos	30 a 98 g·L ⁻¹	100 días
Tilosina	Bovinos	8,1 mg·kg ⁻¹	45 días
	Terneros	0,11 mg·kg ⁻¹	2-21 días

(Adaptado de Kumar et al, 2005)

Los análisis presentados anteriormente evidencian la difícil biodegradación de algunos antibacterianos y el potencial riesgo en el que se convierten al momento de dispersarse en los campos de alimentación y/o cultivo, para la alimentación de los animales en las unidades productivas pecuarias.

Datos como los presentados por Wegener (2012), indican los problemas que esto parece causar con una asociación entre la propagación de purines y la existencia de genes de resistencia en el medio ambiente.

A su vez, la presencia de patógenos transmitidos por los alimentos en el tanque a granel de leche parece estar directamente relacionada con la contaminación fecal que ocurre principalmente durante la cosecha de leche cruda, sin embargo, algunos organismos patógenos pueden causar mastitis, en cuyo caso el microbio puede excretarse directamente en la leche.

La introducción de leche cruda contaminada con alimentos patógenos en plantas de procesamiento y su persistencia en biopelículas, representa un importante riesgo de contaminación posterior a la pasteurización que podría conducir a la exposición del consumidor a bacterias patógenas. (Arizcun et al., 1998; Wong, 1998; Roberts y Wiedmann, 2003).

3.3 La mastitis

La mastitis es la enfermedad más frecuente de las vacas lecheras (Pol y Ruegg 2007; Saini et al.,2012) y su impacto negativo para la actividad lechera, ha sido evaluada a partir de las diferentes áreas de desarrollo de esta actividad; desde la afectación en el procesamiento de la leche para la industria, debido a los cambios en la calidad de la leche y composición; en el bienestar animal, al comprometer el estado de salud de los animales o bien, sobre las implicaciones económicas al comprometer la rentabilidad de la unidad productiva, por la disminución en la producción de leche de las vacas.

Es por esta razón que, desde los albores de esta actividad productiva, los productores de leche han buscado métodos efectivos para minimizar la presentación de casos de mastitis en sus animales y con ello, aspirar a obtener rendimientos productivos ideales y en conjunto con la industria, desarrollar una actividad basada en el bienestar de la salud pública.

Murphy (1947), uno de los primeros investigadores de esta enfermedad, estableció que la mastitis comprendía un proceso de tres fases. La primera etapa, consiste en la invasión de un microorganismo (con o sin establecimiento de la infección) al interior de la ubre, subsecuente a este episodio, la segunda fase se conoce como la etapa de infección (las bacterias se establecieron en la glándula) y finalmente, la tercera que es la etapa de inflamación.

El uso del microscopio abrió la primera línea de conocimiento en materia de control mastitis; es así como Breed y Brew (1917), describen la asociación de estreptococos de cadenas largas en animales con signos de inflamación leves, realizando de esta

manera la primera publicación en la revista científica del área (Journal Dairy Science), sobre agentes etiológicos relacionados con esta enfermedad.

El Consejo Nacional de Mastitis (NMC) con sede en los Estados Unidos de América, recomienda la aplicación del programa para el control de mastitis conocido como el "Plan de cinco puntos", el cual incluye: (1) Uso de una solución eficaz para la inmersión de los pezones post ordeño, (2) uso de terapia de antibióticos para vacas secas al final de cada lactancia, (3) tratamiento apropiado de casos clínicos, (4) sacrificio de vacas crónicamente afectadas y (5) mantenimiento adecuado del equipo de ordeño.

Aunque son numerosas las bacterias reconocidas como capaces de causar infecciones intramamarias (IMI), son los *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* considerados por los investigadores como los patógenos contagiosos más importantes, y dentro de los patógenos ambientales sobresale la *Escherichia coli*.

Los estándares de calidad para la leche aceptable han progresado y la preocupación por la mastitis se ha expandido para incluir el efecto de los programas de manejo de la mastitis sobre la sostenibilidad agrícola y las percepciones de los consumidores.

3.3.1 Diagnóstico de la mastitis.

El desarrollo de sistemas rápidos y automatizados para la determinación de la mastitis ha sido una prioridad dentro de la actividad de producción láctea, la cual, cada vez más enfoca sus esfuerzos en lograr garantizar la seguridad alimentaria y producir productos lácteos de alta calidad de manera sostenible.

Es por lo tanto, que la generación de información confiable a partir de estos sistemas de detección, se convierte en una obligación de cara al establecimiento por parte del médico veterinario y los productores de leche de programas de manejo preventivo de esta enfermedad, los cuales se sustentan en la base de una detección temprana de la mastitis y un manejo adecuado de los animales de acuerdo a sus

etapas productivas, propiciando de esta manera, que la utilización de los tratamientos antimicrobianos sean empleados solo como complemento para casos justificados.

Es en el conteo de leucocitos en la leche (Células Somáticas -CS/ml-) que la industria y los productores han logrado encontrar una prueba práctica, efectiva y segura, cuyo valor de < 200.000 CS/ml se utiliza a nivel mundial como un parámetro razonable para discriminar lo sano de lo anormal (mastitis), cabe señalar, que además del aspecto diagnóstico que este análisis ofrece, cada vez son más las plantas lecheras en el mundo que utilizan este valor como indicador de bonificación para el pago de la leche.

Adicional a la evaluación de CS, el desarrollo de la Prueba para Mastitis de California (CMT; Schalm y Noorlander, 1957) y de Wisconsin (Postle, 1964) proporcionan un método diagnóstico de campo rápido para el manejo de infecciones subclínicas, con la salvedad que la evaluación e interpretación de los resultados obtenidos es subjetiva, limitando así su aplicabilidad.

Se pueden encontrar otros sistemas de detección como la medición de la conductividad eléctrica de la leche, que se han incorporado a los equipos de ordeño asociando sus resultados a los conteos de células somáticas para el diagnóstico de la mastitis o bien las pruebas bacteriológicas como los cultivos de leche, los cuales brindan la identificación de los organismos específicos que se encuentran ligados a la enfermedad, para guiar las estrategias necesarias del plan de control de la enfermedad en cada finca.

3.3.2 Terapia para el tratamiento de la mastitis

Al ser la mastitis la enfermedad bacteriana más común en la mayoría en las unidades de producción de leche, algunos estudios presentados han demostrado que el tratamiento antibiótico es la primera opción y representa el mayor uso de los antimicrobianos administrados a vacas lecheras adultas (Pol y Ruegg, 2007b; Saini et al., 2012; González et al., 2015; Kuipers et al., 2016; Stevens et al., 2016).

En cuanto al tratamiento contra esta enfermedad y el éxito de este, factores como el agente causal, la naturaleza y localización de la infección, influyen significativamente. La administración intramamaria de ATB de amplio espectro es quizás la recomendación más frecuente al momento de abordar la mastitis, utilizando antimicrobianos como β -lactámicos tales como penicilina y cefalosporina de tercera generación, aminoglucósidos como amikacina y gentamicina, y fluoroquinolonas.

Con una presión creciente para reducir el uso de antibióticos en las fincas lecheras, se necesita investigación adicional para comprender completamente la ecología y control de los microorganismos que residen en el ecosistema lácteo y que son potenciales agentes etiológicos de la mastitis, con el objetivo de poder desarrollar protocolos de prevención y de un uso responsable de antibióticos.

Como respuesta a esta presión, la inmunización de las vacas mediante el uso de vacunas eficaces, que protejan a estos animales del desarrollo de nuevas infecciones intramamarias, ha sido un objetivo de numerosos trabajos e investigaciones a nivel mundial en el área de la mastitis.

Aunque se han utilizado vacunas para controlar eficazmente otras enfermedades bacterianas de las vacas lecheras, la naturaleza de la mastitis plantea numerosos desafíos para su éxito, debido a la alta diversidad entre cepas que causan mastitis, la variación en la respuesta inmune de vaca a vaca y una falta de obtención de respuesta inmunitaria apropiada para la protección contra la complejidad de los patógenos que provocan mastitis, han dado como resultado que aun su uso sea limitado.

No se cuestiona la terapia con antimicrobianos como un valioso complemento de un programa eficaz para el control de la mastitis, pero su uso debe procurar el equilibrio entre el bienestar animal y las preocupaciones de la sociedad acerca del desarrollo de las RAM.

3.4 Los animales en la sociedad y el uso de antimicrobianos para su bienestar

Los animales constituyen un elemento fundamental en el desarrollo histórico de las sociedades alrededor del mundo, ya que representan una fuente de alimento, brindan placer y compañía, son fuente de riqueza y en muchos lugares, proporcionan tracción para cultivar la tierra y transportar mercancías y personas.

En general, "la vida humana mejora con el uso de animales" (Norwood y Lusk, 2011). Se estima que aproximadamente dos tercios de los hogares de los países en desarrollo generan ingresos a través del ganado (Davis et al., 2010), principalmente de bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y aves de corral.

En esta nueva era, marcada por grandes demandas de alimentos, se ha generado un cambio en los sistemas de producción, provocando una mayor intensificación en la actividad ganadera, de cara a los 9,7 mil millones de habitantes a nivel mundial previstos para el año 2050.

Estas modificaciones en los sistemas de producción animal han generado procesos que demandan la importación de insumos para la alimentación procedentes de otros países, que trae un peligro potencial de cara a la distribución de genes de resistencia a los antimicrobianos.

La importancia de los animales dentro de nuestra sociedad es incuestionable, ellos están involucrados en todo lo que hacemos, pero se debe tener presente que también plantean un riesgo de transmisión de enfermedades hacia los seres humanos, por lo que se requiere contar dentro de nuestros países con los mecanismos de gestión sanitaria, que garanticen la salud tanto de los animales como de la población.

Ante estos escenarios, se hace importante el uso de antimicrobianos en la producción ganadera, ya que se erige como una base para mejorar la salud y la

productividad de los animales, esto a su vez contribuye a la seguridad alimentaria y el bienestar animal.

Año a año, crece la preocupación a nivel mundial por los niveles de resistencia a los antimicrobianos encontrados en bacterias aisladas de humanos, muestras de animales, de alimentos y del medio ambiente, que se relacionan con el uso de antibióticos en la producción ganadera. Esto ha generado una percepción en la población, de que los antimicrobianos deben restringirse o del todo no utilizarse en ganado, para disminuir este riesgo.

El uso de los antimicrobianos es aceptado y promovido en la producción ganadera, para lograr la recuperación de la salud de animales enfermos. Sin embargo, en las últimas décadas algunos antibacterianos han sido utilizados con un propósito no terapéutico como promotores del crecimiento.

Antibióticos como la penicilina procaínica y la tetraciclina, usados en pequeñas dosis (terapéuticas) en la alimentación, tienen la capacidad de incrementar el peso de aves, cerdos y bovinos de engorde en una proporción cercana al 5 %.

Sin embargo, los beneficios a partir del uso no terapéutico de los ATB son menos claros y abre diferentes debates sobre la necesidad real de utilizarlos de esta manera. Esto ha llevado a muchos países europeos a modificar su legislación sobre el uso y venta de fármacos, en respuesta a problemas de residuos de antimicrobianos y aparición de bacterias resistentes.

Adicional a los beneficios ya comentados, alrededor de la utilización de los ATB, existen grandes ganancias que se acumulan en empresas farmacéuticas y profesionales de la salud animal involucrados en su distribución, actores que generan dentro de este entorno presión para uso.

Un punto importante en esta discusión se centra en la necesidad de que el estado equilibre los beneficios privados y las necesidades de la sociedad, respecto a las

contribuciones de los ATB utilizados para la salud y bienestar animal contra el costo de aumentar el riesgo de aparición de RAM en humanos.

Además de las consideraciones antes mencionadas, existen bases éticas, sociales y culturales para el uso contemporáneo de estos productos en la producción animal que no deben quedar excluidas ni subvaloradas dentro de esta discusión.

Aunque sigue siendo difícil de cuantificar y comparar directamente los riesgos de aparición, diseminación y propagación de RAM, en general se acepta que, un mayor uso de ATB conduce a una mayor presión de selección de las bacterias favoreciendo la resistencia y, por el contrario, un menor uso de ATB, favorecerá a la susceptibilidad de las bacterias (OMS, 2000).

3.5 Resistencia a los antimicrobianos

La RAM es un fenómeno biológico de los microorganismos que ha ocurrido en la naturaleza desde la antigüedad (D'Costa, 2011) mucho antes de la era antibiótica y como mecanismo competitivo de supervivencia bacteriana.

Sin embargo, es en años recientes que se ha convertido en una verdadera amenaza para la salud pública a nivel mundial, atribuyéndole a este fenómeno la pérdida de millones de vidas.

La RAM se define como la capacidad de un microorganismo para resistir la actividad inhibitoria de un antimicrobiano a un nivel normal de susceptibilidad (Loo et al, 2019). Diferentes investigadores, reconocen al uso de los antibióticos desde hace setenta años, como el factor más importante para la aceleración de las RAM.

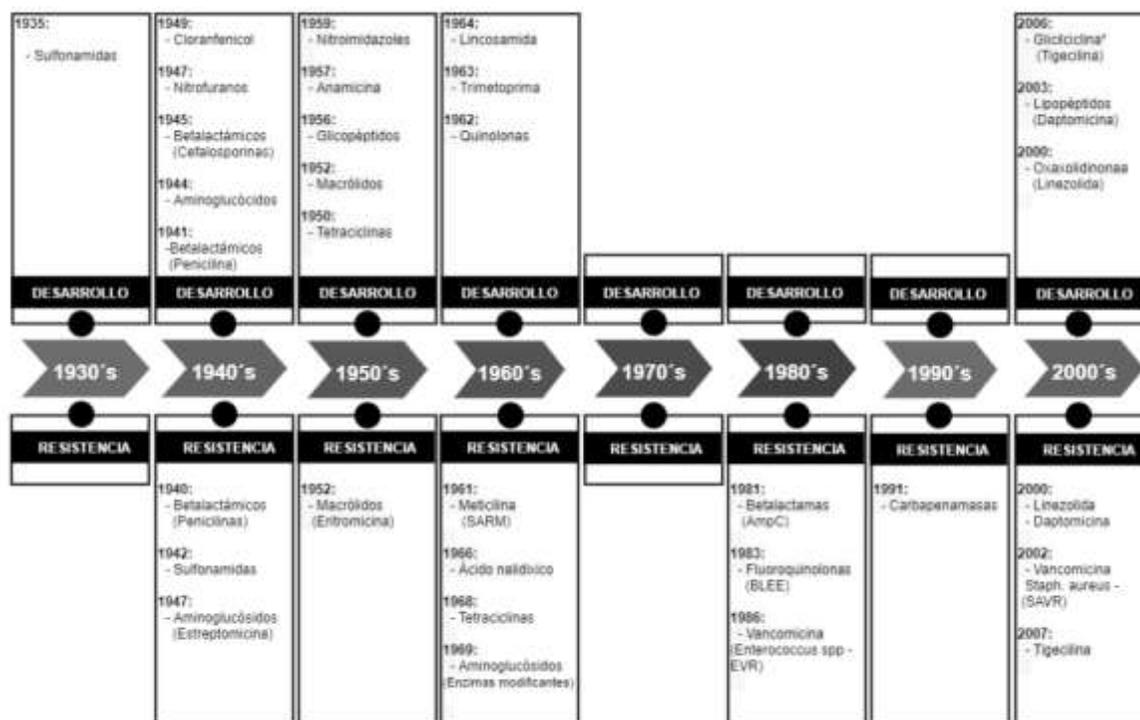


Figura 2. Evolución de la RAM para distintas familias de compuestos importancia en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. (Torres; 2012)

Los microorganismos, muchos de ellos cohabitantes del suelo, están expuestos a la acción selectiva de los antibióticos producidos por otros microorganismos o liberados al medio tras su uso en humanos, animales o plantas, o a la acción de otros compuestos tóxicos, entre ellos metales pesados y biocidas de diversos orígenes y por ello han tenido que desarrollar estrategias de defensa frente a todos estos compuestos.

En la figura 1, se muestra la relación entre el desarrollo de agentes antimicrobianos y el desarrollo de resistencia a estos compuestos a partir de 1930.

En la ganadería de leche, el uso común de antibióticos para el tratamiento y la prevención de la mastitis y otras enfermedades pone en peligro a la población humana debido a una posible difusión de patógenos RAM a los seres humanos a través del consumo de productos lácteos contaminados.

Algunos efectos negativos para el ser humano derivado de las RAM, se observan en la actualidad como fallos en el tratamiento médico o bien en como la elección de antibióticos para el tratamiento se vuelve cada vez más limitada.

La propagación de estos genes de RAM en bacterias de animales puede ser diseminada a los seres humanos a través de las relaciones existentes de la cadena alimentaria (Verraes et al., 2013). Se observa una distribución entre especies producto del contacto directo entre humanos y animales o fuentes ambientales compartidas contaminadas, poniendo en riesgo a una alta cantidad de población a nivel mundial.

Además, se atribuye a que los patógenos gastrointestinales resistentes adquirirán una posición ventajosa cuando los pacientes sean tratados con antibióticos por otras causas, generando un entorno de salud comprometido.

Un informe publicado en 2014 estimó que un total de 700.000 personas sucumben a infecciones resistentes a los antimicrobianos cada año, y esto aumentará a 10 millones para 2050 (O'Neil J, 2014)

Comprender los mecanismos que desarrollan la RAM, es de vital importancia para definir las mejores estrategias para mantener los ATB útiles por un tiempo mayor.

3.5.1 Origen de los genes de resistencia

Los genes de resistencia pueden ser adquiridos de manera intrínseca y extrínseca.

La resistencia antimicrobiana se origina de manera intrínseca, cuando una bacteria susceptible hacia un determinado antibiótico, como consecuencia de una evolución o mutación reciente; adquiere formas de no ser afectada por un determinado antibiótico.

Por otro lado, la resistencia de forma extrínseca se genera cuando un microorganismo adquiere un gen de resistencia específico por transferencia

horizontal de genes (THG) (Holzbauer y Chiller, (2006); en consecuencia de esto, el tratamiento con un antibiótico en ambos no tendrá éxito.

Los genes de resistencia de las bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas han revelado secuencias casi idénticas, lo que sugiere que la transferencia de genes de RAM a través de géneros se ha producido. Además, se sugiere que estos eventos de transferencia se han producido recientemente debido a la alta identidad de secuencia (Courvalin, 2008).

La transferencia de genes de resistencia a los antimicrobianos se ve facilitada por elementos genéticos móviles, como plásmidos, bacteriófagos y transposones. Los antimicrobianos ejercen una fuerte presión selectiva para propagar la resistencia.

En la última década, diversos grupos de investigación han demostrado que las bacterias ambientales, especialmente las procedentes del suelo, contienen una gran diversidad de genes de resistencia, algunos similares a los detectados en las bacterias patógenas y muchos otros nuevos (Canton, 2009; D'Costa et al., 2007; Forsberg et al., 2012), lo que hace pensar que el origen de los genes de resistencia es un tema mucho más complejo de lo inicialmente considerado.

En este contexto, ha surgido el concepto del resistoma antibiótico que comprende el conjunto de todos los genes que contribuyen directa o indirectamente a la RAM. Dicho resistoma antibiótico estaría constituido por: a) los genes de resistencia de los microorganismos ambientales, muchos de ellos procedentes del suelo, tanto productores como no productores de antibiótico, resistoma ambiental; b) los genes de resistencia de las bacterias patógenas, resistoma clínico; c) los genes intrínsecos presentes en los cromosomas bacterianos que contribuyen a la resistencia, resistoma intrínseco; y d) los genes que codifican proteínas metabólicas pero que podrían ser los precursores de genes de resistencia a los antibióticos a través de procesos evolutivos y que han sido denominados genes de protoresistencia (Wright, 2010) .



Figura 3. El resistoma antibiótico y los distintos ámbitos implicados en el mismo.

Fuente: Torres (2012)

3.5.2 Rutas de transmisión de genes de RAM a través del sistema alimentario

Dado la considerable demanda y expectativas nacionales e internacionales en garantizar la seguridad alimentaria, así como, los desafíos de producir y mantener una cantidad importante de alimentos para cubrir la necesidad en los países, ha generado una urgente necesidad de reforzar programas de educación en la materia.

En el caso de la resistencia a los antimicrobianos, como ocurre con la mayoría de los problemas de salud pública, la reacción inicial ante estas situaciones es centrarse en el sistema alimentario para garantizar que los consumidores no se vean afectados.

Existen tres rutas potenciales por las que se podrían propagarse bacterias resistentes a los antimicrobianos de los sistemas de producción ganadera hacia los consumidores: (1) a través del sistema alimentario, (2) por contacto directo entre personas y animales y (3) por contaminación ambiental.

Varios estudios científicos apoyan la hipótesis de un vínculo entre el uso de antibióticos durante la producción pecuaria y la resistencia a los antimicrobianos de patógenos humanos en los que los alimentos son una de las rutas de transferencia, por ejemplo, la carne de cerdo y de aves de corral pueden ser fuentes de transferencia de cepas resistentes a antimicrobianos de *Salmonella typhimurium* a los seres humanos (Depoorter et al, 2012; Van Voxtael et al, 2012), o bien, colonias de *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas a través de consumo de una comida que contenga carne de pollo.

Ante este escenario, la comisión encargada del Codex Alimentarius ha generado directrices dentro de un marco de análisis de riesgos estructurado. Esto considera los peligros para la salud humana asociados con la presencia en alimento de bacterias portadoras de genes de resistencia relacionados con el uso de ATB en animales o preparación de alimentos. (Codex Alimentarius, 2011).

En la actualidad, existe una creciente demanda de alimentos y materias primas poco procesados; estos mercados se expanden debido a que combinan un sabor óptimo con una conservación íntegra de los componentes nutricionales.

Este tipo de alimentos, sin embargo, representan un riesgo importante en la salud pública, debido a que pueden consumirse sin haber sido sometidos a un procesamiento adecuado, por lo tanto, presentan un peligro sustancial de transferencia de genes de resistencia de los antimicrobianos a los seres humanos.

Al respecto, McMahon et al., (2007), estableció que métodos de conservación subletal de alimentos como el calor, el estrés ácido y salino pueden alterar significativamente la resistencia antimicrobiana fenotípica en alimentos relacionados con patógenos como *E. coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*, aumentando su propagación.

Los alimentos bajo condiciones de procesamiento adecuado por su parte disminuyen el riesgo de transmitir genes resistentes a los antimicrobianos, la mayoría de estos métodos, dan como resultado una reducción bacteriana.

3.5.3 Transferencia horizontal de genes (THG)

La transferencia horizontal de genes es la primera causa de la RAM (OECD, 2010; Kay et al., 2002; Koonin et al., 2001; Nielsen, 1998), jugando un rol importante en la evolución bacteriana, degradando nuevos compuestos creados por el hombre (McGowan et al., 1998), manteniendo y transmitiendo factores de virulencia (Keen, 2012).

Hay tres mecanismos principales de transferencia horizontal de genes entre bacterias: transformación, transducción y conjugación.

La transformación es el proceso en el que el ADN bacteriano libre en el medio ambiente, resultante de la lisis celular, es capturado e incorporado por células bacterianas competentes (Kelly et al, 2009); la transducción es el proceso de transferencia de ADN mediada por bacteriófagos y la conjugación, considerada como el principal modo de transferencia de genes de resistencia a los antimicrobianos entre bacterias, es la transferencia de ADN que se produce entre células bacterianas vivas y requiere el contacto directo entre la célula donante y la célula receptora (Wozniak y Waldor, 2010).

Los elementos móviles mencionados con anterioridad son la principal fuerza impulsora en la THG entre cepas, especies y géneros cercanos y filogenéticamente distante. Además, de ser los responsables de la rápida propagación de elementos particulares en toda una comunidad bacteriana y entre los ecosistemas (Roberts, 2011).

3.5.4 La influencia de las biopelículas

Las biopelículas se pueden definir como una comunidad sésil derivada de microorganismos como bacterias y hongos, caracterizada por células que se unen irreversiblemente a un sustrato o interfaz o entre sí, que están incrustados en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que producen una barrera o biopelícula que protege a los microorganismos de amenazas externas y que presentan un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción de genes.

En la mayoría de los equipos de procesamiento de alimentos, los microorganismos pueden crecer y sobrevivir como biopelículas, generando un ambiente contaminante para los alimentos durante su procesamiento.

Una propiedad única de las biopelículas polimicrobianas son los efectos protectores cooperativos que las diferentes especies de bacterias pueden proporcionarse entre sí, así como favorecer el intercambio horizontal de genes de bacterias que confieren RAM a otras bacterias, incluso entre diferentes especies, se mejora en las biopelículas (Scott, 2017). Confiriendo un estado ideal para la transferencia de estas bacterias a través de los alimentos procesados, contaminados durante su proceso de elaboración.

3.5.5 Pruebas para la detección de resistencia a los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos de patógenos de mastitis se mide más comúnmente mediante pruebas de susceptibilidad fenotípica, que evalúan la capacidad de una serie de concentraciones antimicrobianas para inhibir el crecimiento bacteriano. En medicina veterinaria, los métodos fenotípicos más utilizados incluyen disco de difusión de agar y microdilución de caldo (Reller et. al., 2009).

Los métodos genotípicos se utilizan para detectar genes de resistencia a los antimicrobianos, y muchos de estos genes ya han sido identificados en patógenos causantes de mastitis. Estos métodos evalúan el genotipo del microorganismo,

mientras que las pruebas de susceptibilidad fenotípica evalúan el fenotipo (expresión genotipo) en condiciones de laboratorio, es decir, detectan los resultados de la expresión génica (Woodford y Sundsfjord, 2005).

Gow et al (2008), concluyeron que los mecanismos moleculares subyacentes a la resistencia a los antimicrobianos son muy complejos debido a la multiplicidad y diversidad de asociaciones entre genes. Por tanto, la presencia o ausencia de un gen específico correspondiente a un fenotipo particular no implica necesariamente que el aislado particular sea resistente o susceptible.

La evolución de la RAM es un proceso tremendamente complejo y multifactorial (Baquero, 2012) que depende de: 1) la presión selectiva de los ATB de diferente procedencia: medicina, veterinaria, agricultura o sintetizados por los microorganismos productores, sobre el conjunto de microorganismos que componen el microbioma ambiental, humano y animal. Es posible que otros compuestos no antibióticos tales como biocidas, detergentes y metales pesados, influyan en este proceso selectivo; 2) la existencia de un complejo resistoma que contiene un pool de genes de resistencia muy diverso y abundante en continua evolución; 3) la presencia de plataformas genéticas eficaces que permiten la captación de los genes de resistencia, por ejemplo integrones y su posterior movilización como los plásmidos, transposones, fagos, etc.; 4) la incorporación de los genes de resistencia en clones bacterianos epidémicos que presenten facilidad para diseminarse en diferentes nichos, hospitales, comunidad, granjas, etc.; 5) la posibilidad de que los clones bacterianos se encuentren en comunidades microbianas con alta capacidad de transferencia de genes.

3.5.6 Resistencia a los antimicrobianos asociados con el uso de antibióticos en vacas lecheras.

Como se ha mencionado con anterioridad, el uso de antibióticos como penicilina, cefalosporina, estreptomina, tetraciclina y otros, son de uso común en la actividad lechera y se utilizan para el tratamiento y la prevención de mastitis y otras

enfermedades, causadas por una diversa variedad de bacterias grampositivas y gramnegativas.

Datos del Departamento de Agricultura de EE. UU. (USDA) y del Sistema Nacional de Monitoreo de Salud Animal (NAHMS) del mismo país, de un estudio realizado en 17 estados de producción lechera en el año 2007, señalan que el 82,5% de las vacas recibieron al menos un tratamiento con antibiótico principalmente para el tratamiento de mastitis.

Aunque la resistencia a los antimicrobianos entre los patógenos de la mastitis ha sido bien documentada durante casi cuatro décadas, no se ha presentado evidencia científica que sugiera que se trata de una situación emergente o progresiva (Erskine et al., 2004), aun cuando muchos de estos antibióticos se han utilizado en la industria láctea para el tratamiento y prevención de enfermedades durante varias décadas.

A) Resistencia fenotípica

La definición de un aislado bacteriano como resistente o susceptible depende en última instancia del éxito clínico o del fracaso del tratamiento. Sin embargo, para guiar la terapia se utilizan diferentes métodos fenotípicos y genotípicos *in vitro*. (Aarestrup, 2004.)

Los métodos microbiológicos para estimar la resistencia de los microorganismos demandan la realización de pruebas que permitan la detección fenotípica de los procesos imperceptibles, responsables de los perfiles observados *in vitro*. De esta forma se puede ajustar el tratamiento antibiótico y reunir los datos necesarios para el seguimiento epidemiológico correspondiente (Morosini et al., 2012).

A continuación, se presenta una recopilación de investigaciones realizadas en diferentes países, con el objeto de mostrar los resultados de los niveles de resistencia fenotípica a distintos antibióticos para las principales bacterias asociadas a la mastitis.

En el caso de *Staphilococcus aureus*, el cuadro 2 muestra diferentes niveles de resistencia a todas las moléculas de ATB evaluadas por los investigadores. Para amoxicilina con ácido clavulánico, 38.1% (Chile); Ceftiofur 0,2%; 2,4%; 43,1% (USA) y 6,1% (Chile). Ampicilina 49,6%; 10,8%, 6,5% en USA y 26% en Chile.

Cuadro 2: Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para *Staphilococcus aureus*

Bacteria ⇨	<i>Staphilococcus aureus</i>								
Antibiótico	Tasa de Resistencia (%)								
Amox + Clavulan.	-	-	-	38,1	-	-	-	-	-
Ceftiofur	0,2	2,4	43,1	6,1	-	-	-	-	-
Ampicilina	49,6	10,8	6,5	26	-	-	-	-	64
Oxacilina	0,6	3,6	1,9	-	-	-	0	0	0
Gentamicina	1,1	-	-	3,3	-	0,8	0	0,5	0
Pirlimicina	2,1	3,6	23,1	8,3	-	-	-	-	-
Eritromicina	6,9	-	28,9	-	36,5	3,1	0	1,9	-
Penicilina	49,6	26,5	11,8	28,8	22,2	14,1	4	7,1	56
Sulfa-trimetropin	0,6	-	-	6,9	-	-	-	0	2
Tetraciclina	8,5	-	5,8	-	-	1,6	3	-	22
PAÍS	USA	USA	USA	CHI	ARG	ALE	SUE	SUE	IRAN
Duración estudio (m)	84	16	12	24	6	24	12	12	72
Fuente	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)

Fuente: (1) Erskine et al; (2) Rajala - Schultz et al; (3) Pol & Ruegg; (4) San Martin et al; (5) Pellegrino; (6) Botrel et al; (7) Persson; (8) Bengtsson et al; (9) Sahebkhthiari et al.

USA= Estados Unidos de América; CHI=Chile; ARG= Argentina; ALE= Alemania; SUE= Suecia

En el caso de la Oxacilina, esta molécula presentó una tendencia de menor resistencia dentro de los betalactámicos. Cabe señalar que, en Suecia Persson et al (2011) y Bengtsson et al (2009), no encontraron resistencia (0 %). Resultados similares fueron establecidos por Sahebkhthiari et al. (2011), en Irán.

Para Gentamicina (aminoglucósido) los informes muestran una menor resistencia a esta molécula por parte de *S. aureus*. En Chile, San Martin et al (2003)

establecieron una tasa de 3,3%, mientras que Persson et al, (2011) en Suecia y Sahebekhtiari et al (2011) en Irán, hallaron 0%.

Continuando con el análisis del cuadro 2, investigaciones efectuadas en USA por Erskine et al (2004) y Rajala-Shultz et al (2004) revelan tasas de resistencia a la Pirlimicina (lincosamida) de 2,1% y 3,6%, respectivamente. Estas cifras contrastan con el nivel de 23,1 % encontrado por Pol y Ruegg (2007a) y de 8,3%, establecidas por San Martin et al (2003), en Chile.

Para la Eritromicina (macrólido), Pellegrino et al (2011) en Argentina, determinaron una tasa de resistencia de 36,5%; Poll y Ruegg (2007a) en USA, de 28,9%. Esto contrasta con las tasas de 0% y 1,9% que señalan Persson et al (2011) y Bengtsson et al (2009), respectivamente para *S. aureus*.

La información relacionada con la RAM para *Escherichia coli*, se presenta en el cuadro 3. Los datos revelan que las moléculas de Ceftiofur (0%; 0%; 0,8%; 4,6%) y de Gentamicina (0%; 0%; 0,7%; 2%;) muestran una menor tasa de RAM, al compararlos con lo señalado por San Martin et al (2003) (Chile), quienes detectaron niveles de 11,2% para Ceftiofur y 15,7% para Gentamicina.

En el estudio hecho por Erskine et al (2004) (USA), determinaron que la Tetraciclina presentó un alto nivel de resistencia (33,2%). Esta información difiere con los resultados establecidos por Bengtsson et al (2009) [4,9%], Botrel et al (2010) [10,4%] y Persson et al (2011) [5,9 %], para la misma molécula en *E. coli*

Cuadro 3: Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para *Escherichia coli*

<i>Bacteria</i> ⇨	<i>Escherichia coli</i>				
<i>Antibiótico</i>	<i>Tasa de Resistencia (%)</i>				
<i>Ampicilina</i>	7,4	5,9	-	15,7	-
<i>Cefaperazona</i>	-	-	0,8	-	3,6
<i>Ceftiofur</i>	0	0	0,8	4,6	11,2
<i>Gentamicina</i>	0	0	0,7	2	15,7
<i>Oxitetraciclina</i>	-	-	0,8	-	20,6
<i>Estreptomicina</i>	11	5,9	13,4	-	-
<i>Sulfa-trimetropin</i>	-	-	-	2,8	0
<i>Tetraciclina</i>	4,9	5,9	10,4	33,2	-
<i>País</i>	<i>SUE</i>	<i>SUE</i>	<i>ALE</i>	<i>USA</i>	<i>CHI</i>
<i>Duración estudio (m)</i>	12	24	24	84	24
<i>Fuente</i>	1	2	3	4	5

Fuente: (1) Bengtsson et al; (2) Persson et al; (3) Erskine et al; (4) San Martin et al; (5) Botrel et al

La investigación relacionada con la RAM para *Streptococcus uberis*, se presenta en el cuadro 4.

En términos generales se puede detectar una tendencia de resistencia múltiple a la mayoría de los antibióticos evaluados.

En el contexto del cuadro 4, destacan los resultados encontrados por Nam et al (Rep. Corea) y Rossitto et al (2002) (USA), quienes determinaron un alto porcentaje de RAM a las moléculas evaluadas.

Sin embargo, Roesch et al (2006) (Suiza), no detectaron niveles de resistencia para ampicilina y tetraciclina. De igual forma Botrel et al (2010) (Alemania) no registraron niveles de RAM para ampicilina.

Cuadro 4: Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para *Streptococcus uberis*

Bacteria ⇨	<i>Streptococcus uberis</i>				
Antibiótico	Tasa de Resistencia (%)				
Ampicilina	2,1	0	-	7,5	0
Ceftiofur	0	-	-	6,8	-
Enrofloxacina	-	42,1	-	3,8	0,5
Eritromicina	31,9	10,5	34,3	48,1	16,5
Gentamicina	34,2	52,6	42,4	-	0,5
Lincomicina	-	-	41,4	49,6	15,4
Oxacilina	41,7	-	33,3	3,8	12,6
Penicilina	5,5	5,3	8,1	49,6	-
Pirlimicina	20,1	-	-	39,1	-
Sulfa-trimetropin	4,4	-	-	-	-
Tetraciclina	45,2	0	57,6	72,9	7,2
País	<i>USA</i>	<i>SUI</i>	<i>R-Corea</i>	<i>USA</i>	<i>ALE</i>
Duración estudio (m)	<i>84</i>	<i>12</i>	<i>5</i>	<i>36</i>	<i>24</i>
Fuente	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)

Fuente: (1) Erskine et al; (2) Roesch et al; (3) Nam et al; (4) Rossitto et al; (5) Botrel et al

La información relacionada con la RAM para *Streptococcus agalactiae*, se presenta en el cuadro 5.

Los reportes de Erskine et al (2004) (USA) y Kalmus et al (2011) (Estonia) no mostraron RAM para Ceftiofur.

Cuadro 5: Comparación de la tasa (%) de resistencia fenotípica a diferentes antibióticos para *Streptococcus agalactiae*

Bacteria ⇨	<i>Streptococcus agalactiae</i>		
Antibiótico	Tasa de Resistencia (%)		
Ampicilina	2,6	-	0
Ceftiofur	0	-	0
Eritromicina	15,4	0	3,9
Gentamicina	76,9	20	36,4
Lincomicina	-	60	-
Oxacilina	3,8	40	-
Penicilina	3,9	20	0
Pirlimicina	7,1	-	-
Sulfa-trimetropin	50,5	-	6,4
Tetraciclina	46,2	60	21,9
País	<i>USA</i>	<i>R-Corea</i>	<i>Estonia</i>
Duración estudio (m)	<i>84</i>	<i>60</i>	<i>24</i>
Fuente	(1)	(2)	(3)

Fuente: (1) Erskine et al; (2) Nam et al; (3) Kalmus et al.

Para Gentamicina (aminoglucósido), investigaciones realizadas en USA (76,9%), República de Corea (20%) y Estonia (36,4%) evidenciaron una importante tasa de resistencia.

Situación similar se reportó para el uso de tetraciclina, donde Nam et al (2009) observaron el 60% de RAM, mientras que Erskine et al (2004) en USA encontraron el 46,2% y Kalmus et al (2011) el 21,9% en su estudio realizado en Estonia.

B) Resistencia Genotípica

La resistencia a los antimicrobianos puede ser causada por un gran número de genes diferentes, los cuales se valen de mecanismos tales como la alteración/reemplazo de sitio blanco, impedimento para acceder al blanco, inactivación enzimática del antibiótico o activación de bombas de eflujo

transmembrana para bloquear la acción del antimicrobiano (Jiménez et al., 2020), entre otros, para la transmisión de la resistencia.

Por lo tanto, un fenotipo puede ser causado por un gran número de mecanismos diferentes. Por el contrario, algunos genes se expresan *in vivo*, pero no *in vitro*. Además, la detección de los genes que codifican la resistencia también proporcionará información adicional sobre los clones que pueden ser útiles en la comprensión de los antecedentes epidemiológicos. Un gran número de métodos moleculares diferentes están disponibles para la determinación de genes de resistencia (Fluit et al., 2001), esto incluye una variedad de métodos basados en PCR e hibridación

La determinación de la resistencia fenotípica continúa siendo el método más utilizado, debido principalmente a que el costo de la determinación genotípica por PCR aún es mayor, pese a que esta metodología es más rápida, práctica y sensible. Sin embargo, dentro de evaluaciones de poblaciones en riesgo, se presenta como la opción ideal de análisis, principalmente para evitar la propagación de cepas resistentes.

En el caso de *Staphylococcus aureus*, la diseminación de cepas bacterianas que son resistente a los antibióticos beta-lactámicos ha sido frecuentemente informado, y se considera que los genes *mecA* y *blaZ* como principales responsables de los mecanismos de resistencia de esta especie (Li et al, 2007).

En el cuadro 6 se presenta información sobre los mecanismos de resistencia presentados por los genes *mecA* y *blaZ*

Cuadro 6: Principales mecanismos de RAM presentados por *Staphylococcus aureus* en mastitis bovina.

ATB	Gen	Mecanismos de Codificación
β-lactámicos	blaZ	Inactivación enzimática
	mecA	Alteración del blanco

Jiménez et al., 2020, en un estudio de perfil de RAM para *Staphylococcus spp.*, establecieron que en ausencia de los genes blaZ y mecA hubo una diferencia altamente significativa para la Penicilina, Ampicilina y Oxacilina, frente a la presencia de estos mismos genes, según se muestra en el cuadro 7.

Cuadro 7: Comparación de la tasa (%) entre gen de resistencia y sensibilidad a los antimicrobianos a diferentes antibióticos para *Staphylococcus spp.*

ATB	Gen	Estado	Sensible	Resistente
Penicilina	blaZ	Presente	58.3	41.7
		Ausente	90.2	9.8
Ampicilina	blaZ	Presente	63.3	36.7
		Ausente	92.7	7.3
Oxacilina	mecA	Presente	81.5	18.5
		Ausente	100	0

Los mecanismos de RAM para *Streptococcus spp* han sido ampliamente evaluados tanto para humanos como para bovinos.

En el caso específico de *Streptococcus agalactiae*, el cuadro 7 muestra la información sobre los genes de resistencia asociados al ATB específico y su mecanismo de generación de RAM.

Cuadro 8: Principales mecanismos de RAM presentados para *Streptococcus agalactiae*

ATB	Gen	Mecanismos de Codificación
Tetraciclina	tetM	Protección Ribosomal (PPRs)
	tetO	
Eritromicina	ermB	Metilación Ribosomal
β -talactámicos	PBP2	Alteración del blanco

Se ha reportado que para *Streptococcus agalactiae* los genes tetO (origen humano) y tetM (origen bovino) son los encontrados más frecuentemente (Jaramillo et al 2018).

Por otro lado, ermB es el gen más común en relación con la resistencia a eritromicina tanto para humanos como bovinos (Jaramillo et al 2018).

El gen PBP2 se ha asociado con el aumento en la concentración mínima inhibitoria de los betalactámicos en aislamiento de *Streptococcus agalactiae* (Jaramillo et al 2018).

La información mostrada en el cuadro 9, indica los genes marcadores de RAM para la Penicilina, Tetraciclina y Eritromicina encontrados en el análisis de muestras de leche con mastitis.

Cuadro 9: Genes de RAM encontrados para *Streptococcus uberis* en muestras de leche con mastitis

ATB	Gen	País	Referencia
Penicilina	PBP1A	Francia, Holanda, Suiza	2
	PBP2B		
	PBP2X		
Eritromicina	ermB	Portugal	1
Tetraciclina	tetO		
	tetK		

Fuente: (1) Rato et al; (2) Haenni et al.

Haenni et al (2010) mostraron que para *Streptococcus uberis* existe un reservorio del gen marcador para RAM PBP mutados en los animales e indica la posibilidad de intercambiarse con otros *Streptococcus*, entre los cuales destaca *Streptococcus agalactiae* y que además podrían transmitirse potencialmente hacia los seres humanos.

En cuanto a *Escherichia coli*, los genes tetA, tetB, tetC, tetD, tetE, tetY y tetI mediante bombas de eflujo, codifican su mecanismo de resistencia. (Chopra y Roberts, 2001).

Pantozzi (2018) estableció que de muestras obtenidas de materia fecal de bovinos durante el periodo entre 2010 y 2012 sobre 20 cepas de *E. coli*, el 55% fueron positivas para tetA y el 60% para tetB, siendo los principales genes de resistencia encontrados para esta bacteria.

Las nuevas herramientas de la metagenómica están permitiendo abordar el estudio de todas estas piezas que intervienen en el proceso de la resistencia y posiblemente, en un futuro, tengamos un mayor conocimiento de las rutas de evolución. Todos estos conocimientos son fundamentales, asimismo, para poder predecir en un futuro como puede evolucionar la resistencia ante la incorporación de nuevos antibióticos. Además, serán de gran utilidad para el diseño de nuevos fármacos utilizando la estrategia eco-evo, la cual tiene en cuenta el resistoma antibiótico y los aspectos evolutivos de la resistencia (Baquero, 2012).

3.6 Avances y alternativas al uso de antibióticos

Las bacterias a lo largo de millones de años de evolución han desarrollado estrategias para defenderse del efecto de los antibióticos, mientras nosotros con nuestra escasa experiencia de siete décadas de uso de antibióticos, debemos empezar a utilizar otras estrategias para poder alcanzar una mejor posición en esta

batalla desigual y conseguir controlar el problema de la RAM de tanta repercusión clínica (Torres, 2012).

Así, en el mejor de los casos, la única esperanza que podemos tener en el ámbito de la resistencia antimicrobiana es demorar la diseminación de bacterias resistentes o genes de resistencia (Courvalin, 2008).

El reciente progreso en el ámbito de la biotecnología junto con el uso cada vez mayor de materiales nanoestructurados, han dado lugar al desarrollo de nuevos procedimientos enfocados en el control de las bacterias resistentes a los antibióticos y a lograr prevenir de una manera más eficaz las enfermedades microbianas que atacan tanto a los animales como a los humanos.

Estos desarrollos incluyen: (1) la capacidad de los sistemas de edición de genes CRISPR / Cas para apuntar y eliminar genes resistentes a antibióticos en bacterias y matar directamente microorganismos; (2) producción de bacteriófagos que son letales para las bacterias in vivo; (3) generación de péptidos antimicrobianos y nanoantibióticos; (4) Uso de vacunas nuevas y modificadas como agentes para abordar la RAM (Marquardt y Li, 2018).

Contar con alternativas nuevas, seguras y eficientes enfocadas en la reducción de la RAM resistencia microbiana, ayudarán a abordar este problema de manera significativa. Sin embargo, todavía es anticipado saber el momento en que entraran estas alternativas en una etapa de producción para su comercialización (Marquardt y Li, 2018).

Mientras esto sucede, las alternativas planteadas desde la escena de la producción diaria siguen estando centradas en la realización de procedimientos de prevención de nuevos casos de mastitis y otras enfermedades en el hato y, sobre todo, en un llamado unísono a la ética de todas aquellas personas involucradas en la activada lechera, que participan en la toma de decisión de utilizar o no un antibiótico.

“La evolución de las bacterias hacia la resistencia a los antimicrobianos es inevitable, ya que representa un aspecto particular de la evolución general. Así, en el mejor de los casos, la única esperanza que podemos tener en el ámbito de la resistencia antimicrobiana es demorar la diseminación de bacterias resistentes o genes de resistencia” (Courvalin, 2008).

4. CONCLUSIONES

Frente al escenario de la RAM y de acuerdo con la información presentada en el desarrollo de este documento, se concluye que:

- a) No hay evidencias concretas sobre el impacto negativo que significa el uso de ATB en la agro cadena de producción de leche. Lo anterior como resultado, de la falta de una metodología estandarizada que guie el desarrollo de las líneas de investigación, por lo que los resultados que se han obtenido no alcanzan para cuantificar el valor real de los riesgos que representa esta problemática.
- b) Existe una respuesta variable a la RAM por parte de las bacterias, que se evidencia en los resultados disponibles, esto como respuesta a la distinta presión que cada entorno ejerce sobre el uso de los antibióticos para el tratamiento de la mastitis y a la capacidad de las bacterias para encontrar mecanismos de defensa ante estos agentes que amenazan su supervivencia.
- c) El diagnóstico fenotípico y genotípico de las bacterias causantes de mastitis, es fundamental para la toma de decisiones en cuanto al abordaje correcto del tratamiento a seguir para esta enfermedad.
- d) Los desafíos que plantea la RAM son múltiples y de alta complejidad, por lo que la búsqueda de soluciones debe tener un carácter holístico para mitigar el impacto de la problemática causada por la resistencia a los antimicrobianos en los animales, el ser humano y el medio ambiente.
- e) Los avances en materia de biotecnología presentan nuevas alternativas para el tratamiento de las enfermedades bacterianas como: bacteriófagos, péptidos antimicrobianos y una nueva generación de vacunas, lo que encaminará al resguardo de las moléculas de antibióticos existentes.

5. RECOMENDACIONES

- a) Se deben reforzar los programas de vigilancia fármaco epidemiológica, para que la información recolectada sirva para el análisis y posterior construcción de políticas gubernamentales orientadas al uso responsable de ATB tanto en el campo de la medicina humana como en veterinaria.
- b) La investigación a futuro deberá enfocarse a la búsqueda de alternativas terapéuticas que contribuyan a la reducción del uso de los ATB.
- c) Promover los programas estatales y privados de divulgación para lograr concientizar a la población usuaria de medicamentos sobre los riesgos potenciales del uso indebido de los ATB.
- d) El productor de leche deberá tomar un papel más activo y responsable acerca del uso de los ATB, adoptando estrategias de producción que le brinden la información necesaria para la toma de decisiones.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Aarestrup, F. M., & Seyfarth, A. M. (2000). Effect of intervention on the occurrence of antimicrobial resistance. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 93, 99–117.
2. Aarestrup, F.M. (2004), Monitoring of Antimicrobial Resistance Among Food Animals: Principles and Limitations. *Journal Veterinary Medicine, Series B*, 51: 380-388.
3. Arizcun, C., Vasseur, C., & Labadie, J. C. (1998). Effect of several decontamination procedures on *Listeria monocytogenes* growing in biofilms. *Journal Food Protection*, 61(6), 731–734.
4. Baquero F. (2012). Metagenomic epidemiology: a public health need for the control of antimicrobial resistance. *Clinical microbiology and infection : European Society Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18 Suppl 4, 67–73.
5. Bengtsson, B., Unnerstad, H. E., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Ost, M., & Waller, K. P. (2009). Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 136(1-2), 142–149.
6. Botrel, M. A., Haenni, M., Morignat, E., Sulpice, P., Madec, J. Y., & Calavas, D. (2010). Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(5), 479–487.
7. Breed, R. S., and J. D. Brew. (1917) The control of public milk supplies by the use of the microscopic method. *Journal Dairy Science* 1:259–271.
8. Cámara Nacional de Productores de Leche. Memorias del Congreso Nacional Lechero 2020. Consultado de: <https://drive.google.com/drive/folders/170ceLvjEOQgOzJkBsaNpPukkNu42II>
[pJ](#)

9. Cantón R. (2009). Antibiotic resistance genes from the environment: a perspective through newly identified antibiotic resistance mechanisms in the clinical setting. *Clinical microbiology and infection : European Society Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15 Suppl 1, 20–25.
10. Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews* : 65(2), 232–260.
11. Codex Alimentarius, 2011: Guidelines for Risk Analysis of Foodborne Antimicrobial Resistance (CAC/GL 77–2011). Codex Alimentarius, Rome, Italy.
12. Courvalin P. (2008). Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. *Journal Internal Medicine*, 264(1), 4–16.
13. Cullor, JS; Doyle MM; Garcia S; Venkatapuram P. & Nandi S; (2015) Dairy Dynamic Management. In 54th Annual National Mastitis Council (NMC), Memphis, Tennessee
14. Davis, B., P. Winters, G. Carletto, K. Covarrubias, E. J. Quiñones, A. Zezza, K. Stamoulis, C. Azzarri, and S. Di Giuseppe, (2010) A Cross-Country Comparison of Rural Income Generating Activities. *World Development*. 38(1), 48–63
15. D'Costa, V. M., Griffiths, E., & Wright, G. D. (2007). Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *Current Opinion in Microbiology*, 10(5), 481–489.
16. Depoorter, P., Persoons, D., Uyttendaele, M., Butaye, P., De Zutter, L., Dierick, K., Herman, L., Imberechts, H., Van Huffel, X., & Dewulf, J. (2012). Assessment of human exposure to 3rd generation cephalosporin resistant *E. coli* (CREC) through consumption of broiler meat in Belgium. *International Journal of Food Microbiology*, 159(1), 30–38.

17. Erskine, R. J., Walker, R. D., Bolin, C. A., Bartlett, P. C., & White, D. G. (2002). Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *Journal Dairy Science*, 85(5), 1111–1118.
18. Evans, M. R., Roberts, R. J., Ribeiro, C. D., Gardner, D., & Kembrey, D. (1996). A milk-borne campylobacter outbreak following an educational farm visit. *Epidemiology and Infection*, 117(3), 457–462.
19. Fahey, T., Morgan, D., Gunneburg, C., Adak, G. K., Majid, F., & Kaczmarek, E. (1995). An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis associated with failed milk pasteurisation. *The Journal Infection*, 31(2), 137–143.
20. Fleming, D. W., Cochi, S. L., MacDonald, K. L., Brondum, J., Hayes, P. S., Plikaytis, B. D., Holmes, M. B., Audurier, A., Broome, C. V., & Reingold, A. L. (1985). Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *The New England Journal of Medicine*, 312(7), 404–407.
21. Fluit, A. C., Visser, M. R., & Schmitz, F. J. (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 836–871.
22. Forsberg, K. J., Reyes, A., Wang, B., Selleck, E. M., Sommer, M. O., & Dantas, G. (2012). The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. *Science (New York, N.Y.)*, 337(6098), 1107–1111.
23. González Pereyra, V., Pol, M., Pastorino, F., & Herrero, A. (2015). Quantification of antimicrobial usage in dairy cows and preweaned calves in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 122 (3): 273–279.
24. Gow, S. P., Waldner, C. L., Harel, J., & Boerlin, P. (2008). Associations between antimicrobial resistance genes in fecal generic *Escherichia coli* isolates from cow-calf herds in western Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3658–3666.
25. Haenni, M., Galofaro, L., Ythier, M., Giddey, M., Majcherczyk, P., Moreillon, P., & Madec, J. Y. (2010). Penicillin-binding protein gene alterations in *Streptococcus uberis* isolates presenting decreased susceptibility to penicillin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 1140–1145.

26. Holzbauer, S., & Chiller, T. M. (2006). Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. *Emerging Infectious Diseases*, 12 (7), 1180. <https://doi.org/10.3201/eid1207.060503>.
27. Jaramillo-Jaramillo A., Cobo-Angel C., Moreno-Tolosa Y., Ceballos-Márquez A. (2018). Resistencia antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae* de origen humano y bovino. *Revista CES. Med. Vet. Zootec*, 13 (1).
28. Jiménez S., Torres L. D., Parra J. L., Rodríguez J. L., García F. E. y Patiño R. E. (2020) Perfil de resistencia antimicrobiana en aislamientos de *Staphylococcus* spp. obtenidos de leche bovina en Colombia. *Rev. Argentina de Microbiología*, 52 (2): 121-130.
29. Kalmus, P., Aasmäe, B., Kärssin, A., Orro, T., & Kask, K. (2011). Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 4.
30. Kay, E., Vogel, T. M., Bertolla, F., Nalin, R., & Simonet, P. (2002). In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastomic) tobacco plants to bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3345–3351.
31. Keen E. C. (2012). Paradigms of pathogenesis: targeting the mobile genetic elements of disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 161.
32. Kelly, B. G., Vespermann, A., & Bolton, D. J. (2009). Horizontal gene transfer of virulence determinants in selected bacterial foodborne pathogens. *Food and Chemical Toxicology : British Industrial Biological Research Association*, 47(5), 969–977.
33. Koonin, E. V., Makarova, K. S., & Aravind, L. (2001). Horizontal gene transfer in prokaryotes: quantification and classification. *Annual Review Microbiology*, 55, 709–742.
34. Kuipers, A., Koops, W. J., & Wemmenhove, H. (2016). Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012. *Journal Dairy Science*, 99(2), 1632–1648.

35. Kumar K., Gupta S., Baidoo S., Chander Y., Rosen C. (2005) Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *Journal Environmental Quality*; 34(6): 2082-2085.
36. Li, X. Z., Mehrotra, M., Ghimire, S., & Adewoye, L. (2007). beta-Lactam resistance and beta-lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*, 121(3-4), 197–214.
37. Loo E., Lai K. S. & Mansor R. (2019) Antimicrobial Usage and Resistance in Dairy Cattle Production. In: *Veterinary Medicine and Pharmaceuticals*, (Chap.2). DOI:
38. Marquardt, R. R., & Li, S. (2018). Antimicrobial resistance in livestock: advances and alternatives to antibiotics. *Animal Frontiers : The Review Magazine of Animal Agriculture*, 8 (2):30–37.
39. Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clinical Microbiology. Reviews*. 2011; 24(4):718-733. DOI:10.1128/CMR.00002-11
40. McGowan, C., Fulthorpe, R., Wright, A., & Tiedje, J. M. (1998). Evidence for interspecies gene transfer in the evolution of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degraders. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 4089–4092.
41. McMahon, M. A., Xu, J., Moore, J. E., Blair, I. S., & McDowell, D. A. (2007). Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(1), 211–217.
42. Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., & Tauxe, R. V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5(5), 607–625.
43. Morosini, M. I., Cercenado, E., Ardanuy, C., & Torres, C. (2012). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(6), 325–332.
44. Murphy J. M. (1947). The genesis of bovine udder infection and mastitis; the occurrence of streptococcal infection in a cow population during a seven-year

- period and its relationship to age. *American Journal Veterinary Research*, 8 (26), 29–42.
45. Nam, H. M., Lim, S. K., Kang, H. M., Kim, J. M., Moon, J. S., Jang, K. C., Kim, J. M., Joo, Y. S., & Jung, S. C. (2009). Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. *Journal Dairy Science*, 92(5), 2020–2026.
 46. Nielsen K. M. (1998). Barriers to horizontal gene transfer by natural transformation in soil bacteria. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica. Supplementum*, 84, 77–84.
 47. Norwood, F. B., & J. L. Lusk, (2011) *Compassion, by the pound: The Economics of Farm Animal Welfare*. Oxford University Press, New York and London.
 48. O’Neil J. *Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Future Health and Wealth of Nations*. London: Review on Antimicrobial Resistance; 2014
 49. Organization Economic Cooperation Development (2010), *Safety Assessment of Transgenic Organisms*, Vol 4:171-4; OECD Consensus Documents, Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, OECD Publishing, Paris.
 50. Pantozzi, F. L. (2018). *Evaluación fenotípica y genotípica de la resistencia a tetraciclina en cepas de Escherichia coli de origen animal*. Tesis doctoral Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
 51. Pellegrino, M.S.; Frola, I.D.; Odierno, L.M.; Bogni, C.I. (2011) *Mastitis Bovina: resistencia a antibióticos de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de leche*. REDVET (Revista Electrónica de Veterinaria). 12 (7): 1-14.
 52. Persson, Y., Nyman, A. K., & Grönlund-Andersson, U. (2011). Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 36.

53. Pol, M., & Ruegg, P. L. (2007a). Relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of gram-positive mastitis pathogens. *Journal Dairy Science*, 90(1), 262–273
54. Pol, M., & Ruegg, P. L. (2007b). Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage in conventional and organic dairy farms in Wisconsin. *Journal Dairy Science*, 90 (1), 249–261.
55. Postle D. S. (1964). The Wisconsin mastitis test. In: Proceedings, annual meeting of the United States Animal Health Association, 68, 488–494.
56. Rajala-Schultz, P. J., Smith, K. L., Hogan, J. S., & Love, B. C. (2004). Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Veterinary Microbiology*, 102(1-2), 33–42.
57. Rato, M. G., Bexiga, R., Florindo, C., Cavaco, L. M., Vilela, C. L., & Santos-Sanches, I. (2013). Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of streptococci from bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 161(3-4), 286–294.
58. Reller L. B., M. Weinstein, J. H. Jorgensen, M. J. Ferraro (2009) Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clin. Infectious. Dis.*;49(11):1749-55.
59. Roberts M. C. (2011). Environmental macrolide-lincosamide-streptogramin and tetracycline resistant bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 2, 40.
60. Roberts, A. J., & Wiedmann, M. (2003). Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 60(5), 904–918.
61. Roesch, M., Perreten, V., Doherr, M. G., Schaeren, W., Schällibaum, M., & Blum, J. W. (2006). Comparison of antibiotic resistance of udder pathogens in dairy cows kept on organic and on conventional farms. *Journal Dairy Science*, 89(3), 989–997.
62. Rossitto, P. V., Ruiz, L., Kikuchi, Y., Glenn, K., Luiz, K., Watts, J. L., & Cullor, J. S. (2002). Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococci

- isolated from bovine mastitis in central California dairies. *Journal Dairy Science*, 85(1), 132–138.
63. Sahebkhari, N., Nochi, Z., Eslampour, M. A., Dabiri, H., Bolfion, M., Taherikalani, M., Khoramian, B., Zali, M. R., & Emaneini, M. (2011). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk of bovine subclinical mastitis in Tehran and Mashhad. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 58(2), 113–121.
64. Saini, V., McClure, J. T., Léger, D., Dufour, S., Sheldon, A. G., Scholl, D. T., & Barkema, H. W. (2012). Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *Journal Dairy Science*, 95(3), 1209–1221.
65. San Martín B, Kruze J, Morales MA, Agüero H, Iragüen D, Espinoza S, León B, Borie B. (2003) Antimicrobial resistance in bacteria isolated from dairy herds in Chile. *International Journal Applied Research Veterinary Medicine*, (1):1.
66. Schalm, O. W., & Noorlander, D. O. (1957). Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *Journal American Veterinary Medical Association*, 130(5), 199–204.
67. Scott D.(2017);The Mechanics of Antibiotic Resistance. https://cdn.ymaws.com/www.nzva.org.nz/resource/resmgr/docs/other_resources/Mechanics_AMR_March2017.pdf
68. Serra M. A. (2017) La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera Ciencias Médicas*, 16 (3) La Habana, may-jun.
69. Stevens, M., Piepers, S., Supré, K., Dewulf, J., & De Vliegher, S. (2016). Quantification of antimicrobial consumption in adult cattle on dairy herds in Flanders, Belgium, and associations with udder health, milk quality, and production performance. *Journal Dairy Science*, 99(3), 2118–2130.

70. Torres, C., Moreno, M. Á., & Zarazaga, M. (2010). Prudent use of antimicrobial agents: not just for humans. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(10), 669–671.
71. Torres, C. (2012) La resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming. Academia de Farmacia -Reino de Aragón-, Zaragoza. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. 47 p
72. U.S. Department Agriculture. (2008) Dairy 2007, Part III: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States, 2007 USDA–APHIS–VS, CEAH. Fort Collins, CO#N482.0908
73. Van Boxtael, S.; Dierick, K.; Van Huffel, X.; Uyttendaele, M.; Berkvens, D.; Herman, L.; Bertrand, S.; Wildemaue, C.; Catry, B.; Butaye, P.; et al. (2012) Comparison of antimicrobial resistance patterns and phage types of *Salmonella Typhimurium* isolated from pigs, pork and humans in Belgium between 2001 and 2006. *Food Research International* 45, 913–918.
74. Vázquez-Vázquez C., García-Hernández JL., Salazar-Sosa E., López-Martínez JD., Valdez-Cepeda RD., Orona-Castillo I. Aplicación de estiércol solarizado al suelo y la producción de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.). *Revista Chapingo: Serie Horticultura*. 2011;17(1): 69-74.
75. Verraes C, Van Boxtael S, Van Meervenne E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2013;10(7):2643-2669. DOI: 10.3390/ijerph10072643
76. Wegener, H. C., (2012) Antibiotic resistance linking human and animal health. *Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary*, pp. 331–349. National Academics Press, Washington DC.
77. Wong A. C. (1998). Biofilms in food processing environments. *Journal Dairy Science*, 81(10), 2765–2770.
78. Woolhouse, M., Ward, M., van Bunnik, B., & Farrar, J. (2015). Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philosophical*

- transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences, 370 (1670), 20140083.
79. Woodford, N., and Sundsfjord, A. (2005). Molecular detection of antibiotic resistance: when and where ?. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(2), 259–261.
80. World Health Organization, 2000: WHO Global Principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
81. Wozniak, R. A., & Waldor, M. K. (2010). Integrative and conjugative elements: mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene flow. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(8), 552–563.
82. Wright G. D. (2010). The antibiotic resistome. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 5(8): 779–788.

7. Anexos



ACTA (CHARTER) DEL PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN (PFG)

Nombre y apellidos: Rafael Alberto Molina Montero

Lugar de residencia: Ciudad Quesada, San Carlos

Institución: Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L

Cargo / puesto: Líder de Asistencia Técnica Integral

Información principal y autorización de proyecto	
Fecha: 25-09-2020	Nombre de Proyecto: Consecuencia de la resistencia de los principales patógenos de mastitis a los antimicrobianos en los productos lácteos
Fecha de inicio del proyecto: 1-10-2020	Fecha tentativa de finalización del proyecto: 31-12-2020
Tipo de PFG (Tesina / Artículo): Artículo	
Objetivos del proyecto:	
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Objetivo general</u> <p>Analizar la resistencia a los antimicrobianos (RAM), generada por el uso terapéutico de antibióticos en el tratamiento de la mastitis bovina, para</p>	

comprender los riesgos en la salud pública de los consumidores de productos lácteos.

- Objetivos específicos

1. Comparar el nivel de prevalencia de RAM detectado a través de investigaciones realizadas en al menos dos países, para dimensionar la problemática en la actividad lechera.

2. Validar los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis bovina, que evidencian patrones de resistencia antimicrobiana, para guiar la terapia de manera responsable.

3. Describir las posibles alternativas existentes en el uso de antimicrobianos para mitigar el riesgo de generación de bacterias RAM.

Áreas de conocimiento:

Inocuidad de alimentos
Farmacología Veterinaria
Microbiología
Salud Pública

Área de aplicación:

Legislación en el uso de medicamentos veterinarios.
Manual de Buenas Prácticas Pecuarias
Procedimientos Operativos de Manufactura

Descripción del producto:

Con esta investigación se pretende actualizar y consolidar la información disponible sobre el impacto de RAM en la producción primaria de leche y su implicación en el consumo de productos lácteos.

Necesidad del proyecto:

Identificar acciones que apoyen la toma de decisiones que garanticen la inocuidad de los productos lácteos y la salud pública.

Justificación de impacto:

Concientizar a los actores involucrados en la cadena láctea e interesados en el tema sobre las implicaciones del uso irracional de los antimicrobianos y

establecer propuestas para mitigar la problemática, en consonancia con la agenda 2030 de las Naciones Unidas para el desarrollo sustentable.	
Restricciones:	
Entregables: Informe escrito con el desarrollo del tema. Una presentación audio visual con los principales aportes del proyecto.	
Identificación de grupos de interés: Cliente(s) directo (s): Productores de Leche Empresas procesadoras de productos lácteos. Consumidores. Profesionales del área involucrada. Clientes indirectos: Estudiantes Público en general	
Aprobado por Director MIA: Félix Modesto Cañet Prades	Firma:
Aprobado por Profesora Seminario de graduación MIA: Ana Cecilia Segreda Rodríguez	Firma:

Estudiante: Rafael A. Molina Montero	Firma: