



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

"Desarrollo y validación de un método microbiológico para la identificación de *Enterobacteriales* resistentes a antibióticos de importancia crítica"

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Química Clínica Diagnóstica

Presenta:

LBC. Jean Vicente Iznaga Torres

Dirigido por:

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales

Querétaro, Qro. Noviembre, 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Química Clínica Diagnóstica

**“Desarrollo y validación de un método microbiológico para la identificación de
Enterobacteriales resistentes a antibióticos de importancia crítica”**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Química Clínica Diagnóstica

Presenta:

LBC. Jean Vicente Iznaga Torres

Dirigido por:

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales

Presidente:	Dr. Gerardo Manuel Nava Morales
Secretario:	Dra. Karla Isabel Lira De León
Vocal:	M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez
Sinodal:	Dra. Bertha Isabel Carvajal Gámez
Sinodal:	Dr. Luis Alberto Madrigal Pérez

Centro Universitario, Querétaro, Qro
Noviembre, 2025
México

Índice	
Agradecimientos	iv
Índice de tablas	v
Índice de Figuras	vi
Abreviaturas	ix
Resumen	1
Summary	2
Declaración de responsabilidad del estudiante	3
I. Introducción	4
I.1 Planteamiento del problema	5
I.2 Justificación	6
II. Antecedentes	8
II.1 Enfoque “Una Salud”	8
II.2 Resistencia a antibióticos	9
II.3 Mecanismos que inducen resistencia a antibióticos	10
II.3.1 Transferencia Vertical de Genes	10
II.3.2 Transferencia Horizontal de Genes	11
II.3.3 Producción enzimática para inducir alteración e inactivación del antibiótico	13
II.3.4 Modificación del sitio de unión al antibiótico	14
II.3.5 Disminución de la concentración intracelular del antibiótico	15
II.3.6 Formación de biopelículas	18
II.4 Resistencia a antibióticos en el entorno animal	18
II.5 Orden <i>Enterobacterales</i>	19
II.6 <i>Enterobacterales</i> resistentes a antibióticos de importancia crítica	23
II.7 Métodos de detección de ERIC	29
III. Objetivos	31

III.1 Objetivo general.....	31
III.2 Objetivos específicos	31
III.3 Objetivos profesionalizantes	31
IV. Metodología	32
IV.1 Diseño	32
IV.2 Materiales	32
IV.2.1 Equipos	32
IV.2.2 Insumos	32
IV.2.3 Medios de cultivo.....	33
IV.3 Métodos.....	34
IV.3.1 Identificación de protocolos cultivo-dependiente.....	34
IV.3.2 Proceso de evaluación de diferentes protocolos cultivo-dependiente..	34
IV.3.3 Prueba piloto con muestras ambientales, provenientes de la industria avícola	34
IV.3.3.1 Abundancia de ERIC en muestras ambientales	34
IV.3.3.2 Diversidad de ERIC en muestras ambientales	35
IV.3.4 Identificación de protocolos cultivo-independiente.....	35
IV.3.4.1 Secuenciación del gen <i>16S rRNA</i> para identificación bacteriana	35
IV.3.5 Criterios para la selección de antibióticos.....	36
IV.3.6 Análisis estadístico	39
V. Resultados y discusión.....	40
V.1 Identificación de protocolos cultivo-dependiente	40
V.2 Importancia del uso de antibióticos como medio selectivo para el aislamiento de ERIC.	41
V.3 Efecto de medios de cultivo suplementados con Cefotaxima y Ciprofloxacino sobre la recuperación de <i>Enterobacterales</i>	43
V.4 Determinación de la prevalencia de ERIC en muestras ambientales....	48
V.5 Obtención de patrones de resistencia a antibióticos	59
V.6 Determinación de la diversidad de ERIC en muestras ambientales	67

VI.	Conclusiones	70
VII.	Referencias bibliográficas.....	71

Agradecimientos

A mi madre, quien me ha formado e impulsado a sacar la mejor versión de mí sin importar que tan complicado pueda tornarse el camino.

A mi hijo, que ha sido una luz de esperanza en un camino que ha tenido sus luces y sombras y, sobre todo, el motor para seguir adelante en los días malos.

A mi esposa, que siempre ha sido soporte y parte invaluable para que se lograra este gran objetivo.

A la Maestría en Química Clínica Diagnóstica y en especial a su coordinadora, la Dra. Karla Lira, que nunca permitió que me sintiera solo y siempre brindó apoyo, comprensión y un consejo certero.

A mi asesor, el Dr. Gerardo Nava, pues a través de su exigencia ha logrado que pudiera desbloquear límites que verdaderamente no sabía que podía desbloquear; este logro, si bien es fruto de esfuerzo y sacrificio continuo, no se puede entender sin su guía.

A mis sinodales y profesores que contribuyeron en sobremedida a mi formación académica; sus consejos, observaciones y recomendaciones fueron parte fundamental para que hoy entienda la ciencia de la manera en que lo hago.

A mis compañeros de viaje, agradecerles por estos 2 años de risas y angustias a partes iguales, sin ustedes el camino no habría sido tan ameno.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECITHI) por el apoyo económico brindado durante estos 2 años, que me permitió centrarme plenamente en mi formación académica y de esta manera adquirir experiencias y conocimiento extremadamente valioso para mí.

Índice de tablas

	Índice de tablas	Página
Tabla 1	Mecanismos descritos para la Transferencia Horizontal de Genes	11
Tabla 2	Familias modificadoras de aminoglucósidos	13
Tabla 3	Mecanismos de bombas de eflujo asociadas a ERIC	17
Tabla 4	Lista de patógenos prioritarios por la OMS	20
Tabla 5	Variantes de GRA descritas en ERIC	23
Tabla 6	Clasificación molecular Ambler	27
Tabla 7	Clasificación funcional Bush-Jacoby-Medeiros	28
Tabla 8	Antibióticos seleccionados para la realización de ensayos de resistencia a antibióticos.	37
Tabla 9	Tasas de resistencia a las clases de antibióticos analizadas en muestras provenientes de ambientes de producción avícola.	58

Índice de Figuras

Índice de Figuras

Figura 1	Mecanismos de Transferencia Horizontal de Genes.	12
Figura 2	Mecanismo de resistencia a β -lactámicos	14
Figura 3	Mecanismo de resistencia bomba de eflujo.	17
Figura 4	Propagación de patógenos MDR y sus GRA entre humanos, animales y el medio ambiente.	19
Figura 5	Medios de cultivo utilizados para la recuperación de <i>Enterobacterales</i> y su frecuencia de uso en la literatura.	40
Figura 6	Perfiles de resistencia de aislamientos bacterianos obtenidos en medios de cultivo de enriquecimiento y selectivos suplementados con Cefotaxima (CTX) y sin suplementación (Control).	43
Figura 7	Recuperación de <i>S. enterica</i> en caldos de enriquecimiento seleccionados: Agua peptonada amortiguada (APA), Caldo Trypticase Soya (CTS), Caldo Trypticase Soya con extracto de levaduras (CTS+EL) e Infusión Cerebro Corazón (ICC); suplementados con Cefotaxima o Ciprofloxacino.	44
Figura 8	Recuperación de <i>S. enterica</i> en caldos de enriquecimiento seleccionados y posterior inoculación en agar MacConkey: Agua peptonada amortiguada (APA), Caldo Trypticase Soya (CTS), Caldo Trypticase Soya con extracto de levaduras (CTS+EL) e Infusión Cerebro Corazón (ICC); suplementados con Cefotaxima (CTX) o Ciprofloxacino (CIP)	45
Figura 9	Recuperación de <i>S. enterica</i> en medios de cultivo selectivos para el aislamiento de <i>Enterobacterales</i> con Cefotaxima (CTX), Ciprofloxacino (CIP) y sin suplementación (Control)	46

de antibióticos. Agar de Enriquecimiento de Enterobacteriaceae (EE), Trypticase Soya (ATS), Hektoen (HEK), Verde Brillante (VB), MacConkey (MCK).

Figura 10	Recuperación de ERIC en heces de cerdo utilizando diferentes medios de cultivo selectivos para el aislamiento de Enterobacteriales con y sin suplementación de antibióticos Agar de Enriquecimiento de Enterobacteriaceae (EE), Trypticase Soya (ATS), Hektoen (HEK), Verde Brillante (VB), Agar MacConkey (MCK).	47
Figura 11	Prevalencia de Enterobacteriales resistentes a antibióticos de importancia crítica en muestras de carne y camas de pollos.	48
Figura 12	Prevalencia de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica-Máxima Prioridad.	50
Figura 13	Prevalencia de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica.	50
Figura 14	Prevalencia de resistencia a Antibióticos de Alta Importancia.	51
Figura 15	Comparación del porcentaje de resistencia a antibióticos en aislamientos obtenidos en medios de cultivo suplementados con Cefotaxima (CTX), Ciprofloxacino (CIP) o Meropenem (MEM).	53
Figura 16	Porcentaje de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica-Máxima Prioridad.	55
Figura 17	. Porcentaje de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica.	56
Figura 18	Porcentaje de resistencia a Antibióticos de Alta Importancia.	57
Figura 19	Índice resistencia a antibióticos.	59
Figura 20	Resistencia a antibióticos en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico y su	60

	distribución.	
Figura 21	Resistencia a clases de antibióticos en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico y su distribución.	61
Figura 22	Patrones de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica – Máxima Prioridad identificados en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	62
Figura 23	Patrones de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica identificados en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	63
Figura 24	Patrones de resistencia a Antibióticos de Alta Importancia identificados en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	64
Figura 25	Evaluación de recuperación de aislamientos resistentes obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	66
Figura 26	Distribución de aislamientos resistentes a todos los antibióticos por categoría obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	67
Figura 27	Composición bacteriana y distribución de géneros identificados por muestreo obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	68
Figura 28	Distribución de géneros bacterianos y análisis de diversidad en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.	69

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIC-MP	Antibióticos de importancia crítica Máxima prioridad
AIC	Antibióticos de importancia crítica
AAI	Antibióticos de alta importancia
ARN	Ácido ribonucleico
AVIC	Agentes antimicrobianos veterinarios de importancia crítica
AVIE	Agentes antimicrobianos veterinarios de importancia elevada
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CTX	Medios de cultivo suplementados con Cefotaxima
CIP	Medios de cultivo suplementados con Ciprofloxacino
MEM	Medios de cultivo suplementados con Meropenem
ERIC	<i>Enterobacterales</i> resistentes a antibióticos de importancia crítica

GRA	Genes que confieren resistencia antibiótica
MDR	Multidrogorresistentes
IRA	Índice de resistencia a antibióticos
OAA	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
OMS	Organización Mundial de la Salud
OMSA	Organización Mundial de la Salud Animal
<i>PCR</i>	Reacción en cadena de la polimerasa
<i>PIEUS</i>	Panel Interdisciplinario de Expertos de alto nivel de Una Salud
<i>PDR</i>	Pandrogorresistenes
<i>PPR</i>	Proteínas de protección ribosomal
<i>PNUMA</i>	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
<i>RAB</i>	Resistencia a antibióticos

<i>RAM</i>	Resistencia antimicrobiana
<i>SPE</i>	Sustancias poliméricas extracelulares
<i>XDR</i>	Resistencia extendida
<i>UCI</i>	Unidad de Cuidados Intensivos

Resumen

Las infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos (BRA) representan un grave problema de salud pública a nivel mundial. El uso inadecuado de antibióticos en el sector salud y la industria agropecuaria son los principales factores asociados al aumento de BRA en humanos, animales y ambiente. Por tal motivo, es fundamental realizar estudios epidemiológicos desde el contexto de Una Salud para identificar la diversidad y principales fuentes de BRA. Basado en esta premisa, el presente estudio tuvo como objetivo principal desarrollar y validar una estrategia microbiológica cultivo-dependiente e -independiente para la identificación de *Enterobacterales* resistentes a antibióticos de importancia crítica (ERIC) en entornos de producción animal. Para este fin se realizaron 10 muestreos, divididos en 3 de carne y 7 de camas de pollo, obteniendo un total de 170 aislamientos resistentes a antibióticos de importancia crítica. Las tasas de prevalencia de resistencia a antibióticos y porcentajes de resistencia a antibióticos fueron del 85%, 81% y 43% y del 82%, 79% y 59% para aislamientos recuperados en medios de cultivo suplementados con Cefotaxima, Ciprofloxacino y Meropenem; respectivamente. Estas tasas ratifican la necesidad de mantener una vigilancia estrecha en sobre los ERIC debido a su potencias infectivo y las dificultades que podrían agregar al manejo de infecciones. La estrategia microbiológica desarrollada en el presente estudio podrá implementarse en muestras clínicas provenientes de humanos, animales en producción y ambientales para llevar a cabo una vigilancia epidemiológica de ERIC y con esto generar marcos de referencia para establecer campañas de vigilancia y control de estos potenciales patógenos.

Palabras clave: Bacterias resistentes a antibióticos, *Enterobacterales*, Una Salud.

Summary

Infections caused by antibiotic-resistant bacteria (ARBs) represent a serious public health problem worldwide. The inappropriate use of antibiotics in the healthcare and agricultural sectors are the main factors associated with the increase in ARBs in humans, animals, and the environment. Therefore, it is essential to conduct epidemiological studies within the One Health framework to identify the diversity and main sources of ARBs. Based on this premise, the main objective of this study was to develop and validate a culture-dependent and culture-independent microbiological strategy for the identification of critically important antibiotic-resistant Enterobacteriaceae (CARE) in animal production environments. To this end, 10 samples were taken, divided into 3 from meat and 7 from chicken litter, yielding a total of 170 critically important antibiotic-resistant isolates. The prevalence rates of antibiotic resistance and the percentages of antibiotic resistance were 85%, 81%, and 43%, and 82%, 79%, and 59% for isolates recovered from culture media supplemented with Cefotaxime, Ciprofloxacin, and Meropenem, respectively. These rates confirm the need for close surveillance of infectious disease-modifying antirheumatic bacteria (IDAs) due to their infectivity and the difficulties they could add to infection management. The microbiological strategy developed in this study can be implemented in clinical samples from humans, production animals, and the environment to conduct epidemiological surveillance of IDAs and thereby generate frameworks for establishing surveillance and control campaigns for these potential pathogens.

Keywords: Antibiotic-resistant bacteria, *Enterobacterales*, One Health.

Declaración de responsabilidad del estudiante

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'J. J. J.', is centered on the page.

I. Introducción

En los últimos años, la resistencia antimicrobiana (RAM) ha emergido como uno de los retos más significativos para la humanidad, afectando especialmente a las instituciones sanitarias y a los profesionales de la medicina humana y veterinaria. Este fenómeno ha reducido drásticamente las alternativas terapéuticas efectivas para el manejo y tratamiento de las enfermedades infecciosas (Durante-Mangoni *et al.*, 2019). Para hacer frente a esta amenaza, se requiere una estrategia multisectorial coordinada por políticas que supervisen las iniciativas globales. En este contexto, el enfoque "Una Salud" se ha posicionado como la estrategia preferida, gracias a la colaboración de las principales organizaciones internacionales involucradas en la lucha contra la RAM.

Esta alianza estratégica está conformada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (OAA) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Estas organizaciones trabajan en conjunto para evaluar la efectividad de las medidas propuestas y desarrollar soluciones integrales para mitigar la RAM (One Health High-Level Expert Panel (OHHLEP) *et al.*, 2022).

La proliferación global de bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) se atribuye, en gran medida, al uso excesivo de antibióticos en la industria agroalimentaria. Se estima que alrededor del 40% de los antibióticos producidos a nivel mundial son utilizados de forma directa dentro de esta industria; donde se emplean como promotores de crecimiento en animales de producción intensiva y, si bien contribuyó a disminuir pérdidas productivas por potenciales infecciones, con el paso del tiempo fue factor determinante para la aparición y proliferación de resistencia a antibióticos en géneros que se consideran parte de la microbiota (Kasimanickam *et al.*, 2021; Wickramasuriya *et al.*, 2024). Por otra parte, se ha identificado que la gestión inadecuada de las aguas residuales provenientes de la industria farmacéutica, centros hospitalarios, instituciones de investigación y áreas residenciales constituye

un medio propicio para el desarrollo de patógenos multirresistentes (MDR) y la propagación de genes que confieren resistencia a antibióticos (GRA) (Marano *et al.*, 2020).

Dentro de los patógenos MDR más encontrados en los ambientes anteriormente mencionados, el orden *Enterobacterales* merece una atención especial debido a su habilidad para adquirir material genético externo, que frecuentemente incluye GRA. Estas bacterias tienen la capacidad de transferir esta información genética a otras especies bacterianas, convirtiéndose así en vectores activos en la diseminación de GRA, con las consecuencias que esto genera en cuanto al uso de antibióticos. La amplia distribución de esta familia bacteriana en humanos, animales y el medio ambiente la ha convertido en un foco prioritario de investigación para las organizaciones líderes en la lucha contra las BRA (Katale *et al.*, 2020).

I.1 Planteamiento del problema

Las BRA representan uno de los desafíos más críticos que enfrenta la comunidad científica y la sociedad contemporánea (Webster & Shepherd, 2023). A pesar de los esfuerzos concertados para mitigar su impacto, cada año se observa un incremento en la prevalencia de patógenos resistentes a los antibióticos de importancia crítica disponibles a nivel global (Rosini *et al.*, 2020), generando preocupación en las entidades involucradas en la lucha contra las BRA (United Nations Environment Programme, 2023). Patógenos como *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* o *Proteus* son asociados cada vez más con infecciones graves y que por sus altas tasas de resistencia a antibióticos se vuelven muy difíciles de tratar (Tilahun *et al.*, 2021). Se estima que el orden *Enterobacterales* representa aproximadamente el 80% de los aislamientos bacterianos de patógenos Gram negativos identificados en el ámbito de la atención sanitaria (Blondeau *et al.*, 2023). El aumento en la detección y aislamiento de estas especies, junto con su papel crucial en la propagación de GRA, las ha posicionado como una prioridad de investigación para organizaciones como la OMS y la OMSA (Suwono *et al.*, 2021). La gran distribución de este orden bacteriano en

humanos y animales; así como su persistente aislamiento en sistemas de producción animal, demanda la implementación de estrategias desde el enfoque de "Una Salud" para el monitoreo, vigilancia, control y prevención de infecciones causadas por *Enterobacterales* resistentes a antibióticos de importancia crítica (ERIC). Este enfoque integral es esencial para abordar de manera efectiva la amenaza que representan estas bacterias resistentes en diversos ámbitos de la salud global.

I.2 Justificación

La diseminación y proliferación de BRA en diversos entornos supone uno de los retos más complejos que afronta la comunidad científica en la actualidad. Este problema no es exclusivo de la salud humana, sino que abarca la salud animal y del medio ambiente debido a las complejas interconexiones que presentan. Si bien la caracterización molecular de patógenos multidrogorresistentes (MDR) es fundamental para evaluar estrategias de prevención y control, hasta el momento no se dispone de una herramienta validada para la identificación de ERIC en el marco del enfoque de "Una Salud".

Además, la literatura científica actual carece de criterios estandarizados para guiar las investigaciones enfocadas en la detección de ERIC. No se han establecido pautas claras sobre la selección de medios de cultivo, suplementación y concentración de antibióticos o volúmenes de muestras a utilizar. Asimismo, se observa una ausencia de pruebas que verifiquen la eficacia y eficiencia de los métodos empleados en estos estudios.

El desarrollo y validación de una herramienta microbiológica que facilite la detección de ERIC desde la perspectiva de "Una Salud" representaría un avance significativo. Esta herramienta permitiría estimar la prevalencia y abundancia relativa de los *Enterobacterales*; así como de los GRA que portan (Gautam *et al.*, 2022). La metodología propuesta podría funcionar como un marco de referencia para evaluar estrategias dirigidas a reducir la presencia y distribución de ERIC y sus GRA en los entornos analizados. Esta herramienta no solo contribuiría a la estandarización de los métodos de detección, sino que también facilitaría la comparación de resultados

entre diferentes estudios y regiones, fortaleciendo así los esfuerzos en la lucha contra la resistencia antimicrobiana.

II. Antecedentes

II.1 Enfoque “Una Salud”

Las BRA se catalogan como uno de los problemas más importantes de la sociedad moderna, y constituyen una prioridad de investigación para la comunidad científica. Con el objetivo de disminuir su impacto a nivel global se emplea la estrategia del enfoque “Una Salud”, que se define como un enfoque integrador con la finalidad de abordar problemas que afectan a la salud de los seres humanos, los animales y el medio ambiente (Ruckert *et al.*, 2024).

Este enfoque no solo está centrado en las enfermedades zoonóticas o la resistencia a los antimicrobianos, sino que aborda todo un espectro que va desde la prevención, mejora y promoción de la salud hasta la detección, preparación, respuesta y recuperación de crisis sanitarias (World Health Organization, 2015). Debido a su capacidad de estratificación es aplicable a nivel comunitario, subnacional, nacional, regional y global (McEwen & Collignon, 2018). Inicialmente este enfoque estuvo conformado por una tripartita de organizaciones: la OMS, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (OAA); pero en el año 2020 se agregó el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y así quedaron en cuatro los socios institucionales con capacidad de decisión en las políticas que define el enfoque (United Nations Environment Programme, 2023). A través de este enfoque se movilizan múltiples sectores, disciplinas y comunidades a distintos niveles de la sociedad con el objetivo de fomentar el bienestar y abordar las amenazas a la salud y los ecosistemas sin perder de vista la necesidad colectiva de alimentos, agua, energía y aire saludables; teniendo en cuenta actuar sobre el cambio climático y contribuir al desarrollo sostenible. Se basa en la comunicación, colaboración y coordinación compartidas y efectivas para comprender los beneficios colaterales, riesgos, compensaciones y consecuencias que acarrearán las soluciones a determinados problemas (Zunino, 2018).

Con el objetivo de mejorar la colaboración intersectorial a la hora de llevar este

enfoque a políticas y medidas concretas se crea el Panel Interdisciplinario de Expertos de alto nivel de Una Salud (PIEUS). Las decisiones que se toman por este comité parten desde la idea de la comunicación, colaboración, coordinación y el desarrollo de capacidades para la creación de políticas coherentes, que a su vez deben responder a los siguientes (One Health High-Level Expert Panel (OHHLEP) *et al.*, 2022):

- Equidad entre sectores y disciplinas.
- Paridad sociopolítica y multicultural.
- Equilibrio socio-ecológico entre el hombre, los animales y el medio ambiente.
- Administración y responsabilidad del humano para cambiar el comportamiento y adoptar soluciones sostenibles reconociendo la importancia del bienestar animal y la integridad de todo el ecosistema.
- Transdisciplinariedad y colaboración multisectorial incluyendo a todas las disciplinas, formas del conocimiento y una amplia gama de perspectivas.

La creación del PIEUS tuvo como objetivos principales lograr una integralidad en los procesos de implementación del enfoque Una Salud, promover el entendimiento entre sectores y áreas de especialización y apoyar a los estados miembros a la hora de formular sus estrategias; luego también se encargan de supervisar las consideraciones necesarias en materia de innovación, cooperación y colaboración entre todos los sectores y disciplinas relevantes (Achi *et al.*, 2021).

II.2 Resistencia a antibióticos

La resistencia a antibióticos (RAB) se desarrolla a través de tres mecanismos principales: resistencia intrínseca, adquirida y adaptativa. La resistencia intrínseca comprende todas las propiedades inherentes de un microorganismo específico que limitan la acción de los antibióticos. Estas características son parte integral de la

naturaleza del organismo y no están relacionadas con la exposición previa a antibióticos (Cox & Wright, 2013). Por otro lado, la resistencia adquirida se define por el cambio que ocurre cuando una bacteria originalmente susceptible se vuelve resistente al efecto de los xenobióticos. Este proceso puede ocurrir de dos maneras: mediante la captación de material genético extracelular o como resultado de mutaciones en el genoma bacteriano (Moyo *et al.*, 2025). Esta forma de resistencia representa una adaptación evolutiva de las bacterias en respuesta a la presión selectiva de los antibióticos (Oliveira *et al.*, 2024). Finalmente, la resistencia adaptativa se caracteriza por un aumento temporal en la capacidad de una célula bacteriana para superar el efecto antibiótico de un compuesto. Esto ocurre debido a alteraciones en la expresión de genes y/o proteínas como resultado de la exposición a un desencadenante ambiental. A diferencia de la resistencia intrínseca y adquirida; que son estables y pueden transmitirse verticalmente a generaciones posteriores, la resistencia adaptativa tiene una naturaleza transitoria. Generalmente, esta forma de resistencia se revierte una vez que se elimina la condición inductora (Liu *et al.*, 2023; Munita & Arias, 2016).

II.3 Mecanismos que inducen resistencia a antibióticos

Los mecanismos que inducen RAB son diversos y complejos, estos se clasifican en específicos e inespecíficos (Mendelson *et al.*, 2022). Los mecanismos específicos tienen como función principal en la célula bacteriana resistir la acción de compuestos tóxicos, mientras que los inespecíficos son componentes con otras funciones celulares primarias que ejercen un efecto protector secundario contra los antibióticos (Lerminiaux & Cameron, 2019; Schmieder & Edwards, 2012).

II.3.1 Transferencia Vertical de Genes

La transferencia vertical de genes se produce debido a la presión selectiva ejercida por los antibióticos sobre las bacterias en un medio determinado. Este proceso promueve cambios en las secuencias genéticas bacterianas; conocidos como mutaciones, que actúan como mecanismos de supervivencia permitiendo a las

bacterias evadir el efecto de los antibióticos. Si estas mutaciones resultan exitosas, los alelos mutados son transmitidos por la célula madre durante la mitosis a las células hijas, un proceso denominado transmisión vertical de genes (Adi Wicaksono *et al.*, 2022; Bethke *et al.*, 2023).

II.3.2 Transferencia Horizontal de Genes

Se denomina transferencia horizontal de genes (THG) a la adquisición de ADN de una célula aceptora desde otra célula donadora o del medio extracelular. Consiste en la donación de una fracción del material genético entre dos células que no necesariamente descienden de una célula madre común; y puede que ni siquiera pertenezcan a la misma especie, género, familia u orden. La THG puede evidenciarse por mediación de 3 mecanismos (Tabla 1) (Figura 1):

Tabla 1. Mecanismos descritos para la THG. Modificado de (Martino *et al.*, 2023).

Mecanismo	Funcionamiento
Transformación	Comienza cuando una bacteria entra en un estado fisiológico llamado competencia donde adquiere la capacidad de capturar ADN extracelular, el cual pasa a formar parte de su material genético.
Transducción	Generalmente mediada por bacteriófagos. En un primer ciclo de infección un bacteriófago empaqueta ADN exógeno de una bacteria donadora que luego será transferido a una bacteria aceptora en un segundo ciclo de infección. El bacteriófago podrá empaquetar desde una cadena simple de ADN hasta pequeños fragmentos del cromosoma.

Conjugación	Consiste en la transmisión de un plásmido desde una bacteria donadora hacia una bacteria aceptora. Involucra la donación de una sola cadena de ADN que luego deberá replicarse en la bacteria aceptora.
-------------	---

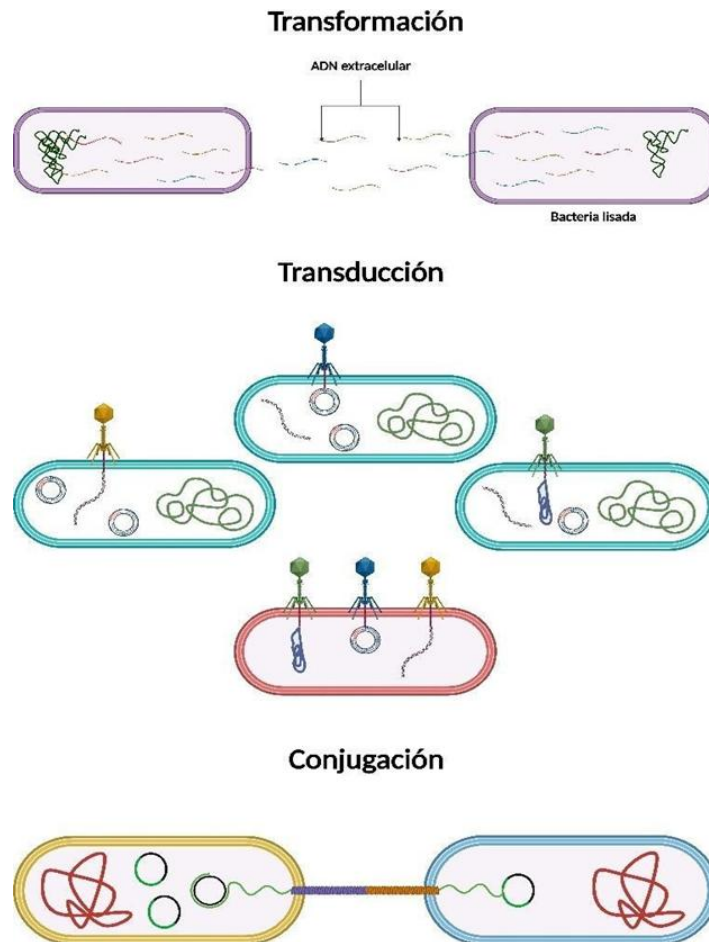


Figura 1. Mecanismos de transferencia horizontal de genes. De autoría propia (Iznaga- Torres., 2023). Adaptado de: (Husna *et al.*, 2023).

Los plásmidos se localizan en bacterias Gram positivas y Gram negativas, su tamaño oscila en el espectro de una kilobase hasta varias megabases. Se les considera elementos de ADN autoreplicantes y heredables, en su mayoría se hallan con una

estructura circular y pueden incluir un sistema de conjugación, en cuyo caso se los denomina “plásmidos conjugativos”. Estudios comprueban que fueron los principales responsables de la diseminación de GRA entre diferentes especies bacterianas desde el comienzo de la era post-antibiótica. También corroboran que dan lugar a la transmisión de GRA entre aislamientos de pacientes dentro de un hospital, además del ya conocido rol que ostentan en la diseminación de GRA a nivel mundial (Baquero *et al.*, 2019).

II.3.3 Producción enzimática para inducir alteración e inactivación del antibiótico

La producción de enzimas que alteran o inactivan los xenobióticos es el mecanismo más prevalente para conferir RAB en células bacterianas. Un ejemplo bien documentado es la modificación enzimática que reduce la afinidad de los aminoglucósidos por su objetivo, el ARNr 16S (Webster & Shepherd, 2023). Existen tres familias principales de enzimas modificadoras de aminoglucósidos que disminuyen esta afinidad (Tabla 2) (Zárate *et al.*, 2018):

Tabla 2. Familias modificadoras de aminoglucósidos. Tomado de (Zárate *et al.*, 2018).

Familia	Acción
N-acetiltransferasas	Acetan un grupo amino del aminoglucósido a través de la utilización de la Acetil-coenzima A.
O-nucleotidiltransferasas	Transfieren un grupo adenilo de Trifosfato de adenosina (ATP) a un grupo hidroxilo del antibiótico.
O-fosfotransferasas	Fosforilan un grupo hidroxilo mediante la utilización de adenosina trifosfato (ATP).

Las β -lactamasas son otra familia importante de enzimas que confieren resistencia a antibióticos en las células bacterianas, específicamente contra los antibióticos β -lactámicos, que son ampliamente utilizados en la práctica clínica. La característica principal de estas enzimas es su capacidad de hidrolizar compuestos químicos que contienen un anillo β -lactámico (Figura 2). Su clasificación depende del mecanismo

que utilizan para producir hidrólisis (K. Bush, 2018):

- β -lactamasas: Hidrolizan el enlace amida de los β -lactámicos mediante la formación de una enzima acilo con una serina en su sitio activo.
- Metallo β -lactamasas: Llevan a cabo una reacción hidrolítica facilitada por uno o dos iones de zinc esenciales en los sitios activos.

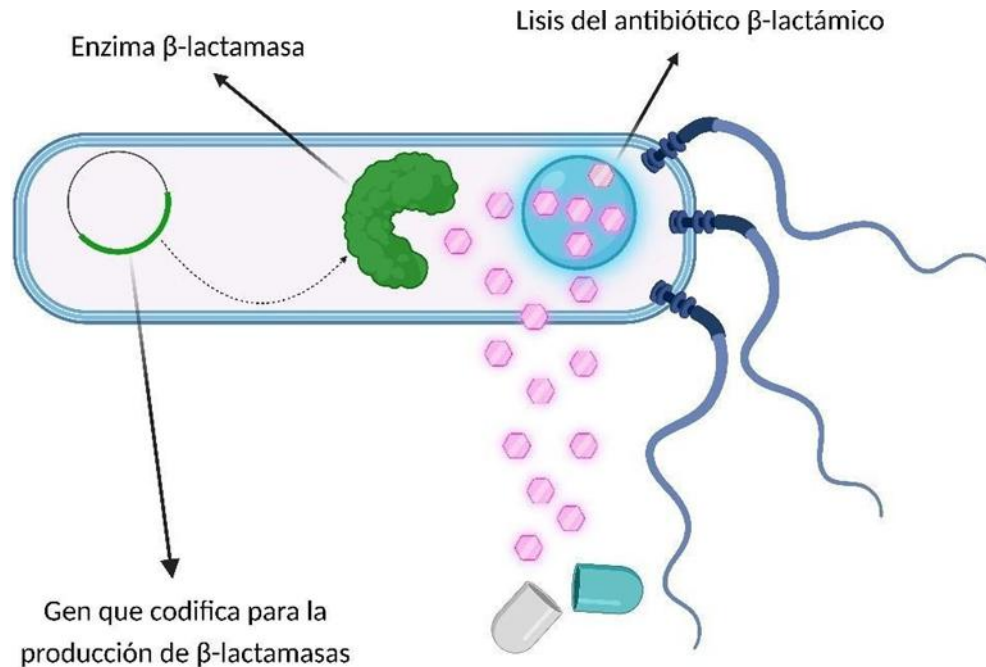


Figura 2: Mecanismo de resistencia a β -lactámicos. De autoría propia (Iznaga- Torres., 2023). Adaptado de: (Husna *et al.*, 2023).

II.3.4 Modificación del sitio de unión al antibiótico

La modificación del sitio de unión al antibiótico es el mecanismo descrito para la resistencia a tetraciclinas. Esta clase antibiótica tiene como diana principal inhibir la síntesis de proteínas a través de la unión al sitio A del ribosoma bacteriano, produciendo un bloqueo estérico del sitio de unión del ARNt-aminoacil (Pavelquesi, 2021).

Este mecanismo de resistencia está mediado por las proteínas de protección

ribosomal (PPR). Las PPR son un grupo de proteínas que se unen al ribosoma dando como resultado la liberación de la tetraciclina del ribosoma, permitiendo de esta manera que continúe la síntesis de proteínas. Hasta el momento han sido reportadas 12 clases de genes PPR: tetM, tetO, tetQ, tetS, tetT, tetW, tet32, tet36, tet44, tetB, tetP y otrA; siendo tetM el más prevalente a causa de su gran asociación con la familia de transposones conjugativos Tn916/Tn1545 de amplio rango de huéspedes (LaPlante *et al.*, 2022; Warburton *et al.*, 2016)

Otro ejemplo que se conoce de este mecanismo para inducir RAB se da con las quinolonas, estas basan su mecanismo de acción en 2 enzimas topoisomerasas bacterianas esenciales de tipo II, denominadas ADN girasa y ADN topoisomerasa IV (N. G. Bush *et al.*, 2020). Cada una de estas enzimas se considera un heterotetrámero, configuradas en el caso de la ADN girasa por dos subunidades llamadas GyrA y dos GyrB; y en el caso de la topoisomerasa IV por dos subunidades ParC y dos ParE (Hooper & Jacoby, 2015). Ambas enzimas actúan mediante la catálisis de una ruptura de doble cadena de ADN. Las quinolonas van a bloquear el resellado de la rotura del ADN, de esta manera inhiben completamente la actividad enzimática y van a estabilizan los complejos catalíticos de la enzima y ADN que sirven como barrera para el movimiento de la horquilla de replicación del ADN (Piekarska *et al.*, 2023).

La ocurrencia de cambios en un solo aminoácido de la secuencia de nucleótidos que compone a la girasa o la topoisomerasa IV tiene la capacidad de inferir resistencia a las quinolonas. Las mutaciones que provocan resistencia se han localizado con mayor frecuencia en los dominios amino terminales de GyrA o ParC cerca de las tirosinas del sitio activo, que están unidas mediante un enlace covalente al ADN en una enzima intermedia (Vinué *et al.*, 2020).

II.3.5 Disminución de la concentración intracelular del antibiótico

Las porinas, proteínas ubicadas en la membrana externa de la bacteria, llevan a cabo una función de tamizaje de compuestos extracelulares permitiendo el paso a

compuestos hidrofílicos. Su estructura es significativamente distinta a la de las proteínas membranales ya que carece de una región hidrofóbica y adicionalmente cuentan con hebras antiparalelas transmembranales formadas por aminoácidos hidrófobos e hidrófilos que se alternan (Yen *et al.*, 2002).

Por lo general tienen límites de exclusión de moléculas que se acercan al tamaño de muchos antibióticos; por lo que tienden a limitar la velocidad de difusión de estas moléculas y de esta manera contribuyen a la resistencia intrínseca (Zhou *et al.*, 2023). Los antibióticos hidrófilos utilizan los canales de porinas para entrar al interior de la célula bacteriana, por lo que las mutaciones que alteran la expresión y/o función de estas inducen resistencia a los xenobióticos. Estas mutaciones van a estar dirigidas principalmente a la pérdida de porinas, modificaciones del tamaño o la conductancia del canal de porinas a la disminución de la expresión de porinas. Está confirmada una relación entre estas mutaciones y la resistencia a algunos antibióticos de importancia clínica como los betalactámicos, las fluoroquinolonas, la tetraciclina y el cloranfenicol (Fernández & Hancock, 2012).

Por otra parte, la bomba de eflujo es un factor importante para entender el crecimiento de la RAB. Mediante este mecanismo las bacterias adquieren la capacidad de devolver al medio extracelular altas concentraciones de xenobióticos disminuyendo así la acción de estos medicamentos (Figura 3). Las bombas de eflujo relevantes para la salud por su capacidad de inducir RAB se clasifican según su funcionalidad dentro de 5 familias: 1) Pequeña multirresistencia a fármacos, 2) Extrusión de múltiples antimicrobianos, 3) Superfamilia mayor facilitadora, 4) Nodulación de resistencia y división celular (NRD) y 5) Casete de unión a adenosina trifosfato. De estas, la NRD es la más común en bacterias Gram negativas y la orden *Enterobacterales* respectivamente (Davin-Regli *et al.*, 2021; Hernando-Amado *et al.*, 2016). Normalmente las bacterias tienen una expresión basal de una o varias bombas de eflujo, pero existen alteraciones como mutaciones de los reguladores, estimulaciones por tensión en el medio externo o la adquisición de elementos genéticos móviles que pueden inducir una sobreproducción, de manera que

comience a afectar la efectividad de los medicamentos destinados a la lisis bacteriana (Nishino *et al.*, 2021) (Tabla 3).

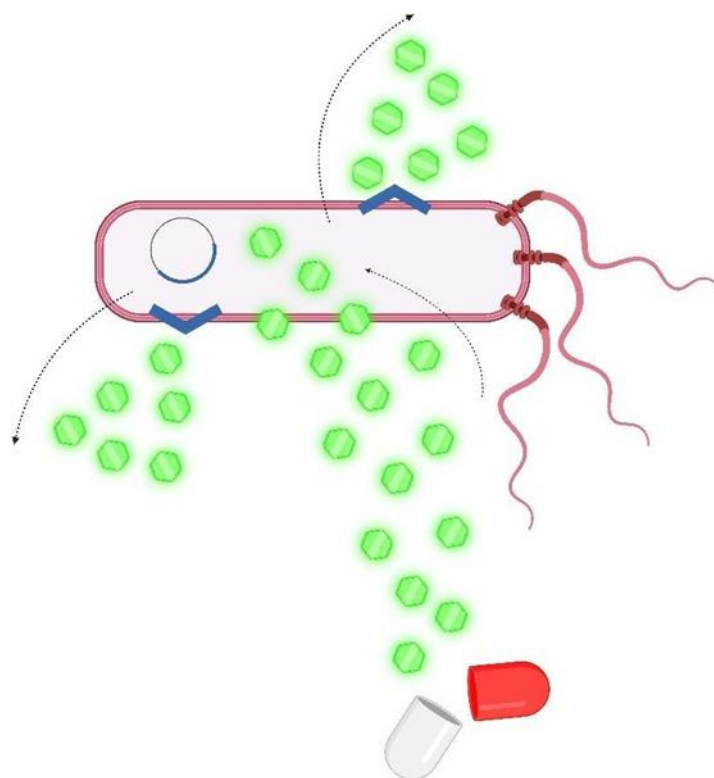


Figura 3: Mecanismo de resistencia bomba de eflujo. Con la llegada del xenobiótico al espacio periplásmico de la bacteria Gram negativa se activan receptores que excluyen al antibiótico del interior de la bacteria. De autoría propia (Iznaga-Torres., 2023). Adaptado de (Husna *et al.*, 2023).

Tabla 3. Mecanismos de bomba de eflujo asociados a ERIC, modificado de (Davin-Regli *et al.*, 2021).

Microorganismo	Mecanismo	Familia
<i>E. cloacae</i>	AcrAB, EefABC, OqxAB	NRD
<i>E. coli</i>	AcrAB, AcrCD, AcrEF, MdtABC, MdtEF, YhiV, MdfA, YdcV, YdcU, YdcS, YdcT, CysP	NRD, SMF, CUA
<i>K. aerogenes</i>	AcrAB, AcrCD, MdtABC, OqxAB, EefABC, RosAB, MacAB, EmrAB	NRD, SMF, CUA

<i>K. pneumoniae</i>	AcrAB, AcrD, MdtABC, KexD, MacAB, KpnEF, KdeA, OqxAB, EmrAB,	NRD, CUA, SMF, EMA, PMF
----------------------	--	-------------------------

II.3.6 Formación de biopelículas

Las biopelículas son estructuras microbianas protegidas encerradas por una matriz extracelular auto-secretada. Su capacidad para resistir el efecto de los antibióticos las convierte en un mecanismo de resistencia de importancia clínica. Están compuestos en su mayoría por sustancias poliméricas extracelulares (SPE) como polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular; donde la proporción de células bacterianas oscilan entre el 2-15% del total de la biopelícula (Singh *et al.*, 2025). Las SPE además de brindar soporte estructural a la biopelícula constituyen una barrera física que confiere protección contra los antibióticos y la luz ultravioleta a las células bacterianas incrustadas (Luo *et al.*, 2021).

La barrera de SPE disminuye la tasa de penetración del fármaco. Por ejemplo, los polisacáridos que poseen una carga negativa pueden bloquear eficientemente la penetración de los aminoglucósidos cargados (Tseng *et al.*, 2013).

II.4 Resistencia a antibióticos en el entorno animal

Estudios recientes evidencian la relación que existe entre los animales y el agravamiento de la crisis provocada por BRA, principalmente mediada por el abuso de antibióticos en animales destinados a la producción de alimentos (Figura 4) (Fastl *et al.*, 2023; Ortiz *et al.*, 2024). A nivel mundial el aumento de la demanda de proteína animal generó desafíos en el sector agropecuario para evitar pérdida de animales por potenciales infecciones; por lo que el uso de agentes antibacterianos como promotor del crecimiento en animales de granja se esparció como solución a esta problemática (Tiseo *et al.*, 2020). Se estima que el uso de antibióticos en animales representa aproximadamente un 73% de los antibióticos utilizados a nivel mundial, y este abuso de medicamentos está estrechamente vinculados con la aparición y desarrollo de la RAB en estos animales (Mulchandani *et al.*, 2023). En cuanto a los animales de compañía se ha demostrado que pueden ser considerados

como potenciales reservorios de BRA y sus GRA, los cuales podrían transmitir al humano (Dos Santos *et al.*, 2021; Flores Morales *et al.*, 2023; Overgaauw *et al.*, 2020; Yuan *et al.*, 2024).

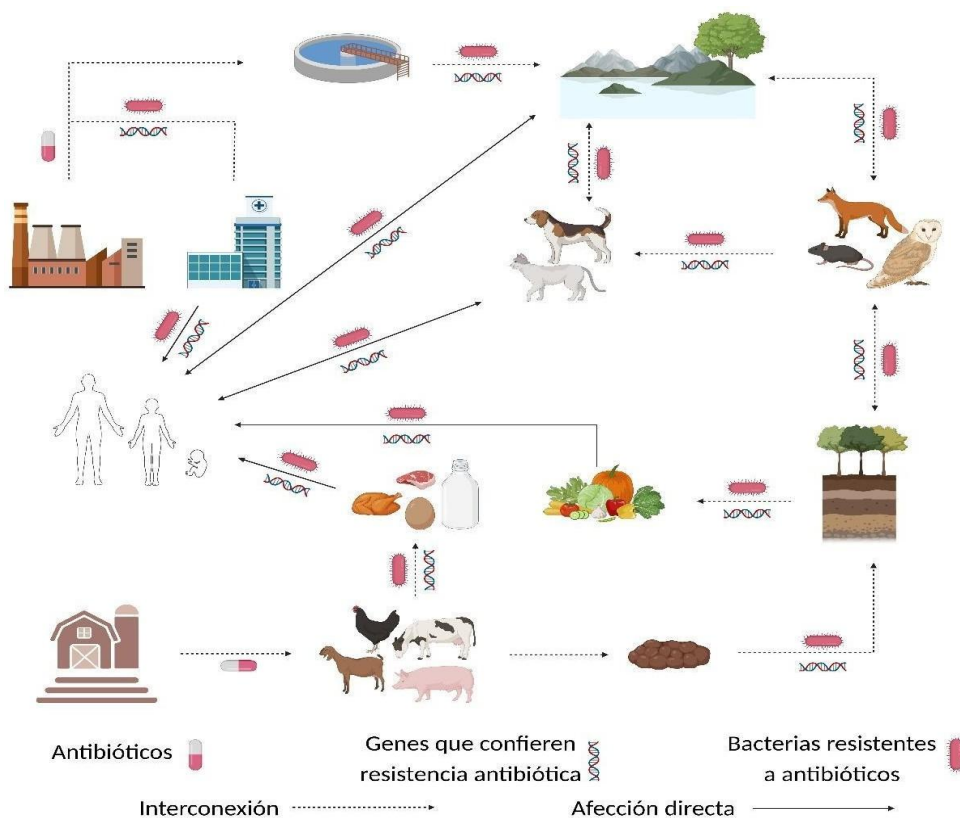


Figura 4. Propagación de patógenos MDR y sus GRA entre humanos, animales y el Medio Ambiente. De autoría propia (Iznaga-Torres., 2023).

II.5 Orden *Enterobacterales*

Las bacterias Gram negativas forman parte de las mayores problemáticas para los sistemas de salud pública debido a los altos porcentajes de RAB que presentan (Kalayci Cekin, 2023). Su importancia clínica ha incrementado por su conocida capacidad de agravar la condición de salud de quienes las padecen incluso llevándolos a las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) con peligro para la vida; lo

que reafirma las altas tasas de morbi- mortalidad con las que concursan (Breijyeh *et al.*, 2020)

El orden *Enterobacterales* tiene un papel relevante, debido a que representan el 80 % de los aislamientos de bacterias Gram negativo más comúnmente aisladas en las UCI (Karlowsky *et al.*, 2023). Estos patógenos han sido vinculados con una amplia gama de enfermedades como infecciones del tracto urinario, diarrea, neumonía, meningitis o sepsis generalizada (Legese *et al.*, 2022).

El orden *Enterobacterales* conforma parte del grupo de patógenos de prioridad crítica para la OMS, la OMSA y la OAA debido a su conocida capacidad de colonizar y/o infectar tanto al hombre, animales y plantas (Tabla 4). Es uno de los órdenes bacterianos más ampliamente distribuidos en el intestino de mamíferos y ambientes relacionados con la producción animal y su abundancia se asocia con una amplia gama de síndromes clínicos en humanos, animales y vegetales (Kocsis *et al.*, 2025).

Tabla 4. Lista de patógenos prioritarios establecidos por la OMS. Tomado de: WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>.

Clasificación OMS/OMSA	Patógenos
Prioridad crítica	➤ <i>Enterobacterales</i> resistentes a carbapenémicos. ➤ <i>Enterobacterales</i> resistentes a cefalosporinas de 3ra generación. ➤ <i>Acinetobacter baumannii</i> resistente a

	carbapenémicos. ➤ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> resistente a rifampicina.
Prioridad alta	➤ <i>Salmonella typhi</i> resistente a fluoroquinolonas. ➤ <i>Shigella</i> spp. resistente a fluoroquinolonas. ➤ <i>Enterococcus faecium</i> resistente a vancomicina. ➤ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenémicos. ➤ <i>Salmonella</i> no tifoidea resistente a fluoroquinolonas. ➤ <i>Neisseria gonorrhoeae</i> resistente a cefalosporinas de 3ra generación y/o fluoroquinolonas. ➤ <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina.
Prioridad media	➤ <i>Streptococci</i> grupo A resistente a macrólidos. ➤ <i>Streptococcus pneumoniae</i> resistente a macrólidos. ➤ <i>Haemophilus influenzae</i> resistente a ampicilina. ➤ <i>Streptococci</i> grupo B

	resistente a penicilina.
--	--------------------------

Las bacterias pertenecientes a la orden *Enterobacterales* se consideran microorganismos procariotas con un tamaño de entre 1 y 3 micras de largo y 0.5 micras de ancho. Morfológicamente se caracterizan por ser Gram negativos, bacilos anaerobios facultativos que no forman esporas, poseen estructuras llamadas flagelos que utilizan para su movilidad y habitualmente se localizan en el tracto intestinal de humanos y animales (Tilahun *et al.*, 2021). Su pared celular está compuesta por una bicapa lipídica que forman dos membranas: una externa y otra interna. La membrana externa expresa un potente inductor de la respuesta inmune conformada por lipopolisacáridos. El lipopolisacárido está compuesto por tres unidades: un polisacárido hidrofílico, un antígeno O y un dominio hidrofóbico conocido como lípido A. El lípido A es responsable de la mayor actividad endotóxica de estas bacterias (Ma *et al.*, 2023).

Los géneros perteneciente a este orden bacteriano están ampliamente distribuidos en diversos ecosistemas. La mayoría actúa como agente etiológico de enfermedades en plantas y animales y, debido a su contacto con el humano, pueden llegar a colonizar y/o patogenizar en el mismo (Janda & Abbott, 2021; Zhong *et al.*, 2020).

Taxonómicamente se encuentra distribuida de la siguiente manera:

- Dominio: *Bacteria*
- Filo: *Pseudomonadota*
- Clase: *Gammaproteobacteria*
- Orden: *Enterobacterales*

Dentro de este orden se incluyen géneros altamente vinculados a infecciones en humanos y animales; así como a la RAB. Algunos de los ejemplos más conocidos son: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia* y *Shigella* (Adeolu *et al.*, 2016; Parte *et al.*,

2020).

II.6 *Enterobacterales* resistentes a antibióticos de importancia crítica

Los géneros y especies del orden *Enterobacterales* poseen una gran variedad de mecanismos para prevenir la acción antibiótica de la mayoría de los xenobióticos utilizados en la clínica. Ejemplos de estos mecanismos de resistencia son las bombas de eflujo, la alteración del sitio de unión del fármaco y/o de la permeabilidad de la membrana, las enzimas de degradación o el cambio conformacional del fármaco que culmina en su inactivación (Ali *et al.*, 2023). Todos estos mecanismos interfieren directa o indirectamente en la acción de los antibióticos y dificultan de gran manera el tratamiento de infecciones bacterianas (Liu *et al.*, 2023). Estas especies adquieren una variedad de GRA que posteriormente distribuyen a través de plásmidos por el método de conjugación dando lugar a la proliferación de BRA y limitando la capacidad de respuesta en la asistencia sanitaria (Tabla 5).

Para el tratamiento de infecciones agudas protagonizadas por especies del orden *Enterobacterales* se utilizan fármacos con gran potencia bactericida, considerados antibióticos de importancia crítica como las quinolonas, los β -lactámicos o carbapenémicos (Kollef *et al.*, 2021).

Tabla 5. Variantes genéticas descritas en ERIC.

Familia genética	Genes/Variantes genéticas	Antibióticos a los que generan resistencia	Referencias
AmpC	CMY, FOX, DHA, ACC, ACT, MIR, MOX.	Derivados de la penicilina, Cefalosporinas de 1ra y 2da generación.	(Baghal Asghari <i>et al.</i> , 2021; Castanheira <i>et al.</i> , 2021; Liakopoulos <i>et al.</i> , 2016;

			Palmeira <i>et al.</i> , 2021; Tamma <i>et al.</i> , 2019)
CTX-M	CTX-M 1, CTX-M 2, CTX-M 3, CTX-M 8, CTX-M 9, CTX-M 14, CTX-M 15, CTX-M 25, CTX-M 27, CTX-M 33, CTX-M 134.	Cefalosporinas de 3ra y 4ta generación.	(Amos <i>et al.</i> , 2014; Baghal Asghari <i>et al.</i> , 2021; Cycoń <i>et al.</i> , 2019; Flores Morales <i>et al.</i> , 2023; Higa <i>et al.</i> , 2019; Jara <i>et al.</i> , 2020; Marano <i>et al.</i> , 2020; Palmeira <i>et al.</i> , 2021; Ramos <i>et al.</i> , 2020; Tacão <i>et al.</i> , 2022; Veldman <i>et al.</i> , 2013)
KPC	KPC-1, KPC-2, KPC-3, KPC-9, KPC-12, KPC-17, KPC-18, KPC-19, KPC-25, KPC-29, KPC-30, KPC-35, KPC-36, KPC-40, KPC-49, KPC-50	Carbapenémicos.	(Castanheira <i>et al.</i> , 2021; Hobson <i>et al.</i> , 2022; Jara <i>et al.</i> , 2020; Palmeira <i>et al.</i> , 2021; Van Duin, 2017)
qnr	qnrB, qnrS, qnrA, qnrE	Quinolonas	(Baghal Asghari <i>et al.</i> , 2021; Logan <i>et</i>

			<i>al.</i> , 2020; Loncaric <i>et al.</i> , 2013; Sinyawa <i>et al.</i> , 2024; Subramanya <i>et al.</i> , 2021)
OXA	OXA-1, OXA-2, OXA-4, OXA-10, OXA-11, OXA-13, OXA-14, OXA-15, OXA-16, OXA-17, OXA-19, OXA-28, OXA-30, OXA-31, OXA-32, OXA-34, OXA-36, OXA-48, OXA-53, OXA-141, OXA-161, OXA-163, OXA-210, OXA-226, OXA-405.	Cefalosporinas de 3ra y 4ta generación, Carbapenémicos.	(Baghal Asghari <i>et al.</i> , 2021; Cycoń <i>et al.</i> , 2019; Veldman <i>et al.</i> , 2013)
SHV	SHV-1, SHV-2, SHV-3, SHV-4, SHV-5, SHV-6, SHV-7, SHV-8, SHV-9, SHV-12, SHV-13, SHV-16, SHV-18, SHV-23, SHV-27, SHV-31, SHV-38, SHV-40, SHV-41, SHV-42, SHV-45, SHV-55, SHV-57,	Cefalosporinas de 3ra y 4ta generación.	(Baghal Asghari <i>et al.</i> , 2021; Castanheira <i>et al.</i> , 2021; Jara <i>et al.</i> , 2020; Liakopoulos <i>et al.</i> , 2016; Palmeira <i>et al.</i> , 2021; Ramos <i>et al.</i> , 2020; Veldman <i>et al.</i> ,

	SHV-64, SHV-66, SHV-86, SHV-90, SHV-91, SHV-98, SHV- 99, SHV-100, SHV-104, SHV-105, SHV-106, SHV-134.		2013)
TEM	TEM-1, TEM-2, TEM-3, TEM-7, TEM-12, TEM-13	Cefalosporinas de 3ra y 4ta generación.	(Baghal Asghari <i>et al.</i> , 2021; Jara <i>et al.</i> , 2020; Palmeira <i>et al.</i> , 2021; Ramos <i>et al.</i> , 2020; Veldman <i>et al.</i> , 2013)

Las quinolonas se caracterizan por ser antibióticos bactericidas dependiente de dosis utilizadas mayormente en el tratamiento de patógenos Gram negativo; que aumentan su potencia y efectividad contra patógenos con la adición de un átomo de flúor en su estructura (fluoroquinolonas). Su mecanismo de acción se centra en impedir el resellado de la ruptura de doble cadena de ADN provocada por las enzimas ADN girasa y ADN topoisomerasas IV, evitando la replicación celular en la bacteria (Alós, 2009). Los GRA que codifican mecanismos de resistencia contra este grupo farmacológico pueden estar asociados a mutaciones en genes cromosómicos como mutaciones en *gyrA* y *parC* o genes extracromosómicos como *qnrB*, *qnrS*, *OqxAB*, *quepA* o *aac(6')-Ib-cr*. Dentro de esta clase antibiótica, el fármaco más conocido es el ciprofloxacino; sin embargo, algunos como el ácido nalidíxico, levofloxacino, moxifloxacino o norfloxacino son ampliamente utilizados en la clínica humana y animal (N. G. Bush *et al.*, 2020).

Por otra parte, los fármacos pertenecientes a la clase antibiótica de los β -lactámicos son utilizados para el tratamiento de infecciones de carácter agudo que requieren de medicamentos más potentes para su erradicación. Los β -lactámicos poseen un amplio espectro de acción contra muchos de los patógenos que afectan a humanos y animales.

Dentro de los β -lactámicos, una de las subclases más utilizadas en el tratamiento de infecciones es la de las cefalosporinas. En los últimos años ha registrado altas tasas de RAB, principalmente por patógenos Gram negativos capaces de inactivar estos compuestos a través de la producción de enzimas β -lactamasas (Thakuria, 2013). Las enzimas β -lactamasas actúan a través de la hidrólisis del anillo β -lactámico de las cefalosporinas, inactivándolas permanentemente.

La producción de estas enzimas por algunos de los ERIC ha provocado una disminución en la eficacia de medicamentos ampliamente utilizados para el tratamiento de infecciones como aztreonam, ampicilina, cefotaxima, ceftriaxona, cefepime, ceftazidima o ceftidoxima; dificultando el tratamiento de las infecciones bacterianas (Chua & Stewardson, 2019; Perera *et al.*, 2022). Estas enzimas se clasifican basado en su estructura molecular según la clasificación Ambler (Tabla 6) y a su funcionalidad según la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros (Tabla 7) (Hernández-García *et al.*, 2019).

Tabla 6. Clasificación molecular Ambler de las β -lactamasas. Tomado de (Perera *et al.*, 2022).

Clasificación	Tipo
Clase A	β -lactamasas de espectro reducido (PSE, CARB) β -lactamasas de espectro extendido (TEM, SHV, CTX-M) Carbapenemasas de clase A (GES, KPC, SME, IMI/NMC-A, SHV-38, SFC-1)

Clase B	Metalo β -lactamasas Subclase B1 (IPM, VIM, SPM, IND, NDM, DIM, GIM, SIM) Subclase B2 (AIM, CAU-1, GOB-1, FEZ-1) Subclase B3 (Cph-A, Sfh-1, ImiS)
Clase C	AmpC AmpC de espectro extendido.
Clase D	β -lactamasas de espectro extendido (OXA) β -lactamasas de clase D hidrolizadoras de carbapenemasas.

Tabla 7. Clasificación funcional Bush-Jacoby-Medeiros de las β -lactamasas. Tomado de (Hernández-García *et al.*, 2019)

Clasificación	Tipo
Grupo 1	AmpC de espectro extendido.
Grupo 2	β -lactamasas de espectro reducido. β -lactamasas de espectro extendido. Carbapenemasas de clase A. β -lactamasas de clase D hidrolizadoras de carbapenemasas.
Grupo 3	Metalo β -lactamasas.

Por último, la subclase antibiótica de los carbapenémicos solo se administra en caso de infecciones muy agresivas que producen cuadros de sepsis generalizada en humanos. Son conocidos por poseer una elevada efectividad contra un amplio espectro de bacterias; sin embargo, también se registra resistencia a este tipo de antibióticos en aislamientos obtenidos de humanos, animales y el medio ambiente (Ba *et al.*, 2024; Tan *et al.*, 2020). Las enzimas productoras de carbapenemasas son consideradas de importancia crítica debido a su capacidad de inferir resistencia a carbapenémicos. La presencia de GRA que inducen la producción de carbapenemasas como KPC, IMP, OXA-48, NDM o VIM en aislamientos ha podido ser asociada positivamente con la aparición de resistencia fenotípica a antibióticos

como ertapenem, doripenem, meropenem, panipenem o tebipenem (Elshamy & Aboshanab, 2020). Es importante resaltar que estos antibióticos se consideran como uno de los últimos recursos contra infecciones graves en la clínica humana (Tilahun *et al.*, 2021; Van Duin, 2017). El aumento en el aislamiento de estos GRA en ERIC constituye un desafío enorme para la medicina moderna, debido a que además de disminuir las opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones causadas por estos patógenos también presentan una alta tasa de colonización en humanos (Husna *et al.*, 2023) y animales tanto de compañía como de vida silvestre, aumentando el riesgo de proliferación e infección provocada por estos patógenos (Wong & Spellberg, 2017).

II.7 Métodos de detección de ERIC

Los métodos utilizados para la detección de ERIC se basan principalmente en métodos cultivo-dependientes y métodos cultivo-independientes (Tadesse *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2021). Los métodos cultivo-dependiente también se conocen como métodos convencionales; estos requieren de varios procesos que van desde la inoculación de la matriz en un medio de cultivo, la incubación por un tiempo estimado de 18-24 horas para promover el desarrollo bacteriano, pruebas bioquímicas y/o cromogénicas para identificación de las especies aisladas y posteriormente la realización de un antibiograma para la obtención de un panel de susceptibilidad a antibióticos (Feucherolles & Frache, 2022). La principal debilidad de estos métodos radica en que la identificación realizada obtiene un valor de identificación presuntiva, y necesita ser corroborada por alguna técnica de biología molecular que permita realizar una identificación confirmatoria (So *et al.*, 2023).

Por otra parte, los métodos cultivo-independientes se basan en la amplificación del material genético, ya sea de un aislamiento bacteriano o directamente de una matriz de la cual se sospecha que contiene al microorganismo diana (Ahmadi *et al.*, 2023). Su principal deficiencia consiste en que no nos permite realizar un panel de susceptibilidad a antibióticos al no contar con aislamiento de BRA.

Es por esto que en años recientes se han descrito estrategias híbridas, que parten desde la aplicación de métodos convencionales de cultivo con antibióticos como selector de UFC resistentes para obtención de BRA y a partir de dicha obtención realizar la identificación de estas a partir de métodos cultivo-independiente. Estas estrategias han demostrado ser altamente eficientes para el aislamiento de ERIC, disminuyendo los tiempos de trabajo y aumentando la sensibilidad y especificidad en los procesos de identificación de BRA y sus GRA (Higa *et al.*, 2019; Tanni *et al.*, 2025; Too *et al.*, 2023).

A pesar de que a nivel mundial son numerosos los reportes de la utilización de estas metodologías, no se han encontrado reportes de una metodología validada para la identificación de ERIC y sus GRA en los ambientes antes señalados. Esta brecha se erige como un área de oportunidad para el desarrollo y validación de una metodología de estas características.

La RAB; y específicamente los ERIC, representan una significativa amenaza para la salud humana (Blondeau *et al.*, 2023), animal (Van Boeckel *et al.*, 2019) y vegetal, así como a la seguridad alimentaria (Lambraki *et al.*, 2022) y el desarrollo económico debido a la ineficacia en su prevención y control. Abordar la crisis global de la resistencia a los antimicrobianos es vital para que el impacto de sus efectos no sea aún más devastador y sus consecuencias cada vez más desproporcionadas.

III. Objetivos

III.1 Objetivo general

Desarrollar y validar una estrategia microbiológica cultivo-dependiente e - independiente para la identificación de *Enterobacterales* resistentes a antibióticos de importancia crítica (ERIC) en muestras clínicas y ambientales.

III.2 Objetivos específicos

1. Desarrollar una estrategia de tamizaje, cultivo-dependiente para identificar la diversidad y abundancia relativa de ERIC.
2. Desarrollar ensayos cultivo-independiente para identificar y cuantificar ERIC.
3. Identificar los patrones de multirresistencia de ERIC prevalentes en muestras clínicas y ambientales.

III.3 Objetivos profesionalizantes

1. Desarrollar competencias en el diseño y validación de protocolos de biología molecular para la detección de patógenos de importancia para la salud humana y animal.
2. Adquirir habilidades y conocimientos en la aplicación de técnicas analíticas avanzadas como herramientas bioinformáticas para la identificación de genes que confieren resistencia a antibióticos asociados a ERIC.
3. Desarrollar habilidades y competencias para el emprendimiento y la creación de proyectos innovadores.

IV. Metodología

IV.1 Diseño

El diseño de este proyecto de investigación fue de corte metodológico. La recolección de muestras se realizó durante el manejo cotidiano de los animales; por lo tanto, no se realizó ningún manejo especial de los animales.

IV.2 Materiales

IV.2.1 Equipos

- Incubadora (Mettmert model 30-1060)
- Centrífuga (Metrix velocity 14)
- Espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Fischer)
- Termociclador CFX 96 (Bio-Rad)
- Revelador de geles (MiniBis Pro)
- Vórtex
- Micropipetas volumen variable (20, 200 y 1000 μL).
- Campana de flujo laminar vertical tipo II clase A 2 (Lumistell ^{MR}).
- Mecheros
- Autoclave
- Vernier electrónico (Stern)

IV.2.2 Insumos

- Puntas 10 μL
- Puntas 200 μL
- Puntas 1000 μL
- Cajas Petri

- Tubos Falcon 15 mL
- Tubos Falcon 50 mL
- Tubos Eppendorf 1.5 mL
- Microplacas de 96 pocillos
- Kit de extracción Zymo Biomix D3024
- Power Up SYBR Green Master Mix
- Sal sódica de cefotaxima (Thermo Scientific)
- Ciprofloxacino (Thermo Scientific)
- Sulfato de meropenem (Thermo Scientific)
- Alcohol 76 %

IV.2.3 Medios de cultivo

- Agar Hektoen (Neogen)
- Agar MacConkey (BD Dioxon)
- Agar Trypticase Soya (Neogen)
- Agua Peptonada Amortiguada
- Caldo Mossel para Enriquecimiento de *Enterobacteriaceae* (Neogen)
- Agar Verde Brillante (BD Dioxon)
- Agar Mueller-Hinton II (BD Dioxon)
- Caldo Trypticase Soya (Neogen)
- Infusión Cerebro Corazón (Neogen)

IV.3 Métodos

IV.3.1 Identificación de protocolos cultivo-dependiente

Primeramente, se llevó a cabo una revisión bibliográfica íntegra a través de servicios de búsqueda especializados como PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), Scirus (<http://www.scirus.com/srsapp/>) y Scopus (<https://www.scopus.com/home.uri>), relacionada con estudios previos de identificación de ERIC en muestras clínicas y ambientales; con el objetivo de identificar los medios de cultivo, fórmulas de suplementación y concentración de antibiótico.

IV.3.2 Proceso de evaluación de diferentes protocolos cultivo-dependiente

Una vez identificados los medios de cultivo selectivos para *Enterobacterales*, tipo y concentración antibiótico, se procedió a comprobar la capacidad recuperación de unidades formadoras de colonia (UFC) de cepas de ERIC resistentes a los antibióticos seleccionados. Estos ensayos se llevaron a cabo por triplicado con cepas de *Enterobacterales* de referencias proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química, UAQ. Para comparar la efectividad de recuperación, se realizaron pruebas ANOVA con Tukey y Dunnett's post hoc para comparar las medias de UFC recuperadas.

IV.3.3 Prueba piloto con muestras ambientales, provenientes de la industria avícola

IV.3.3.1 Abundancia de ERIC en muestras ambientales

Para determinar la abundancia relativa de ERIC, 100 g de carne de pollo y se depositaron en una bolsa estéril con 100 mL de Solución Salina Estéril (SSE) 0.85%, posteriormente se agitó vigorosamente por 5 minutos (Dhar & McKinney, 2007). Posteriormente, se realizaron diluciones décuples seriadas en SSE 0.85 %. Cada dilución fue transferida al medio selectivo seleccionado utilizando la técnica microgotas utilizando un volumen de 10 μ L. Los medios de cultivo fueron incubados 24 horas a una temperatura constante de 35 ± 2 ° C para posteriormente determinar la cantidad de UFC por gramo de muestra (Williamson *et al.*, 2019).

IV.3.3.2 Diversidad de ERIC en muestras ambientales

Para determinar la diversidad de ERIC, 25 g de carne de pollo fueron transferidos a 225 mL de caldo de enriquecimiento suplementado con Cefotaxima, Ciprofloxacino o Meropenem e incubados por 24 horas a una temperatura constante de $35 \pm 2^\circ \text{C}$. Posteriormente, los caldos de enriquecimiento fueron inoculados en el medio selectivo seleccionado e incubados por 24 horas a una temperatura constante de $35 \pm 2^\circ \text{C}$. Las colonias con morfología característica de *Enterobacterales* fueron seleccionadas para generar cultivos puros. A partir de los cultivos puros, se generaron alícuotas que se almacenaron en glicerol.

IV.3.4 Identificación de protocolos cultivo-independiente

IV.3.4.1 Secuenciación del gen *16S rRNA* para identificación bacteriana

Para realizar la identificación de los cultivos puros obtenidos se amplificó el gen ribosomal *16S rRNA*. La reacción de PCR se llevó a cabo de la siguiente manera: 3 μL de ADN con concentración 5 ng/ μL , 0.68 μL de iniciadores de PCR (Forward: 16S8F - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG ; Reverse: 16S1492R - CGGTTACCTTGTACGACTT) con concentración de 1 μM , 0.34 μL de dNTP con concentración de 10 mM, 1.7 μL de Dream Buffer 10X, 0.085 μL de Dream Taq polimerasa y 10.515 μL de agua libre de RNAsas y DNAsas para un volumen final de 17 μL por reacción. La amplificación se realizó con el siguiente protocolo: Desnaturalización inicial y activación de la Taq a 95°C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 45 segundos, alineación a 55.3°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos, finalizando con una extensión final a 72°C por 10 min.

Posteriormente los productos de PCR fueron secuenciados por el método de Sanger a través de los servicios de la empresa Psomagen (MD, E.U.). Una vez obtenidos los resultados de la secuenciación del gen *16S rRNA* cada una de las secuencias fue analizada individualmente en la plataforma del NCBI para determinar a qué género bacteriano pertenecía cada una de las colonias aisladas.

IV.3.5 Criterios para la selección de antibióticos

Los aislamientos seleccionados fueron sometidos a ensayos de resistencia a antibióticos utilizando la metodología de difusión en agar y siguiendo las recomendaciones establecidas por el CLSI (CLSI M100., 2025; Sohani *et al.*, 2024). Los antibióticos seleccionados para determinar los perfiles de resistencia se eligieron teniendo en cuenta el cumplimiento de al menos 1 de los siguientes criterios:

- 1) Que se encuentre en el rango de máxima prioridad o gran prioridad según los criterios de la OMS (Jesudason, 2024).
- 2) Que se encuentre en el rango de agentes antimicrobianos veterinarios de importancia crítica (AVIC) o Agentes antimicrobianos veterinarios de importancia elevada (AVIE) según los criterios de la OMSA.
- 3) Que se encuentre dentro del cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS).
- 4) Que se encuentre en el rango de vigilancia y/o reserva según la clasificación AWaRe de la OMS (Nguyen *et al.*, 2020).

Teniendo en cuenta las condiciones antes expuestas se incluyó en este estudio un panel de 19 antibióticos pertenecientes a 9 clases antibióticas (Tabla 8). Una vez definido el panel de antibióticos a utilizar para obtener los perfiles de resistencia se comenzó a la preparación de los inóculos para realizar la técnica.

Tabla 8. Antibióticos seleccionados para la realización de ensayos de resistencia a antibióticos.

Grupo farmacológico o	Categoría	Antibiótico
Penicilinas	AAI	Ampicilina (10 µg)

		Amoxicilina/Ácido clavulánico (20/10 µg)
Quinolonas	AIC	Ciprofloxacino (5 µg)
		Ácido nalidíxico (30 µg)
Aminoglucósidos	AIC	Estreptomicina (10 µg)
		Gentamicina (10 µg)
		Kanamicina (30 µg)
Macrólidos	AIC	Azitromicina (30 µg)
Monobactámicos	AIC-MP	Aztreonam (30 µg)
Cefalosporinas	AIC-MP	Ceftiofur (30 µg)
		Cefotaxima (30 µg)
		Ceftriaxona (30 µg)

		Cefoxitina (30 µg)
Anfenicoles	AAI	Cloranfenicol (30 µg)
		Florfenicol (30 µg)
Carbapenémicos	AIC-MP	Imipenem (10 µg)
		Meropenem (10 µg)
Tetraciclinas	AAI	Tetraciclina (30 µg)
Sulfonamidas	AAI	Trimetoprima/Sulfametoxazol (1.25/23.75 µg)

Primeramente, se realizaron diluciones de cada uno de los aislados dejándolos en una concentración de 0,5 McFarland, posteriormente se realizó la inoculación de la dilución en el Agar Mueller-Hinton II para luego colocar los discos de antibióticos en el medio. Una vez inoculadas las muestras y colocados los sensidiscos se procedió a incubar en la incubadora Memmert model 30-1060 a una temperatura constante de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por un tiempo estimado de 16-20 horas. Para la lectura de los resultados se utilizó un Vernier electrónico y se midió el diámetro del halo obtenido en 3 posiciones distintas, luego se promediaron los resultados en cada una de las determinaciones. Para la interpretación de los resultados se utilizaron los puntos de corte establecidos por el CLSI (M100 Ed 35., 2025).

IV.3.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico para la determinación de la prevalencia y porcentaje de resistencia de ERIC en muestras clínicas y ambientales se realizó a través de la prueba estadística ANOVA y para la observación de la diferencia estadísticamente significativa se realizó la posprueba de Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa estadístico GraphPad Prism versión 10.6.1.

V. Resultados y discusión

V.1 Identificación de protocolos cultivo-dependiente

La selección de los medios de cultivo más utilizados para el aislamiento de *Enterobacterales* se realizó mediante una revisión bibliográfica exhaustiva. Como resultado de esta búsqueda, se identificaron 50 artículos publicados en revistas científicas indexadas. A partir del análisis de estos documentos se identificó un total de 27 medios de cultivo utilizados para dicho propósito. Con el objetivo de identificar los medios de cultivo más utilizados en la recuperación de *Enterobacterales*, solo se consideraron agares y caldos microbiológicos con frecuencias de uso $\geq 8\%$ (Figura 5).

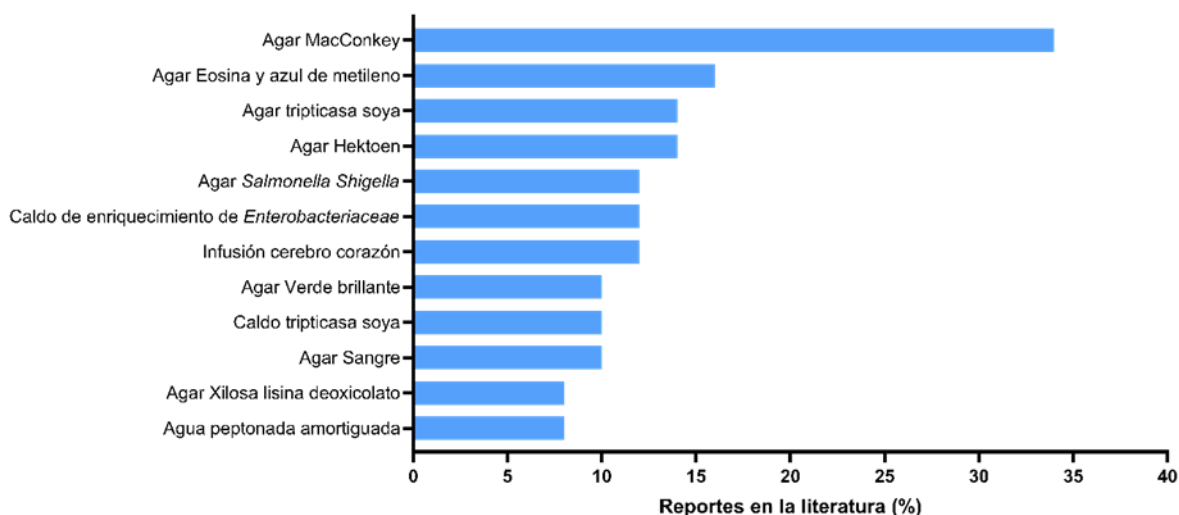


Figura 5. Medios de cultivo utilizados para la recuperación de *Enterobacterales* y su frecuencia de uso en la literatura.

La selección de antibióticos utilizados para la suplementación de los medios de cultivo estuvo guiada por una serie de criterios específicos, con base a su relevancia clínica y su regulación a nivel nacional e internacional. Los mismos se describen a continuación:

- Clasificación como antibióticos de importancia crítica – máxima prioridad, según la lista de antimicrobianos de importancia médica.
- Inclusión en las categorías de vigilancia y/o reserva de la clasificación AWaRe de la OMS.
- Inclusión en la 23.^a edición de la Lista Modelo de Medicamentos Esenciales de la OMS.
- Inclusión en la 9.^a edición de la Lista Modelo de Medicamentos Esenciales para Niños de la OMS.
- Clasificación como agente antimicrobiano veterinario de importancia crítica (AVIC), o ausencia de uso en medicina veterinaria.
- Inclusión en el Cuadro Básico de Medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

Con base en estos criterios, se realizó una búsqueda complementaria en la literatura científica y documentos oficiales, lo que permitió seleccionar tres antibióticos que cumplieran con todos los requisitos establecidos: Cefotaxima, Ciprofloxacino y Meropenem (Por ejemplo: Lista de antimicrobianos de importancia médica de la OMS, Guía AWaRe de la OMS, Lista de antimicrobianos importantes para la medicina veterinaria de la OMSA). Este análisis reveló que los medios más utilizados para la recuperación de *Enterobacterales* fueron agar MacConkey, Eosina y Azul de Metileno, Trypticase soya, Hektoen, *Salmonella Shigella*, Enriquecimiento de *Enterobacteriaceae*, Infusión Cerebro Corazón, Verde Brillante, Sangre, Xilosa Lisina Deoxicolato y Agua Peptonada Amortiguada.

V.2 Importancia del uso de antibióticos como medio selectivo para el aislamiento de ERIC.

Históricamente, en el desarrollo de estudios epidemiológicos de prevalencia de bacterias resistentes a antibióticos, se han utilizado medios de cultivo de enriquecimiento y selectivos sin la suplementación de antibióticos; los aislamientos obtenidos, se someten a ensayos de susceptibilidad a antibióticos para identificar

perfiles de resistencia de bacterias prevalentes en la muestra clínica y ambiental (Gebre-egziabher *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2023; Ssemakadde *et al.*, 2025).

En los últimos años se ha sugerido que la suplementación de antibióticos como agente selectivo en medios de enriquecimiento y selectivos puede mejorar la tasa de recuperación de BRA (Calarco *et al.*, 2024; Higa *et al.*, 2019). Para comprobar esta idea, se realizó un análisis comparativo de la tasa de resistencia en aislamientos bacterianos obtenidos a partir de muestras ambientales. Se llevaron a cabo 5 muestreos independientes utilizando carne de pollo obtenida en supermercados. Las muestras fueron procesadas en medios de enriquecimiento y selectivo suplementados con Cefotaxima (CTX) o sin antibióticos (Control). Los aislamientos obtenidos de los dos procedimientos (CTX y Control) fueron sometidos a ensayos de resistencia antimicrobiana utilizando Antibióticos de Importancia Crítica-Máxima Prioridad (AIC-MP), Antibióticos de Importancia Crítica (AIC) y Antibióticos de Alta Importancia (AAI). Los resultados de este experimento revelaron una mayor tasa ($P < 0.05$, IC = 95%) de recuperación de bacterias resistentes a antibióticos, en los medios suplementados con CTX; revelando que el uso de medios de enriquecimiento y selectivos suplementados con antibióticos puede incrementar hasta un 62% la tasa de recuperación de bacteria resistentes a antibióticos (Figura 10). Estos resultados sugieren que la incorporación de antibióticos como agente selectivo podría mejorar la eficiencia de los estudios epidemiológicos enfocados a la resistencia a antibióticos en muestras clínicas y ambientales.

Los resultados obtenidos en el presente experimento revelan que el uso de antibióticos como agente selectivo podría incrementar la recuperación de ERIC a partir de muestras clínicas o ambientales. Resultados comparables han sido reportados por Bazán y colaboradores utilizando heces de humanos, quienes observaron una tasa de recuperación del 93% de bacterias productoras de β -lactamasas a partir de medios suplementados con Cefotaxima vs 0% en medios no suplementados (Bazán-Arca *et al.*, 2025).

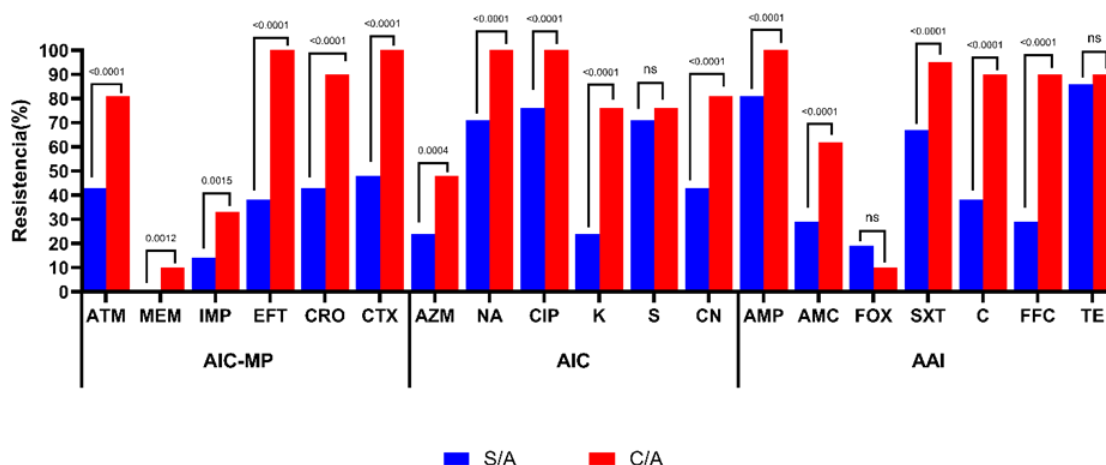


Figura 6. Perfiles de resistencia de aislamientos bacterianos obtenidos en medios de cultivo de enriquecimiento y selectivos suplementados con Cefotaxima (CTX) y sin suplementación (Control). **ATM:** Aztreonam, **MEM:** Meropenem, **IMP:** Imipenem, **EFT:** Ceftiofur, **CRO:** Ceftriaxona, **CTX:** Cefotaxima, **AZM:** Azitromicina, **NA:** Ácido nalidíxico, **CIP:** Ciprofloxacino, **K:** Kanamicina, **S:** Estreptomicina, **CN:** Gentamicina, **AMP:** Ampicilina, **AMC:** Amoxicilina/Ácido clavulánico, **FOX:** Cefoxitina, **SXT:** Trimetoprima/Sulfametoxazol, **C:** Cloranfenicol, **FFC:** Florfenicol, **TE:** Tetraciclina. La comparación de medias ($n = 5$) se llevó a cabo con la prueba de χ^2 . **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%).

V.3 Efecto de medios de cultivo suplementados con Cefotaxima y Ciprofloxacino sobre la recuperación de *Enterobacterales*

Con el objetivo de evaluar la eficacia de los caldos de enriquecimiento Caldo tripticasa soya (CTS), Caldo tripticasa soya con extracto de levaduras (CTS+EL), Agua peptonada amortiguada (APA) e Infusión Cerebro Corazón (ICC) para recuperar *Enterobacterales* resistentes a Cefotaxima (CTX) y Ciprofloxacino (CIP), se realizó una evaluación con muestras de cama estériles inoculadas con *Salmonella enterica* resistente a estos dos antibióticos. Este análisis reveló niveles comparables de recuperación de *S. enterica* ($P > 0.05$, IC = 95%) entre los medios CTS, CTS+EL, APA e ICC; sugiriendo el potencial uso de cualquiera de estos cuatro medios para la recuperación de ERIC (Figura 6).

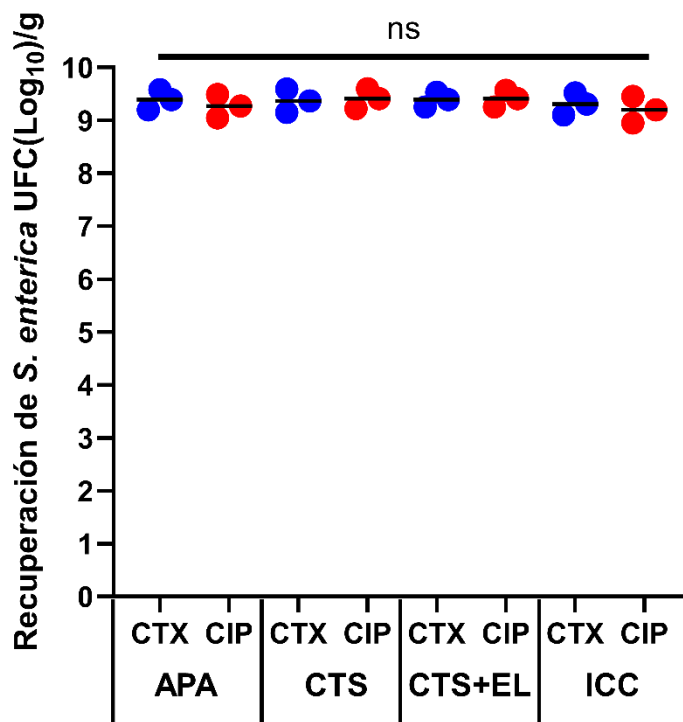


Figura 7. Recuperación de *S. enterica* en caldos de enriquecimiento seleccionados: Agua peptonada amortiguada (APA), Caldo Tripticasa Soya (CTS), Caldo Tripticasa Soya con extracto de levaduras (CTS+EL) e Infusión Cerebro Corazón (ICC); suplementados con Cefotaxima o Ciprofloxacino. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias ($n = 3$) se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino.

Con el objetivo de evaluar la eficacia de los caldos de enriquecimiento previamente seleccionados y el medio selectivo de agar MacConkey suplementado con antibióticos, para recuperar *Enterobacterales* resistentes a CTX y CIP, se realizó una evaluación con muestras de cama estériles inoculadas con *S. enterica* resistente a estos dos antibióticos. Este análisis reveló niveles comparables de recuperación de *S. enterica* ($P > 0.05$, IC = 95%) entre los métodos microbiológicos; estos datos sugieren que estas cuatro combinaciones de medio de cultivo podrían ser utilizados para la recuperación de ERIC (Figura 7).

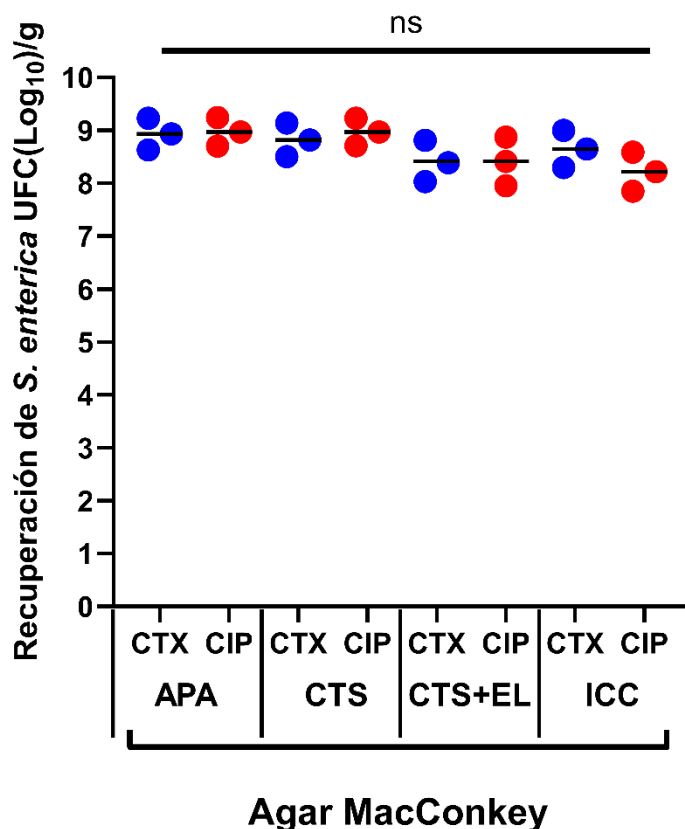


Figura 8. Recuperación de *S. enterica* en caldos de enriquecimiento seleccionados y posterior inoculación en agar MacConkey: Agua peptonada amortiguada (APA), Caldo Trypticase Soya (CTS), Caldo Trypticase Soya con extracto de levaduras (CTS+EL) e Infusión Cerebro Corazón (ICC); suplementados con Cefotaxima (CTX) o Ciprofloxacino (CIP). La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias ($n = 3$) se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino.

Para evaluar la eficacia de diferentes medios de cultivo selectivos se realizó una evaluación con agar Enriquecimiento de *Enterobacteriaceae* (EE), Trypticase Soya (ATS), Hektoen (HEK), Verde Brillante (VB) y MacConkey (MCK) suplementados con CTX y CIP. Para este fin se utilizaron muestras de cama estériles inoculadas con *S. enterica* resistente a estos dos antibióticos. Este análisis reveló niveles comparables de recuperación de *S. enterica* ($P > 0.05$, IC = 95%) entre los cinco medios; esto sugiere que cualquiera de estos medios podría emplearse para la

recuperación de ERIC; sin embargo, el análisis exhaustivo de la literatura indicó que el medio MacConkey es el medio más frecuentemente utilizado (Figura 8).

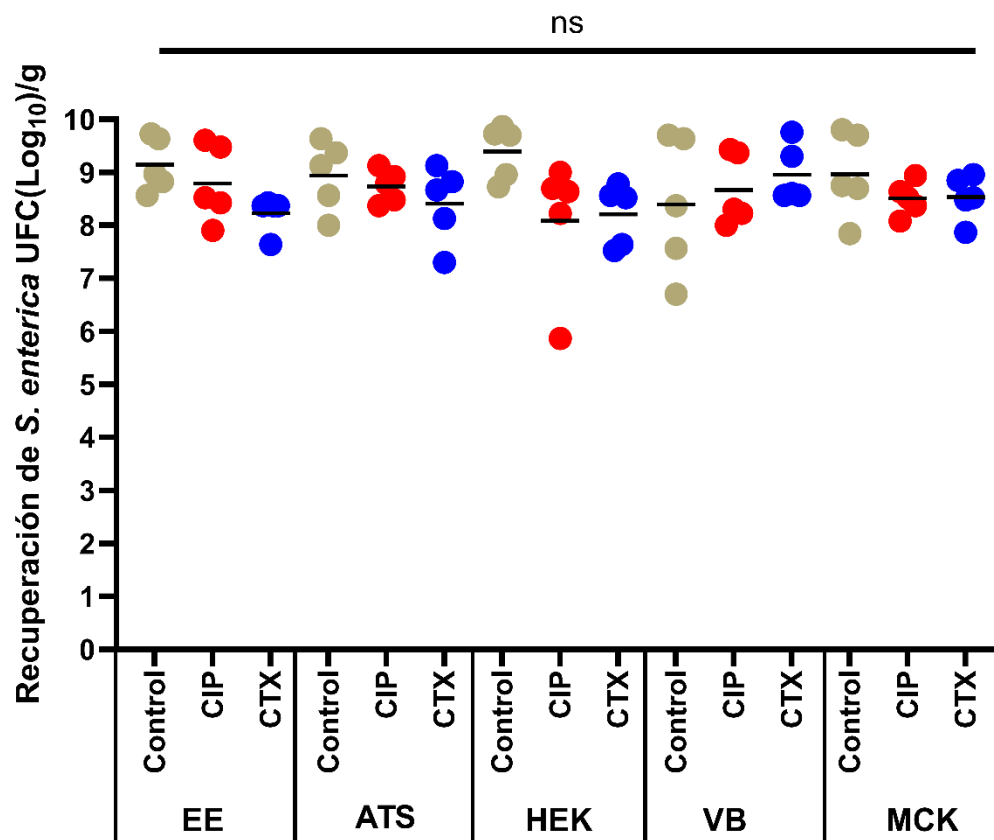


Figura 9. Recuperación de *S. enterica* en medios de cultivo selectivos para el aislamiento de *Enterobacteriales* con Cefotaxima (CTX), Ciprofloxacino (CIP) y sin suplementación (Control) de antibióticos. Agar de Enriquecimiento de *Enterobacteriaceae* (EE), Tripticasa Soya (ATS), Hektoen (HEK), Verde Brillante (VB), MacConkey (MCK). La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias ($n = 5$) se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino.

Para corroborar que los niveles de recuperación de *S. enterica* resistente a CTX y CIP son similares entre EE, ATS, HEK, VB y MCK; se realizó un experimento con muestras de heces de cerdo frescas provenientes de granjas comerciales de producción intensiva. Como se reportó en el experimento anterior, en el presente análisis se observaron niveles de recuperación de ERIC comparables ($P > 0.05$, IC

= 95%) entre los cinco medios analizados. En conjunto, los resultados de estos respaldan el uso de agar MCK para estudios de prevalencia y abundancia de ERIC en muestras clínicas y ambientales (Figura 9).

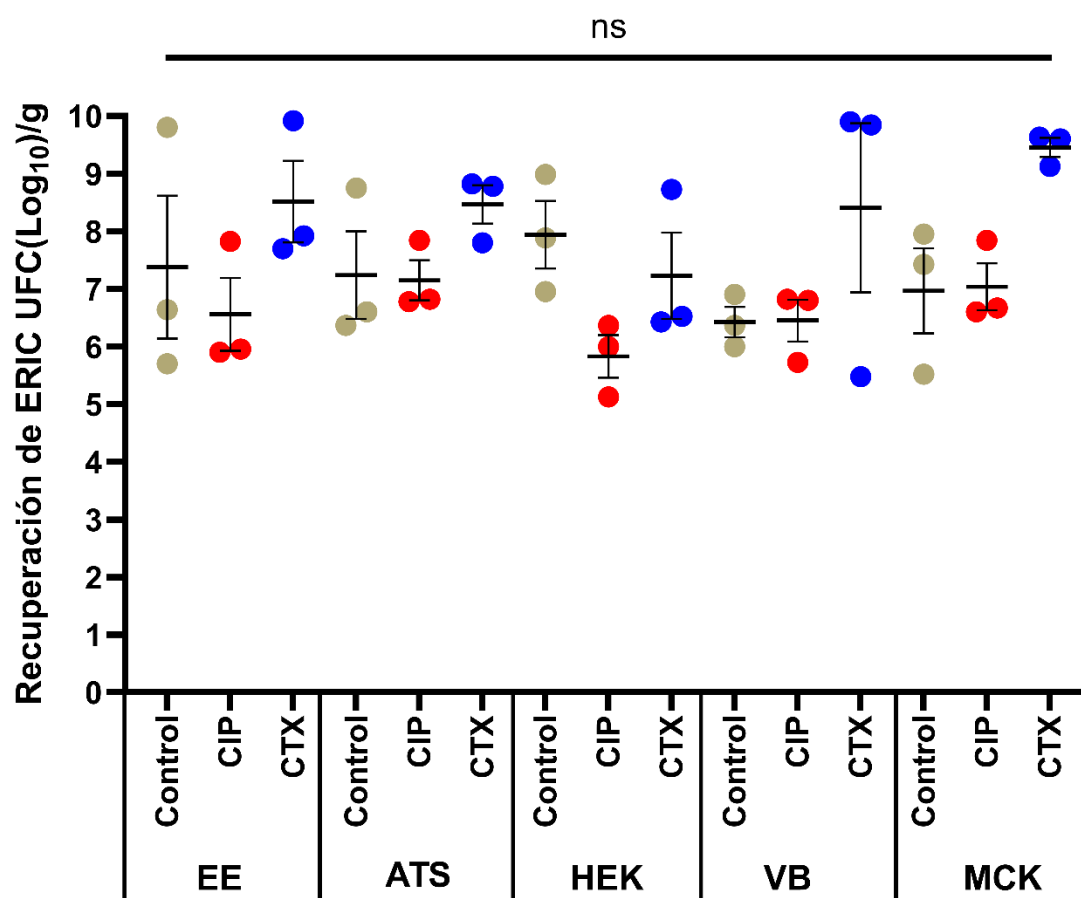


Figura 10. Recuperación de ERIC en heces de cerdo utilizando diferentes medios de cultivo selectivos para el aislamiento de *Enterobacteriales* con y sin suplementación de antibióticos Agar de Enriquecimiento de *Enterobacteriaceae* (EE), Tripticasa Soya (ATS), Hektoen (HEK), Verde Brillante (VB), Agar MacConkey (MCK). La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias ($n = 3$) se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino.

V.4 Determinación de la prevalencia de ERIC en muestras ambientales.

Para evaluar el desempeño de la metodología propuesta en el presente estudio, se realizó una prueba epidemiológica piloto con muestras de la industria avícola. Para este fin se realizaron 10 muestreos independientes, compuestos por 7 muestreos de cama y 3 muestreos de carne de pollo; para un total de 48 muestras. Las muestras se sometieron a procesos microbiológicos para la recuperación de ERIC utilizando medios de enriquecimiento y selectivos suplementados con antibióticos de importancia crítica, CTX, CIP o Meropenem (MEM). El análisis reveló una prevalencia de 50%, 46% y 8% de *Enterobacterales* resistentes a CTX, CIP y MEM; respectivamente (Figura 10A), en los 10 muestreos realizados. La abundancia promedio de *Enterobacterales* resistentes a estos tres antibióticos en estos muestreos fue 4.81, 4.87 y 3.80 UFC Log₁₀/g; respectivamente (Figura 10B). Estos resultados indican una alta prevalencia de ERIC en muestras ambientales obtenidas de la industria avícola.

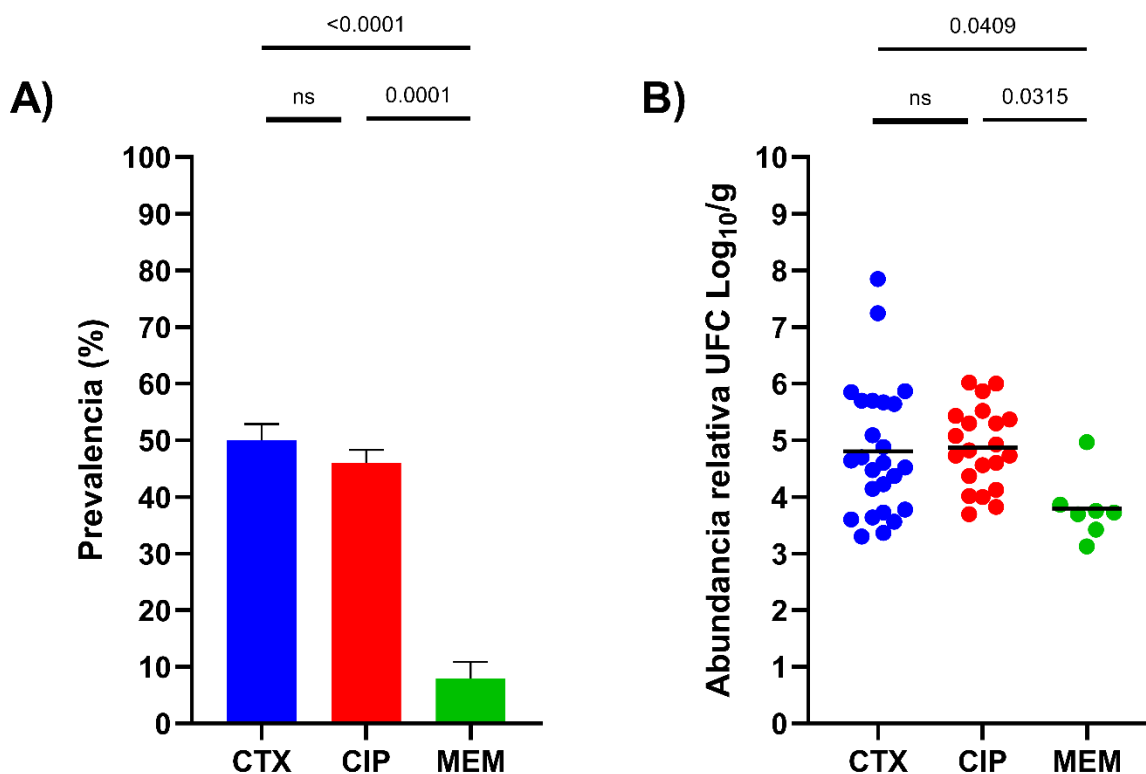


Figura 11. Prevalencia de *Enterobacterales* resistentes a antibióticos de importancia crítica en muestras de carne y camas de pollos. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias ($n = 48$) se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. NS: no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

De los 10 muestreos procesados, se obtuvieron un total de 170 aislamientos con características morfológicas compatibles con miembros del orden *Enterobacterales*. Del total de aislamientos, el 63% y 37% se obtuvo a partir de muestras de carne de pollo y camas de pollo, respectivamente. Estos aislamientos se sometieron a ensayos de susceptibilidad a antibióticos utilizando Antibióticos de Importancia Crítica-Máxima Prioridad (AIC-MP), Antibióticos de Importancia Crítica (AIC) y Antibióticos de Alta Importancia (AAI).

En el caso de los AIC-MP, para Aztreonam (97% vs. 94%), Cefotaxima (100% vs. 97%), Ceftriaxona (100% vs. 97%) y Ceftiofur (100% vs. 97%) no se registraron diferencias ($P > 0.05$) entre las prevalencias de resistencia obtenidas en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP; respectivamente. En contraste, la prevalencia de resistencia a Aztreonam (43%), Cefotaxima (49%), Ceftriaxona (50%) y Ceftiofur (46%) fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM. En el caso de Imipenem (48%, 57% y 28%) y Meropenem (26%, 10% y 6%), no se observaron diferencias en la prevalencia de resistencia entre los medios suplementados con CTX, CIP TX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 11).

En el caso de los AIC, en los estudios con Ácido Nalidíxico (96% vs. 94%), Ciprofloxacino (97% vs. 94%), Estreptomicina (92% vs. 88%) y Gentamicina (96% vs. 87%) no se registraron diferencias ($P > 0.05$) entre las prevalencias de resistencia obtenidas en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP; respectivamente. En contraste, la prevalencia de resistencia a Ácido Nalidíxico (48%), Ciprofloxacino (46%), Estreptomicina (46%), y Gentamicina (44%) fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM. En el caso de Azitromicina (89% vs. 71%) y Kanamicina (84% vs. 63%) no se encontraron diferencias ($P > 0.05$).

entre la prevalencia de resistencia registrada en medios suplementados con CTX y CIP. Caso similar fue observado con los análisis de CIP y MEM, donde no se observaron diferencias ($P > 0.05$) en las prevalencias de resistencia contra Azitromicina (71% vs. 40%, respectivamente) y Kanamicina (63% vs. 40%, respectivamente). En contraste, la prevalencia de resistencia a Azitromicina (89% vs. 40%) y Kanamicina (84% vs. 40%) fue mayor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con CTX en comparación con MEM (Figura 12).

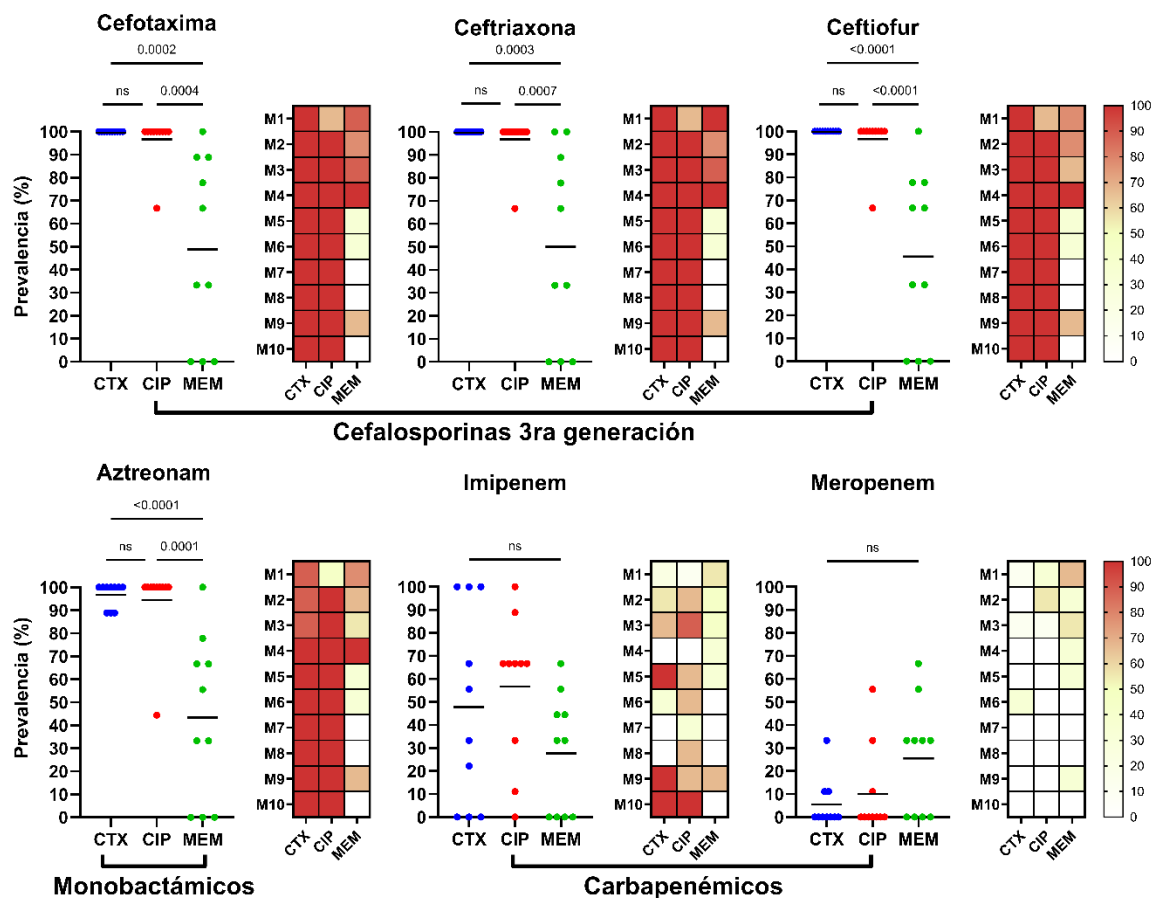


Figura 12. Prevalencia de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica-Máxima Prioridad. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

Dentro de los AAI, en la evaluación de Ampicilina (99% vs. 93%), Cloranfenicol (92% vs. 83%), Florfenicol (96% vs. 84%), Tetraciclina (97% vs. 90%) y Trimetoprima/Sulfametoxazol (94% vs. 91%) no se registraron diferencias ($P > 0.05$) entre las prevalencias de resistencia obtenidas en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP; respectivamente. En contraste, la prevalencia de resistencia a Ampicilina (67%), Cloranfenicol (41%), Florfenicol (40%), Tetraciclina (43%) y Trimetoprima/Sulfametoxazol (42%) fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM.

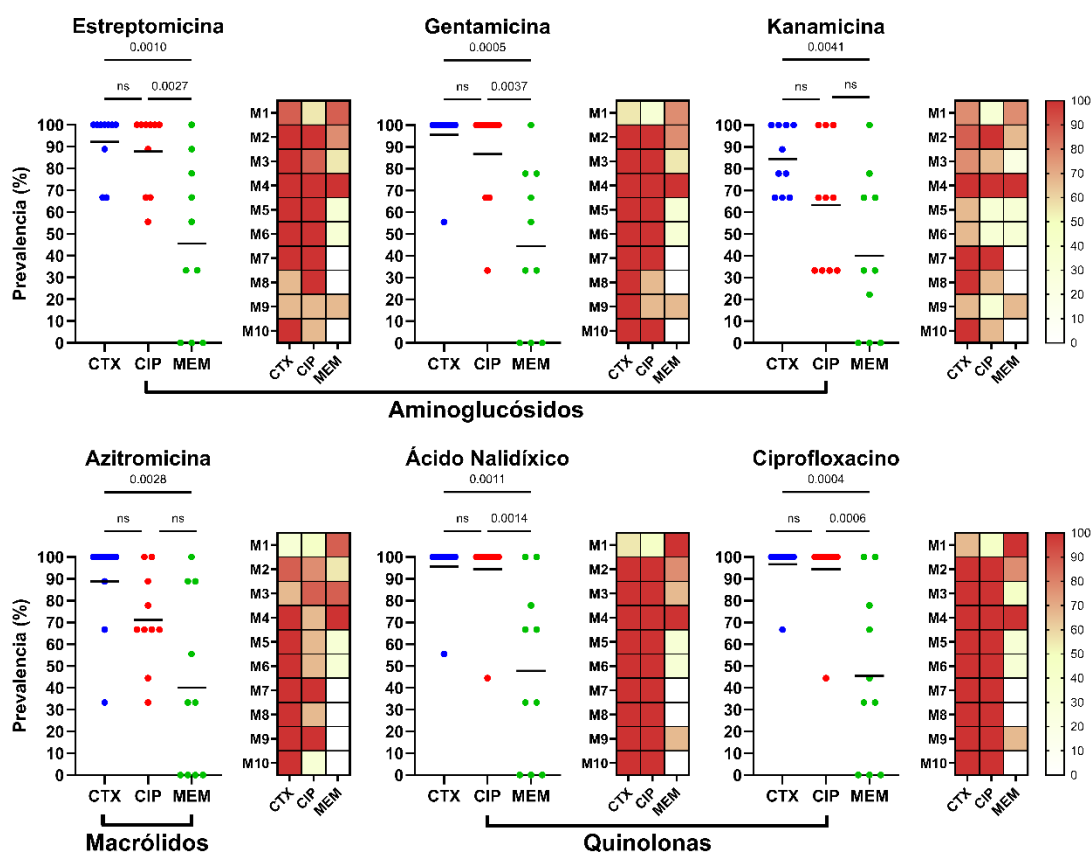


Figura 13. Prevalencia de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

En el caso de Amoxicilina/Ácido clavulánico (70%, 83% y 42%) y Cefoxitina (60%, 62% y 38%), no se observaron diferencias en la prevalencia de resistencia entre los medios suplementados con CTX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 13). En general, el presente trabajo reveló que la prevalencia de resistencia en los muestreos realizados fue menor en medios suplementados con MEM, para la mayoría de los antibióticos analizados.

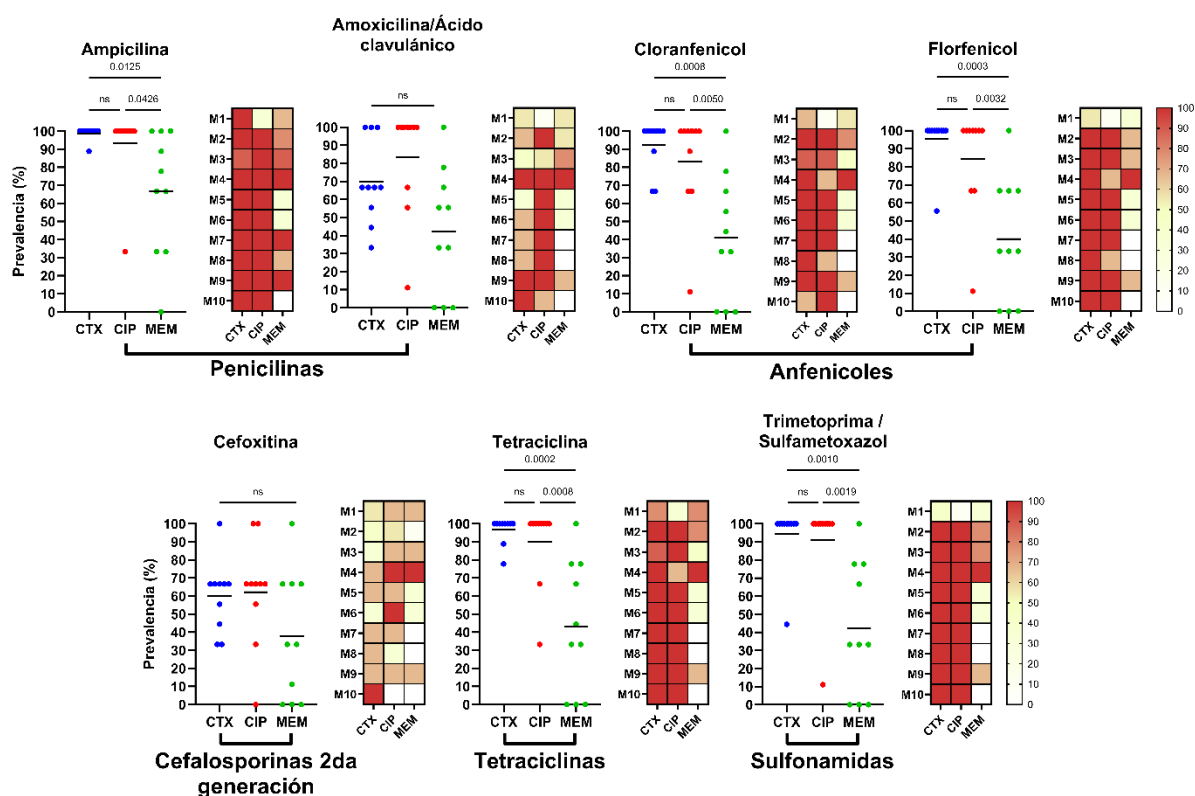


Figura 14. Prevalencia de resistencia a Antibióticos de Alta Importancia La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

V.5 Obtención de perfiles de resistencia a antibióticos

En general, el presente trabajo reveló tasas elevadas de resistencia para los 19 antibióticos evaluados. Entre los niveles de resistencia destacan los observados

para los monobactámicos (rango = 76%-86%), las cefalosporinas de 3ra generación (92%-100%), los carbapenémicos (4%-56%), los macrólidos (69%-74%), aminoglucósidos (58%-90%), quinolonas (82%-95%), derivados de la penicilina (54%-97%), anfenicoles (63%-89%), cefalosporinas de 2da generación (39%-51%), tetraciclinas (54%-90%) y sulfonamidas (66%-86%) (Figura 14).

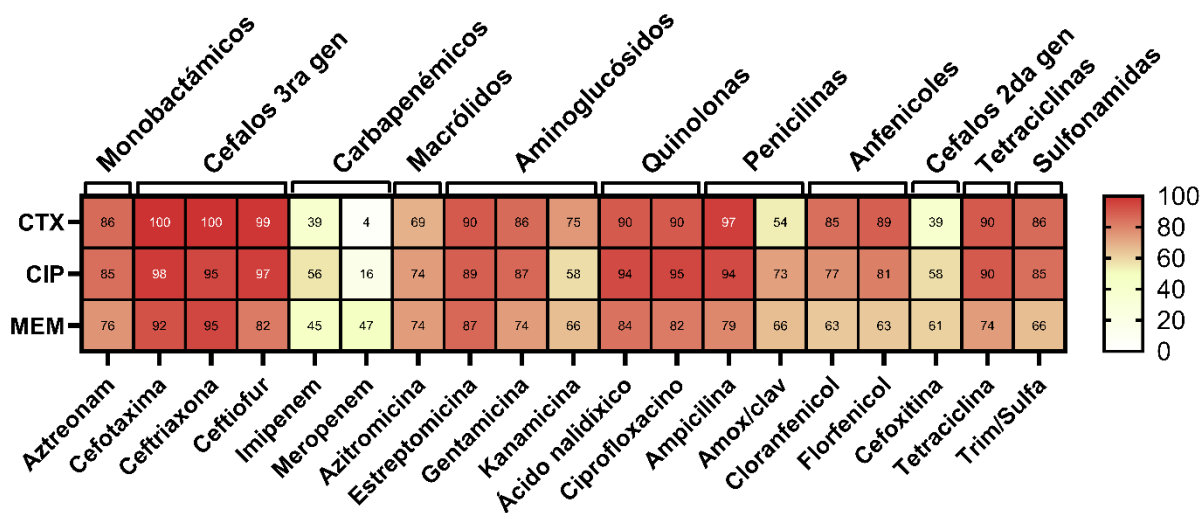


Figura 15. Comparación del porcentaje de resistencia a antibióticos en aislamientos obtenidos en medios de cultivo suplementados con Cefotaxima (CTX), Ciprofloxacino (CIP) o Meropenem (MEM). Mapa de calor representa los porcentajes de resistencia con la escala de color (%) señalada del lado derecho.

Niveles comparables de resistencia a estas clases o subclases de antibióticos se han reportado en la literatura para muestras de origen avícola; por ejemplo, cefalosporinas (rango =12%-98%), quinolonas (9%-94%), derivados de la penicilina (51%-100%), macrólidos (2%-100%), anfenicoles (18%-93%), tetraciclinas (0%-97%), sulfonamidas (37%-96%) y carbapenémicos (0%-35%) (Tabla 9). Estas tasas de resistencia son alarmantes desde el punto de vista epidemiológico, considerando que la mayoría de los antibióticos presentan tasas elevadas de resistencia.

En los análisis de resistencia a AIC-MP, se observó que Cefotaxima (100% vs. 100%) y Ceftiofur (99% vs. 98%) no presentaron diferencias ($P > 0.05$) entre las tasas de resistencia obtenidas en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP;

respectivamente. En contraste, la tasa de resistencia a Cefotaxima (68%) y Ceftiofur (64%) fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM. En el caso de Meropenem, no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre la tasa de resistencia registrada en medios suplementados con CTX y CIP (4% vs. 10%, respectivamente). Caso similar fue observado con los análisis de CIP y MEM, donde no se observaron diferencias ($P > 0.05$) en las tasas de resistencia contra Meropenem (10% vs. 33%, respectivamente). En contraste, la tasa de resistencia a Meropenem fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con CTX en comparación con MEM (4% vs. 33%, respectivamente). En el caso de Ceftriaxona no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre la tasa de resistencia registrada en medios suplementados con CTX y CIP (100% vs. 97%, respectivamente). Caso similar fue observado con los análisis de CIP y MEM, donde no se observaron diferencias ($P > 0.05$) en la tasa de resistencia contra Ceftriaxona (97% vs. 69%, respectivamente). En contraste, la tasa de resistencia a Ceftriaxona fue mayor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con CTX en comparación con MEM (100% vs. 69%, respectivamente). Para Aztreonam (92%, 89% y 62%) e Imipenem (43%, 53% y 37%), no se observaron diferencias en la tasa de resistencia entre los medios suplementados con CTX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 15).

En el caso de los AIC, para Ciprofloxacino no se registraron diferencias ($P > 0.05$) entre las tasas de resistencia obtenidas en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP (95% vs. 97%, respectivamente). En contraste, la tasa de resistencia a Ciprofloxacino fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM (63%). En el caso de Azitromicina (80%, 72% y 51%), Ácido Nalidíxico (96%, 95% y 65%), Estreptomicina (90%, 87% y 65%), Gentamicina (92%, 86% y 62%) y Kanamicina (79%, 55% y 57%), no se observaron diferencias en la tasa de resistencia entre los medios suplementados con TX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 16).

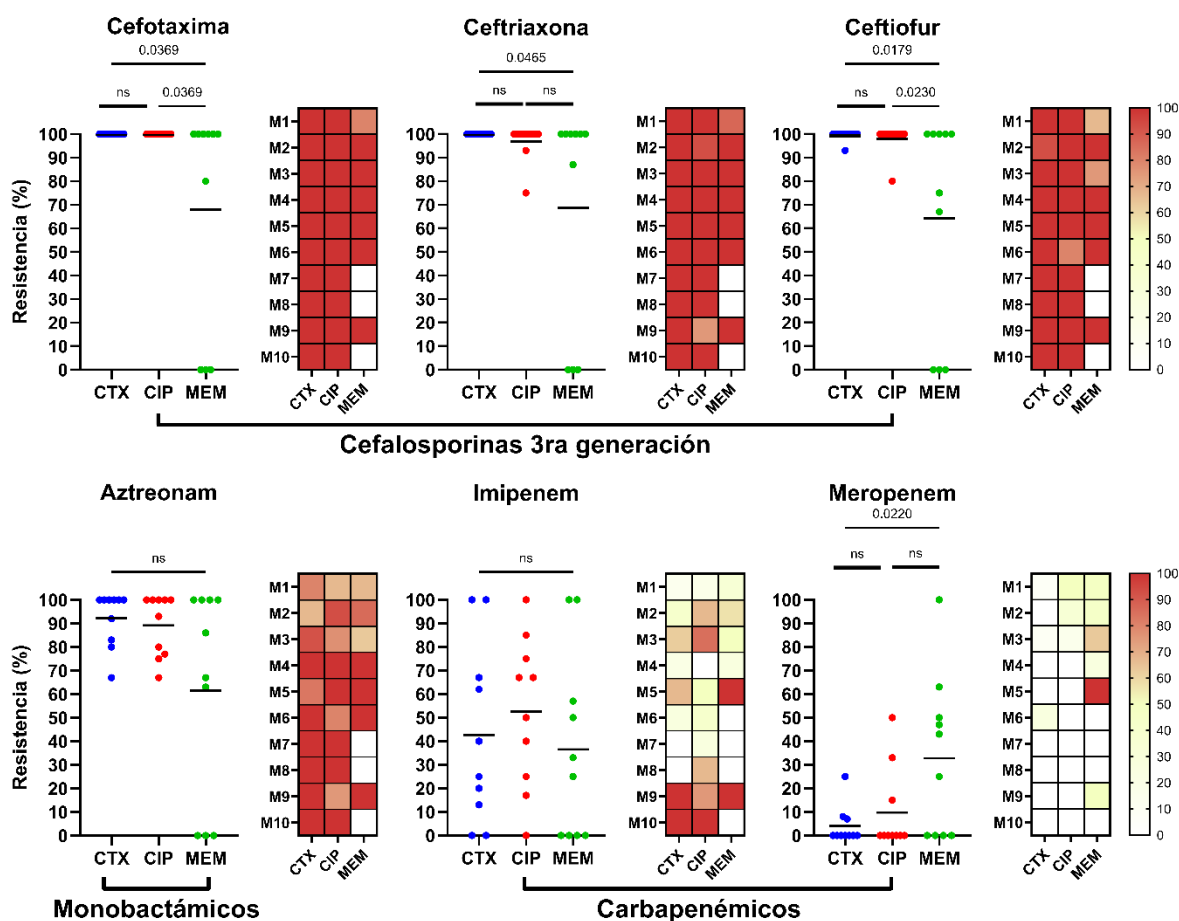


Figura 16. Porcentaje de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica-Máxima Prioridad. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

En el caso de los AAI, para Ampicilina no se registraron diferencias ($P > 0.05$) entre las tasas de resistencia obtenidas en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP (99% vs. 95%, respectivamente). En contraste, la tasa de resistencia a Ampicilina fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM (65%). En el caso de Amoxicilina/Ácido clavulánico (65%, 81% y 59%), Cefoxitina (49%, 59% y 54%), Cloranfenicol (90%, 77% y 58%), Florfenicol (95%, 78% y 59%), Tetraciclina (94%, 90% y 61%) y Trimetoprima/Sulfametoxazol (93%, 88% y 61%),

no se observaron diferencias en la tasa de resistencia entre los medios suplementados con CTX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 17).

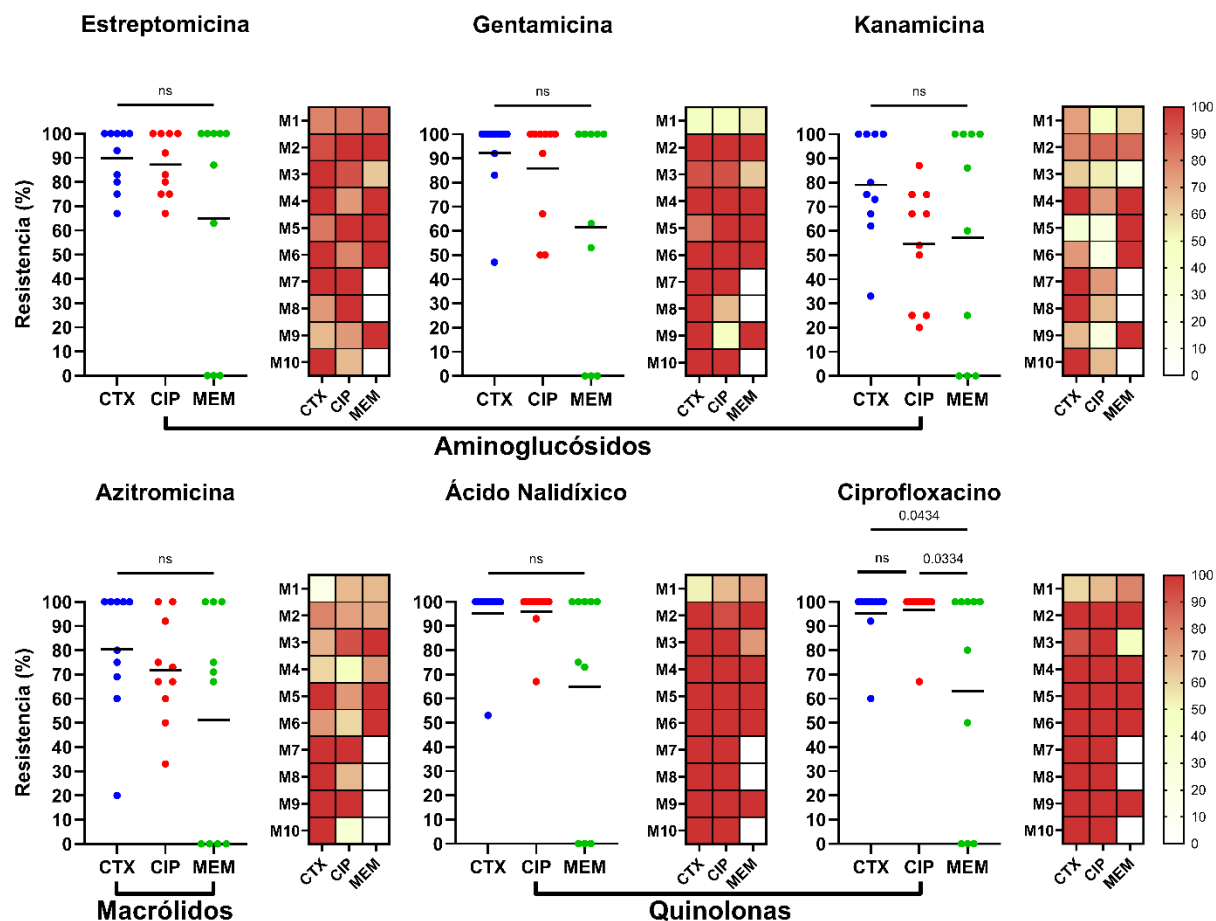


Figura 17. Porcentaje de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

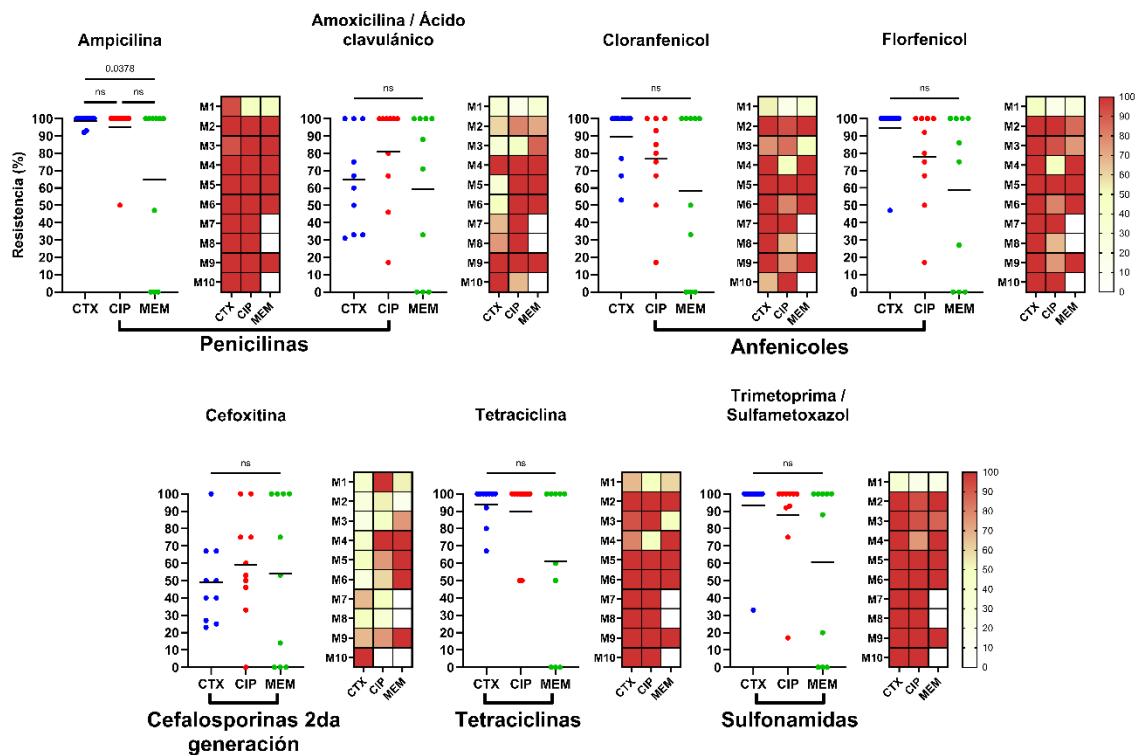


Figura 18. Porcentaje de resistencia a Antibióticos de Alta Importancia. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

Tabla 9. Tasas de resistencia a clases de antibióticos observadas en muestras provenientes de la industria avícola.

Referencias	Penicilinas	Quinolonas	Aminoglucósidos	Macrólidos	Cefalosporinas	Anfenícoles	Carbapenémicos	Tetraciclinas	Sulfonamidas
(Baez <i>et al.</i> , 2021)	100%	50%	-	53%	82%	34%	0%	81%	58%
(Amancha <i>et al.</i> , 2023)	51%	34%	-	77%	22%	38%	0%	73%	58%
(Economou <i>et al.</i> , 2023)	99%	74%	93%	-	96%	43%	0%	0%	45%
(Tigabie <i>et al.</i> , 2023)	92%	47%	11%	-	19%	29%	9%	91%	66%
(Nasilele <i>et al.</i> , 2024)	52%	9%	-	2%	-	18%	1%	33%	37%
(Sinyawa <i>et al.</i> , 2024)	87%	54%	30%	-	26%	22%	6%	74%	53%
(Kamel <i>et al.</i> , 2024)	80%	94%	78%	100%	12%	-	-	97%	96%
(Rus <i>et al.</i> , 2025)	81%	70%	21%	45%	48%	74%	0%	39%	58%
(Tanni <i>et al.</i> , 2025)	100%	86%	34%	72%	98%	93%	35%	82%	94%
(Tsitsos <i>et al.</i> , 2025)	95%	64%	16%	67%	73%	18%	0%	49%	63%
Presente estudio	77%	89%	79%	72%	96%	76%	35%	78%	79%

V.6 Obtención de patrones de resistencia a antibióticos

Con el objetivo de determinar que medio suplementado obtiene las mayores tasas de resistencia a antibióticos, se analizaron los índices de resistencia a antibióticos. Este análisis reveló que no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los índices de resistencia obtenidos con los tres medios selectivos (Figura 18). En general, se observaron índices de resistencia a antibióticos mayores a 0.7 (promedio) en los medios suplementados con CTX, CIP y MEM. Estos resultados indican que los aislamientos obtenidos son considerados de alto riesgo ya que presentan un índice de resistencia a antibióticos ≥ 0.2 (Krumperman, 1983; Sandhu et al., 2016). Resultados comparables se han reportado en muestras obtenidas en reproductoras pesadas y pollos de engorda (Bhattarai et al., 2024; Mir et al., 2022). En conjunto, estos datos resaltan la elevada prevalencia de bacterias multirresistentes a antibióticos en la industria avícola.

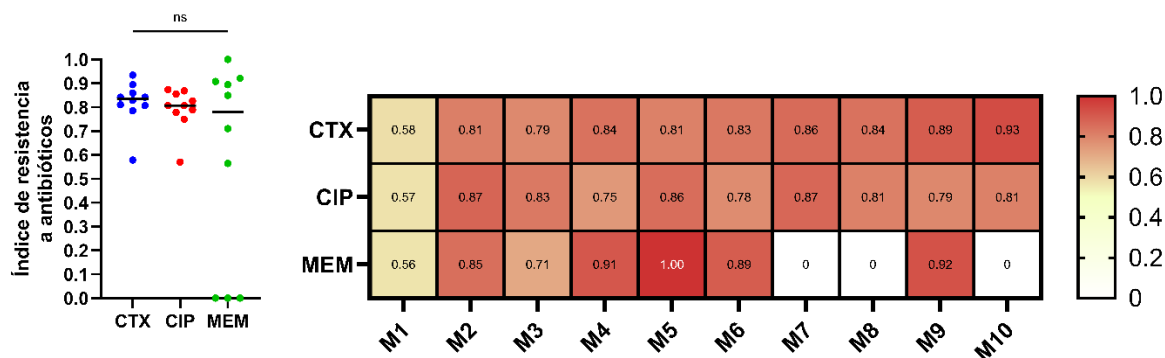


Figura 19. Índice resistencia a antibióticos. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. El mapa de calor presenta los resultados individuales para cada muestreo utilizando cada uno de los medios suplementados con antibióticos. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

Con el objetivo de determinar que medio suplementado obtiene los aislamientos más resistentes a los antibióticos analizados, se analizó el número de antibióticos a los que presentó resistencia cada uno de los aislamientos obtenidos. Este análisis reveló que no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los

aislamientos obtenidos en CTX con respecto a CIP. Caso similar se presentó en el análisis de CTX con respecto a MEM ($P > 0.05$). Sin embargo, los aislamientos obtenidos en CIP fueron más resistentes ($P > 0.05$) que los aislamientos obtenidos en MEM. Asimismo, se observó que el 93%, 89% y 63% de los aislamientos obtenidos en CIP, CTX y MEM respectivamente se encontraron en el rango de resistencia a 12-18 antibióticos. (Figura 19).

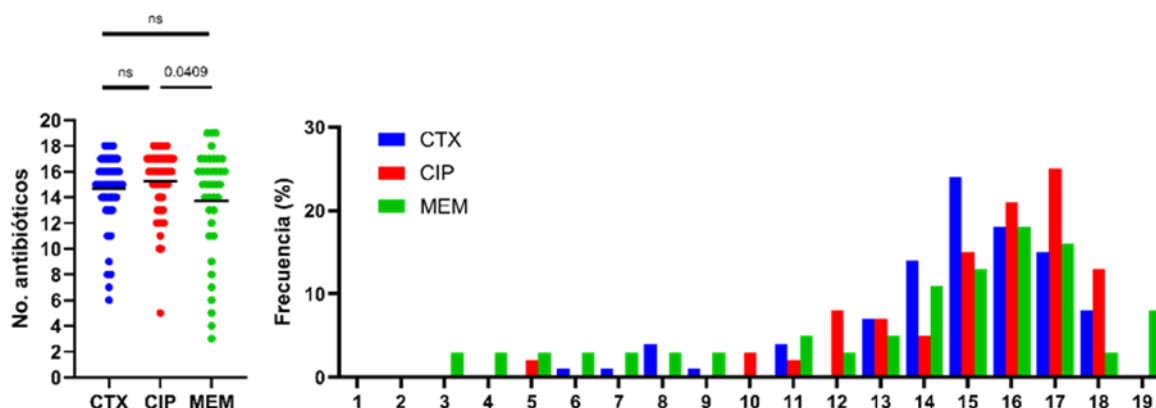


Figura 20. Resistencia a antibióticos en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico y su distribución. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

Por otra parte, se observó que el 100% de los aislamientos obtenidos en cada suplementación presentó el fenotipo MDR; además, el 34%, 31% y 16% de los aislamientos para las suplementaciones de CIP, CTX y MEM respectivamente presentaron el fenotipo de resistencia extendida (XDR) (Figura 24).

Para determinar la co-ocurrencia de resistencia a antibióticos observada en los aislamientos obtenidos en las distintas suplementaciones de antibiótico, se analizaron los patrones de multirresistencia obtenidos para las categorías de antibióticos analizadas. Para los AIC-MP el 91%, 93% y 83% de los aislamientos obtenidos en las suplementaciones de CTX, CIP y MEM respectivamente, presentan resistencia a al menos cuatro de los seis antibióticos evaluados dentro de esta

categoría; además, en los aislamientos obtenidos a partir de la suplementación con CTX no se registraron aislamientos capaces de resistir a los seis antibióticos de la categoría (Figura 25). En el caso de los AIC se observó que el 86%, 77% y 91% de los aislamientos obtenidos en las suplementaciones de CTX, CIP y MEM respectivamente, presentaron resistencia a al menos cuatro de los seis antibióticos evaluados dentro de la categoría (Figura 26). Por último, para los AAI destacó que el 89%, 91% y 73% de los aislamientos obtenidos en las suplementaciones de CTX, CIP y MEM respectivamente presentaron resistencia a al menos cuatro de los siete antibióticos evaluados dentro de la categoría (Figura 27).

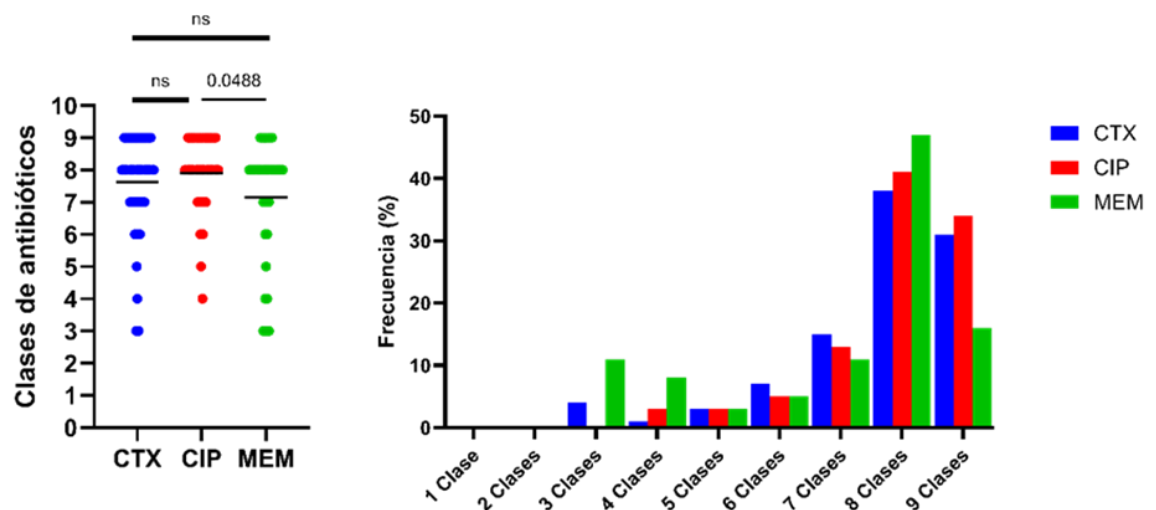


Figura 21. Resistencia a clases de antibióticos en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico y su distribución. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

Los perfiles y patrones de resistencia obtenidos en el presente estudio reflejan la magnitud del problema de la resistencia a antibióticos en entornos de producción avícola. Resultados similares han sido reportados en entornos de producción animal (Sallam et al., 2023); así como en entornos clínicos y ambientales (Altayb et al., 2022).

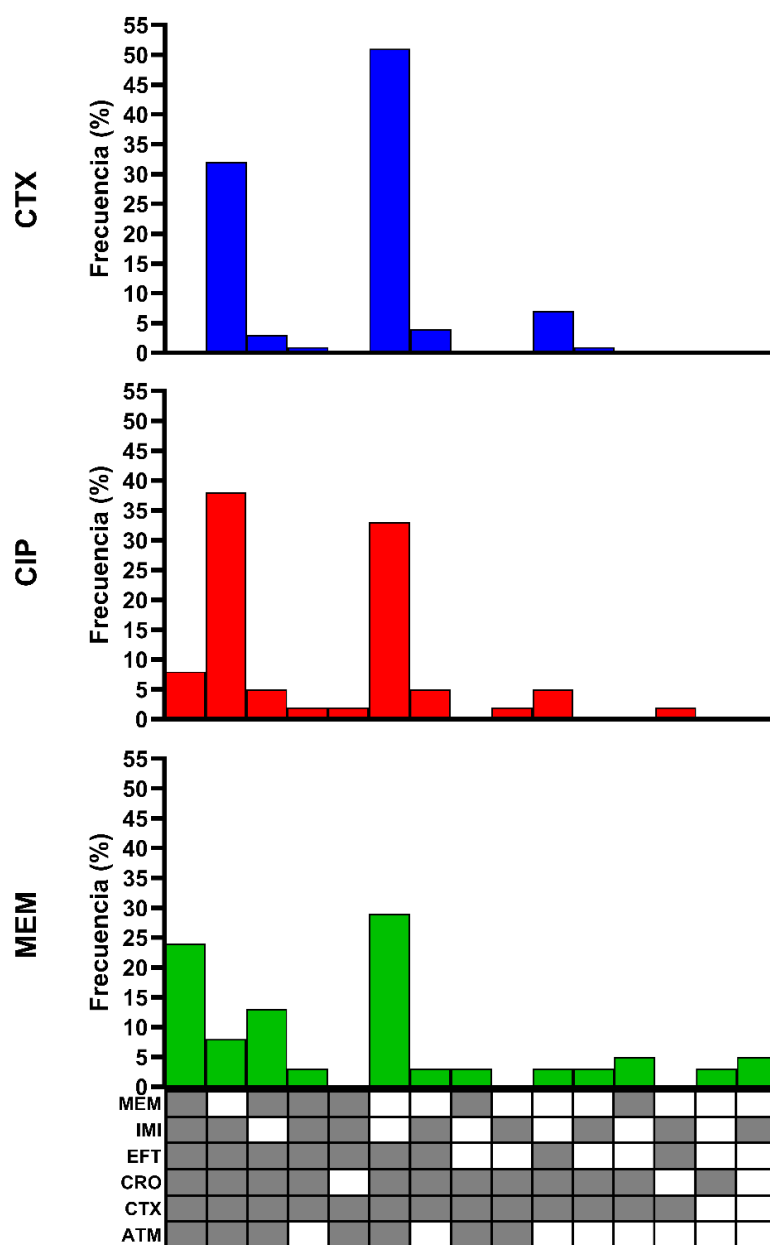


Figura 22. Patrones de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica – Máxima Prioridad identificados en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico. **MEM:** Meropenem, **IMI:** Imipenem, **EFT:** Ceftiofur, **CRO:** Ceftriaxona, **CTX:** Cefotaxima, **ATM:** Aztreonam.

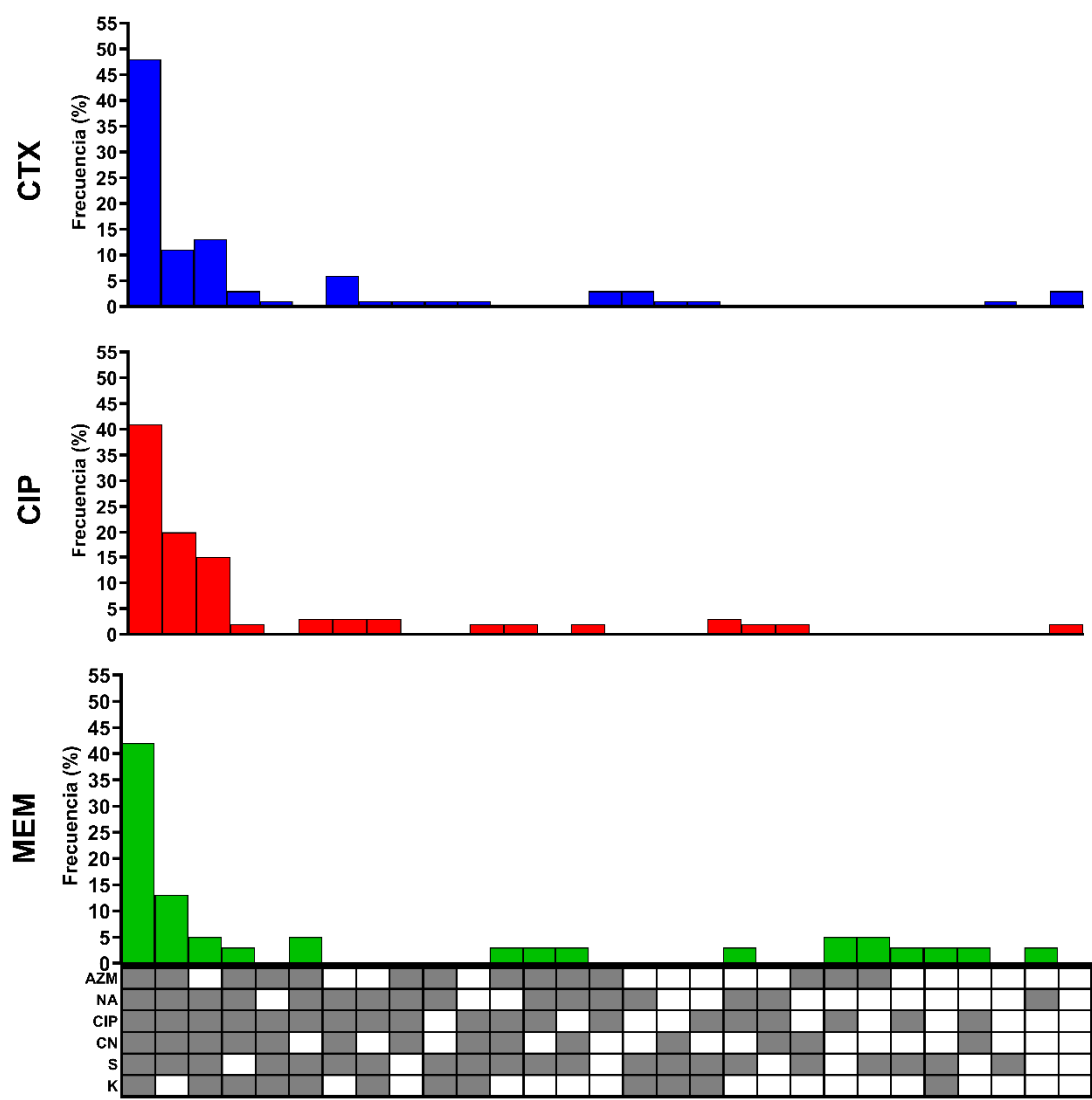


Figura 23. Patrones de resistencia a Antibióticos de Importancia Crítica identificados en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico. **AZM:** Azitromicina, **NA:** Ácido nalidíxico, **CIP:** Ciprofloxacino, **CN:** Gentamicina, **S:** Estreptomicina, **K:** Kanamicina.

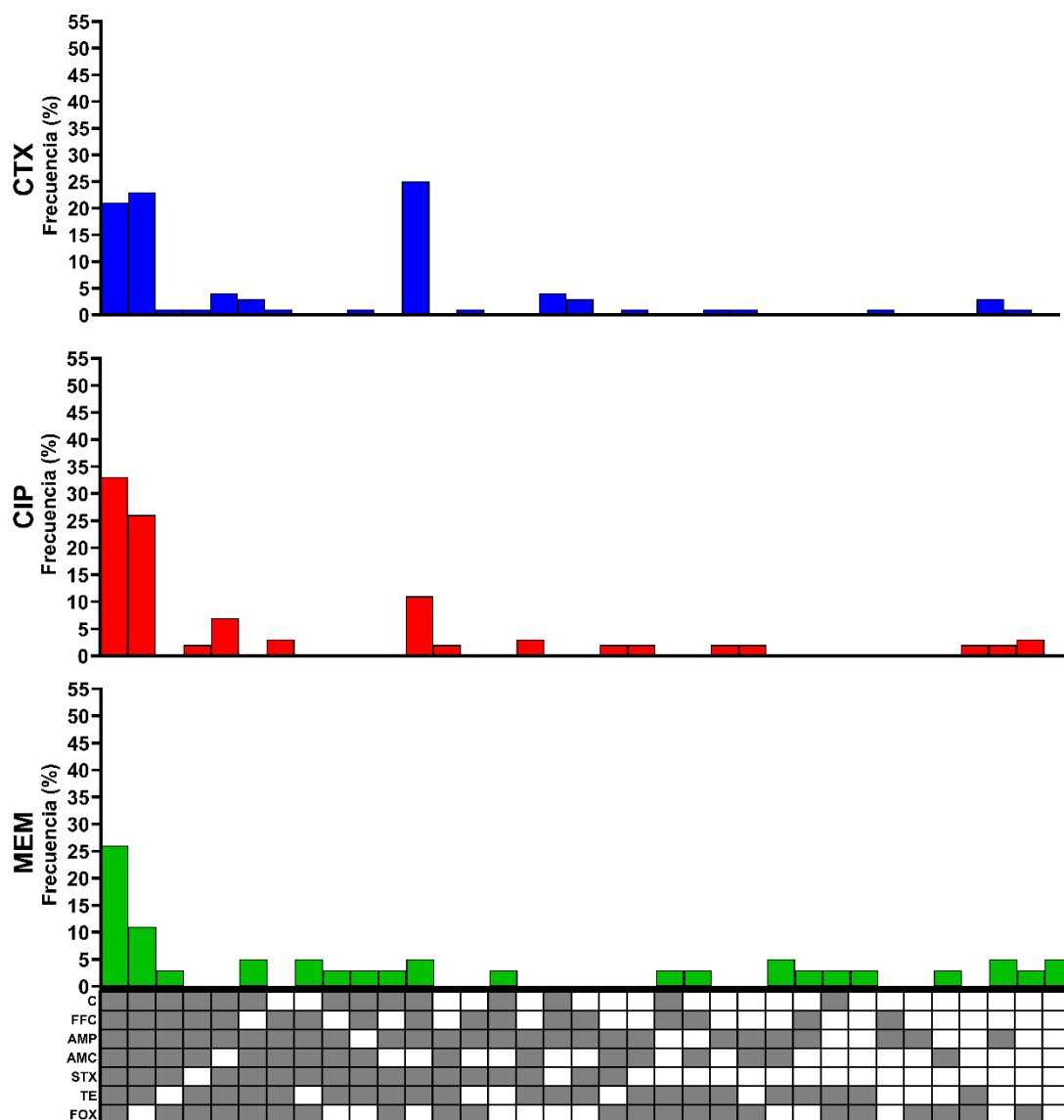


Figura 24. Patrones de resistencia a Antibióticos de Alta Importancia identificados en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico. **C:** Cloranfenicol, **FFC:** Florfenicol, **AMP:** Ampicilina, **AMC:** Amoxicilina/Ácido clavulánico, **STX:** Trimetoprima/Sulfametoxazol, **TE:** Tetraciclina, **FOX:** Cefoxitina.

Por último, con el objetivo de evaluar la eficacia de las suplementaciones de antibiótico utilizadas se realizó un análisis comparativo entre las distintas suplementaciones de antibióticos utilizadas con la intención de evaluar su eficacia en el aislamiento de ERIC resistentes a todos los antibióticos evaluados.

En los análisis realizados no se registraron diferencias ($P > 0.05$) entre medios de cultivo suplementados con CTX y CIP respectivamente, al realizar las evaluaciones para la tasa de resistencia general (82% vs. 79%), AIC-MP (73% vs. 74%), AIC (89% vs. 82%), AAI (83% vs. 81%) y bacterias resistentes a cefalosporinas de 3ra generación (99% vs. 98%). En contraste, la tasa de resistencia general (58%), AIC-MP (55%), AIC (60%), AAI (60%) y bacterias resistentes a cefalosporinas de 3ra generación (67%) fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM. En el caso de bacterias resistentes a carbapenémicos (23%, 31% y 35%), no se observaron diferencias en la prevalencia de resistencia entre los medios suplementados con CTX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 25).

También se analizó la capacidad de cada suplementación para la recuperación de aislamientos resistentes a todos los antibióticos evaluados en cada categoría. Los análisis realizados revelaron diferencias (24% vs 8%) en la recuperación de aislamientos en medios de cultivo suplementados con MEM y CIP; respectivamente ($P < 0.05$). Caso similar se apreció en la comparación de recuperación de aislamientos (24% vs 0%) en medios de cultivo suplementados con MEM y CTX; respectivamente ($P < 0.05$). Este comportamiento se replicó en la comparación de recuperación de aislamientos (8% vs 0%) en medios de cultivo suplementados con CIP y CTX; respectivamente ($P < 0.05$). Dentro de los AIC (41% vs. 48%) no se registraron diferencias ($P > 0.05$) recuperación de aislamientos en medios de cultivo suplementados con CTX y CIP; respectivamente. En contraste la recuperación de aislamientos (26%) fue menor ($P < 0.05$) en medios de cultivo suplementados con MEM. En el caso de los AAI (21%, 33% y 26%) no se observaron diferencias en la recuperación de aislamientos entre los medios suplementados con CTX, CIP y MEM; respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 26).

Los datos obtenidos sugieren la circulación de aislamientos con perfiles de resistencia de alta relevancia en entornos de producción avícola; reforzando la idea de mantener estrecha vigilancia sobre estos entornos.

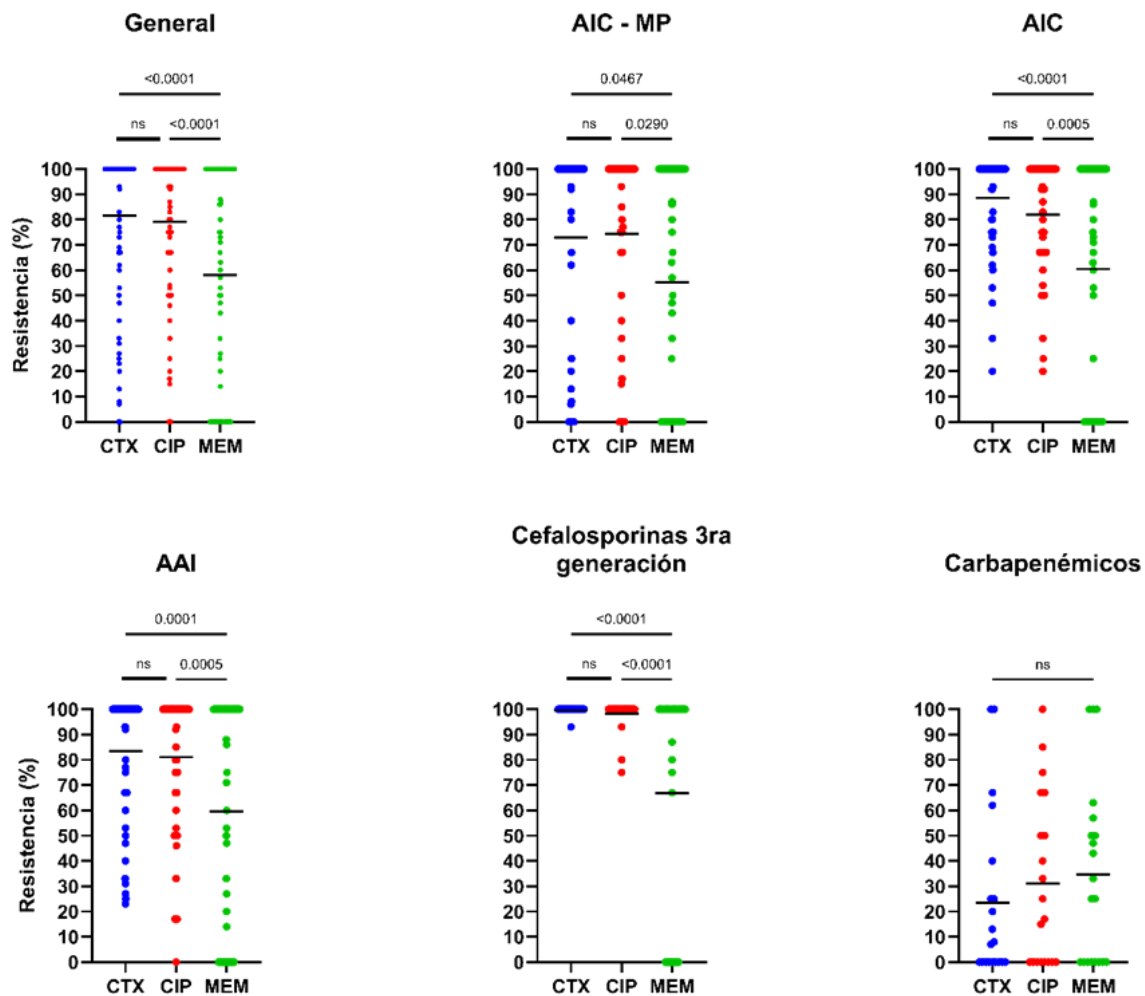


Figura 25. Evaluación de recuperación de aislamientos resistentes obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

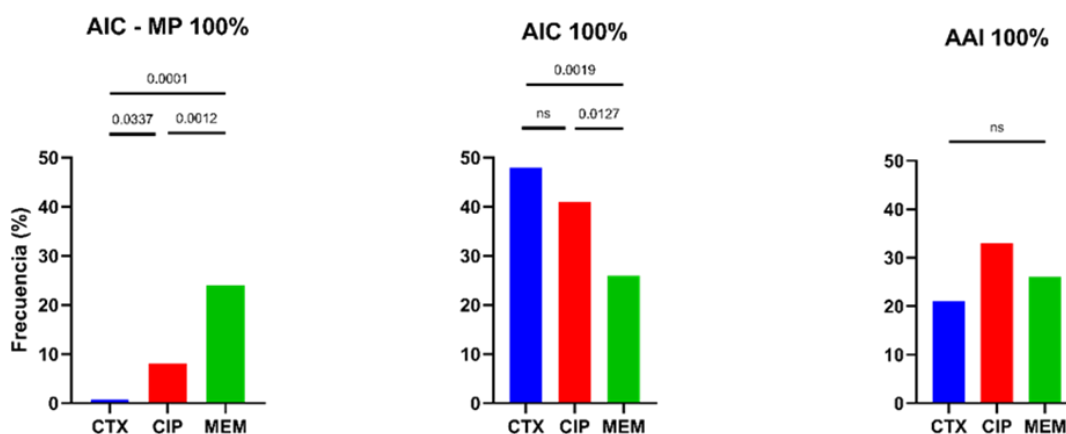


Figura 26. Distribución de aislamientos resistentes a todos los antibióticos por categoría obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.

V.7 Determinación de la diversidad de ERIC en muestras ambientales

Los resultados de la secuenciación del gen *16S rRNA* permitieron identificar el 93% de los aislamientos obtenidos en los muestreos realizados. El género más prevalente fue *Escherichia* (75%) seguido de *Proteus* (8%), *Enterococcus* (5%), *Enterobacter* (2%), *Acinetobacter* (1%), *Salmonella* (1%) y *Bordetella* (1%) (Figura 27). En términos de diversidad se observó una mayor diversidad de géneros recuperados en medios de cultivo suplementados con Meropenem comparado con los medios de cultivo suplementados con Cefotaxima y Ciprofloxacino (Figura 28). El descubrimiento de *Escherichia* como género predominante es consistente con estudios previos realizados en entornos de producción avícola (Kadri *et al.*, 2018). Asimismo, estudios donde se analiza la prevalencia de patógenos que provocan sepsis generalizada en humanos también han demostrado una predominancia de este género, demostrando su potencial de amenaza desde la visión de Una Salud. Por otra parte, la identificación de otros géneros de importancia clínica y veterinaria como *Proteus*, *Enterobacter* y *Salmonella* es; sin lugar a duda, una nueva evidencia de la necesidad de establecer programas de vigilancia sistemática sobre los miembros del orden *Enterobacterales*. Por último, la detección de *Enterococcus* y

Bordetella a partir de la estrategia utilizada resulta novedosa, teniendo en cuenta que no se localizaron reportes de recuperación de estos géneros bacterianos en estudios donde se emplearan estrategias similares a las llevadas a cabo en el presente estudio.

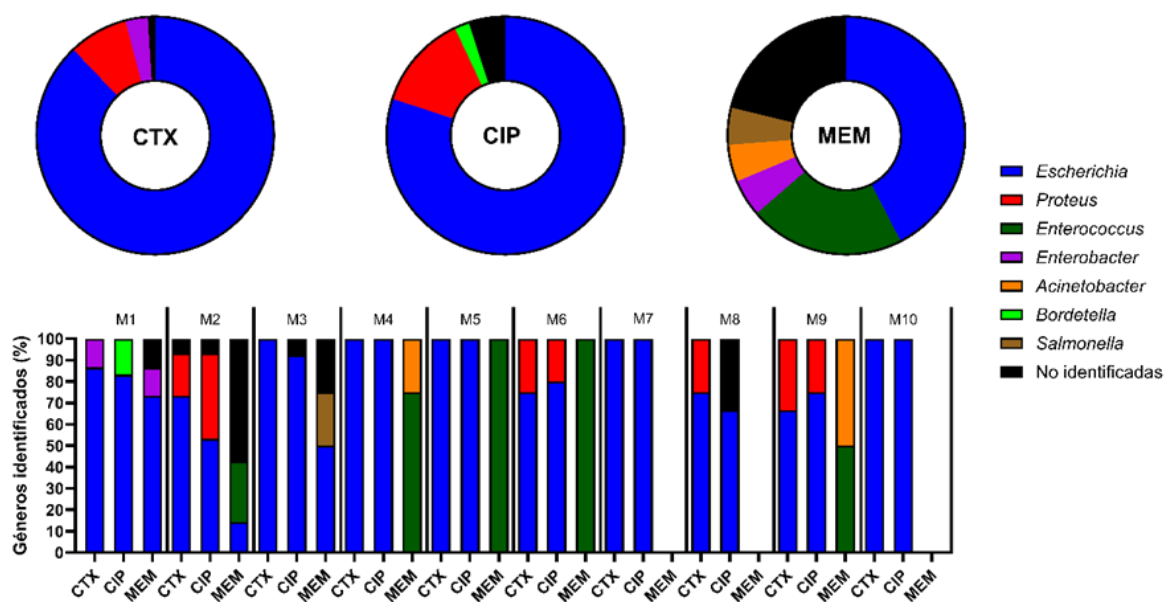


Figura 27. Diversidad y distribución de géneros bacterianos identificados por muestreo obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico.

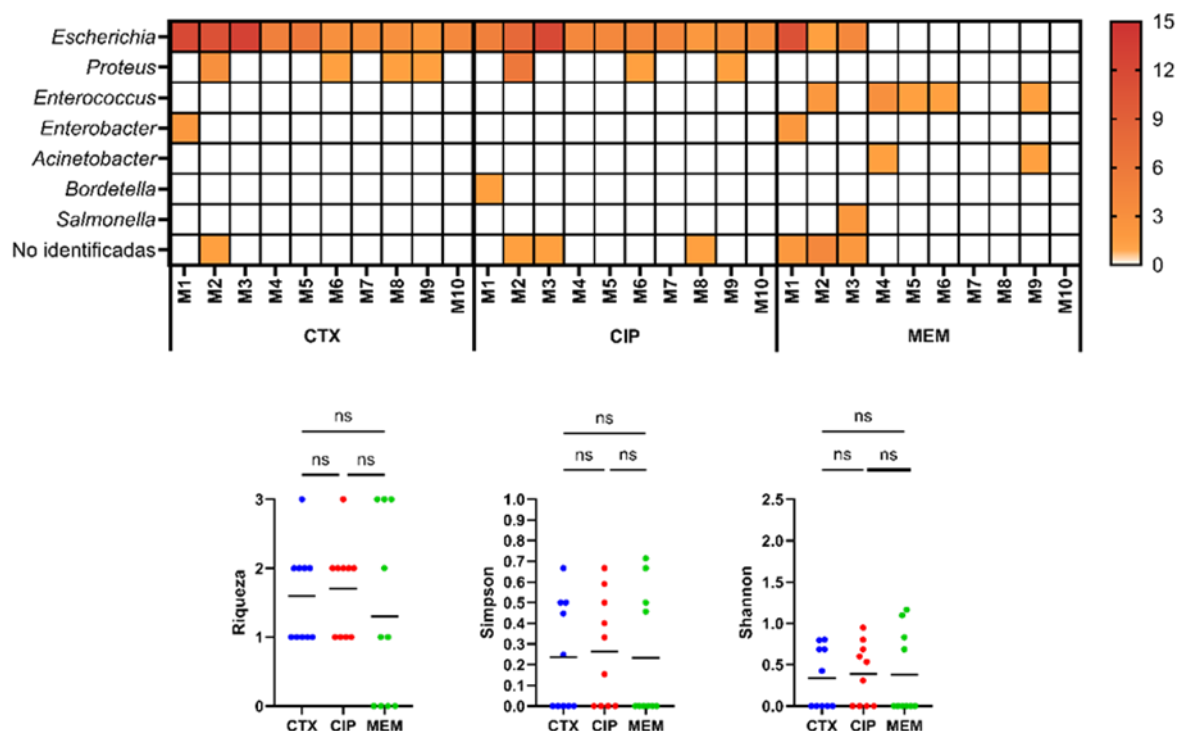


Figura 28. Distribución de géneros bacterianos y análisis de diversidad en aislamientos obtenidos bajo diferentes estrategias de suplementación de antibiótico. La gráfica presenta valores medios y la dispersión de las muestras. La comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de ANOVA + Tukey. **NS:** no significativo ($P > 0.05$, IC = 95%). **CTX:** Cefotaxima, **CIP:** Ciprofloxacino, **MEM:** Meropenem.

VI. Conclusiones

Los análisis realizados en el presente estudio revelaron que no existe una metodología estandarizada para el aislamiento de ERIC en muestras clínicas y ambientales, limitando la capacidad para realizar estudios microbiológicos comparativos y dificultando la vigilancia epidemiológica. En el presente estudio se propone el uso de Agua Peptonada Amortiguada y agar MacConkey suplementados con CTX, CIP o MEM para la recuperación de ERIC en muestras clínicas y ambientales. Esta propuesta se sustenta en los resultados obtenidos; así como el uso frecuente en estudios reportados en la literatura científica de los últimos diez años.

Además, el presente estudio demostró que la elección del antibiótico como agente selectivo influye directamente en las tasas de aislamiento, prevalencia, perfiles y patrones de resistencia antimicrobiana, así como en la diversidad de géneros bacterianos recuperados a partir de muestras clínicas y ambientales, condicionando de manera sustancial la interpretación de los resultados microbiológicos.

Finalmente, se evidenció la alta prevalencia de ERIC en productos cárnicos destinados al consumo humano, así como en los sistemas de producción animal; lo que representa un riesgo significativo para la Salud Pública y evidencia la magnitud del problema de la resistencia antimicrobiana en la cadena alimentaria.

VII. Referencias bibliográficas

- Achi, C. R., Ayobami, O., Mark, G., Egwuenu, A., Ogbolu, D., & Kabir, J. (2021). Operationalising One Health in Nigeria: Reflections From a High-Level Expert Panel Discussion Commemorating the 2020 World Antibiotics Awareness Week. *Frontiers in Public Health*, 9, 673504. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.673504>
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S. Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': Proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5575-5599. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>
- Adi Wicaksono, W., Braun, M., Bernhardt, J., Riedel, K., Cernava, T., & Berg, G. (2022). Trade-off for survival: Microbiome response to chemical exposure combines activation of intrinsic resistances and adapted metabolic activity. *Environment International*, 168, 107474. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107474>
- Ahmadi, A., Khezri, A., Nørstebø, H., & Ahmad, R. (2023). A culture-, amplification-independent, and rapid method for identification of pathogens and antibiotic resistance profile in bovine mastitis milk. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1104701. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1104701>
- Ali, F., Mirza, I., Waseem, H., & Zafar, H. (2023). The Ever-Worsening Antimicrobial Resistance in Enterobacterales; A wakeup call. *Pakistan Armed Forces Medical Journal*, 73(2), 468-472. <https://doi.org/10.51253/pafmj.v73i2.7832>
- Alós, J.-I. (2009). Quinolonas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(5), 290-297. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.03.001>
- Altayb, H. N., Elbadawi, H. S., Alzahrani, F. A., Baothman, O., Kazmi, I., Nadeem, M. S., Hosawi, S., & Chaieb, K. (2022). Co-Occurrence of β -Lactam and Aminoglycoside Resistance Determinants among Clinical and Environmental Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*: A Genomic Approach. *Pharmaceuticals*, 15(8), 1011. <https://doi.org/10.3390/ph15081011>
- Amancha, G., Celis, Y., Irazabal, J., Falconi, M., Villacis, K., Thekkur, P., Nair, D., Perez, F., & Verdonck, K. (2023). High levels of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and

Salmonella from poultry in Ecuador. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, 1. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.15>

Amos, G. C. A., Hawkey, P. M., Gaze, W. H., & Wellington, E. M. (2014). Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(7), 1785-1791. <https://doi.org/10.1093/jac/dku079>

Ba, X., Guo, Y., Moran, R. A., Doughty, E. L., Liu, B., Yao, L., Li, J., He, N., Shen, S., Li, Y., Van Schaik, W., McNally, A., Holmes, M. A., & Zhuo, C. (2024). Global emergence of a hypervirulent carbapenem-resistant *Escherichia coli* ST410 clone. *Nature Communications*, 15(1), 494. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43854-3>

Baez, M., Espinosa, I., Collaud, A., Miranda, I., Montano, D. D. L. N., Feria, A. L., Hernández-Fillor, R. E., Obregón, D., Alfonso, P., & Perreten, V. (2021). Genetic Features of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Poultry in Mayabeque Province, Cuba. *Antibiotics*, 10(2), 107. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020107>

Baghal Asghari, F., Dehghani, M. H., Dehghanzadeh, R., Farajzadeh, D., Yaghmaeian, K., Mahvi, A. H., & Rajabi, A. (2021). Antibiotic resistance and antibiotic-resistance genes of *Pseudomonas* spp. And *Escherichia coli* isolated from untreated hospital wastewater. *Water Science and Technology*, 84(1), 172-181. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.207>

Baquero, F., Coque, T. M., Martínez, J.-L., Aracil-Gisbert, S., & Lanza, V. F. (2019). Gene Transmission in the One Health Microbiosphere and the Channels of Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2892. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02892>

Bazán-Arca, J. D., Pizarro-Santisteban, D. N., & Aguilar-Gamboa, F. R. (2025). *Agar Macconkey suplementado con cefotaxima: Su utilidad para la vigilancia de colonización por Enterobacterales productores de BLEE: ensayo piloto.*

Bethke, J. H., Ma, H. R., Tsoi, R., Cheng, L., Xiao, M., & You, L. (2023). Vertical and horizontal gene transfer tradeoffs direct plasmid fitness. *Molecular Systems Biology*, 19(2), e11300. <https://doi.org/10.15252/msb.202211300>

Bhattarai, R. K., Basnet, H. B., Dhakal, I. P., & Devkota, B. (2024). Antimicrobial resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from broiler, layer, and breeder chickens. *Veterinary World*, 480-499. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.480-499>

- Blondeau, J., Charles, M. K., Loo, V., Adam, H., Gonzalez Del Vecchio, M., Ghakis, C., O'Callaghan, E., & El Ali, R. (2023). A nested cohort 5-year Canadian surveillance of Gram-negative antimicrobial resistance for optimized antimicrobial therapy. *Scientific Reports*, 13(1), 14142. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40012-z>
- Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*, 25(6), 1340. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>
- Bush, K. (2018). Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(10), e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
- Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules*, 25(23), 5662. <https://doi.org/10.3390/molecules25235662>
- Calarco, J., Pruden, A., & Harwood, V. J. (2024). Comparison of methods proposed for monitoring cefotaxime-resistant *Escherichia coli* in the water environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 90(5), e02128-23. <https://doi.org/10.1128/aem.02128-23>
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β - lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- Chua, K. Y. L., & Stewardson, A. J. (2019). Individual and community predictors of urinary ceftriaxone-resistant *Escherichia coli* isolates, Victoria, Australia. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0492-8>
- Cox, G., & Wright, G. D. (2013). Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6-7), 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009>
- Cycoń, M., Mroziński, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2019). Antibiotics in the Soil Environment—Degradation and Their Impact on Microbial Activity and Diversity. *Frontiers in Microbiology*, 10, 338. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00338>
- Davin-Regli, A., Pages, J.-M., & Ferrand, A. (2021). Clinical Status of Efflux Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*, 10(9), 1117. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091117>

- Dhar, N., & McKinney, J. D. (2007). Microbial phenotypic heterogeneity and antibiotic tolerance. *Current Opinion in Microbiology*, 10(1), 30-38. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.12.007>
- Dos Santos, J. P., De Souza, V. F. M., Santos, M. W. D. C., Dos Santos, J. N., Dos Santos, N. S., De Oliveira, A. P., Rodrigues, V. T. D. S., Carneiro, I. O., & Vieira, L. C. A. D. S. (2021). Antimicrobial resistance profile of extended-spectrum beta-lactamases, adenosine-monophosphate-cyclic, and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated from domestic animals. *Veterinary World*, 3099-3104. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.3099-3104>
- Durante-Mangoni, E., Andini, R., & Zampino, R. (2019). Management of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(8), 943-950. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.04.013>
- Economou, V., Delis, G., Stavrou, D., Gousia, P., Tsitsos, A., Mantzios, T., Chouliara, E., Kolovos, N., & Soultos, N. (2023). Characterization of Extended Spectrum Cephalosporin-Resistant Escherichia coli Strains Isolated from Raw Poultry Carcasses in Catering Services in Northern Greece. *Veterinary Sciences*, 10(8), 487. <https://doi.org/10.3390/vetsci10080487>
- Elshamy, A. A., & Aboshanab, K. M. (2020). A Review on Bacterial Resistance to Carbapenems: Epidemiology, Detection and Treatment Options. *Future Science OA*, 6(3), FSO438. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0098>
- Fastl, C., De Carvalho Ferreira, H. C., Babo Martins, S., Sucena Afonso, J., Di Bari, C., Venkateswaran, N., Pires, S. M., Mughini-Gras, L., Huntington, B., Rushton, J., Pigott, D., & Devleeschauwer, B. (2023). Animal sources of antimicrobial-resistant bacterial infections in humans: A systematic review. *Epidemiology and Infection*, 151, e143. <https://doi.org/10.1017/S0950268823001309>
- Fernández, L., & Hancock, R. E. W. (2012). Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), 661-681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>
- Feucherolles, M., & Frache, G. (2022). MALDI Mass Spectrometry Imaging: A Potential Game-Changer in a Modern Microbiology. *Cells*, 11(23), 3900. <https://doi.org/10.3390/cells11233900>
- Flores Morales, C., Rocha Gracia, R. D. C., Barrios Villa, E., Lozano Zarain, P., & Cortés Cortés, G. (2023). Staphylococcus aureus y Escherichia coli: Dos Bacterias

Multidrogresistentes que Podemos Compartir con Nuestras Mascotas. *INVURNUS*, 17(1). <https://doi.org/10.46588/invurnus.v17i1.98>

Gautam, H., Maheshwari, B., Mohapatra, S., Sood, S., Dhawan, B., Kapil, A., & Tezpur, B. (2022). Clonal relationship among *Acinetobacter baumannii* isolates from different clinical specimens by ERIC-PCR. *International Journal of Infectious Diseases*, 116, S18-S19. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.12.044>

Gebre-egziabher, S. T., Yehuala, F. M., Kebede, Z. T., & Mehari, A. G. (2019). *Bacterial profile and their antibiotic resistance patterns from blood culture in Intensive Care Unit patients at the University Of Gondar Comprehensive Specialized Hospital, Northwest Ethiopia*. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.2.9515/v1>

Hernández-García, M., Pérez-Viso, B., Navarro-San Francisco, C., Baquero, F., Morosini, M. I., Ruiz-Garbajosa, P., & Cantón, R. (2019). Intestinal co-colonization with different carbapenemase-producing Enterobacterales isolates is not a rare event in an OXA-48 endemic area. *EClinicalMedicine*, 15, 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2019.09.005>

Hernando-Amado, S., Blanco, P., Alcalde-Rico, M., Corona, F., Reales-Calderón, J. A., Sánchez, M. B., & Martínez, J. L. (2016). Multidrug efflux pumps as main players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. *Drug Resistance Updates*, 28, 13-27. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2016.06.007>

Higa, S., Sarassari, R., Hamamoto, K., Yakabi, Y., Higa, K., Koja, Y., & Hirai, I. (2019). Characterization of CTX-M type ESBL-producing Enterobacteriaceae isolated from asymptomatic healthy individuals who live in a community of the Okinawa prefecture, Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(4), 314-317. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.09.005>

Hobson, C. A., Pierrat, G., Tenaillon, O., Bonacorsi, S., Bercot, B., Jaouen, E., Jacquier, H., & Birgy, A. (2022). *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase Variants Resistant to Ceftazidime-Avibactam: An Evolutionary Overview. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(9), e00447-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00447-22>

Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: Quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 12-31. <https://doi.org/10.1111/nyas.12830>

Husna, A., Rahman, Md. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, Md. T., Alam, J., & Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL):

Challenges and Opportunities. *Biomedicines*, 11(11), 2937. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2021). The Changing Face of the Family *Enterobacteriaceae* (Order: “ *Enterobacterales* ”): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(2), e00174-20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00174-20>

Jara, D., Bello-Toledo, H., Domínguez, M., Cigarroa, C., Fernández, P., Vergara, L., Quezada-Aguiluz, M., Opazo-Capurro, A., Lima, C. A., & González-Rocha, G. (2020). Antibiotic resistance in bacterial isolates from freshwater samples in Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Scientific Reports*, 10(1), 3145. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60035-0>

Jesudason, T. (2024). WHO publishes updated list of bacterial priority pathogens. *The Lancet Microbe*, 5(9), 100940. <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.07.003>

Kalayci Cekin, Z. (2023). Bloodstream Infections Caused by Multidrug Resistant Bacteria: Clinical and Microbiological Features and Mortality. *SiSli Etfal Hastanesi Tip Bulteni / The Medical Bulletin of Sisli Hospital*, 416-425. <https://doi.org/10.14744/SEMB.2023.31697>

Kamel, K., Merghad, A., Barour, D., Gherissi, D. E., & Khenenou, T. (2024). High antimicrobial resistance rates and multidrug resistance in Enterobacteriaceae isolates from poultry in Souk Ahras region, Algeria. *Veterinary World*, 2709-2718. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.2709-2718>

Karlowsky, J. A., Lob, S. H., Khan, T. K., Chen, W.-T., Woo, P. C. Y., Seto, W. H., Ip, M., Leung, S. W. M., Wong, Q. W.-L., Chau, R. W. Y., DeRyke, C. A., Young, K., Motyl, M. R., & Sahm, D. F. (2023). Carbapenem resistance among Gram-negative isolates collected from patients in ICU and non-ICU hospital wards in Hong Kong: SMART 2017–2020. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 33, 260-266. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.04.004>

Kasimanickam, V., Kasimanickam, M., & Kasimanickam, R. (2021). Antibiotics Use in Food Animal Production: Escalation of Antimicrobial Resistance: Where Are We Now in Combating AMR? *Medical Sciences*, 9(1), 14. <https://doi.org/10.3390/medsci9010014>

Katale, B. Z., Misinzo, G., Mshana, S. E., Chiyangi, H., Campino, S., Clark, T. G., Good, L., Rweyemamu, M. M., & Matee, M. I. (2020). Genetic diversity and risk factors for the transmission of antimicrobial resistance across human, animals and environmental

compartments in East Africa: A review. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00786-7>

Kocsis, B., Szabó, D., & Sipos, L. (2025). Gut Microbiome and Intestinal Colonization with Multidrug-Resistant Strains of Enterobacterales: An Interplay Between Microbial Communities. *Antibiotics*, 14(9), 890. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14090890>

Kollef, M. H., Shorr, A. F., Bassetti, M., Timsit, J.-F., Micek, S. T., Michelson, A. P., & Garnacho-Montero, J. (2021). Timing of antibiotic therapy in the ICU. *Critical Care*, 25(1), 360. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03787-z>

Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of Escherichia coli to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 165-170. <https://doi.org/10.1128/aem.46.1.165-170.1983>

Lambraki, I. A., Cousins, M., Graells, T., Léger, A., Henriksson, P., Harbarth, S., Troell, M., Wernli, D., Søgaaard Jørgensen, P., Desbois, A. P., Carson, C. A., Parmley, E. J., & Majowicz, S. E. (2022). Factors influencing antimicrobial resistance in the European food system and potential leverage points for intervention: A participatory, One Health study. *PLOS ONE*, 17(2), e0263914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263914>

LaPlante, K. L., Dhand, A., Wright, K., & Lauterio, M. (2022). Re-establishing the utility of tetracycline-class antibiotics for current challenges with antibiotic resistance. *Annals of Medicine*, 54(1), 1686-1700. <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2085881>

Legese, M. H., Asrat, D., Mihret, A., Hasan, B., Mekasha, A., Aseffa, A., & Swedberg, G. (2022). Genomic Epidemiology of Carbapenemase-Producing and Colistin-Resistant *Enterobacteriaceae* among Sepsis Patients in Ethiopia: A Whole-Genome Analysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(8), e00534-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00534-22>

Lerminiaux, N. A., & Cameron, A. D. S. (2019). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(1), 34-44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>

Li, K., Li, L., & Wang, J. (2023). Distribution and Antibiotic Resistance Analysis of Blood Culture Pathogens in a Tertiary Care Hospital in China in the Past Four Years. *Infection and Drug Resistance*, Volume 16, 5463-5471. <https://doi.org/10.2147/IDR.S423660>

Liakopoulos, A., Mevius, D., & Ceccarelli, D. (2016). A Review of SHV Extended-Spectrum β -Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01374>

Liu, E., Prinzi, A. M., Borjan, J., Aitken, S. L., Bradford, P. A., & Wright, W. F. (2023). #AMRounds: A systematic educational approach for navigating bench to bedside antimicrobial resistance. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 5(4), dlad097. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad097>

Logan, L. K., Zhang, L., Green, S. J., Dorevitch, S., Arango-Argoty, G. A., Reme, K., Garner, E., Aldstadt, J., Johnson-Walker, Y. J., Hayden, M. K., Weinstein, R. A., & Pruden, A. (2020). A Pilot Study of Chicago Waterways as Reservoirs of Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae* (MDR-Ent) in a High-Risk Region for Community-Acquired MDR-Ent Infection in Children. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(4), e02310-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02310-19>

Loncaric, I., Stalder, G. L., Mehinagic, K., Rosengarten, R., Hoelzl, F., Knauer, F., & Walzer, C. (2013). Comparison of ESBL – And AmpC Producing *Enterobacteriaceae* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Migratory and Resident Population of Rooks (*Corvus frugilegus*) in Austria. *PLoS ONE*, 8(12), e84048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084048>

Luo, Y., Yang, Q., Zhang, D., & Yan, W. (2021). Mechanisms and Control Strategies of Antibiotic Resistance in Pathological Biofilms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(1), 1-7. <https://doi.org/10.4014/jmb.2010.10021>

Ma, J., Song, X., Li, M., Yu, Z., Cheng, W., Yu, Z., Zhang, W., Zhang, Y., Shen, A., Sun, H., & Li, L. (2023). Global spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy. *Microbiological Research*, 266, 127249. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127249>

Marano, R. B. M., Fernandes, T., Manaia, C. M., Nunes, O., Morrison, D., Berendonk, T. U., Kreuzinger, N., Tenson, T., Corno, G., Fatta-Kassinos, D., Merlin, C., Topp, E., Jurkevitch, E., Henn, L., Scott, A., Heß, S., Slipko, K., Laht, M., Kisand, V., ... Cytryn, E. (2020). A global multinational survey of cefotaxime-resistant coliforms in urban wastewater treatment plants. *Environment International*, 144, 106035. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106035>

Martino, L. F., Petroni, D. A., & Faccone, D. D. F. (2023). *Mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas en enterobacterias clínicas: Caracterización de nuevos genes*

y análisis de plásmidos portadores Tesis doctoral.
<http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/3991>

McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, 6(2), 6.2.10. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>

Mendelson, M., Sharland, M., & Mpundu, M. (2022). Antibiotic resistance: Calling time on the 'silent pandemic'. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 4(2), dlac016. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac016>

Mir, R., Salari, S., Najimi, M., & Rashki, A. (2022). Determination of frequency, multiple antibiotic resistance index and resistotype of *Salmonella* spp. In chicken meat collected from southeast of Iran. *Veterinary Medicine and Science*, 8(1), 229-236. <https://doi.org/10.1002/vms3.647>

Mottet, A., & Tempio, G. (2017). Global poultry production: Current state and future outlook and challenges. *World's Poultry Science Journal*, 73(2), 245-256. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000071>

Moyo, S. J., Manyahi, J., Aboud, S., Mørch, K., Roberts, A. P., Blomberg, B., & Langeland, N. (2025). Extended-spectrum- β -lactamase-producing Gram-negative bacteria are associated with high mortality in children with bloodstream infections in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Infectious Diseases*, 25(1), 1416. <https://doi.org/10.1186/s12879-025-11629-4>

Mulchandani, R., Wang, Y., Gilbert, M., & Van Boeckel, T. P. (2023). Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030. *PLOS Global Public Health*, 3(2), e0001305. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0001305>

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), 4.2.15. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>

Nasilele, S. J., Shawa, M., Harvey K. Kamboyi, & Bruno S. J. Phiri. (2024). *Occurrence of cefotaxime-resistant and beta-lactamase-producing Enterobacterales in poultry from small-scale farms in the Copperbelt province of Zambia.*

Nguyen, N. V., Do, N. T. T., Nguyen, C. T. K., Tran, T. K., Ho, P. D., Nguyen, H. H., Vu, H. T. L., Wertheim, H. F. L., Van Doorn, H. R., & Lewycka, S. (2020). Community-level consumption of antibiotics according to the AWaRe (Access, Watch, Reserve)

classification in rural Vietnam. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 2(3), dlaa048. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaa048>

Nishino, K., Yamasaki, S., Nakashima, R., Zwama, M., & Hayashi-Nishino, M. (2021). Function and Inhibitory Mechanisms of Multidrug Efflux Pumps. *Frontiers in Microbiology*, 12, 737288. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737288>

Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. (2011). Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1791-1798. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110655>

Oliveira, M., Antunes, W., Mota, S., Madureira-Carvalho, Á., Dinis-Oliveira, R. J., & Dias Da Silva, D. (2024). An Overview of the Recent Advances in Antimicrobial Resistance. *Microorganisms*, 12(9), 1920. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12091920>

One Health High-Level Expert Panel (OHHLEP), Adisasmito, W. B., Almuhairi, S., Behravesh, C. B., Bilivogui, P., Bukachi, S. A., Casas, N., Cediël Becerra, N., Charron, D. F., Chaudhary, A., Ciacchi Zanella, J. R., Cunningham, A. A., Dar, O., Debnath, N., Dungu, B., Farag, E., Gao, G. F., Hayman, D. T. S., Khaitisa, M., ... Zhou, L. (2022). One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. *PLOS Pathogens*, 18(6), e1010537. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010537>

Ortiz, Y., Cerino, B., Moreno, M., Yañez, E., Heredia, N., Dávila-Aviña, J., Quezada, T., Calle, A., & García, S. (2024). Diarrheagenic *Escherichia coli* with Multidrug Resistance in Cattle from Mexico. *Journal of Food Protection*, 87(4), 100257. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100257>

Overgaauw, P. A. M., Vinke, C. M., Van Hagen, M. A. E., & Lipman, L. J. A. (2020). A One Health Perspective on the Human–Companion Animal Relationship with Emphasis on Zoonotic Aspects. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), 3789. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113789>

Palmeira, J. D., Cunha, M. V., Carvalho, J., Ferreira, H., Fonseca, C., & Torres, R. T. (2021). Emergence and Spread of Cephalosporinases in Wildlife: A Review. *Animals*, 11(6), 1765. <https://doi.org/10.3390/ani11061765>

Parte, A. C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J. P., Reimer, L. C., & Göker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5607-5612. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>

Pavelquesi, S. L. S. (2021). *Presence of Tetracycline and Sulfonamide Resistance Genes in Salmonella spp.: Literature Review*.

Perera, P. D. V. M., Gamage, S., De Silva, H. S. M., Jayatilleke, S. K., De Silva, N., Aydin, A., Enne, V. I., & Corea, E. M. (2022). Phenotypic and genotypic distribution of ESBL, AmpC β -lactamase and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in community-acquired and hospital-acquired urinary tract infections in Sri Lanka. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 30, 115-122. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.05.024>

Piekarska, K., Wołkowicz, T., Zacharczuk, K., Stepuch, A., & Gierczyński, R. (2023). The Mechanisms Involved in the Fluoroquinolone Resistance of Salmonella enterica Strains Isolated from Humans in Poland, 2018–2019: The Prediction of Antimicrobial Genes by In Silico Whole-Genome Sequencing. *Pathogens*, 12(2), 193. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020193>

Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M. D. L. E., Caniça, M., Tejedor-Junco, M. T., Igrejas, G., & Poeta, P. (2020). Escherichia coli as Commensal and Pathogenic Bacteria among Food-Producing Animals: Health Implications of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) Production. *Animals*, 10(12), 2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>

Rosini, R., Nicchi, S., Pizza, M., & Rappuoli, R. (2020). Vaccines Against Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Immunology*, 11, 1048. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01048>

Ruckert, A., Harris, F., Aenishaenslin, C., Aguiar, R., Boudreau-LeBlanc, A., Pedro Carmo, L., Labonté, R., Lambraki, I., Parmley, E. J., & Wiktorowicz, M. E. (2024). One Health governance principles for AMR surveillance: A scoping review and conceptual framework. *Research Directions: One Health*, 2, e4. <https://doi.org/10.1017/one.2023.13>

Rus, A., Bucur, I.-M., Imre, K., Tirziu, A. T., Ivan, A. A., Gros, R. V., Moza, A. C., Popa, S. A., Ban-Cucerzan, A., & Tirziu, E. (2025). Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL and AmpC β -Lactamase-Producing E. coli Isolates from Poultry in Northwestern Romania. *Antibiotics*, 14(6), 578. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14060578>

Sallam, K. I., Abd-Elrazik, Y., Raslan, M. T., Imre, K., Morar, A., Herman, V., & Zaher, H. A. (2023). Cefotaxime-, Ciprofloxacin-, and Extensively Drug-Resistant Escherichia coli O157:H7 and O55:H7 in Camel Meat. *Foods*, 12(7), 1443. <https://doi.org/10.3390/foods12071443>

- Sandhu, R., Dahiya, S., & Sayal, P. (2016). Evaluation of multiple antibiotic resistance (MAR) index and Doxycycline susceptibility of *Acinetobacter* species among inpatients. *Indian Journal of Microbiology Research*, 3(3), 299. <https://doi.org/10.5958/2394-5478.2016.00064.9>
- Schmieder, R., & Edwards, R. (2012). Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiology*, 7(1), 73-89. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.135>
- Singh, B., Dahiya, M., Kumar, V., Ayyagari, A., Chaudhari, D. N., & Ahire, J. J. (2025). Biofilm and Antimicrobial Resistance: Mechanisms, Implications, and Emerging Solutions. *Microbiology Research*, 16(8), 183. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16080183>
- Sinyawa, T., Shawa, M., Muuka, G. M., Goma, F., Fandamu, P., Chizimu, J. Y., Khumalo, C. S., Mulavu, M., Ngoma, M., Chambaro, H. M., Kamboyi, H. K., Kajihara, M., Sawa, H., Suzuki, Y., Higashi, H., Mainda, G., Munyeme, M., Muma, J. B., Nyantakyi, C. O., ... Hang'ombe, B. M. (2024). Antimicrobial Use Survey and Detection of ESBL-*Escherichia coli* in Commercial and Medium-/Small-Scale Poultry Farms in Selected Districts of Zambia. *Antibiotics*, 13(5), 467. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13050467>
- So, M.-K., Kim, S.-K., Chung, H.-S., Bae, J.-Y., & Lee, M. (2023). Large-Scale Clinical Evaluation of Rapid Blood Culture Identification Panels for Bloodstream Infections at a Tertiary Hospital. *Diagnostics*, 13(6), 1177. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13061177>
- Sohani, Z. N., Lieu, A., Bamba, R., Patel, M., Paul, M., Yahav, D., McDonald, E. G., Lawandi, A., & Lee, T. C. (2024). Establishing piperacillin–tazobactam susceptibility in ceftriaxone non-susceptible Enterobacterales: Comparing disk diffusion, Etest, and VITEK 2 automated minimal inhibitory concentration measurements vs. broth microdilution. *Clinical Microbiology and Infection*, S1198743X24005627. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.11.031>
- Ssemakadde, T., Pauline Petra, N., Busingye, J. C., Bazira, J., & Taseera, K. (2025). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* and pathogenic *E. coli* in broiler farms, Wakiso district, Uganda. *PLOS One*, 20(7), e0309599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0309599>
- Subramanya, S. H., Bairy, I., Metok, Y., Baral, B. P., Gautam, D., & Nayak, N. (2021). Detection and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae from the gut of

- subsistence farmers, their livestock, and the surrounding environment in rural Nepal. *Scientific Reports*, 11(1), 2091. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81315-3>
- Suwono, B., Eckmanns, T., Kaspar, H., Merle, R., Zacher, B., Kollas, C., Weiser, A. A., Noll, I., Feig, M., & Tenhagen, B.-A. (2021). Cluster analysis of resistance combinations in *Escherichia coli* from different human and animal populations in Germany 2014-2017. *PLOS ONE*, 16(1), e0244413. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244413>
- Tacão, M., Laço, J., Teixeira, P., & Henriques, I. (2022). CTX-M-Producing Bacteria Isolated from a Highly Polluted River System in Portugal. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(19), 11858. <https://doi.org/10.3390/ijerph191911858>
- Tadesse, S., Mulu, W., Genet, C., Kibret, M., & Belete, M. A. (2022). Emergence of High Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Species among Patients in Northwestern Ethiopia Region. *BioMed Research International*, 2022, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2022/5727638>
- Tamma, P. D., Doi, Y., Bonomo, R. A., Johnson, J. K., Simner, P. J., Antibacterial Resistance Leadership Group, Tamma, P. D., Doi, Y., & Bonomo, R. A. (2019). A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. *Clinical Infectious Diseases*, 69(8), 1446-1455. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz173>
- Tan, X., Pan, Q., Mo, C., Li, X., Liang, X., Li, Y., Lan, Y., & Chen, L. (2020). Carbapenems vs alternative antibiotics for the treatment of complicated urinary tract infection: A systematic review and network meta-analysis. *Medicine*, 99(2), e18769. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018769>
- Tanni, F. Y., Rahman Chowdhury, Md. S., Hossain, H., Faysal, Md. A., Rahman, Md. A., Al Emon, A., Asha, M. N., Hossain, Md. M., & Rahman, Md. M. (2025). Prevalence and antimicrobial resistance of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Klebsiella* spp. In poultry meat. *Heliyon*, 11(1), e41748. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41748>
- Thakuria, B. (2013). The Beta Lactam Antibiotics as an Empirical Therapy in a Developing Country: An Update on Their Current Status and Recommendations to Counter the Resistance against Them. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5239.3052>

- Tigabie, M., Biset, S., Belachew, T., Amare, A., & Moges, F. (2023). Multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from chicken droppings in poultry farms at Gondar City, Northwest Ethiopia. *PLOS ONE*, 18(6), e0287043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287043>
- Tilahun, M., Kassa, Y., Gedefie, A., & Belete, M. A. (2021). Emerging Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infection, Its Epidemiology and Novel Treatment Options: A Review. *Infection and Drug Resistance*, Volume 14, 4363-4374. <https://doi.org/10.2147/IDR.S337611>
- Tiseo, K., Huber, L., Gilbert, M., Robinson, T. P., & Van Boeckel, T. P. (2020). Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals from 2017 to 2030. *Antibiotics*, 9(12), 918. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120918>
- Too, R. J., Gitao, G. C., Bebora, L. C., Mollenkopf, D. F., Kariuki, S. M., & Wittum, T. E. (2023). Frequency and diversity of carbapenemase-producing Enterobacterales recovered from untreated wastewater impacted by selective media containing cefotaxime and meropenem in Ohio, USA. *PLOS ONE*, 18(2), e0281909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281909>
- Tseng, B. S., Zhang, W., Harrison, J. J., Quach, T. P., Song, J. L., Penterman, J., Singh, P. K., Chopp, D. L., Packman, A. I., & Parsek, M. R. (2013). The extracellular matrix protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by limiting the penetration of tobramycin. *Environmental Microbiology*, 15(10), 2865-2878. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12155>
- Tsitsos, A., Damianos, A., Kiskinis, K., Tsiouris, V., Tirodimos, I., Soultos, N., Papa, A., & Economou, V. (2025). Prevalence, Characterization, and Proteomic Relatedness Among β -Lactam-Resistant Bacteria Throughout the Poultry Production Chain in Greece. *Foods*, 14(2), 224. <https://doi.org/10.3390/foods14020224>
- United Nations Environment Programme. (2023). *Bracing for Superbugs: Strengthening Environmental Action in the One Health Response to Antimicrobial Resistance*. United Nations. <https://doi.org/10.18356/9789210025799>
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N. G., Gilbert, M., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2019). Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science*, 365(6459), eaaw1944. <https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>

- Van Duin, D. (2017). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: What we know and what we need to know. *Virulence*, 8(4), 379-382. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1306621>
- Veldman, K., Van Tulden, P., Kant, A., Testerink, J., & Mevius, D. (2013). Characteristics of Cefotaxime-Resistant Escherichia coli from Wild Birds in The Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(24), 7556-7561. <https://doi.org/10.1128/AEM.01880-13>
- Vinué, L., Sater, M. R. A., Herriott, I. C., Huntley, M. H., Wang, M., Jacoby, G. A., & Hooper, D. C. (2020). Plasmids and genes contributing to high-level quinolone resistance in Escherichia coli. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1), 105987. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105987>
- Warburton, P. J., Amodeo, N., & Roberts, A. P. (2016). Mosaic tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(12), 3333-3339. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw304>
- Webster, C. M., & Shepherd, M. (2023). A mini-review: Environmental and metabolic factors affecting aminoglycoside efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1), 7. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03445-8>
- Wei, Y., Wang, F., Gao, J., Huang, Y., Ren, W., & Sheng, H. (2021). Culture-dependent and culture-independent characterization of bacterial community diversity in different types of sandy lands: The case of Minqin County, China. *BMC Microbiology*, 21(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02150-0>
- Wickramasuriya, S. S., Ault, J., Ritchie, S., Gay, C. G., & Lillehoj, H. S. (2024). Alternatives to antibiotic growth promoters for poultry: A bibliometric analysis of the research journals. *Poultry Science*, 103(9), 103987. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103987>
- Williamson, B. D., Hughes, J. P., & Willis, A. D. (2019). *A multi-view model for relative and absolute microbial abundances*.
- Wong, D., & Spellberg, B. (2017). Leveraging antimicrobial stewardship into improving rates of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence*, 8(4), 383-390. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1188234>
- World Health Organization. (2015). *Global action plan on antimicrobial resistance*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>

Yen, M.-R., Peabody, C. R., Partovi, S. M., Zhai, Y., Tseng, Y.-H., & Saier, M. H. (2002). Protein-translocating outer membrane porins of Gram-negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1562(1-2), 6-31. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(02\)00359-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(02)00359-0)

Yuan, Y., Hu, Y., Zhang, X., Zhong, W., Pan, S., Wang, L., Zhou, Z., Liu, H., Zhang, S., Peng, G., Wang, Y., Yan, Q., Luo, Y., Shi, K., & Zhong, Z. (2024). Characteristics of MDR E. coli strains isolated from Pet Dogs with clinic diarrhea: A pool of antibiotic resistance genes and virulence-associated genes. *PLOS ONE*, 19(2), e0298053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0298053>

Zárate, S., De La Cruz Claure, M., Benito-Arenas, R., Revuelta, J., Santana, A., & Bastida, A. (2018). Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. *Molecules*, 23(2), 284. <https://doi.org/10.3390/molecules23020284>

Zhong, H., Wu, M.-L., Feng, W.-J., Huang, S.-F., & Yang, P. (2020). Accuracy and applicability of different phenotypic methods for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 21, 138-147. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.10.010>

Zhou, G., Wang, Q., Wang, Y., Wen, X., Peng, H., Peng, R., Shi, Q., Xie, X., & Li, L. (2023). Outer Membrane Porins Contribute to Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Microorganisms*, 11(7), 1690. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071690>

Zunino, P. (2018). Historia y perspectivas del enfoque “Una Salud”. *Veterinaria (Montevideo)*, 54(210). <https://doi.org/10.29155/VET.54.210.8>