



JORGE ERRECALDE - CARLOS EDDI

Resistencia a los antimicrobianos

Microorganismos, genes, medio ambiente
y posibles intervenciones

Resistencia a los antimicrobianos

Resistencia a los antimicrobianos

Microorganismos, genes, medio ambiente y posibles intervenciones

**JORGE ERRECALDE
CARLOS EDDI**



Errecalde, Jorge

Resistencia a los antimicrobianos : microorganismos, genes, medio ambiente y posibles intervenciones / Jorge Errecalde ; Carlos Eddi. - 1a ed. - La Plata: EDULP, 2026.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-631-6568-91-5

1. Medio Ambiente. 2. Antibióticos. I. Eddi, Carlos II. Título

CDD 500

Resistencia a los antimicrobianos Microorganismos, genes, medio ambiente y posibles intervenciones

JORGE ERRECALDE - CARLOS EDDI



EDITORIAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA (EDULP)

48 N° 551-599 4° Piso/ La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina

+54 221 644-7150

edulp.editorial@gmail.com

www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales de las Universidades Nacionales (REUN)

ISBN 978-631-6568-91-5

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723

© 2026 - Edulp

Impreso en Argentina

Índice

Prólogo.....	11
Introducción.....	13
Resistencia a los antimicrobianos en el medio ambiente.....	20
El resistoma	20
Genes de resistencia en el desarrollo del resistoma	26
Genes de resistencia a los antibióticos en el suelo.....	28
Monitoreo de los genes de resistencia en el medio ambiente	29
Factores que afectan el desarrollo del resistoma	32
Genes de resistencia en cuerpos de agua.....	39
Genes de resistencia en productos cárnicos, avícolas y pesqueros.....	41
 Generalidades sobre la metodología utilizada para estudiar el resistoma.....	49
Análisis metagenómico.....	52
Análisis de metagenómica funcional.....	53
Culturonómica	54
Análisis de metatranscriptómica	55
Análisis de metaproteómica y metabolómica.....	57
 Generadores y vías de transmisión de la RAM en el medio ambiente	62
Generadores de resistencia: antibióticos Escala del empleo de antibióticos en medicina humana... Escala del empleo de antibióticos en medicina veterinaria	62
 Principales familias de antibióticos y subtipos de genes de resistencias en el medio ambiente	68
Genes de resistencia a carbapenémicos.....	69

Genes de resistencia a la polimixina	71
Genes de resistencia a la tetraciclina.....	72
Genes de resistencia a las sulfonamidas	73
Principales vías de destino del empleo de antibióticos	
en el medio ambiente.....	74
Aguas residuales municipales e industriales.....	74
Aguas grises, regeneradas y aguas negras	76
Excreción de antibióticos y contaminación	
por estiércol.....	79
Aplicación al suelo de estiércol y lodos	83
Importancia ecológica de la concentración de antibióticos....	86
Co-selección de genes de resistencia a los antibióticos	
debido a otros contaminantes.....	87
Biocidas.....	87
Vías relevantes para la contaminación con biocidas.....	91
Metales pesados	92
Vías relevantes para la contaminación con metales	
pesados.....	99
Antibióticos.....	100
Vías relevantes para la contaminación con antibióticos ...	103
La resistencia a los antimicrobianos en el contexto	
de <i>Una Salud</i>	104
Antimicrobianos en el ambiente.....	104
Las β -lactamasas de espectro extendido.....	106
La actividad de las organizaciones internacionales	107
Una visión de <i>Una Salud</i> en la biosfera	110
Componentes del sistema: antibióticos y bacterias.....	112
Componentes humanos en el modelo de <i>Una Salud</i>	114
Acuicultura en el modelo multicompartamental	116
Cultivos vegetales y agricultura intensiva	119

Fauna silvestre y vectores	120
Presiones quimioterápicas y flujos en el sistema	121
Control de puntos críticos: ¿Una alternativa viable para el control de la resistencia antimicrobiana?	122
El sistema HACCP	122
Antecedentes del sistema de analisis de riesgos y control de puntos criticos	123
El control de puntos críticos para el control de la resistencia microbiana en sistemas pecuarios	125
El control de puntos críticos para el uso racional de antimicrobianos en seres humanos.....	132
El control de puntos críticos para el uso prudente de antibióticos para los pacientes	135
Mitigar la emergencia y diseminación de resistencias microbianas en el ambiente: un desafío multisectorial	136
Conclusiones	138
Referencias bibliográficas	145

La resistencia a los antimicrobianos constituye uno de los desafíos más complejos y urgentes de nuestro tiempo. No se trata solamente de un problema terapéutico ni de una dificultad técnica limitada a los ámbitos clínicos, sino de un fenómeno biológico, ambiental, social y ético que atraviesa a las sociedades modernas y pone en riesgo conquistas sanitarias que durante décadas se consideraron irreversibles.

El surgimiento y la difusión de microorganismos resistentes no son acontecimientos azarosos. Son la consecuencia directa de la interacción entre la presión selectiva ejercida por el uso masivo de antimicrobianos, la movilidad genética de los microorganismos y los profundos cambios que la actividad humana ha introducido en los ecosistemas. En este sentido, la resistencia expresa con crudeza las tensiones entre los avances de la ciencia, los modelos productivos, la organización de los sistemas sanitarios y el cuidado del ambiente.

La perspectiva de *Una Salud* (One Health)¹ permite comprender que este fenómeno no reconoce fronteras entre la medicina humana, la medicina veterinaria y las ciencias ambientales. El agua, el suelo, los alimentos, los animales domésticos y silvestres, las prácticas agrícolas, la industria farmacéutica y los sistemas de salud forman parte de un entramado único, en el cual los antimicrobianos, los microorganismos y los genes de resistencia circulan de manera constante.

Este libro propone un abordaje integral de la resistencia a los antimicrobianos, que trasciende la mirada exclusivamente clínica para adentrarse en las dimensiones ambientales, productivas y sociales del problema. Aporta una revisión crítica de los mecanismos biológicos de la resistencia, de las vías de contaminación por antimicrobianos, metales pesados y biocidas, así como del rol de los sistemas productivos y de los determinantes sociales de la salud en la configuración actual de la crisis.

Lejos de plantear diagnósticos simplistas, la obra invita a reflexionar sobre las responsabilidades compartidas. Gobiernos, agencias regulatorias, profesionales de la salud, productores, industria y sociedad civil están llamados a asumir un rol activo, basado en la evidencia científica, la ética y el compromiso con las generaciones futuras.

Finalmente, este trabajo pretende contribuir a un cambio de paradigma: pasar de una lógica exclusivamente reactiva a una cultura preventiva, integrada y sustentable, que permita preservar la eficacia de los antimicrobianos —uno de los pilares de la medicina moderna— y garantizar el derecho a la salud en su sentido más amplio: humano, animal y ambiental.

¹ *Una Salud* (One Health): enfoque que reconoce la interrelación entre la salud humana, animal y ambiental, promoviendo abordajes integrales e interdisciplinarios.

Las bacterias nos llevan unos 3.500 millones de años de ventaja en su experiencia sobre el planeta. Ellas han sabido responder a todos los desafíos que la naturaleza les ha impuesto. ¿Son en realidad las bacterias las que se cruzan en nuestro camino, o somos nosotros los que nos cruzamos en el camino de ellas?

Las bacterias están en todos lados, son cosmopolitas. Hay quien ha estimado el número de bacterias sobre la Tierra en 5 millones de trillones de trillones (hablamos de trillones americanos), es decir, que estamos hablando de un 5 seguido por 30 ceros.

El ADN recuperado de sedimentos de permafrost de Beringia, de 30.000 años de antigüedad (el permafrost es la capa de suelo permanentemente congelado —pero no permanentemente cubierto de hielo o nieve— de las regiones muy frías o periglaciares, como la tundra), indica que los genes de resistencia a los antibióticos, que codifican resistencia a betalactámicos, tetraciclinas y glicopéptidos, son anteriores a su uso clínico por miles de años (D’Costa, V.M., et al., 2011; Errecalde, J., 2004).

Podemos decir que los mamíferos, y nosotros los humanos en particular, somos bacterias. El 90 % de las células en un mamífero son bacterias; 1,5 kilos de nuestro cuerpo son bacterias. Hablamos, entonces, de un conjunto de bacterias que habitan dentro del organismo de un mamífero, especialmente dentro del tubo digestivo, y lo definimos como microbioma o bacterioma. En un ser humano está representado aproximadamente por 100 trillones de bacterias. Esos 100 trillones de bacterias tienen un rol crítico en la salud. Colaboran en la digestión, en la síntesis de elementos esenciales para la vida y se encuentran en un equilibrio con el hospedador que es beneficioso para ambos, es decir, una simbiosis (Sender, R., et al., 2016).

Es interesante notar algunas publicidades de agentes antisépticos que se difunden por medios masivos de comunicación, en las que se ofrece un producto que elimina el 99,9 % de las bacterias. Si existiera un producto que elimina el 99,9 % de las bacterias y efectivamente eso fuera cierto, también morirían los humanos, porque nuestra interacción con las bacterias es crítica para nuestra salud y para nuestra vida (Errecalde, J., 2004).

Las bacterias pueden desarrollarse en las condiciones más extremas, por ejemplo, en la Antártida a temperaturas bajísimas o en volcanes de fosas oceánicas a presiones y temperaturas elevadísimas (Marcoleta, A.E., et al., 2022).

La resistencia microbiana es un tema de enorme importancia en salud pública que ha ido ganando trascendencia en los últimos años. Si bien conocemos la resistencia desde la década del 50, prácticamente desde el inicio de la utilización de antimicrobianos en forma clínica, el fenómeno ha ido ganando magnitud y los profesionales de la salud han ido comprendiendo su gravedad, hasta representar, en este momento, un problema de preocupación internacional.

Los antibióticos y quimioterápicos, o “drogas maravillosas” (así definidas en sus primeras épocas, muy acertadamente), han generado una verdadera revolución terapéutica en los últimos cien años. Su aparición dentro del arsenal farmacológico médico produjo un cam-

bio de tal magnitud que, aún en nuestros días, es difícil de cuantificar. El problema de la gran cantidad de muertes que se producían por enfermedades infecciosas fue resuelto prácticamente en su totalidad.

La utilización veterinaria de antimicrobianos comienza prácticamente al mismo tiempo que en seres humanos. Ya en las primeras etapas del uso de antiinfecciosos en animales, se descubrió que las carnes provenientes de animales recientemente tratados con antimicrobianos “no se descomponían”, evidenciando que la presencia del fármaco prevenía la proliferación bacteriana. Esta propiedad fue utilizada para la conservación de alimentos cárnicos. Con el paso del tiempo, se comenzó a comprender que la presencia de antimicrobianos en los alimentos es una seria amenaza para la salud pública (WHO, 13 de octubre de 2020; FAO, referencia CXG77, FAO Codex Alimentarius, 2021).

Los antimicrobianos son utilizados en medicina humana para la terapéutica de enfermedades infecciosas y, raramente, en forma preventiva.

En medicina veterinaria, estas drogas son usadas también clínicamente con fines terapéuticos, como en medicina humana, administrando el tratamiento solo a los animales enfermos. No obstante, los antibióticos se administran también en forma metafiláctica, la cual se define como “la administración de un medicamento a un grupo de animales, previo diagnóstico de una enfermedad clínica en parte del grupo, con el fin de tratar a los animales clínicamente enfermos y controlar la transmisión de la enfermedad a animales en estrecho contacto y en peligro, y que ya puedan estar infectados de forma subclínica” (Reglamento (UE) 2019/6 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de diciembre de 2018, sobre medicamentos veterinarios, y por el que se deroga la Directiva 2001/82/CE; CEVA, 2022).

La metafilaxia tiene sus pros y sus contras. Por un lado, el evidente beneficio que supone evitar que animales sanos y productivos, que puedan estar ya infectados, se enfermen. Y, en segundo lugar, la probable eliminación total del patógeno de la explotación, si no

sobrevive en el ambiente, al evitar que queden animales portadores que diseminen la bacteria. Sin embargo, lamentablemente es más probable que se seleccionen bacterias resistentes que, en ausencia de otras competidoras que sí han muerto debido al antibiótico, proliferen y se conviertan en la cepa mayoritaria (CEVA, 2022; Fraile, L., 2016). Dado lo expuesto, los medicamentos antimicrobianos solo se deberían utilizar con fines metafilácticos cuando el riesgo de propagación de una infección o de una enfermedad infecciosa en el grupo de animales sea elevado y no se disponga de alternativas adecuadas (Reglamento (UE) 2019/6...).

Finalmente, los antibióticos son utilizados en medicina veterinaria, en algunas regiones, como promotores de crecimiento. En este sentido, ha habido una controversia en desarrollo en torno al uso de antibióticos como promotores del crecimiento en las especies productoras de alimentos. En estos casos, se utilizan en dosis bajas en grandes grupos de animales. Se considera que el antibiótico, usado de esta manera, mejora la calidad del producto, con un menor porcentaje de grasa y un mayor contenido proteico en la carne. Otros beneficios del uso de antibióticos como promotores del crecimiento incluirían el control de patógenos zoonóticos como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* y enterococos, por lo que el tratamiento antibiótico estaría reemplazando, de algún modo, a las buenas prácticas de producción animal, que en estos tiempos ya son imprescindibles y se deberían aplicar rigurosamente.

El uso de cualquier antibiótico está asociado con la selección de resistencia en bacterias patógenas. Sabemos que el uso de antibióticos promotores del crecimiento impone una presión de selección para bacterias que son resistentes a los antibióticos que pueden ser utilizados en la práctica médica o veterinaria, por lo tanto, comprometen el uso de esos fármacos. La mejor alternativa a los antibióticos promotores del crecimiento es una mejora general de las especies productoras de alimentos, siguiendo los principios de las buenas prácticas de bienestar y producción animal. En aquellos lugares en los que aún se

utilizan los antibióticos como promotores del crecimiento, se debe limitar rápidamente el uso de antibióticos de importancia en medicina humana (Torres, C.; Zarazaga, M., 2011).

Es un hecho indiscutible que cuanto menor es el nivel de desarrollo de un país, menores son sus chances de tener explotaciones de excelencia, con buenas instalaciones, personal técnico altamente calificado, buenas prácticas y respeto del bienestar animal. Es por eso que los países importadores de alimentos deberían esforzarse por contribuir a mejorar la calidad productiva de los países productores de alimentos, que, en muchos casos, son de medianos a bajos ingresos. Se trata de un paso fundamental para incorporar a países con buenas posibilidades productivas al circuito comercial internacional.

La introducción de los antibióticos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas fue un avance significativo en el campo de la medicina, tanto humana como veterinaria. No fue este, sin embargo, un avance sin costos, dado que, a medida que los antimicrobianos eran utilizados, en un principio solamente en base a criterios empíricos, algunas bacterias se iban seleccionando como resistentes a los antibióticos, sin que esa selección fuera necesariamente advertida. Si bien esta resistencia fue reconocida, lo fue solamente como un hallazgo de laboratorio. No se le dio demasiada trascendencia a este fenómeno, hasta que la magnitud del mismo —recién advertida en tiempos recientes— hizo comprender que, en algún momento, dificultaría la terapéutica antimicrobiana en su totalidad.

El noventa por ciento de los antibióticos utilizados en la clínica médica se identificaron originalmente a partir de microorganismos (Clardy, J., 2009). Por ejemplo, vancomicina, kanamicina y eritromicina, producidas por *Streptomyces orientalis*, *Streptomyces kanamyceticus* y *Saccharopolyspora erythraea*, respectivamente, fueron aisladas de muestras de suelo. La mayoría de las clases de antibióticos conocidas que se utilizan en la actualidad provienen de *Actinomycetes* y especialmente del género *Streptomyces* (Nasfi, Z. et al., 2018). Esas clases incluyen antibióticos como los betalactámicos, tetraciclinas,

macrólidos, aminoglucósidos y glicopéptidos. No sorprende que los sistemas del suelo sean reservorios abundantes de compuestos antimicrobianos naturales y contaminantes antibióticos de origen antropogénico, los cuales terminan seleccionando genes de resistencia (Fenical, W., et al., 2006; Hatosy, S.M., et al., 2015; Hernández, J., et al., 2012).

Los actinomicetos del suelo, incluido *Streptomyces*, son una fuente común de compuestos antibióticos. Sin embargo, el océano también alberga géneros de actinomicetos únicos, incluidos *Salinispora* y *Marinispora*. Los actinomicetos marinos pueden producir metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (Fenical, W., et al., 2006).

Por ejemplo, el muestreo de agua costera en el sur de California ha llevado al aislamiento de marinomicina A, un producto natural con actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina (VREF) (Fenical, W., et al., 2006). El pestalone es otro producto antimicrobiano natural contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (VREF), producido solo en el cultivo conjunto de un hongo marino, *Pestalotia* sp., con una bacteria marina aún no identificada (Villa, F.A., 2010; Cueto, M., 2001).

La mayoría de los agentes antibacterianos (incluidos los ionóforos) comprados en los EE. UU. son para uso agrícola (15,4 millones de kg, o el 80 % del total anual en 2014) (Spellberg, B., et al., 2013; Spellberg, B., et al., 2016).

Se han detectado antibióticos de una amplia gama de clases, incluidos macrólidos, lincosamidas, sulfonamidas, análogos de cloranfenicol y fluoroquinolonas, en agroecosistemas (Williams-Nguyen, J., et al., 2016). Los antibióticos que se usan en dosis terapéuticas para tratar infecciones existentes en el ganado también se han administrado a menudo de forma profiláctica para prevenir enfermedades hasta 2017 (O'Neill, C.B.Y.J., 2020).

Otro contribuyente agrícola a la propagación de la resistencia, que se ha pasado por alto, es el uso de antibióticos para la protección de cultivos (Kaur, 2000). Históricamente, los antibióticos vegetales han representado menos del 0,5 % del uso total de antibióticos (Fillinger, U. et al., 2006). Sin embargo, la reciente aprobación para la aplicación de estreptomicina y oxitetraciclina para prevenir la propagación de la cancrrosis de los cítricos y las enfermedades pandémicas del enverdecimiento de los cítricos llevó a un aumento de 18 veces en el uso agrícola de estos antibióticos (Boyce, R., et al., 2013).

Este cambio regulatorio podría resultar en una aparición sin precedentes de genes de resistencia en los alimentos vegetales. Además, el uso combinado de antibióticos y bioplaguicidas, estos últimos compuestos por especies bacterianas que han sido seleccionadas en función de su competencia genética para producir antibióticos, se constituye en otra potencial amenaza (US Food and Drug Administration. Investigation Summary, 2019; Dimopoulou, A., et al., 2019).

Los antibióticos no metabolizados que se encuentran en los efluentes hospitalarios pueden llegar a las plantas de tratamiento de aguas residuales, donde la eliminación de los antibióticos puede ser incompleta y, en última instancia, seleccionar genes de resistencia a los antibióticos en el medio ambiente acuoso natural (Publications Office of the European Union. State of the Art on the Contribution of Water to Antimicrobial Resistance, 2018).

La contribución de las aguas residuales a la propagación de la resistencia a los antibióticos está respaldada por los patrones de bacterias resistentes caracterizados en las plantas de tratamiento de aguas residuales, que reflejan su prevalencia clínica respectiva (Pärnänen, K.M.M., et al., 2019). Dado que la mayoría de estas plantas no están diseñadas para eliminar completamente los contaminantes, los antibióticos persisten durante los procesos de tratamiento. Los efluentes van a parar a las aguas receptoras, mientras que los lodos residuales se utilizan como fertilizante (Franklin, A.M., et al., 2018). Todos estos antimicrobianos y determinantes de resistencia difunden en las aguas

superficiales, donde se han informado concentraciones de antibióticos en el rango de microgramos por litro (Kolpin, D.W., et al., 2002). Este estudio permitió proporcionar el primer reconocimiento de la presencia de productos farmacéuticos, hormonas y otros contaminantes orgánicos de aguas residuales (OWC, por sus siglas en inglés) en los recursos hídricos en EE. UU. El estudio geológico involucró el empleo de cinco métodos analíticos desarrollados para medir concentraciones de 95 contaminantes orgánicos en muestras de agua de una red de 139 arroyos que se conectaban a 30 estados durante 1999 y 2000. Los antibióticos con las concentraciones más altas detectadas en el agua receptora fueron trimetoprima, sulfisoxazol, ciprofloxacina y el antihelmíntico albendazol (Faleye, A.C., 2019). Recordemos que se trata de antimicrobianos y no de determinantes de resistencia (genes), que suelen superar todos los métodos de control.

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN EL MEDIO AMBIENTE

El resistoma

El término “resistoma antibiótico” fue acuñado por primera vez por Gerry D. Wright, en 2007, definiéndolo, en un principio, como los determinantes genéticos de resistencia presentes en el suelo. Más tarde, el resistoma fue definido como “la colección de todos los genes de resistencia a los antibióticos (ARGs)” y sus precursores, tanto en bacterias patógenas como no patógenas (Wright, G.D., 2007; Kim, D.W., Chan, C.J., 2021).

Después de numerosos estudios sobre el resistoma, la definición se hizo más precisa aún, considerando diversos tipos de resistencia tales como:

- **Resistencia adquirida por transferencia horizontal o vertical, taxones no específicos.**

La transferencia horizontal de genes (THG) es el traspaso de material genético entre especies distintas y su perpetuación a través de sucesivas generaciones. Actualmente se acepta que esta transferencia es bastante común en bacterias y organismos simples, donde la reproducción es por clonación, asexual. La transferencia horizontal genética o transferencia lateral de genes es el evento por el cual un organismo adquiere material genético de otra célula que no es su progenitor.

En tanto que la transferencia vertical, por el contrario, ocurre cuando un organismo recibe material genético de sus ancestros, como en el caso de las bacterias, en las cuales la duplicación ocurre por fisión binaria.

- **Resistencia intrínseca transmitida solo verticalmente, taxones específicos.**

La resistencia intrínseca puede definirse como un rasgo que se comparte universalmente dentro de una especie bacteriana, es independiente de la exposición previa a antibióticos y no está relacionada con la transferencia horizontal de genes. Hay organismos que a menudo se consideran intrínsecamente resistentes a uno o más antibióticos.

Sin embargo, cuando se discute el enigma de la resistencia a los antimicrobianos, las bacterias que albergan determinantes intrínsecos no son el foco principal del problema. En entornos clínicos, por lo general se utiliza la expresión “resistencia adquirida”. La resistencia adquirida hace referencia a una población bacteriana que originalmente era susceptible al compuesto antimicrobiano.

El desarrollo de resistencia adquirida puede ser el resultado de mutaciones en genes cromosómicos. Esta también puede ocurrir debido a la adquisición de determinantes genéticos de resistencia externos, probablemente obtenidos de organismos resistentes presentes en el medio ambiente. Los mecanismos bacterianos más comunes

involucrados en la resistencia intrínseca son: la reducción de la permeabilidad de la membrana externa (más específicamente, el lipopolisacárido, LPS, en bacterias gramnegativas), la actividad natural de las bombas de expulsión y la producción de enzimas inactivantes de ciertos antimicrobianos. Las bombas de expulsión de múltiples fármacos también son un mecanismo común de resistencia inducida.

- **Resistencia críptica silenciosa, RCS (fenotípicamente sensible, funcional, pero no expresa) y protorresistencia (fenotípicamente sensible, con poca o nula actividad hasta la mutación)** (Perry, J.A., et al., 2014).

La RCS y la protorresistencia son dos fenómenos emergentes que amenazan la eficacia de los antibióticos. Es importante comprender estas amenazas y tomar medidas para prevenir su aparición y propagación.

El término resistoma, conceptualmente, es dinámico y, simplemente, se lo puede definir como el conjunto de genes de resistencia a los antibióticos (ARG) en un microbioma. Se entiende por microbioma a la comunidad de microorganismos (como hongos, bacterias y virus) que existe en un ambiente particular. En los seres humanos, el término se utiliza a menudo para describir los microorganismos que viven en una parte determinada del cuerpo, como la piel o el tracto gastrointestinal.

En el presente trabajo, el resistoma se define como el conjunto de todos los determinantes genéticos que confieren a los microorganismos que los portan resistencia a los antimicrobianos. Concretamente, el término se utiliza para describir las capacidades de resistencia de las bacterias que impiden la eficacia de los antibióticos (D'Costa, V.M., et al., 2006; Dias, et al., 2020).

En un principio, ante la aparición de la resistencia a los antibióticos, se pensó que el fenómeno estaba directamente vinculado a las bacterias patógenas y, en particular, a la epidemiología. El reconocimiento del

resistoma permitió entender que los genes de resistencia en esas bacterias están lejos de representar al total del mundo microbiano.

La hipótesis más aceptada durante mucho tiempo acerca del origen de muchos de estos genes de resistencia ha sido que los propios microorganismos productores de antibióticos los poseían como mecanismos de defensa frente a estos compuestos que ellos mismos sintetizaban, los cuales podrían ser posteriormente transferidos a las bacterias patógenas. Como se mencionó anteriormente en la introducción, los genes de resistencia a los antibióticos que, por ejemplo, codifican resistencia a betalactámicos, tetraciclinas y glicopéptidos son anteriores a su uso clínico por miles de años (D'Costa, V.M., 2011).

Esa es la hipótesis más firme, aunque la mutación aleatoria del genoma bacteriano dentro del bacterioma intestinal también puede ser una buena explicación. Eso en cuanto a la génesis de los determinantes de resistencia. Obviamente, cuando se habla solamente de la adquisición, la transferencia horizontal es, seguramente, el mecanismo más importante.

Si bien los antibióticos y los genes de resistencia a los antibióticos que los acompañan provienen de hábitats naturales, antes de la secuenciación y especialmente de la secuenciación de próxima generación (el término “secuenciación de próxima generación” hace referencia a las tecnologías diseñadas para analizar gran cantidad de ADN de forma masiva y paralela), la mayoría de los estudios de resistencia a los antibióticos, en un principio, habían sido confinados al laboratorio de microbiología (Martínez, J.L., 2008).

La mayor disponibilidad de técnicas de secuenciación metagenómica y de genoma completo de próxima generación ha revelado reservorios significativos de bacterias resistentes a los antibióticos fuera de los entornos clínicos (McArthur, A.J., et al., 2013; Manaia, C.M., et al., 2018; Brown, E.D., et al., 2016).

El riego con aguas residuales puede afectar el resistoma del suelo. Se ha demostrado que el riego con aguas residuales no tratadas puede aumentar la cantidad de bacterias multirresistentes; incluso el

fenómeno se observa aun después de períodos sin riego (Monitoring of Indicator and Multidrug Resistant Bacteria in Agricultural Soils under Different Irrigation Patterns. Agric., 2017).

Dantas, G., et al., 2008, lograron aislar bacterias multirresistentes del suelo que también podrían crecer en presencia de varios de los antibióticos probados, lo que sugiere que el reservorio del suelo contribuye al aumento de los niveles de bacterias patógenas multirresistentes.

En estudios de la susceptibilidad a antibióticos de aislados de muestras de suelo antártico, se observó una alta incidencia de resistencia para una amplia gama de antimicrobianos. Esto fue observado tanto para muestras provenientes de zonas humanizadas como de zonas prístinas (zonas naturales que no han sido considerablemente modificadas por el ser humano) y es de destacar que las cepas aisladas de sitios prístinos poseían mayor multirresistencia.

La identificación taxonómica de los aislados mostró que, en las muestras de suelo antártico analizadas, *Pseudomonas* corresponde al género multirresistente cultivable más abundante. Mediante la combinación de las tecnologías de secuenciación Nanopore (MinION) e Illumina, se logró el ensamblaje completo del genoma de la cepa *Pseudomonas* spp. YeP6b, la cual corresponde al aislado con mayor multirresistencia, aun cuando procede de un sitio prístino (Costa, J.I., 2019).

Debemos considerar que la presencia de determinantes de resistencia en esas zonas prístinas estaría indicando la existencia de resistencia antimicrobiana desde mucho tiempo antes de la introducción de los antibióticos. Sin embargo, esas zonas, aun extremadamente aisladas, no escapan de la influencia (aunque mínima) de las zonas humanizadas antárticas, cruceros, etc. Se trata de un tema de gran importancia que amerita ser cuidadosamente estudiado.

Para determinar el origen de la resistencia microbiana en la Antártida, se necesita más investigación considerando:

- **Análisis comparativo:** comparar los genes de resistencia encontrados en la Antártida con los de otras regiones del mundo, incluyendo zonas con y sin influencia humana.
- **Estudios geoquímicos:** analizar el suelo y el agua antárticos para determinar si hay presencia de contaminantes de origen humano.
- **Modelado matemático:** simular la dispersión de microorganismos y genes de resistencia a partir de bases y cruceros.

Se debe considerar seriamente que la Antártida no es un ecosistema completamente aislado, y la llegada de microorganismos por medios naturales (viento, aves, etc.) es posible. Además, la actividad humana en la Antártida está aumentando, lo que incrementa el riesgo de contaminación.

La secuenciación de nanoporos es una tecnología única y escalable que permite el análisis directo y en tiempo real de fragmentos de ADN o ARN. Funciona al monitorear los cambios en una corriente eléctrica a medida que los ácidos nucleicos pasan a través de un nanoporo de proteína. La señal resultante se decodifica para proporcionar la secuencia específica de ADN o ARN. En tanto que Illumina desarrolla productos de secuenciación y microarrays para diversas aplicaciones médicas.

El reservorio de genes de resistencia a los antibióticos podría constituirse en fuente de transmisión entre bacterias del suelo no patógenas y patógenas en medicina, si bien la dinámica general de este fenómeno no se ha asociado, hasta el presente, con la práctica clínica (Forsberg, K.J., et al., 2012; Maeusli, M., 2020).

En este contexto, muy recientemente ha surgido el concepto de resistoma antibiótico, que comprende el conjunto de todos los genes que contribuyen directa o indirectamente a la resistencia a los antibióticos.

Dicho resistoma antibiótico estaría constituido por:

a) los genes de resistencia de los microorganismos ambientales, muchos de ellos procedentes del suelo, tanto product-

res como no productores de antibióticos (resistoma ambiental); b) los genes de resistencia de las bacterias patógenas (resistoma clínico); c) los genes intrínsecos presentes en los cromosomas bacterianos que contribuyen a la resistencia (resistoma intrínseco); y d) los genes que codifican proteínas metabólicas pero que podrían ser los precursores de genes de resistencia a los antibióticos a través de procesos evolutivos y que han sido denominados genes de proto-resistencia (Wright, G.D., 2010).

La complejidad del resistoma y de sus componentes habla a las claras de la complejidad del fenómeno de la resistencia en su conjunto. Esta división del gran problema del resistoma en resistomas “menores” seguramente contribuirá a tener más clara la distribución y dinámica de los genes que codifican resistencia.

Genes de resistencia en el desarrollo del resistoma

La información genética puede transferirse fundamentalmente mediante dos vías:

1. la transferencia vertical, que se da de generación en generación (de padres a hijos o desde un ancestro evolutivo, es decir, como herencia), y
2. la transferencia horizontal o lateral de genes (THG), que se da entre dos organismos independientemente del parentesco que tengan y que permite la adquisición de genes que no estaban presentes en el genoma ancestral.

La THG es un proceso común en todos los dominios de la vida que se da en todas las direcciones posibles, saltando las barreras filogenéticas y diluyendo los límites del concepto de especie. La transferencia horizontal o lateral de genes es particularmente importante en los microorganismos, donde es una parte crítica de la evolución de las bacterias. De hecho, se estima que hasta el 80 % de los genes en un genoma bacteriano estándar han sido obtenidos mediante la transferencia horizontal o lateral de genes en algún punto de su historia.

Gracias a la transferencia horizontal de genes, las bacterias son capaces de adquirir, por ejemplo, nuevas rutas metabólicas completas, la capacidad de crecer en ambientes extremos o degradar compuestos tóxicos (como los antibióticos), lo que les ha permitido colonizar prácticamente la totalidad de la biosfera. Se entiende por biosfera la capa constituida por agua, tierra y una masa delgada de aire en la cual se desarrollan los seres vivos; comprende desde unos 10 km de altitud en la atmósfera hasta los fondos oceánicos.

Además, la THG tiene profundas consecuencias para la salud humana, siendo un factor clave en la diseminación de genes de resistencia a antibióticos. El análisis de secuencias genómicas ha revelado que el desarrollo de resistencia en bacterias es un proceso que consiste típicamente en la adquisición de genes de resistencia preexistentes mediante THG y su posterior amplificación en respuesta a la selección.

Gracias a la THG, las bacterias pueden adquirir resistencia a múltiples antibióticos en un solo evento, lo que complica enormemente nuestra capacidad para luchar contra las enfermedades infecciosas. De hecho, la transferencia horizontal o lateral de genes es especialmente relevante en el ambiente hospitalario, donde el uso de antibióticos es frecuente, creando un nicho óptimo para la transferencia y selección de mecanismos de resistencia.

En el caso particular del resistoma, la transferencia horizontal de genes (THG) es más rápida para proporcionar genes cruciales para la supervivencia de las bacterias que las mutaciones espontáneas (Lerminiaux y Cameron, 2019). Este tipo de transferencia de genes está mediada por elementos genéticos móviles (EGM), siendo los plásmidos los elementos principales en la formación y propagación de los genes resistentes a los antimicrobianos (Sultan, I., et al., 2018). Por ejemplo, la transferencia de genes de resistencia para antibióticos comunes como los β -lactámicos, glicopéptidos y quinolonas está mediada por plásmidos (Sultan, I., et al., 2018).

Muchos son los factores que afectan el desarrollo y la evolución del resistoma. La transferencia horizontal o lateral de genes es ampliamente aceptada como el impulsor clave en la propagación de genes de resistencia a los antimicrobianos en el medio ambiente (Soucy, S.M., et al., 2015). La presión selectiva de antibióticos también puede aumentar el volumen de genes de resistencia en el medio ambiente y acelerar la evolución del resistoma (Chen, Q., et al., 2016; Qiao, M., et al., 2018).

La probabilidad de evolución de los genes de resistencia aumenta rápidamente en los “puntos calientes” de resistomas (hábitats donde las poblaciones microbianas endógenas encuentran dosis subletales de antibióticos). Además de la acumulación de antimicrobianos (Zeineldin, M., et al., 2019), el resistoma también está influido por muchos otros factores externos diferentes, que incluyen plantas (Lu, X.M., Lu, P.Z., 2019), estiércol (Zhu, Y.G., et al., 2013), biocarbón (Duan, Y., et al., 2017), estruvita (Chen, Q., et al., 2017), metales pesados (Ji, X., et al., 2012), lodos de depuradora (Burch, T.R., et al., 2016) y compuestos aromáticos (Xia, J., et al., 2019).

Genes de resistencia a los antibióticos en el suelo

Los antibióticos agrícolas, el estiércol del ganado y las aguas residuales hospitalarias, municipales, agrícolas y acuícolas son fuentes importantes de residuos de antibióticos que contaminan el suelo (D’Costa, V.M., et al., 2006; Marshall, B.M., et al., 2011; Manyi-Loh, C., et al., 2018). Por lo tanto, las bacterias del suelo actúan como reservorios de genes de resistencia a los antibióticos (Forsberg, K.J., et al., 2012; Crits-Christoph, A., et al., 2018). Múltiples estudios han demostrado un aumento sustancial en las bacterias ambientales resistentes no patógenas.

En la última década, diversos grupos de investigación han demostrado que las bacterias ambientales, especialmente las procedentes del suelo, contienen una gran diversidad de genes de resistencia, algunos

similares a los detectados en las bacterias patógenas. En dos interesantes trabajos, más del 97 % de las ciento veintitrés cepas analizadas fueron resistentes a la ciprofloxacina y casi el 50 % fueron resistentes a la eritromicina (Canton, R., 2009; Forsberg, K.J., et al., 2012).

Las cepas ambientales portadoras de genes de resistencia a los antibióticos no necesariamente están estrechamente relacionadas con los patógenos humanos. Las bacterias desnitrificantes, clasificadas en los géneros *Brachymonas*, *Candidatus Competibacter*, *Thiobacillus* y *Steroidobacter*, que se encuentran en el proceso de tratamiento de aguas residuales anóxicas en granjas porcinas, son hospedadores importantes de genes de resistencia (Yang, Y., et al., 2020). *Pseudomonas* también es un género dominante en el medio ambiente que consta de muchas especies, como las no patógenas *P. fluorescens* y *P. putida* y el patógeno clínico de gran importancia *P. aeruginosa*, que a menudo está asociado con fenotipos de resistencia a múltiples fármacos (Luczkiewicz, A., et al., 2015; Pezhman, K., et al., 2019).

Monitoreo de los genes de resistencia en el medio ambiente

Los puntos críticos de resistomas en áreas urbanas, como son las plantas de tratamiento de aguas residuales (Liu, Z., et al., 2019), las granjas de cría intensiva de animales (Weixiao Cheng, et al., 2013) y los hospitales (Rodríguez-Mozaz, et al., 2015), generalmente están bajo vigilancia intensa. Sin embargo, existe una alta probabilidad de que los genes de resistencia evolucionen rápidamente en estos puntos críticos debido a la acumulación de antimicrobianos y otros factores que pueden co-seleccionar los genes de resistencia a los antibióticos (Ji, X., et al., 2012).

Se ha propuesto que, en las plantas de tratamiento de aguas residuales, se dan condiciones favorables para cambios taxonómicos de cepas que poseen resistencia intrínseca o mutaciones cromosómicas, en lugar de medios para adquirir elementos genéticos móviles (EGM)

(Bengtsson-Palme, J., et al., 2019). Esto es particularmente interesante, especialmente considerando que normalmente es la THG el mecanismo mayoritario para la adquisición de resistencias.

Entonces, si bien la THG es un mecanismo importante de adaptación bacteriana, las mutaciones y los cambios taxonómicos no pueden descartarse. En las plantas de tratamiento, las condiciones de estrés podrían aumentar la tasa de mutaciones y la selección natural podría favorecer a las cepas con mutaciones beneficiosas. La importancia relativa de cada mecanismo dependerá de las características específicas del ambiente y de las bacterias presentes.

La digestión anaerobia, un paso clave en algunas plantas de tratamiento de aguas residuales, redujo la mayoría de los patógenos bacterianos humanos entre un 70 y un 95 %; sin embargo, el proceso solo reduce a los genes de resistencia entre un 20 y un 52 % (Ju, F., et al., 2016). Los efluentes de estos puntos críticos contienen una gran cantidad de genes de resistencia que, inevitablemente, pueden acelerar la evolución del resistoma ambiental. Esta evolución puede facilitar la adquisición de genes de resistencia por patógenos humanos bajo presión de selección de antibióticos.

Recientemente, un estudio retrospectivo mostró el predominio de genes de resistencia a múltiples fármacos (bacitracina y aminoglucósidos) en plantas de tratamiento de aguas residuales asiáticas (Zhang, T., 2016).

Además, muchos genes de resistencia a los antibióticos comunes que se encuentran en los patógenos humanos parecen originarse en el resistoma ambiental (Forsberg, K.J., et al., 2012; Wright, G.D., 2010). Por lo tanto, existe una necesidad urgente de evaluar y monitorear los cambios en el conjunto ambiental de los genes de resistencia, en función de las presiones selectivas aplicadas sobre el medio ambiente.

Se requieren estudios de simulación para examinar diversas variables (bacterias, antibióticos, estiércol y otros factores discutidos anteriormente) para ayudar a la construcción de modelos que muestren el efecto de diversas presiones selectivas en el desarrollo del re-

sistoma en diferentes hábitats. Por ejemplo, Xiong, W., et al. (2018), utilizando pollos como modelo, demostraron que un cambio en la composición del microbioma intestinal era clave para la variación del resistoma. Más específicamente, las dosis terapéuticas de tetraciclina redujeron la abundancia de *Enterobacteriaceae*, el principal portador de genes de resistencia en pollos (Xiong, W., et al., 2018).

Klümper, U., et al. (2019) también informaron que las concentraciones selectivas mínimas de gentamicina y kanamicina aumentaron cuando *E. coli* se instaló en una comunidad bacteriana. Resulta evidente que el nuevo microorganismo instalado aportó determinantes de resistencia a esa comunidad.

Es vital que se entienda el efecto del uso de antibióticos en el resistoma del ganado en las granjas, debido a la estrecha conexión entre el ganado y los humanos. Una encuesta reciente de gran alcance en Europa encontró que los perfiles de resistomas de las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas son similares a los que se encuentran en las clínicas (Pärnänen, K.M.M., et al., 2019). Por lo tanto, la reducción de genes de resistencia a los antimicrobianos en las clínicas podría tener un impacto positivo posteriormente en los genes de resistencia a los antimicrobianos en las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas, así como en otros resistomas.

Estudios recientes han resaltado la necesidad de modelos con capacidad de predecir la emergencia de genes de resistencia a los antimicrobianos mediante el aprendizaje automático, además de la necesidad de nuevas técnicas de laboratorio para detectar nuevos genes de resistencia (Arango-Argoty, G., et al., 2018). Estos modelos estandarizados, una vez aceptados por la comunidad científica, facilitarán los esfuerzos de vigilancia sobre la transferencia de nuevos genes de resistencia entre bacterias, incluidos los patógenos clínicamente relevantes. Por lo tanto, se requieren numerosos estudios, encuestas y/o simulaciones que utilicen parámetros unificados para facilitar la comparación entre diferentes países y regiones, de modo tal que se

pueda comprender y modelar con precisión el comportamiento del resistoma.

Factores que afectan el desarrollo del resistoma

Los microorganismos endófitos son bacterias, hongos o virus que habitan parte o todo su ciclo de vida en el tejido interno de las plantas sin causar daño a su hospedador y que establecen una interacción simbiótica que modula la sanidad de la planta y su habilidad para adaptarse a diferentes factores de estrés del ambiente. Diversas especies de bacterias endófitas grampositivas y gramnegativas se han aislado de diferentes tipos de tejido en numerosas especies de plantas (Rosenblueth, M. y Martínez-Romero, E., 2006), albergando genes de resistencia que pueden persistir durante la etapa de crecimiento vegetal (Pu, C., et al., 2019).

Además, se informó una mayor aparición de bacterias resistentes a los antibióticos y una mayor abundancia relativa de genes de resistencia en sistemas endófitos de pakchoi (*Brassica chinensis* L.) expuestos a antibióticos (Zhang, H. et al., 2017). También se demostró que el helecho *Azolla imbricata* reduce efectivamente la cantidad y diversidad de genes de resistencia en los suelos al eliminar los antibióticos y los metales pesados disponibles (Lu, X.M. y Lu, P.Z., 2019).

El fertilizante orgánico (camas de crianza de aves y, fundamentalmente, estiércol) se usa ampliamente para mejorar la materia orgánica y el contenido de nutrientes de los suelos utilizados para la producción de cultivos. Sin embargo, los estudios han demostrado que estos fertilizantes orgánicos pueden introducir bacterias resistentes y genes de resistencia en los suelos (Xie, W.Y., et al., 2018).

También se han detectado bacterias resistentes y genes de resistencia en cultivos de suelos enriquecidos con fertilizantes orgánicos, confirmando lo anterior (Martí, R., et al., 2013). Además, se describió que la aplicación de lodos de depuradora al suelo impulsa la evo-

lución y la diseminación de genes de resistencia en el sistema suelo-planta (Yang, L., et al., 2018a, 2018b).

Comparativamente, los vegetales cultivados en suelos fertilizados con estiércol animal tienen más genes de resistencia en el momento de la cosecha que los vegetales cultivados sin ese tipo de fertilización (Martí, R., et al., 2013; Rahube, T.O., et al., 2014).

Es importante tener en cuenta que la presencia de algunas bacterias saprófitas en el estiércol puede reducir la abundancia de bacterias patógenas y de genes de resistencia. Por ejemplo, Duan, M., et al. (2019) encontraron que la inoculación de estiércol compostado con *Bacillus subtilis* disminuyó la abundancia relativa de genes de resistencia, elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos y transposones, virus, bacteriófagos y bacterias patógenas. Este resultado se explicaría porque todas las bacterias compiten por los recursos limitados y *B. subtilis*, con su rápido crecimiento, podría competir con éxito frente a otros microorganismos, desplazándolos.

Otra alternativa en estudio es el fenómeno de sensibilidad colateral, común en bacterias, virus y células cancerígenas, en el que la adquisición de resistencia a un medicamento podría llevar, como contrapartida, a una mayor susceptibilidad a otro. Por lo tanto, podría ser posible que cuando una bacteria adquiere resistencia a un antibiótico se produzcan cambios fisiológicos y metabólicos que potencialmente puedan desencadenar un aumento de la sensibilidad a otro antibiótico diferente (Nichol, D., et al., 2019). Se trata de un fenómeno interesante que, adecuadamente estudiado y testeado clínicamente, podría aportar soluciones innovadoras (Fodor, A., et al., 2018; Yekani, M., et al., 2023).

Los plásmidos son moléculas de ADN extracromosómico que se replican de manera autónoma y se transmiten de forma independiente del ADN cromosómico. Constituyen un mecanismo de interconexión entre bacterias que ocurre continua e intensamente en los microbiomas. Cuando los plásmidos son portadores de determinantes

de resistencia, representan un mecanismo de transferencia de resistencia de gran importancia.

Una característica fundamental de los mismos reside en que se pueden transmitir entre bacterias no emparentadas, confiriendo a las receptoras resistencia a uno o varios antibióticos. En muchos casos se trata de multirresistencia, al llevar un mismo plásmido varios genes de resistencia para distintos antibióticos. Estos genes se denominan MAR (Mediated Antimicrobial Resistance). La adquisición de plásmidos de resistencia produce sensibilidad colateral a varios antibióticos, lo que podría usarse para implementar estrategias basadas en la combinación racional de antibióticos destinados a eliminar selectivamente bacterias portadoras de plásmidos (Herencias, C., 2021). Si bien son conocimientos muy novedosos, podrían permitir el diseño de estrategias de tratamiento que posibiliten la eliminación selectiva de cepas resistentes.

Por otra parte, bajo condiciones controladas, algunos bacteriófagos, concretamente aquellos específicos de la maquinaria conjugativa (que bloquean el mecanismo de conjugación bacteriana), son capaces de interrumpir la transferencia de plásmidos y eliminar selectivamente a las bacterias que los portan. El uso de antibióticos en combinación con terapia fágica ha resultado exitoso para el tratamiento de infecciones incurables por *Klebsiella* spp., lo que abre la posibilidad del uso terapéutico de esta alternativa (Herencias Rodríguez, C., et al., 2022).

La existencia de enfermedades infecciosas incurables (producidas por gérmenes panresistentes) es una novedad de los últimos años. Es imprescindible la creatividad y el avance del conocimiento en esta área crítica para tener posibilidades de combate. La terapia fágica puede aportar soluciones en este difícil terreno.

La terapia de fagos, terapia fágica o fagoterapia tiene diversas aplicaciones en medicina, así como en odontología, veterinaria y agricultura. Si el hospedador de destino de la terapia de fagos no es un ser

vivo, como sería el resistoma, en este caso se emplea por lo general el término “biocontrol” (Herencias, C., 2021).

Por último, el sistema CRISPR-Cas —acrónimo de “repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas” y “proteínas asociadas a CRISPR”— es un mecanismo de defensa adaptativa presente en bacterias y arqueas. Actúa como una memoria inmunológica que protege a las células frente a la invasión de ADN extraño, como el de virus (bacteriófagos) o plásmidos. Este sistema tiene el potencial de actuar como un antimicrobiano secuencia-específico, capaz de eliminar selectivamente patógenos en función de secuencias de ADN particulares (por ejemplo, genes de resistencia o genes plasmídicos específicos), sin afectar al resto de la microbiota.

Las secuencias CRISPR son regiones repetitivas del ADN bacteriano que contienen fragmentos de material genético de virus previamente encontrados, funcionando como una especie de “autovacuna”. Esto permite a la célula reconocer infecciones recurrentes y defenderse degradando el ADN invasor (Méndez, 2017). Se ha propuesto que el sistema CRISPR-Cas podría ser encapsulado en cápsides fágicas o incorporado en plásmidos conjugativos, lo que facilitaría su diseminación dirigida dentro de poblaciones bacterianas específicas.

La viabilidad de estas aproximaciones está aún en discusión. Si bien la terapia fágica y los tratamientos con CRISPR-Cas son prometedores, todavía se está lejos de su implementación en la clínica, ya que presentan problemas como la especificidad de los fagos o la necesidad de desarrollar métodos de administración y liberación apropiados.

Aprovechar la sensibilidad colateral es, probablemente, lo más factible a corto plazo, ya que se basa en diseñar tratamientos cíclicos o combinados usando los antibióticos que ya disponemos de un modo racional. En cualquier caso, parece cada vez más necesario fomentar la investigación de nuevas estrategias terapéuticas encaminadas a controlar y, en lo posible, reducir la evolución de la resistencia mediada por transferencia horizontal de genes.

Otro tanto sucedería con la estruvita, un mineral de fosfato recuperado de aguas residuales que se utiliza como fuente de fósforo y nitrógeno en fertilizantes orgánicos. Sin embargo, se encontró que la aplicación de estruvita aumenta la abundancia y diversidad de genes de resistencia en la rizosfera (región del suelo en estrecho contacto con las raíces) y filosfera (superficie foliar) de plantas como *Brassica* (Chen, Q., et al., 2017). Los riesgos potenciales asociados con la aplicación de estruvita a los suelos aún no se comprenden bien, ya que los antibióticos y los genes de resistencia parecen estar enriquecidos en los suelos modificados con este mineral (Chen, Q., et al., 2017).

Se ha informado que los metales pesados, como Pb, Cd, Cr, Ni, Hg, Cu y Zn, ejercen una fuerte presión de selección sobre la abundancia de genes de resistencia en el estiércol, las aguas residuales, el suelo y los lixiviados de vertederos (Gao, P., et al., 2015; Ji, X., et al., 2012; Wu, D., et al., 2015; You, R., et al., 2020). Estos hallazgos sugieren que los metales pesados pueden alterar las comunidades bacterianas, aumentar la cantidad de genes de resistencia y provocar la propagación de los mismos en el medio ambiente.

Sin embargo, hay investigadores que concluyen que el papel de los antibióticos, los residuos antibacterianos y los metales pesados en la evolución y propagación de la resistencia a los antibióticos aún no está claro (Gao, P., 2015). Las bacterias tenderían a desarrollar mecanismos de resistencia y transformación cuando se encuentran con altas concentraciones de metales pesados. Los principales mecanismos incluyen la desintoxicación biológica, el eflujo y la lucha contra el estrés oxidativo celular (Kumar, S.J., et al., 2022; Mathivanan, K., et al., 2021).

Las bacterias también desempeñan funciones clave en las reacciones redox, la metilación y la desmetilación de metales pesados y la formación de complejos organometálicos (Bruneel, O., et al., 2019; Gadd, G.M., 2010). Sin embargo, los efectos de estas funciones sobre la composición de las comunidades bacterianas bajo diferentes concentraciones de metales pesados siguen sin estar claros.

Se ha demostrado que altas concentraciones de metales pesados alteran la adaptación de los microorganismos a ambientes contaminados al afectar la intensidad de la simbiosis y la reciprocidad entre taxones microbianos (Li, L.G., et al., 2017). Liu, B., et al. (2021) estudiaron la composición de las comunidades bacterianas del suelo en áreas mineras de carbón bajo dos concentraciones diferentes de metales pesados en las provincias de Hebei y Hunan, en China, y encontraron que la concentración de metales pesados tiene un efecto significativo en las comunidades bacterianas. Descubrieron que la abundancia de *Proteobacteria* era alta en el sitio con altas concentraciones de metales pesados, mientras que *Acidobacteria* era dominante en suelos con bajas concentraciones de metales pesados (Liu, B. et al., 2021).

Es probable que la naturaleza regional de los sitios de ganga (definida en química como material no deseado o impurezas en forma de arena, roca u otros materiales que rodean al mineral en un yacimiento) también contribuya a la variación en la composición de las comunidades bacterianas bajo diferentes concentraciones de metales pesados. Además, los estudios previos que examinaron los efectos de la contaminación por metales pesados en las comunidades bacterianas generalmente se realizaron en sitios de ganga individuales. Para mejorar nuestra comprensión de los efectos reales de los metales pesados en los sitios de ganga sobre las comunidades bacterianas, sería necesario analizar los sitios adyacentes a las áreas de estudio bajo regímenes de manejo similares, pero con diferentes concentraciones de metales pesados (Kou, B., et al., 2023).

Evidentemente, hay resultados preliminares, algunos contradictorios, que no permiten sacar conclusiones definitivas. De todos modos, podríamos decir que, en los casos de suelos con elevadas concentraciones de metales pesados que, al mismo tiempo, poseen elevadas concentraciones de microorganismos, el estrés microbiano podría ser el causante del incremento en la reproducción defensiva y la emergencia de resistencias crípticas silenciosas.

Algunos estudios han demostrado que los lodos de las depuradoras, un subproducto de las plantas de tratamiento de aguas residuales, son reservorios de un alto número de genes de resistencia (Burch, T.R., et al., 2016; Su, J.Q., et al., 2017) y tienen una alta densidad y diversidad microbiana que puede aumentar las posibilidades de transferencia horizontal de los mismos (Schülter, A., et al., 2007). La disposición de esos lodos genera un nuevo problema que debe ser seriamente analizado.

No obstante, en un estudio de metagenómica realizado por Tian, Z., et al. (2016), no se encontraron diferencias significativas en la abundancia de genes de resistencia totales entre la digestión anaeróbica termófila y mesófila de lodos de alcantarillado. Por el contrario, las temperaturas elevadas durante la digestión aeróbica fueron clave para reducir la diversidad bacteriana y los genes de resistencia en el lodo (Jang, H.M., et al., 2018). La literatura disponible no es clara en cuanto al tratamiento de los lodos de depuradoras. Solamente podemos decir que los tratamientos pueden ser termófilos, mesófilos o que los lodos pueden ser vertidos crudos. Con la información disponible, podemos considerar que el tratamiento termófilo es el más eficaz para reducir la carga de patógenos, patógenos resistentes y determinantes de resistencia.

Curiosamente, también se observó un enriquecimiento significativo de genes de resistencia en biorreactores de aguas residuales que contenían compuestos aromáticos (p-aminofenol y p-nitrofenol) (Xia, J., et al., 2019). Por lo tanto, se requiere una mejor comprensión de cómo interactúan los diferentes factores, como la temperatura, el biocarbón, la estruvita, el estiércol orgánico, los metales pesados y otros subproductos de las plantas de tratamiento de aguas residuales, para dar forma al resistoma del suelo.

La evolución del resistoma es el resultado de la interacción de diferentes variables que es necesario investigar más profundamente si queremos obtener información sólida sobre los mecanismos de diseminación de los genes de resistencia en el medio ambiente.

Debemos, por una parte, considerar que hay países con elevados niveles de desarrollo que tratan efluentes con diversas metodologías y, por otra, países que no tratan efluentes, los que son vertidos crudos en cursos de agua o en reservorios que, indefectiblemente, terminan contaminando napas de agua. Dado que en Latinoamérica son pocos los aglomerados urbanos, establecimientos agropecuarios e incluso industrias que tratan efluentes (especialmente considerando la retención de microorganismos), estamos ante la posibilidad de diseñar plantas eficientes y de funcionamiento no oneroso que puedan aportar resultados razonables en la mitigación de la difusión de la resistencia microbiana.

Genes de resistencia en cuerpos de agua

Los sistemas de agua urbanos y costeros pueden servir como puertas de entrada para la diseminación de resistencia antimicrobiana antropogénicamente asociada (Port, J.A., et al., 2012; Felis, E., et al., 2020).

La presencia de antimicrobianos y la consecuente selección de genes de resistencia son fenómenos comunes en efluentes de explotaciones de ganado de carne y de cerdos (Zhang, Y., et al., 2013). Estos datos son esperables, pero también se encontraron en muestras de agua recolectadas en todo el océano Pacífico (Hatosy, S.M., et al., 2015). Las bacterias resistentes también pueden ser transferidas entre ubicaciones diferentes, a veces en distintos continentes, por aves u otras especies animales (Martiny, A.C., et al., 2011; Foty, M., et al., 2009).

Debe darse a las migraciones animales su real importancia; las rutas de aves migratorias continentales e intercontinentales están muy bien estudiadas, lo que no se conoce es la magnitud del intercambio de microorganismos, microorganismos resistentes y determinantes de resistencia que se generan a través de esas rutas. Tenemos allí un claro ejemplo de la colaboración interdisciplinaria que debe, indefectiblemente, establecerse, a efectos de conocer algunos de los múl-

tiples factores envueltos en la epidemiología de la resistencia antimicrobiana.

Los estudios en la Antártida han proporcionado un modelo importante para estudiar la diseminación de genes de resistencia en ambientes acuáticos con mínima interferencia humana (Hernández, J., et al., 2012; Jara, D., et al., 2020; Rabbia, V., et al., 2016). La presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos en el medio ambiente antártico es indicativa de cuán generalizada se ha vuelto la situación mundial de resistencia a los antibióticos. Los datos obtenidos confirman la presencia de *Escherichia coli* resistente a los antibióticos en los alrededores de todas las bases antárticas monitoreadas. La presencia de estas bacterias en el medio ambiente marino antártico estaría relacionada con las descargas de aguas residuales de las bases. Esta situación indicaría que las precauciones existentes y el tratamiento de aguas residuales en las bases parecen inadecuados para evitar este tipo de contaminación (Hernández, J., et al., 2012).

Por otra parte, los estudios en la Antártida confirmaron lo esperado: la actividad humana tiene un impacto en la microbiota local, en la que las cepas recuperadas de zonas bajo influencia antrópica fueron considerablemente más resistentes que las recolectadas en regiones remotas (Jara, D., et al., 2020).

Finalmente, los trabajos de los investigadores chilenos advierten que los perfiles de resistencia a los antibióticos de *E. coli* aislada del agua de mar alrededor de la península de Fildes son motivo de preocupación, especialmente considerando los altos recuentos de *E. coli* observados y la presencia de cepas multirresistentes (MDR). Advierten que la fuente de contaminación del agua marina muy posiblemente se deba a las plantas de tratamiento de aguas de esa zona geográfica (Rabbia, V., et al., 2016).

Por otra parte, se han encontrado genes de resistencia a los antibióticos clínicamente relevantes en los sitios de muestreo cercanos a plantas de tratamiento de aguas residuales, así como en materia fecal

de pingüinos y pájaros de la zona antártica, lo que respaldaría las rutas de transmisión antes mencionadas (Miller, R.V., et al., 2009).

En Chile, se detectaron genes ESBL *bla*CTX-M1 y *bla*CTX-M15 en muestras de agua de mar recolectadas cerca de estaciones de campo antárticas, provenientes de la polución de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Hernández, J., et al., 2012).

Genes de resistencia en productos cárnicos, avícolas y pesqueros

Está bien establecido que el ganado y los productos animales pueden contribuir a la propagación de bacterias y genes de resistencia a los humanos (Johnson, J.R., et al., 2005; CDC, visitado 3 de abril de 2023; Spellberg, B., et al., 2016; Spellberg, B., et al., 2008; Nadimpalli, M., et al., 2018). Es importante considerar, en este sentido, que los productos animales obtenidos bajo buenas prácticas (durante la crianza, el sacrificio y procesamiento, como durante la industrialización) difícilmente sean portadores de microorganismos indeseables y/o determinantes de resistencia.

Por otra parte, la educación del consumidor en aspectos elementales de manejo de alimentos crudos, uso de agua de buena calidad y cocción adecuada de los mismos debería reducir los riesgos de propagación microbiana y de resistencias al mínimo. Sin embargo, existe claramente una necesidad de educar a los consumidores sobre el tratamiento higiénico de los alimentos.

La mayor parte de los antibióticos que se venden en los EE. UU. se emplean en la agricultura (FDA, Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals, 2018). El ganado recibe estos antibióticos, lo que crea una presión de selección que favorece la presencia de genes de resistencia a los antibióticos utilizados, en el intestino y las heces de los animales de producción (CDC, 2020; CDC, 2017; Spellberg, B., 2016).

En Bélgica, alrededor del 35 % de las cepas de *E. coli* aisladas de pollos de engorde vivos eran resistentes a las cefalosporinas de tercera generación. Las cepas de bacterias resistentes pueden contaminar a los empleados de la industria cárnica. En los empleados del matadero de cerdos se observó un número similar de aislamientos de *Staphylococcus aureus* en comparación con sus familiares y miembros de la comunidad. Sin embargo, los aislamientos de los empleados fueron resistentes a más tipos de antibióticos, lo que sugiere una mayor presión de selección que se originó en la planta porcina (Neyra, R.C., et al., 2014).

La contaminación de los productos animales comienza durante el sacrificio y se propaga a los genes de resistencia a lo largo de la cadena de suministro de alimentos. Incluso si se aplican métodos de procesamiento de alimentos para matar las células bacterianas, las células muertas pueden permanecer intactas o ser lisadas y liberar genes de resistencia a los antibióticos (Verraes, C., et al., 2013). Por supuesto que el estricto respeto de las buenas prácticas en el procesamiento de carnes restringe al mínimo el pasaje de microorganismos resistentes o determinantes de resistencia a la cadena cárnica.

En caso de que bacterias resistentes pasen el proceso de industrialización de las carnes, la propagación posterior de la bacteria resistente y sus genes puede ocurrir en la cocina durante la preparación de la comida y por la acción u omisión de uno o varios de los pasos que se deben cumplir para una preparación adecuada y sana de los alimentos. Entre ellos, la cocción incompleta de las superficies de la carne antes del consumo (CDC, 2020; Davis, G.S., et al., 2016).

Las manos y las tablas de cortar son fuentes conocidas de contaminación cruzada con *E. coli* productora de betalactamasa de espectro extendido (ESBL) (Tschudin-Sutter, S., et al., 2014). Además, la creciente demanda de pescado y carne mínimamente procesados o crudos elimina una importante barrera limitante del flujo de genes de resistencia (McMahon, M.A.S., et al., 2007).

Los serotipos de *Escherichia coli* que producen la toxina Shiga (STEC), incluidas las cepas O157:H7, se aislaron de vacas lecheras, leche cruda y de tanque, carne picada, salame, heces humanas y heces bovinas en medios selectivos para diferentes antibióticos (Srinivasan, V., et al., 2007).

Se han encontrado *E. coli* patógenas extraintestinales y otras *E. coli* resistentes a los antibióticos en aves, cerdos y reses en negocios de venta de comestibles (Johnson, J.R., et al., 2005). En un estudio realizado en Austria, los aislamientos de *E. coli* resistentes se encontraron con mayor frecuencia en la carne de cerdo (76 %), seguida de las aves de corral (63 %) y la carne de res (40 %) (Mayrhofer, S., et al., 2006).

De manera similar, los genes de resistencia de *E. coli* más predominantes aislados de carne de pollo fueron *tetA* (para tetraciclina), *aadA1* (para estreptomicina), *ereA* (para eritromicina), *aac-3-IV* (para gentamicina), *cmlA* y *catA1* (para cloranfenicol) (Rahman, M.M., et al., 2020).

Sobre este tema es importante recalcar la iniciativa de la OMS, que durante muchos años enfatizó, a través de sus “Reglas de Oro”, los pasos que se deben seguir para un correcto manejo de alimentos y su cocción. La selección de microorganismos resistentes tiene lugar preponderantemente en el intestino. Es en ese lugar donde reside la microbiota y donde los microorganismos se encuentran con los antimicrobianos. Allí, concentraciones bajas de antibióticos seleccionarán microorganismos, eliminando los susceptibles y dejando libre el camino para el crecimiento de los resistentes.

Los resistentes seleccionados podrán transferir la resistencia verticalmente a su descendencia, pero esencialmente la transferirán horizontalmente a bacterias de la misma especie, mismo género y géneros diferentes, lo que ocurre más comúnmente entre gramnegativos (OMS-OPS, 2022).

Sin lugar a dudas, la difusión y estricta aplicación de las Reglas de Oro de la OMS permitirían evitar la contaminación de los alimentos, reduciendo las intoxicaciones alimentarias y la difusión de bacterias

susceptibles y resistentes, así como de los determinantes de resistencia. Se trata de 10 reglas de importancia fundamental para prevenir las enfermedades producidas por los alimentos, a saber:

1. Elegir los alimentos tratados con fines higiénicos
2. Cocinar bien los alimentos
3. Consumir inmediatamente los alimentos cocinados
4. Guardar cuidadosamente los alimentos cocinados
5. Recalentar bien los alimentos cocinados
6. Evitar el contacto entre los alimentos crudos y los cocinados
7. Lavarse las manos a menudo
8. Mantener escrupulosamente limpias todas las superficies de la cocina
9. Mantener los alimentos fuera del alcance de insectos, roedores y otros animales
10. Utilizar agua potable

Por otra parte, la acuicultura es el sector de producción de alimentos de más rápido crecimiento y representa el 47 % de la producción mundial de pescado (80 millones de toneladas), lo que equivale a una industria de 231.600 millones de dólares estadounidenses (FAO, 2018).

Si bien el crecimiento y los ingresos de la industria de la acuicultura son beneficiosos para alimentar a la creciente población mundial, es alarmante que los antibióticos se utilicen con frecuencia para la profilaxis y la metafilaxis en la acuicultura, sin una regulación sustancial en los países que producen la mayor cantidad de peces (Lewis, G., et al., 2019).

La acuicultura se lleva a cabo en las más diversas condiciones: aguas abiertas en fiordos en el mar o en grandes estuarios de agua dulce, y en aguas cerradas, esto es, excavaciones especialmente realizadas al efecto o preexistentes. En todos los casos, los antibióticos deben ser administrados como parte del alimento. Se trata de un punto crítico. Se debe calcular exactamente la cantidad de antibiótico por tonelada de alimento, en función del tamaño, edad y variedad de

los peces, profundidad de la instalación y hábitos de los peces, entre otros factores.

Uno de estos métodos incluye la aplicación de antibióticos con alimentos en jaulas de acuicultura abiertas. Este método permite que los antibióticos no eliminados como metabolitos inactivos a través de las heces, junto con el exceso de antibióticos no consumidos, se propaguen al agua y los sedimentos circundantes, particularmente en ausencia de sistemas de recolección (Cabello, F.C., et al., 2016).

Los peces consumen el alimento mientras este se encuentra en suspensión en el agua, de modo que la correcta alimentación requiere del conocimiento de la velocidad de ingestión de alimentos por parte de los peces, junto con la velocidad de sedimentación de los alimentos medicados, vinculada a la profundidad de las aguas en que las jaulas están suspendidas. Todo esto debe estar calculado en función de los conocimientos farmacocinéticos que se tengan del fármaco a utilizar en la especie a tratar, lo que permitirá diseñar planes de administración con dosis y tiempos de tratamiento adecuados.

El escaso conocimiento de la farmacología de los antimicrobianos en especies de importancia en acuicultura es una verdadera barrera para el uso prudente de estos fármacos. Es indispensable que se financien programas de investigación que permitan incrementar el conocimiento sobre el uso de fármacos en acuicultura, lo que será, indudablemente, un punto crítico para avanzar en el control de la resistencia microbiana.

Los desechos de la acuicultura también se utilizan como fertilizantes para la agricultura terrestre, otro medio más para propagar las bacterias resistentes y sus genes en las fuentes de alimentos humanos (Cabello, F.C., et al., 2016). Los pescados y mariscos de mercado pueden estar contaminados con bacterias resistentes a clases de antibióticos clínicamente importantes, incluidas las tetraciclinas, los betalactámicos, los aminoglucósidos y las quinolonas (Watts, J.E.M., et al., 2017; Ryu, S.H., et al., 2012).

Sobre esto, diremos que los desechos de la acuicultura, que incluyen sedimentos y descartes de la industrialización (escamas, aletas y contenidos no musculares), deberían ser compostados antes de su utilización como fertilizantes. Los remanentes de la industrialización solamente deberían ser utilizados cuando están libres de antimicrobianos, cosa no demasiado compleja dada la disponibilidad de pruebas rápidas de detección de inhibidores.

De todas maneras, esos desechos deberían tener algún destino. Frente a este problema, mejor sería elegir el que esté más lejos de generar un problema en la salud pública. Sabemos que los descartes de industrialización son frecuentemente utilizados en la formulación de alimentos balanceados para peces u otras especies. Se trata de un tema que requiere un análisis muy serio; se deberían analizar esos descartes para asegurar su seguridad para su reintroducción en la cadena alimentaria.

La mayor parte del enfoque científico en las fuentes agrícolas de resistencia a los antibióticos se ha centrado en el ganado y la carne; el papel de las verduras en la propagación de los genes de resistencia a los antibióticos, por su parte, lamentablemente no ha recibido la misma atención (CDC, 2020; Carvalheira, A., et al., 2017; Bezanson, G.S., et al., 2008). Del mismo modo que las bacterias resistentes anteriormente descritas transmitidas a través de productos animales, las bacterias resistentes transmitidas por las plantas también pueden causar enfermedades agudas o colonizar asintóticamente el intestino (Hölzel, C.S., et al., 2018).

Se han encontrado genes de resistencia a los antibióticos y bacterias clínicamente relevantes, como *E. coli*, en vegetales (Carvalheira, A., et al., 2017; Bezanson, G.S., et al., 2008; O'Flaherty, E., et al., 2019). Incluso se han informado cepas resistentes a múltiples fármacos de *Acinetobacter baumannii*, un patógeno incluido en la lista de amenazas más urgentes por el CDC de EE. UU., en productos agrícolas y frutas (CDC, 2020; Carvalheira, A., et al., 2017; Bezanson, G.S., et al., 2008).

Aún se sabe poco sobre las características de las plantas, los comportamientos humanos y las propiedades bacterianas que impulsan la transmisión de la resistencia a los antibióticos del producto al microbioma intestinal de los mamíferos. Se trata de un terreno muy interesante sobre el que se investiga intensamente. Pero es tan complejo, por la diversidad de componentes del sistema, que los avances son muy lentos.

Un interesantísimo posible mecanismo puede incluir poblaciones de células persistentes, o lo que se denomina persistentes bacterianos. Los persistentes bacterianos son variantes transitorias de una población genéticamente homogénea, generadas por exposición al estrés, como el que ocurre durante el tratamiento antibiótico. Es un fenómeno epigenético o un fenotipo no heredado, que puede ser llamado primera línea de defensa del microorganismo antes de que se adquiera la resistencia antimicrobiana.

A pesar de su descubrimiento hace más de 70 años, su definición, mecanismos de formación, clasificación y morfologías adoptadas de implicancia clínica aún son temas de investigación en la actualidad (Suclupe-Campos, D.O., Aguilar-Gamboa, F.R., 2020). Indudablemente, estos fenómenos epigenéticos tienen un rol importante en la resistencia. No obstante, al tratarse de reacciones transitorias —cuya duración no conocemos bien—, no tienen la trascendencia de un mecanismo genético y seguramente eso ha contribuido a que se les prestara menos atención.

La presencia de persistentes de *E. coli* O157:H7, el agente causante de las enfermedades transmitidas por los alimentos, aumenta en condiciones de baja humedad en la lechuga (Munther, D.S., et al., 2020). Se han identificado poblaciones persistentes de *Salmonella* en el intestino como reservorios de plásmidos de resistencia a los antibióticos, y pudieron haber transmitido estos genes de resistencia a la *E. coli* intestinal (Bakkeren, E., et al., 2019).

La presencia de genes resistentes a la estreptomicina (*strAB*) y genes que codifican resistencia a la estreptomicina en patógenos de

plantas, como *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris*, precedió al uso agrícola de la estreptomina. Se cree que dichos genes se adquirieron de bacterias epífitas no patógenas ubicadas en plantas hospedantes bajo selección natural de antibióticos (Sundin, G.W., et al., 2018). Nuevamente, en este caso, se abona la hipótesis de existencia de genes codificando resistencia a antimicrobianos desde mucho tiempo antes de la era de los antibióticos.

Además de los hallazgos anteriores, las bacterias ubicuas albergarían múltiples genes de resistencia a los antibióticos de importancia clínica. Se encontró, por ejemplo, que *Pseudomonas corrugata*, que actúa como un patógeno oportunista (Catara, V., 2007), es resistente al cefepime, la gentamicina, la polimixina B y el cloranfenicol, que actualmente se usan terapéuticamente para *Pseudomonas aeruginosa* y otras *Pseudomonas* patógenas humanas.

De manera similar, se descubrió que la bacteria del suelo omnipresente y patógeno oportunista de las plantas *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pérombelon, M.C.M., 2002) es resistente al cefepime, la gentamicina y el cloranfenicol, que se usan clínicamente contra enterobacterias patógenas (National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA, 2013).

Finalmente, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (que se usa comercialmente como bioinsecticida) (Schnepf, E., et al., 2021) se descubrió que es resistente a la ampicilina, la penicilina y la eritromicina, que se usan clínicamente contra los patógenos *Bacillus* distintos de *B. anthracis* (National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA, 2020).

Dichos hallazgos sugieren claramente la adquisición de genes de resistencia a los antibióticos debido a la competencia natural de especies ambientales dominantes con otras bacterias asociadas a plantas. De esta manera, determinados genes de resistencia a los antibióticos pueden ingresar a la cadena alimentaria y finalmente terminar en el intestino humano (Bakkeren, E., et al., 2019).

Se ha prestado poca atención al modelado directo de los mecanismos de transmisión de los alimentos vegetales al microbioma intestinal (Carvalho, A., et al., 2017; Bezanson, G.S., et al., 2008; Hölzel, C.S., et al., 2018). El microbioma intestinal puede servir como reservorio de genes de resistencia a los antibióticos en huéspedes humanos asintomáticos (Gurnee, E.A., et al., 2015).

Debe quedar claramente establecido el rol de infinidad de microorganismos saprófitos que habitan en el microbioma intestinal y que pueden recibir determinantes de resistencia de otros microorganismos, fenómenos que ocurren en personas bajo tratamiento antibiótico o personas completamente sanas. Esa es la verdadera importancia del microbioma como reservorio de resistencias antimicrobianas.

Se ha demostrado que la lechuga puede servir como una plataforma para la transferencia horizontal de genes en plásmidos de resistencia a antibióticos de bacterias no patógenas a *E. coli* patógena clínicamente relevante (Maeusli, M., et al., 2020). Además, el desafío de ratones mediante alimentación forzada oral de un aislado clínico de *E. coli* suspendido en un homogeneizado de lechuga resultó en una colonización asintomática del intestino y, además, permitió la transferencia horizontal de resistencia a *Klebsiella pneumoniae* resistente en el intestino (Maeusli, M., et al., 2020).

Generalidades sobre la metodología utilizada para estudiar el resistoma

Uno de los principales obstáculos para la investigación de resistomas y genes de resistencia es el hecho de que solo una pequeña fracción de las especies microbianas se puede cultivar y desarrollar en el laboratorio (Schmeisser, C., et al., 2007).

Dado que algunas especies microbianas que albergan genes de resistencia son viables, pero no cultivables, la secuenciación de ADN de “nueva generación” (NGS) y otras herramientas “ómicas” son

especialmente útiles en la investigación de resistomas. En cuanto al concepto de “nueva generación”, la secuenciación de ADN de nueva generación (NGS) se refiere al uso de tecnologías para secuenciación de ADN que surgieron poco después de que se completara el Proyecto del Genoma Humano (que se basó en el método de primera generación de secuenciación de Sanger). Las tecnologías de nueva generación (NGS) son más rápidas y menos costosas (NIH, 2023; <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Next-Generation-DNA-Sequencing>).

Muchos estudios mecanísticos sobre el resistoma todavía se realizan solo en especies cultivables (Windels, E.M., et al., 2019) o mediante modelado computacional (Kumar, M., et al., 2019; Vetsigian, K., 2017; Winkler, J., 2018). Es de destacar que los modelos mecanísticos se desarrollan a partir de teorías acerca del funcionamiento del sistema a modelar. Los modelos mecanísticos (o explicativos, derivados de las teorías hipotético-deductivas) intentan representar la causalidad e interacción entre las variables a fin de imitar (matemáticamente) la estructura y funcionamiento del sistema en estudio.

Además, se propone que los estudios futuros encuentren y definan indicadores cuantitativos (por ejemplo, microbios, genes, proteínas o metabolitos específicos). Estos indicadores se pueden utilizar para medir y cuantificar los riesgos asociados con los resistomas.

Una metodología utilizada para estudiar el resistoma se basa en los perfiles de genes ARNr 16S mediante PCR. Los genes de ARNr 16S se utilizan como marcadores de identidad taxonómicos en el análisis computacional para vincular los perfiles de genes de resistencia con la población microbiana.

El ARNm tiene una secuencia (AGGAGG), conocida como de Shine-Dalgarno, que se ubica justo antes del codón de inicio. Una vez unida esa secuencia con la secuencia anti-Shine-Dalgarno del ARNr, se inicia la transferencia de información para la síntesis de la proteína.

Los genes ARNr 16S son una herramienta filogenética poderosa que se encuentra presente en todas las bacterias; están compuestos

por secuencias altamente conservadas cuya secuenciación sirve para identificar, a nivel de especie, microorganismos muy parecidos. Una desventaja del uso de marcadores taxonómicos en la investigación de resistomas es la falta de profundidad de secuencia; la mayoría de los marcadores dan una buena estimación solo hasta el nivel de familia o género, pero no descienden hasta el nivel de especie (Zaheer, R., et al., 2018).

Además, es difícil identificar la unidad taxonómica operativa (UTO). En los análisis filogenéticos, una UTO es una unidad de clasificación seleccionada por el investigador, que se utiliza para individualizar objetos de su estudio, ya sea una especie u otro taxón de cualquier categoría, una morfoespecie, una población e incluso un individuo, y de este modo poder ordenarlos en una clasificación y en la construcción de un árbol filogenético, sin juzgar si se corresponden a una entidad biológica particular (Sneath, P.H. and Sokal, R.R., 1973).

No obstante, la información de la secuencia del gen ARNr 16S es útil para definir la comunidad microbiana central. Por ejemplo, Yan, et al. (2019) utilizaron PCR cuantitativa en tiempo real (PCRq) de alto rendimiento para identificar 217 genes de resistencia en espacios verdes dentro de áreas urbanas y descubrieron que *Proteobacteria* es uno de los filos dominantes.

Su, J.Q., et al. (2017) combinaron ARNr 16S con metagenómica para estudiar el resistoma de varias instalaciones de alcantarillado urbano en toda China, descubriendo que las instalaciones de alcantarillado estaban dominadas por los filos *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Fusobacteria*. Por lo tanto, aunque los genes del ARNr 16S por sí solos no pueden proporcionar información completa, un enfoque integrado que combine el ARNr 16S, la metagenómica y otras herramientas puede ser muy útil para demostrar interacciones y dinámicas bacterianas en las comunidades de resistomas.

Análisis metagenómico

La metagenómica puede revelar información genética sobre la población microbiana sin necesidad de cultivar microbios. La metagenómica es una herramienta poderosa para observar la abundancia de genes de resistencia en toda la población, pero exige muchos más recursos computacionales que el análisis del gen ARNr 16S y, por lo tanto, es más laboriosa.

Una revisión de Bengtsson-Palme, J., et al. (2017) describe oportunidades bioinformáticas específicas en herramientas avanzadas diseñadas específicamente para el estudio de resistomas. Es importante tener en cuenta que el análisis metagenómico en la investigación de resistomas está aún en sus comienzos y, por otra parte, está en constante cambio. Las nuevas tecnologías de secuenciación, como la secuenciación de nanoporos para la investigación de resistomas, se actualizan constantemente (Che, Y., et al., 2019; Bertrand, D., et al., 2018; Gupta, S., et al., 2019).

La secuenciación mediante nanoporos es una tecnología única y escalable que permite el análisis directo y en tiempo real de fragmentos de genes de resistencia de ADN o ARN. Funciona al monitorear los cambios en una corriente eléctrica a medida que los ácidos nucleicos pasan a través de un nanoporo de proteína. La señal resultante se decodifica para proporcionar la secuencia específica de ADN o ARN (Schaffer, A., 2012).

La secuenciación de nueva generación (NGS) es una tecnología de secuenciación paralela masiva que ofrece un rendimiento, escalabilidad y velocidad ultra altos. La tecnología se utiliza para determinar el orden de los nucleótidos en genomas completos o regiones específicas de ADN o ARN (Head, S.R., et al., 2018).

Un desafío en el uso de técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) para estudiar el resistoma es el hecho de que un número significativo de genes de resistencia se encuentra en elementos genéticos móviles (EGM). Esto hace que sea más difícil conectar secuencias específicas con genomas específicos. Los elementos gené-

ticos móviles (EGM) incluyen plásmidos, segmentos de virus (por ejemplo, bacteriófagos), transposones e integrones que pueden moverse entre y dentro de las células vivas (Lerminiaux, N., Cameron, A.D., 2019; Sultan, I., et al., 2018).

Che, Y., et al. (2019) compararon la secuenciación metagenómica con técnicas de validación dependientes del cultivo y demostraron que los genes de resistencia asociados con los elementos genéticos móviles dominaban el resistoma de las plantas de tratamiento de aguas residuales y que su abundancia relativa aumentaba en los efluentes.

Ma, L., et al. (2015) también utilizaron herramientas metagenómicas para mostrar que muchos genes de resistencia, como *macA-macB*, *tetA-tetR* o aquellos que portaban el integrón de clase 1 *aadA5-dfrA17*, se compartían en diferentes hábitats fecales (pollo, cerdo y humano).

Si bien la metagenómica es una herramienta poderosa para estudiar el resistoma, una limitación importante es que la presencia de un gen no significa necesariamente que sea funcional o que las células lo expresen. Para cerrar esta brecha de datos, las herramientas de metagenómica deben combinarse con herramientas adicionales, como la metagenómica funcional (Lam, K.N., et al., 2015).

Análisis de metagenómica funcional

La metagenómica funcional no solo valida bioquímicamente la presencia de genes de resistencia conocidos, sino que también se puede utilizar para identificar nuevos genes de resistencia. A diferencia de la metagenómica, los estudios de metagenómica funcional no necesitan conocimientos previos sobre el tipo de genes de resistencia en un entorno (Perry, J.A. and Wright, G.D., 2014).

Las principales técnicas incluyen simulaciones del entorno de crecimiento, como el crecimiento en cámaras de difusión, o la expresión de genes de clones metagenómicos en huéspedes sustitutos para es-

tudios bioquímicos precisos (Lam, K.N., et al., 2015). Estas técnicas se pueden aplicar a organismos no cultivables y, por lo tanto, son independientes de los sesgos de cultivo. Luego, la nueva información se puede seleccionar en las bases de datos (Perry, J.A., Wright, G.D., 2014).

Aunque la metagenómica funcional es una herramienta poderosa para estudiar genes de resistencia nuevos y conocidos, tiene una limitación importante: los genes de resistencia se toman “fuera de contexto” y se introducen en sistemas de expresión sustitutos, no necesariamente iguales al real. La alteración del entorno natural en la metagenómica funcional es mucho mayor que en otras técnicas como la secuenciación del gen 16S rRNA y la metagenómica (dos Santos, D.F., et al., 2017).

Culturómica

Además, para superar el sesgo de las técnicas de secuenciación y metagenómica funcional, estudios recientes han demostrado el gran potencial de la culturómica en la identificación rápida de bacterias (Nowrotek, M., et al., 2019). La culturómica es el cultivo celular de alto rendimiento de bacterias que tiene como objetivo identificar de forma integral cepas o especies en muestras obtenidas de tejidos como el intestino humano o del medio ambiente (Lagier, J., 2012; Lagier, J., 2016; Greub, G., 2012).

Este enfoque se concibió como un método alternativo y complementario a la metagenómica, que se basa en la presencia de secuencias homólogas para identificar nuevas bacterias (Lagier, J., 2016).

La culturómica utiliza herramientas de alto rendimiento, como la espectrometría de masas de tiempo de vuelo de ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF; MALDI: convierte las moléculas en iones; TOF: mide la masa de los iones) para identificar de manera integral muchas bacterias desde muestras ambientales hasta el nivel taxonómico de la cepa (Nowrotek, M., et al., 2019).

La Desorción/Ionización Láser Asistida por Matriz se utiliza para analizar moléculas extremadamente grandes. Las técnicas combinadas de metagenómica funcional y culturomica probablemente impulsarán la investigación futura de resistomas, especialmente en combinación con la secuenciación de tercera generación o las técnicas de secuenciación Nanopore (Van der Helm, E., et al., 2017).

Debido a la limitada información filogenética disponible sobre las bacterias, los datos metagenómicos generalmente contienen grandes cantidades de “materia oscura microbiana”, con secuencias de origen desconocido (Rinke, C., et al., 2013). Es un dato muy interesante porque está indicando que la tecnología analítica avanza más rápido que la comprensión de resultados, por lo menos en este terreno.

La culturomica cubre algunos de los vacíos existentes, con la ventaja adicional de permitir el estudio funcional de los cultivos generados. Su principal inconveniente es que muchas especies bacterianas permanecen efectivamente no cultivables hasta que se comprendan mejor sus condiciones de crecimiento. Por lo tanto, hasta el presente, la optimización del enfoque culturomico se ha realizado mejorando las condiciones de cultivo (Diakite, A., 2020; Chang, Y., 2019).

Análisis de metatranscriptoma

El metatranscriptoma se refiere al conjunto total de ARN mensajero (ARNm) extraído de una comunidad microbiana en un entorno específico. Estas comunidades microbianas pueden incluir bacterias, arqueas, hongos, virus y otros microorganismos. El análisis del metatranscriptoma proporciona información sobre la expresión génica activa dentro de la comunidad microbiana en un momento dado.

A diferencia del genoma, que representa el conjunto completo de genes de un organismo, el metatranscriptoma se centra en los genes que están siendo transcritos y expresados en un momento específico. Esto es crucial para comprender las funciones biológicas y las res-

puestas metabólicas de las comunidades microbianas en diferentes condiciones ambientales.

El estudio del metatranscriptoma es una herramienta valiosa en microbiología ambiental, microbioma humano y otros campos relacionados, ya que proporciona información dinámica sobre las actividades metabólicas y las interacciones microbianas en un entorno determinado. Este enfoque puede ayudar a entender cómo los microorganismos responden a cambios en su entorno, cómo se comunican entre sí y cómo contribuyen a funciones ecológicas y procesos biogeoquímicos (Parro, V. y Moreno Paz, M., 2015).

Las técnicas de metatranscriptómica requieren el aislamiento y la purificación de ARN de muestras ambientales para dar una indicación de los genes activos en la comunidad microbiana. El costo de secuenciación del ARN por muestra es más alto que el del ADN y esto puede limitar la aplicación más amplia de la metatranscriptómica en los estudios de resistomas.

Sin embargo, la metatranscriptómica es una herramienta importante que se ha aplicado a especies bacterianas no cultivables en el medio ambiente (Brochmann, P.R., et al., 2018; Cardoso, M.H., et al., 2018; Erickson, K., et al., 2017). La técnica posiblemente crecerá en popularidad con los avances en las técnicas de purificación de ARN total a partir de muestras ambientales y a medida que disminuyan los costos de secuenciación de ARN.

Estudios recientes han demostrado la ventaja de utilizar la metatranscriptómica en la investigación de resistomas. Marcelino, V.R., et al. (2019) utilizaron estudios de metatranscriptómica del resistoma antropogénico (generado por el hombre) para mostrar una correlación positiva entre los residuos de antibióticos comunes en las estaciones depuradoras de aguas residuales y los microbiomas intestinales de las aves migratorias. Los pequeños plásmidos que portan genes multirresistentes (MAR) no solo son una amenaza para la salud humana, sino que también pueden diseminar los genes de resistencia en los resistomas.

En otro estudio, se utilizaron análisis metatranscriptómicos y metagenómicos para mostrar la presencia de genes de resistencia en las estaciones depuradoras de aguas residuales y la importante conexión entre la transcripción de plásmidos MAR y los huéspedes (Liu, Z., et al. 2019). Específicamente, los autores reportaron la presencia de plásmidos MAR que albergan 14 y 50 genes de resistencia en el género *Mycobacterium* y la familia *Burkholderiaceae* respectivamente.

Análisis de metaproteómica y metabolómica

Los estudios de proteínas pueden proporcionar una visión profunda de la actividad enzimática y la función de las proteínas en las células microbianas del resistoma.

La metagenómica es el análisis del material genético de las bacterias, tomado directamente de una muestra del medio en estudio, con lo que se puede identificar a las bacterias que no se detectan con los cultivos (Liu, M., et al., 2020).

Sintetizando, se puede resumir que:

- la **metatranscriptómica** estudia el ARN total transcripto;
- la **metaproteómica** se enfoca en los niveles de proteínas;
- la **metabolómica** estudia los perfiles metabólicos.

Se ha demostrado que el análisis metaproteómico y metabolómico de bacterias cultivables aisladas puede proporcionar información significativa sobre las características específicas de los genes de resistencia (Hoerr, V., et al., 2016; Schelli, K., et al., 2017; Vranakis, I., et al., 2014).

Durante las últimas dos décadas, el potencial del uso de tecnologías ómicas ha revolucionado la investigación clínica y ha contribuido a controlar la propagación de patógenos mediante la identificación de genes resistentes a los antibióticos, la identificación de posibles objetivos antimicrobianos y el desarrollo de agentes antimicrobianos altamente específicos (Chernov, V.M., et al., 2019; Zhang, A.N., et al., 2021). Por lo tanto, existe una necesidad urgente de uti-

lizar tecnologías ómicas para permitir un diagnóstico más rápido de patógenos resistentes a los medicamentos y mejorar los regímenes de tratamiento con antibióticos.

En particular, en medicina veterinaria, la metaproteómica se utilizó para evaluar diferentes métodos de manejo del estiércol de vaca para minimizar la propagación de genes de resistencia (Zhang, L., et al., 2020).

Estos estudios mostraron que las bacterias con mayor abundancia relativa en los metagenomas también producían más proteínas, incluidas las codificadas por genes de resistencia, en muestras de estiércol. Liu, Y., et al. (2020) también utilizaron metaproteomas para medir la abundancia de bacterias en los microbiomas intestinales humanos en respuesta a diferentes sustancias químicas, incluidos cuatro antibióticos. Las proteínas bacterianas identificadas se utilizaron para analizar la composición del microbioma y algunas vías funcionales.

Por lo tanto, la plataforma de metaproteómica presenta pruebas convincentes para los estudios de resistomas, no solo a nivel de genes sino también a nivel de proteínas. Los estudios de metabolómica suelen utilizar técnicas de espectrometría de masas y pueden incluir técnicas basadas en resonancia magnética nuclear (RMN) (Wishart, D.S., 2019).

Para que estas técnicas sean relevantes para futuros estudios de resistomas, se requieren avances en las metodologías de muestreo de alto rendimiento. Aunque de alcance limitado, el uso de análisis metaproteómicos y metabolómicos en la investigación de resistomas puede proporcionar respuestas a preguntas sobre los mecanismos involucrados en el desarrollo de resistomas.

Estos estudios pueden dar una indicación de que los genes de resistencia están activos en cualquier momento y qué genes de resistencia activos están relacionados. Además, puede ser posible evaluar la “intensidad” del resistoma en el medio ambiente en función de los cambios en los perfiles metabólicos.

En otras palabras, diferentes factores estresantes, como los antibióticos, afectan la composición del resistoma. Por ejemplo, se usaron estudios de metatranscriptómica y metabolómica para mostrar los efectos inhibidores del tanino de caqui en *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) (Liu, M., et al., 2020). Los autores demostraron que 370 genes y 19 metabolitos se expresaron diferencialmente en MRSA y que los cambios en el metaboloma fueron comparables a los cambios en el transcriptoma.

Una visión holística del resistoma solo surgirá de un enfoque integrado que incluya muchas técnicas diferentes. Además, como sugieren Nowrotek, M., et al. (2019), la combinación de las herramientas “ómicas” con las herramientas clásicas de investigación microbiana puede mejorar nuestra comprensión del resistoma.

Tal enfoque requiere muchos recursos y se debiera promover el establecimiento de un grupo interdisciplinario multinacional que pueda cubrir la amplia gama de técnicas y conocimientos necesarios para tal empresa, similar a la exitosa historia del Proyecto Genoma Humano a principios de la década de 2000.

Esta iniciativa puede cerrar la brecha que existe hoy en día entre “estructura y función” en la investigación de resistomas y de datos cualitativos, para incluir también datos cuantitativos. Esto permitiría crear modelos que puedan ser utilizados por los sectores de la salud y el medio ambiente para monitorear, controlar y prevenir la propagación de la resistencia a los antibióticos.

Indiscutiblemente, se trata de una serie de tecnologías muy modernas, complejas, aún caras, difíciles de implementar, pero que adecuadamente complementadas pueden aportar conocimiento crítico para el manejo de la resistencia antimicrobiana. Indiscutiblemente, como fue mencionado antes, se requerirá colaboración multidisciplinaria internacional para que este conjunto de metodologías pueda coordinarse eficientemente.

GENERADORES Y VÍAS DE TRANSMISIÓN DE LA RAM EN EL MEDIO AMBIENTE

En términos generales, el uso de antibióticos en humanos y animales siempre conlleva un riesgo inherente de selección de genes de resistencia a los antibióticos. Estos genes, a menudo, si no siempre, se encuentran en bacterias con otros genes que promueven la resistencia a otras sustancias químicas potencialmente dañinas (Aleksun, M.N. y Levy, S.B., 1999; Levy, S.B., 2002; Enault, F., et al., 2016).

Sería más interesante considerar a este conjunto de genes simplemente como “genes de resistencia”, porque los antibióticos no son los únicos químicos que seleccionan genes de resistencia. Es una desafortunada convención histórica etiquetar todos estos genes como genes de resistencia a los antibióticos, cuando en realidad pueden potencialmente conferir resistencia a muchas más sustancias químicas.

Una revisión de la literatura destaca tres clases bien caracterizadas de productos químicos que generan resistencia:

1. **Antimicrobianos**, de los cuales hay cuatro subclases: antibióticos, antifúngicos, antivirales y antiparasitarios.
2. **Metales pesados**.
3. **Biocidas** (desinfectantes y tensioactivos).

Sin embargo, también se conocen muchos otros productos químicos naturales derivados de plantas, con capacidad para seleccionar genes de resistencia, entre ellos alcaloides con actividad antimetabólica, flavonoides, terpenoides y muchas otras sustancias (Friedman, M., 2015), y xenobióticos (por ejemplo, disolventes como octanol, hexano y tolueno) (Ramos, J.L., et al., 2002; Fernandes, P., 2003).

La co-selección de genes que confieren resistencia a productos químicos peligrosos disolventes (Fernandes, P., 2003), biocidas (Pal, C., et al., 2015; Wales, A.D. y Davies, R.H., 2015; Wesgate, R., et al., 2016), antibióticos (Levy, S.B., 2002; Blanco, P., et al., 2016) y metales (Percival, S.L., et al., 2005; Pal, C., et al., 2015) es un fenómeno potencialmente importante desde el punto de vista ecológico y clínico.

La co-selección se logra de dos maneras:

1. **Co-resistencia**, mediante la cual la selección de un gen fomenta el mantenimiento de otro gen de resistencia, uno que no necesariamente ofrece una ventaja selectiva para el químico en cuestión (Johnson, T.A., et al., 2016).
2. **Resistencia cruzada**, en la que un gen de resistencia puede ofrecer protección contra múltiples sustancias químicas tóxicas (Curiao, T., et al., 2016).

La arquitectura genómica (por ejemplo, los genes de resistencia que se encuentran dentro de plásmidos, transposones e integrones) es la “caja de herramientas”, y los genes de resistencia que se encuentran en el mismo lugar del genoma son las “herramientas”. La resistencia cruzada es análoga a tener una herramienta capaz de múltiples funciones, como un martillo sacaclavos, que puede martillar y extraer un clavo, ofreciendo así múltiples funciones con la misma herramienta.

Las bombas de eflujo son proteínas de membrana encargadas del transporte de distintos compuestos desde el interior de las bacterias al exterior, contribuyendo de esta forma a la resistencia bacteriana. A menudo pueden proporcionar resistencia cruzada a múltiples productos químicos. Las bombas de eflujo bacterianas pueden ser muy específicas o muy promiscuas en su capacidad para expulsar moléculas. La especificidad de la bomba de eflujo depende de varios factores, incluyendo el tipo de bomba, el sustrato y las interacciones con otras proteínas.

La literatura describe tres vías principales para que las sustancias químicas generadoras de resistencia lleguen al medio ambiente, a saber:

1. Aguas residuales municipales e industriales.
2. Esparcimiento en el suelo de estiércol animal y lodos de depuradoras.
3. Acuicultura.

Generadores de resistencia: antibióticos

Escala del empleo de antibióticos en medicina humana

No es sencillo disponer de datos serios sobre el empleo de antibióticos en medicina humana. La descentralización de los sistemas de salud conspira contra el mantenimiento de bancos de datos confiables. Inglaterra, por las características de su sistema sanitario, tiene buenas posibilidades al efecto.

El consumo total de antibióticos había estado disminuyendo antes de la pandemia de COVID-19 (4,3 % de reducción entre 2017 y 2019, de 18,8 a 18,0 dosis diaria definida –DDD– por 1.000 habitantes por día). Durante la pandemia de COVID-19 se observó una fuerte disminución, de 10,9 % entre 2019 y 2020. Los datos se mantuvieron entre 2020 y 2021, con solo una ligera disminución adicional en el consumo del 0,5 %.

La prescripción de antibióticos continuó siendo alta en la práctica general. Los pacientes hospitalizados, así como los ambulatorios, mostraron un incremento en el consumo de antibióticos, que se atribuye al mayor control médico posterior a la pandemia. El consumo de antibióticos en la práctica odontológica declinó 7,1 %, sin retornar a los niveles prepandémicos (Public Health England, Reporte 2021-2022).

En 2010, India fue el mayor consumidor de antibióticos cuando se evaluó el tonelaje total; sin embargo, su uso per cápita (7,5 unidades per cápita) fue bajo en comparación con Australia y Nueva Zelanda, que registraron las tasas de uso más altas, de 87 y 70 unidades por año per cápita, respectivamente (Van Boeckel, T.P., et al., 2014). Una unidad de antibiótico se definió en este estudio como el número de dosis (es decir, píldora, cápsula o ampolla) vendidas (Van Boeckel, T.P., et al., 2014). China fue el segundo mayor consumidor de antibióticos a nivel mundial cuando se evaluó el tonelaje total, pero al igual que India, registró un uso de antibióticos per cápita relativamente bajo (7,5 unidades).

La heterogeneidad en el uso de antibióticos se reproduce aparentemente en todas las escalas geográficas. Por ejemplo, anidadas dentro de las grandes diferencias globales hay diferencias entre países y dentro de regiones más pequeñas, por ejemplo, Europa, donde se usaron casi un 300 % más de antibióticos per cápita en Turquía que en Armenia (Versporten, A., et al., 2014). Dentro de Europa, la dosis diaria definida (DDD) más alta de antibióticos (pacientes ambulatorios) per cápita se registra en Francia (32 DDD) y Grecia (30 DDD), con el Reino Unido (15 DDD) superando la del país europeo de uso más bajo, los Países Bajos, en un 33 % (Goossens, H., et al., 2005).

Las diferencias entre países a menudo se atribuyen a la facilidad con la cual las personas pueden automedicarse, con países del este y sur de Europa (p. ej., Bulgaria, Chipre, Grecia, Lituania, Rumania y España) demostrando un mayor acceso a antibióticos sin receta y, por lo tanto, un uso y abuso crecientes en el consumo de antibióticos (Safrany, N. y Monnet, D.L., 2012). En general, el uso de antibióticos per cápita en toda Europa es más bajo en las regiones del norte, moderado en las regiones del este y más alto en las regiones del sur (Goossens, H., et al., 2005).

Además de las grandes diferencias entre países dentro de las regiones, existen diferencias significativas en el uso de antibióticos dentro de los países. Por ejemplo, en Inglaterra, el mayor consumo combinado de antibióticos en la práctica general y el hospital se registró en Merseyside, con niveles similares a los informados en el sur de Europa, con 30,4 DDD por 1.000 habitantes por día, más de un 30 % más que Thames Valley, con el consumo más bajo (22,8 DDD por 1.000 habitantes por día) (Public Health England, 2014). Durham, un área en el noreste de Inglaterra, informó un 40 % más de prescripciones de antibióticos en la práctica general que Londres (sureste de Inglaterra) (Public Health England, 2014).

El Informe ESPAUR 2014 señala que las áreas dentro del Reino Unido que reportan altas tasas de prescripción de antibióticos también reportaron tasas más altas de resistencia a los antibióticos; un

hallazgo que los autores reconocieron requiere un examen más detenido. Aún se desconoce si estas variaciones regionales en las prescripciones de antibióticos se traducen en diferencias en el riesgo de selección y mantenimiento de la resistencia a los antibióticos en el medio ambiente.

Es probable que la evidencia del uso heterogéneo de antibióticos a pequeña y gran escala tenga múltiples causas y, como tal, los planes de acción contra la resistencia a los antimicrobianos deban ser lo suficientemente holísticos para abordar la diversidad de etiologías. Dada la política global de fomentar la disminución del uso de antimicrobianos en todas sus formas, es posible que las cifras antes mencionadas hayan experimentado una baja sustancial en los años transcurridos desde el reporte de esos datos.

Escala del empleo de antibióticos en medicina veterinaria

De acuerdo con lo publicado en *The State of the World's Antibiotics 2015*, dos tercios de todos los antibióticos producidos a nivel mundial cada año (65.000 toneladas de 100.000 toneladas totales) se utilizan en la cría de animales (Gelband, H., et al., 2015).

La variabilidad entre países en el uso de antimicrobianos veterinarios en animales destinados a la producción de alimentos, incluso solo dentro de los países de altos ingresos, puede ser significativa. Las ventas de agentes antimicrobianos veterinarios entre los 26 países de la UE en 2013, expresadas como mg de antibiótico por unidad de corrección de la población (PCU), sitúan a Noruega con los mg/PCU más bajos: 3,7 mg/PCU, mientras que el Reino Unido tiene 62,1 mg/PCU. La PCU es una unidad de medida estándar que tiene en cuenta el número de animales en un país y su peso promedio en el punto en el que es más probable que sean tratados, proporcionando una estimación del total de kg de animales destinados a la producción de alimentos en un país.

En el extremo superior del uso de antimicrobianos veterinarios en la UE se encontraban Italia (301,6 mg/PCU), España (317,1 mg/PCU) y Chipre (425,8 mg/PCU) (Agencia Europea de Medicamentos, 2015). La mayoría de estas ventas corresponden a las clases de antibióticos tetraciclina y penicilina, que representan entre el 6 y el 56 % y entre el 11 y el 61 % del total de antibióticos vendidos en cada país para animales destinados a la producción de alimentos, respectivamente (European Medicines Agency, 2015). En combinación con las sulfonamidas, estas tres clases de antibióticos representan el 71 % de las ventas totales en estos 26 países de la Unión Europea (UE)/Espacio Económico Europeo (EEE) en 2013.

En 2015, las ventas totales de antibióticos para uso terapéutico en animales en el Reino Unido fueron de 420 toneladas, aproximadamente el 44 % del uso total de antibióticos (Public Health England, 2015). El número de cabezas de ganado en el Reino Unido en 2013 fue: bovinos (9,8 millones), cerdos (4,9 millones), ovejas (32,8 millones) y pollos (162,6 millones) (Dirección de Medicamentos Veterinarios, 2014).

Los miligramos de ingrediente activo de antibióticos de importancia crítica (CIA) vendidos para animales destinados a la producción de alimentos por PCU para 2013 fueron: bovinos (8 mg/PCU) y porcinos y aves (172 mg/PCU) (Dirección de Medicamentos Veterinarios, 2014). Las tetraciclinas fueron los antibióticos más utilizados en animales (43,5 %), seguidos de las penicilinas (21,7 %), reflejando los patrones de uso en humanos donde se revierte el orden: las penicilinas (64 %) seguidas de las tetraciclinas (10 %) (Public Health England, 2015).

La estimación de que aproximadamente el 44 % de los antibióticos utilizados en el Reino Unido son para uso veterinario es mucho más baja que las estimaciones de otros países, como EE. UU., donde se estima que >70 % de los antibióticos se utilizan en el ganado (O'Neill, J., 2015).

Los antibióticos son importantes para mantener la salud y el bienestar de los animales. A menudo se dispensan antibióticos para tratar o prevenir infecciones en manadas/rebaños/parvadas (Gelband, H., et al., 2015). Los antibióticos a menudo se agregan al agua o a la comida del animal como una solución pragmática al hecho de que se crían en grupos, lo que dificulta aislar y tratar solo a los infectados. Además, el esfuerzo por aislar a los animales puede resultar estresante para estos y, en ocasiones, peligroso para el veterinario que administra el antibiótico.

Es de fundamental importancia considerar lo antes mencionado. Cuando los animales se crían en grandes grupos, en espacios reducidos, se comportan prácticamente como si se tratara de un gran organismo único. Un galpón de pollos de 10, 20 o 50.000 aves debe considerarse un “gran animal”. Cuando emerge una enfermedad en algunos miembros del grupo, el grupo debe ser tratado en su totalidad.

El uso de antibióticos para promover el crecimiento ha sido prohibido en Europa y está en declive en América del Norte. Los principales proveedores de alimentos como Tyson (Tyson Fresh Meat Inc., 2014), McDonald’s (McDonald’s Corporation, 2015), Chick-fil-A (Chick-fil-A, Inc., 2014), Subway (Subway IP, Inc., 2016) y Taco Bell (Taco Bell Corp., 2016) están incorporando gradualmente nuevos compromisos para restringir en gran medida el uso de antibióticos en la producción de alimentos, principalmente en las aves de corral.

La mayor diseminación de las bacterias resistentes y los genes de resistencia a los antibióticos en el medio ambiente puede deberse a las presiones selectivas impuestas por las actividades humanas. Estas actividades incluyen el uso excesivo de antibióticos en clínicas, hospitales y geriátricos (Duan, M., et al., 2020; Feng, J., et al., 2017).

Otras actividades incluyen el uso de antibióticos para prevenir enfermedades y promover el crecimiento en animales de granja y acuicultura (Ji, X., et al., 2012; Watts, J.E.M., et al., 2017; Xiong, W., et al., 2018). Las bacterias y los genes que codifican resistencia a los antibióticos provenientes de estas actividades se acumulan en plantas

de tratamiento de aguas residuales, compost y corrientes de agua de las granjas (Dong, P., et al., 2019; Karkman, A., et al., 2018; Wu, N., et al., 2019).

A medida que las bacterias resistentes mueren, los genes de resistencia se degradan o disipan, pero otros pueden acumularse en el agua (Anthony, E.T., et al., 2020; Yang, Y., et al., 2017), en el suelo (Chen, Q., et al., 2016; Han, X.M., et al., 2016; Wu, N., et al., 2020) o en el aire (Brągoszewska, E. y Biedroń, I., 2018; Pal, C., et al., 2016; Zhang, T., et al., 2019). Diferentes hábitats pueden acumular genes de resistencia específicos. A estos genes de resistencia localizados se los denomina subresistomas.

Los genes de resistencia en los subresistomas están vinculados y entrelazados en el ecosistema. Comprender las relaciones entre los genes de resistencia en nuestro ecosistema podría ayudar a aplicar eficientemente el enfoque de *Una Salud* para reducir la aparición de resistencia a los antibióticos en las bacterias.

El concepto Una Salud busca optimizar la salud de las personas, los animales y el medio ambiente a través de esfuerzos conjuntos de gobiernos, sociedades, corporaciones e instituciones (Al-Tawfiq, J.A., et al., 2017; Hu, Y., et al., 2017) y, por supuesto, de todos aquellos individuos con responsabilidad en la prescripción, manejo y aplicación de antimicrobianos. Estas acciones conjuntas pueden permitir una vigilancia efectiva que conduzca a una mejor gestión de la salud humana, animal y ambiental.

El objetivo principal, en el ámbito de la resistencia a los antimicrobianos, sería reducir o prevenir la propagación de genes de resistencia en el medio ambiente y, por lo tanto, evitar la aparición y propagación de superbacterias resistentes a los antibióticos (Kim, D.W., Cha, C.J., 2021).

PRINCIPALES FAMILIAS DE ANTIBIÓTICOS Y SUBTIPOS DE GENES DE RESISTENCIAS EN EL MEDIO AMBIENTE

Los antibióticos comunes se pueden dividir en 16 familias, según las estructuras químicas y los modos de acción. Las principales estructuras de antibióticos incluyen β -lactámicos, tetraciclinas, sulfonamidas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos, trimetoprima y glucopéptidos (Stoll, C., et al., 2012; Watts, J.E.M., et al., 2017; dos Santos, D.F., et al., 2017). A estos se agregan los fenicoles, lincosamidas, polipeptídicos, polienos, nitroimidazoles, fosfonatos, estreptograminas y oxazolidinonas.

Los principales modos de acción de los antibióticos incluyen la interrupción de la biosíntesis de la pared celular, de la membrana celular, de las proteínas y del ADN/ARN, o la inhibición de enzimas bacterianas específicas (Zhuang, M. et al., 2021).

Actualmente, entre 20 y 36 antibióticos se usan comúnmente en entornos clínicos, agrícolas y acuícolas (Qiao, M., et al., 2018; Zhang, Q.Q., et al., 2015). El uso generalizado de antibióticos ha llevado a la aparición de bacterias resistentes, así como de bacterias resistentes a múltiples antibióticos (MAR). Por ejemplo, D'Costa, V.M., et al. (2006), aislaron un grupo diverso de bacterias MAR formadoras de esporas de resistomas del suelo que eran resistentes a 7 u 8 de los antibióticos comunes. Dos de los aislamientos eran resistentes a 15 de los 21 antibióticos de uso común.

La resistencia a los antibióticos está codificada en genes de resistencia específicos y el uso generalizado de antibióticos contribuye a aumentar los subtipos de genes de resistencia en el medio ambiente (Li, C. et al., 2016; Mao, D., et al., 2015).

Las bacterias mejor estudiadas en el resistoma son las entéricas, que están asociadas con enfermedades transmitidas por los alimentos y el agua (Stange, C., et al., 2016; Wilson, H. y Török, M.E., 2018). Estas *Enterobacteriaceae* multirresistentes pueden propagar o diseminar genes de resistencia desde granjas de animales o clínicas/

hospitales y pueden afectar negativamente a la agricultura y la salud pública.

Los genes de resistencia se propagan en comunidades bacterianas predominantemente por transmisión horizontal (THG) (Lermينياux, N.A. y Cameron, A.D.S., 2019; Sultan, I., et al., 2018).

Los pequeños plásmidos que portan genes multirresistentes (MAR) no solo son una amenaza para la salud humana, sino que también pueden diseminar los genes de resistencia en los resistomas (Sultan, I., et al., 2018). En esta revisión, se destacan cuatro subtipos de genes de resistencia importantes responsables de la resistencia a los carbapenémicos, la colistina, las tetraciclinas y las sulfonamidas (Zhuang, M., 2021).

Genes de resistencia a carbapenémicos

Los β -lactámicos (penicilinas) fueron la primera familia de antibióticos estudiada y se han utilizado durante mucho tiempo en medicina humana para tratar infecciones bacterianas graves. Estos antibióticos se unen a las proteínas fijadoras de penicilina (*penicillin-binding proteins*) e inhiben la síntesis de peptidoglicano, componente esencial de la pared celular de bacterias Gram positivas y, dadas las diferencias estructurales de la pared con las Gram negativas, no actúan sobre estas.

Los carbapenémicos (imipenem, meropenem, etc.) son la última línea importante de β -lactámicos para el tratamiento de bacterias entéricas resistentes a múltiples fármacos. Lamentablemente, en animales de granja se detectan cada vez más *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenémicos, posiblemente debido al uso excesivo de antibióticos y otros productos químicos utilizados en producción animal (Köck, R., et al., 2018). Los carbapenémicos son un componente “central” bien estudiado del resistoma en granjas y en el medio ambiente (Potter, R.F., et al., 2016).

La resistencia a los carbapenémicos es un problema importante en medicina humana. El aumento de los casos de bacterias entéri-

cas portadoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) resistentes a los β -lactámicos, así como a las cefalosporinas de tercera generación, ha convertido a los carbapenémicos en los fármacos de primera línea en el control de la infección por bacterias productoras de BLEE, así como en cultivos bacterianos que muestran resistencia a los betalactámicos usados en el antibiograma (Wilson, H. y Török, M.E., 2018).

La resistencia a los carbapenémicos en bacterias entéricas se debe a la producción de cuatro carbapenemasas principales: β -lactamasas de clase A, como la carbapenemasa de *Klebsiella pneumoniae* (KPC); dos β -lactamasas de clase B (metalo- β -lactamasa de Nueva Delhi, NDM, y metalo- β -lactamasa codificada por integrones de Verona, VIM); y las β -lactamasas de clase D, como la oxacilinas-48 (OXA-48) (Mills y Lee, 2019; Potter et al., 2016; Wilson y Török, 2018).

Otras carbapenemasas que desempeñan funciones menores incluyen la β -lactamasa de espectro extendido (GES) de Guayana y la β -lactamasa hidrolizante de imipenem (IMI) (Mills, M.C. y Lee, J., 2019; Potter, R.F., et al., 2016).

Las cuatro carbapenemasas principales tienen diferentes propiedades y orígenes geográficos, pero las cuatro tienen una amplia distribución mundial (Mills, M.C. y Lee, J., 2019). Por ejemplo, la KPC, una serina- β -lactamasa, se descubrió originalmente en *K. pneumoniae* y está ampliamente distribuida en el hemisferio occidental (Mills, M.C. y Lee, J., 2019).

La NDM-1 (*New Delhi metallo-beta-lactamase*), que predomina en partes de Asia, es un tipo de enzima que hace a las bacterias que la poseen resistentes a un gran número de antibióticos betalactámicos. Entre ellos se encuentran los de la familia de los carbapenémicos, principal arma frente a las cepas bacterianas resistentes a los antibióticos.

La familia de metalobetalactamasas (VIM) codificadas por integrones de Verona se informó en Verona, Italia, en 1999. Hasta la fecha, hay 23 variantes reportadas. Las enzimas VIM se encuentran principalmente en *P. aeruginosa*, también en *P. putida* y, muy rara-

mente, en *Enterobacteriaceae*. Asociadas a integrones, a veces dentro de plásmidos, hidrolizan todos los betalactámicos excepto los monobactámicos y evaden todos los inhibidores de betalactámicos. Hay una fuerte incidencia de estas enzimas en el este de Asia. VIM se encuentra principalmente en Europa (por ejemplo, Italia y Grecia) y OXA-48, que escinde la oxacilina además de la penicilina, se encuentra principalmente en el norte de África y Europa.

La mayoría de los genes codificadores de carbapenemasas son transmitidos por plásmidos, lo que hace que se propaguen horizontalmente de manera eficiente en el microbioma (Mills, M.C. y Lee, J., 2019; Wilson, H. y Török, M.E., 2018).

Los principales subtipos de genes de resistencia incluyen **blaKPC**, **blaNDM**, **blaVIM** y **blaOXA**. Otros determinantes genéticos que contribuyen a la resistencia a carbapenémicos incluyen mutaciones en bombas de eflujo o en porinas que modifican la permeabilidad de la membrana bacteriana frente a la captación de estos fármacos (Suay-García, B. y Pérez-Gracia, M.T., 2019).

Genes de resistencia a la polimixina

La familia de las polimixinas es la segunda forma de resistencia a los antibióticos mejor estudiada debido a la larga historia de uso de estos fármacos en producción animal. Las polimixinas son polipéptidos catiónicos cíclicos que se dirigen a la membrana externa de las bacterias Gram negativas, se asocian con el lípido A del lipopolisacárido y provocan la ruptura de la pared celular (Sun, J. et al., 2018).

La polimixina B y la colistina (polimixina E) son las dos polimixinas principales utilizadas en medicina humana. La colistina se utiliza como profiláctica y promotora del crecimiento en animales de granja.

Algunos países han prohibido el uso de colistina en animales para reducir su impacto en el resistoma. Liu, Y.Y., et al. (2016) informaron por primera vez sobre el gen de resistencia a la colistina, **mcr-1**, aislado de *E. coli* en una granja porcina en China.

Se han informado otros genes (*mcr-1* a *mcr-8*), la mayoría de ellos transmitidos por plásmidos (Borowiak, M., et al., 2017; Carattoli, A., et al., 2017; Sun, J., et al., 2018; Wang, R., et al., 2018). La colistina y la tigeciclina son la última línea para controlar las *Enterobacteriaceae* resistentes a los carbapenémicos (CRE). Se trata de un grupo de bacterias altamente resistentes capaces de generar mortalidad en pacientes hospitalizados. El aumento mundial de CRE ha impulsado el uso intensivo de la colistina, lo que a su vez ha contribuido a aumentar la resistencia a ese fármaco (Al-Tawfiq, J.A., et al., 2017; Sun, J., et al., 2018).

Genes de resistencia a las tetraciclinas

La familia de las tetraciclinas (por ejemplo, tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, tigeciclina) es uno de los grupos de antibióticos más utilizados en entornos clínicos y veterinarios para tratar infecciones y como promotores del crecimiento (Peiris, C., et al., 2017; Zhang, Q.Q., et al., 2015).

Zhang, Q.Q. et al. (2015) clasificaron a la tetraciclina como uno de los cinco antibióticos principales utilizados en China en 2013. Se han detectado altas concentraciones de tetraciclinas en estiércol de ganado (Qian, X., et al., 2018), plantas de tratamiento de aguas residuales (Grabert, R., et al., 2018), suelos (Xiang, L., et al., 2016) y medio acuático (Hoa, P.T.P., et al., 2011).

Los genes de resistencia a los antibióticos incluyen los responsables de las bombas de eflujo dependientes de la energía (**tetA**, **tetC**, **tetG**, **tetK**), las proteínas de protección ribosómica (**tetM**, **tetO**, **tetQ**, **tetW**) y los implicados en la inactivación o modificación enzimática (**tetX**) (Kim, S.Y., et al., 2016; Mao, D., et al., 2015).

El alto uso y presencia en el medio ambiente ha llevado a una mayor resistencia a la tetraciclina en algunas especies entéricas, como *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Salmonella* y *Klebsiella* (Akiyama, T. et al., 2013; Lee, S.W., Wendy, W., 2017).

Genes de resistencia a las sulfonamidas

Las sulfonamidas, introducidas por primera vez en 1935, son una familia de antibióticos sintéticos comúnmente utilizados para tratar infecciones producidas por bacterias y protozoos en animales de granja y humanos. Las sulfonamidas (como la sulfadiazina y la sulfadimetoxina) inhiben la biosíntesis de ácido dihidrofólico en bacterias Gram negativas y Gram positivas al unirse e inhibir la dihidropteroato sintetasa (Baran, W., et al., 2011).

Se han detectado altas concentraciones de residuos de sulfonamidas y sus correspondientes subtipos de genes de resistencia en diferentes hábitats (Xu, J., et al., 2015). Los genes de resistencia se han identificado en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Xu, J., et al., 2015), explotaciones ganaderas (Perreten, V., Boerlin, P., 2003), suelos agrícolas (Ji, X., et al., 2012), ríos (Jia, J. et al., 2018; Xu, J. et al. 2015) y sistemas cercanos a la costa.

Un estudio exhaustivo sobre bacterias resistentes y genes de resistencia a sulfonamidas en granjas ganaderas y avícolas en la provincia china de Jiangsu reveló que la fertilización con estiércol contaminado con antibióticos tuvo una influencia significativa en la selección de bacterias y genes que codifican resistencia a sulfonamidas.

El tipo de muestra, el tipo de animal y el tiempo de muestreo pueden afectar la regla de prevalencia y distribución de los genes de resistencia a sulfonamidas. Los resultados de la identificación del género de bacterias resistentes a sulfonamidas y la descripción de los genotipos del género revelaron que los patógenos oportunistas resistentes aumentaron el riesgo de afectar la salud pública. El autor sugiere que la alta frecuencia de varias combinaciones de los genes *sul* (sulfonamida-resistentes) en muestras de suelo agrícola abonado del sureste de China debería ser el foco de mayor atención y plantea la necesidad urgente de regulación y supervisión de los antibióticos veterinarios (Na, W. et al., 2014).

PRINCIPALES VÍAS DE DESTINO DEL EMPLEO DE ANTIBIÓTICOS EN EL MEDIO AMBIENTE

a) Aguas residuales municipales e industriales

Una gran fracción de los antibióticos consumidos por los humanos se excreta en la orina y las heces en su forma biológicamente activa (Singer, A.C., et al., 2011; Zhang, Q.Q., et al., 2015; Verlicchi, P. y Zambello, E., 2016). Los antibióticos excretados por humanos ingresan a las plantas de tratamiento de aguas residuales y siguen una de las siguientes rutas:

1. Biodegradación (Chen, Q., et al., 2015).
2. Adsorción a lodos de depuradora (Li, B. y Zhang, T., 2010; Ahmed, M.B., et al., 2015).
3. Salida al efluente sin cambios (Rivera-Utrilla, J., et al., 2013; Luo, Y., et al., 2014).

Posteriormente, se pueden generar metabolitos biológicamente activos del antibiótico en las aguas residuales y en el medio ambiente más amplio; estas sustancias son potencialmente relevantes desde el punto de vista ecológico (Gros, M., et al., 2013).

La persistencia de un antibiótico en una planta de tratamiento de aguas residuales está en función de:

1. La composición del afluente (industrial, municipal) (Gardner, M., et al., 2013; Larsson, D.G.J., 2014).
2. La salinidad.
3. La temperatura.
4. La eficiencia de la planta de tratamiento (p. ej., filtro de lecho percolador, lodo activado y biorreactor de membrana).
5. El tiempo de retención hidráulica.
6. El pH.

En el Reino Unido existen estaciones depuradoras de aguas residuales modernas, con tecnologías capaces de retener microorganismos. Una encuesta en 16 estaciones depuradoras de aguas residuales reveló la presencia de eritromicina, ofloxacina y oxitetraciclina (las

únicas tres que analizaron los autores) en cada una de las estaciones depuradoras (Gardner, M., et al., 2013).

La concentración media de eritromicina fue de $2,0 \mu\text{g/L} \pm 0,8$ desviación estándar [SD; 42 % coeficiente de variación (CoV)]. La concentración mediana de ofloxacin fue de $0,08 \mu\text{g/L} \pm 0,33$ SD (1,78 % CoV), mientras que la oxitetraciclina tenía una concentración media de $3,6 \pm 2,5$ SD (70 % CoV) (Gardner, M., et al., 2013).

La afinidad de la oxitetraciclina para unirse al lodo condujo a concentraciones relativamente altas en esa matriz en comparación con otros productos farmacéuticos en el efluente ($1,15\text{--}43 \text{ mg/kg}$) (Gardner, M., et al., 2013).

El coeficiente de variación para estos antibióticos varió de 42 a 178 %, lo que refuerza el hecho de que la composición del efluente de las aguas residuales tiene un alto grado de variabilidad.

La eliminación preferencial de algunos antibióticos [p. ej., sulfonamidas (Yang, S.F., et al., 2012), ciprofloxacina (Polesel, F., et al., 2015)] en el lodo sugiere que los riesgos de la contaminación de lodo a la tierra probablemente sean diferentes de los riesgos de la contaminación de los efluentes de aguas residuales en los ríos.

Los autores también informaron una baja de concentraciones de productos farmacéuticos donde había dosificación de hierro en la etapa de tratamiento primario de una estación depuradora de aguas residuales de filtro percolador (Gardner, M., et al., 2013). Concretamente, informaron una pérdida promedio de eritromicina, ofloxacin y oxitetraciclina de 20, 74 y 51 %, respectivamente, después de la dosificación de hierro (utilizado para eliminar el fósforo), en comparación con el tratamiento primario sin dosis, de -11, 19 y -4 %, respectivamente.

Las concentraciones de oxitetraciclina dentro de la cuenca de un río que recibe efluentes de estaciones depuradoras de aguas residuales variaron 14 veces durante nueve días de muestreo en las estaciones relevadas, de $9,4$ a 137 g/d (normalizado al flujo) (Comber, S., et

al., 2015), lo que ilustra la variabilidad en el consumo de antibióticos y el grado en que pueden fluctuar sus exposiciones ambientales.

b) Aguas grises, regeneradas y aguas negras

La huella hídrica (HH) es un indicador medioambiental que mide el volumen de agua dulce (litros o metros cúbicos) utilizado a lo largo de toda la cadena de producción de un bien de consumo o servicio. Se puede emplear para medir el consumo de agua de prácticamente cualquier cosa: desde la fabricación textil, hasta el consumo total de un país, pasando por una cosecha o por las actividades anuales de una compañía. En líneas generales, el objetivo de la huella hídrica es crear conciencia sobre el enorme volumen de agua que requieren nuestros procesos de producción y hábitos de vida, para fomentar un uso racional y sostenible (Iberdrola, visitado 8 de abril de 2023).

La huella hídrica global en el período 1996-2005 fue de 9087 Gm³/año (volumen global de flujos de agua virtual, entendiéndose por Gm³ mil millones de metros cúbicos, o un billón de litros de agua), de los cuales el 15 % se categorizó como aguas grises (UNESCO-IHE, 2011).

Las **aguas grises** se definen como el agua procedente de la red de suministro de agua potable que se ha utilizado para bañarse o lavar platos o ropa, excluyendo el agua del inodoro (Finley, S., et al., 2009). El **agua recuperada** suele ser agua que se origina a partir de efluentes de las plantas depuradoras de aguas residuales que se ha sometido a un tratamiento adicional para garantizar su uso seguro en una variedad de aplicaciones, incluido el riego y la descarga de inodoros (Kinney, C.A., et al., 2006).

Las **aguas negras** o *blackwater* (Otterpohl, R., et al., 2004), constituyen un tipo específico de efluente de aguas residuales que contiene una alta concentración de materia orgánica y contaminantes, como heces fecales y orina, así como posiblemente otros residuos orgánicos. A diferencia de las aguas grises o *greywater*, que provienen prin-

principalmente de fuentes no fecales (lavamanos, duchas, lavadoras), el *blackwater* incluye desechos humanos directos.

Las aguas negras requieren un tratamiento más avanzado que las grises debido a su mayor carga de contaminantes biológicos y químicos. Este tratamiento puede incluir procesos como la desinfección, la digestión anaeróbica o aeróbica y la filtración, para hacerlas seguras para su descarga o eventual reutilización.

En sistemas avanzados de gestión de aguas residuales, como los sistemas descentralizados o de reutilización de agua, el *blackwater* puede ser tratado y reciclado para su uso en aplicaciones no potables, como el riego de cultivos no comestibles o la recarga de inodoros. Esto ayuda a conservar los recursos hídricos y reducir la contaminación ambiental.

Si bien las aguas residuales de los EE. UU. deben cumplir con las pautas de tratamiento establecidas por los estados antes de usarse para el riego, las regulaciones no requieren que las aguas residuales que se originan en los *feedlots* o lotes de alimentación de animales sean tratadas antes de su aplicación al suelo (Dodgen, L.K., y Zheng, W., 2016).

En lo referido al empleo de aguas recuperadas, el tema es relativamente nuevo en el Reino Unido; se trata de una práctica bien establecida en climas cálidos y secos donde la presión hídrica se ha mantenido elevada de manera sostenida (Hamilton, A.J., et al., 2005). La perspectiva de fuentes de agua menos confiables en el futuro, como resultado del cambio climático, podría hacer que esta fuente de agua en particular sea más importante en el Reino Unido (Prudhomme, C., et al., 2012).

El agua recuperada se utiliza actualmente para regar cultivos por aspersión (p. ej., lechuga, zanahorias y judías verdes), campos de golf y parques (Kinney, C.A., et al., 2006; Calderón-Preciado, D., et al., 2013; Thanner, S., et al., 2016), y como tal se está introduciendo en hábitats del suelo que podrían no haber estado expuestos previamente a cantidades significativas de genes de resistencia o de productos

químicos que generan resistencia (Fahrenfeld, N., et al., 2013; Han, X.M, et al., 2016).

Por otra parte, en algunos casos, esa agua se utiliza para regar cultivos que van directamente a la mesa del consumidor, sin cocción previa. Además, la amplificación de bacterias resistentes a los antibióticos dentro del sistema de distribución de agua recuperada es poco conocida, pero representa un riesgo potencial adicional para los humanos y el medio ambiente (Fahrenfeld, N., et al., 2013).

Tanto las aguas residuales tratadas como las aguas residuales de las operaciones de alimentación animal pueden tener altos niveles de materia orgánica disuelta y nutrientes, así como una actividad y composición de la comunidad microbiana muy variables (Dodgen, L.K., y Zheng, W., 2016). La interacción entre la comunidad microbiana, los antibióticos y la materia orgánica disuelta puede tener un gran impacto en el destino de los antibióticos en el medio ambiente del suelo, a través de una combinación de biodegradación y adsorción (Dodgen, L.K., y Zheng, W., 2016).

La convivencia y reproducción, junto con los sistemas de intercambio de material genético de los diferentes géneros y especies bacterianas presentes en estos nichos, constituyen una verdadera “fábrica” para la emergencia y diseminación de nuevos microorganismos resistentes.

Es muy importante mencionar que, mientras en países de elevados ingresos se analizan profundamente las implicancias del tratamiento de aguas grises y negras, las características de las plantas de tratamiento y la contribución de los efluentes de estas plantas a la diseminación de determinantes de resistencia al medio ambiente y, consecuentemente, a animales y humanos, en países de ingresos medios y bajos las circunstancias y prioridades son muy diferentes.

En gran cantidad de ciudades latinoamericanas el tratamiento de efluentes de los conglomerados urbanos es, directamente, inexistente. Esto se extiende a instituciones de salud, por ejemplo, hospitales, que descargan sus efluentes “crudos” a cursos de agua o en “lagunas”.

A esto se suma un problema aún más grave. Los establecimientos de cultivo de vegetales comestibles para la población de las ciudades, en general ubicados muy cerca de estas, utilizan como “fertilizante” el contenido de camiones llamados “atmosféricos”, que disponen en esos cultivos el contenido de “pozos negros” previamente cargados en sus cisternas.

Parece una obviedad decir que, en estos países, se requiere educación de la población para el uso sano y eficiente de los recursos; entrenamiento en buenas prácticas agrícolas y sanitarias por parte del personal involucrado en la producción de alimentos; y una clara decisión política de avanzar en el diseño de plantas de tratamiento de aguas residuales modernas. Todo esto, por supuesto, al mismo tiempo que se continúa con todos los aspectos que hacen al uso prudente y racional de antimicrobianos.

Excreción de antibióticos y contaminación por estiércol

En medicina veterinaria, al igual que en medicina humana, cuando los animales consumen antibióticos, se libera entre un 30 y un 90 % en el estiércol y la orina (Sarmah, A.K., et al., 2006; Berendsen, B.J.A., et al., 2015). Se ha demostrado que los excrementos animales contaminan el medio ambiente con bacterias resistentes a los antibióticos (Udikovic-Kolic, N., et al., 2014; Wichmann, F., et al., 2014).

Este fenómeno se demostró recientemente en una encuesta de heces de 20 granjas comerciales porcinas y 20 de ganado vacuno en los Países Bajos. El estudio informó presencia de antibióticos en el 55 % de las heces porcinas del 80 % de las granjas porcinas y en el 75 % de las heces de terneros del 95 % de las granjas bovinas (Berendsen, B.J.A., et al., 2015).

Entre los antibióticos recuperados, oxitetraciclina, doxiciclina y sulfadiazina fueron los más frecuentemente identificados, seguidos de tetraciclina, flumequina, lincomicina y tilosina. Más de un tercio de las muestras de heces contenían más de un antibiótico: hasta tres

antibióticos diferentes en heces porcinas y hasta ocho antibióticos diferentes en heces bovinas (aunque esto último aparece como un poco exagerado).

Los autores concluyeron que la suma de las concentraciones de diferentes antibióticos dentro de una muestra excedía las concentraciones necesarias para seleccionar la resistencia a los antibióticos, por ejemplo, la concentración selectiva mínima (CSM).

La transmisión observada de genes de resistencia a través de camas y suelos contaminados en granjas de vacas y terneros (Call, D.R. et al., 2013; Kyselková, M., et al., 2015; Liu, Y.Y., et al., 2016) destaca la importancia de la bioseguridad y la necesidad de separar a los animales tratados para seguridad del rebaño (cuando sea factible), y de no reutilizar la cama de los animales infectados y tratados (Mitchell, S.M., et al., 2015).

En este tipo de estudios es muy importante verificar qué ocurre en el tiempo posterior a la realización de la prueba. En términos generales, los microorganismos que adquieren ciertos niveles de resistencia a fármacos se encuentran “protegidos” por los mismos mientras dura el tratamiento, para luego ser absorbidos por la población bacteriana general más o menos rápidamente, una vez finalizado.

Cualquier tratamiento antimicrobiano genera resistencia, aun el mejor diseñado y ejecutado, porque ese tratamiento está dirigido al agente que está produciendo una enfermedad, que ha sido caracterizado y frente al cual se administra un fármaco en la dosis necesaria y suficiente para eliminarlo. Sin embargo, ese régimen de dosificación (dosis, intervalo horario y duración del tratamiento) tiene diferentes efectos sobre la población de la microbiota, donde tendrá efectos letales sobre algunos microorganismos, subletales sobre otros y ningún efecto sobre otros.

Este simple fenómeno da claras ventajas de supervivencia a los resistentes, ventajas que desaparecerán al finalizar el tratamiento. En la microbiota intestinal, en general se producen mutaciones en miembros de la comunidad bacteriana; eso ocurre siempre y, dada

la enorme magnitud de la vida microbiana intestinal, son fenómenos constantes y frecuentes. Esas mutaciones pueden producirse en genes que codifican estructuras o funciones celulares y, en algunas oportunidades, pueden estar relacionadas con el mecanismo de acción de algún antibiótico: por ejemplo, un cambio a nivel de pared o membrana celular podría dificultar o impedir la penetración de un antimicrobiano, o dificultar la unión de aquel que ejerce su efecto a ese nivel.

De forma similar, cambios en una reacción enzimática podrían dificultar el mecanismo de acción de agentes cuyo rol es bloquear esa o esas reacciones. Claramente, cuando esos cambios mediados por mutaciones se producen en el curso de un tratamiento antibiótico y modifican la susceptibilidad de la bacteria mutante, nos enfrentamos a la emergencia de una nueva cepa resistente. La supervivencia de esa cepa, una vez suspendido el tratamiento y perdida la “protección” que el antimicrobiano le provee, será determinante para que esa resistencia se haga epidémica o no, o simplemente desaparezca.

Por otra parte, al establecerse un tratamiento antimicrobiano como se describió antes, puede haber en el microbioma intestinal microorganismos portadores de genes de resistencia al antimicrobiano que se está utilizando. Ese hecho casual los deja en una posición de superioridad sobre el resto de la población, lo que les permite reproducirse con menos competencia. Eso, sumado a las posibilidades de transferencia horizontal de determinantes de resistencia, puede dar lugar, en poco tiempo, a la emergencia de una importante población resistente.

Aunque es muy probable que, una vez finalizado el tratamiento y desaparecido el hándicap otorgado por la presencia del antimicrobiano, el retorno de la competencia diluya a la población resistente a los niveles previos.

El tratamiento de los terneros con oxitetraciclina no produjo un efecto significativo, un resultado que los autores atribuyen al tamaño pequeño del ensayo, pero similar al de un estudio anterior que com-

paró los efectos diferenciales de la vía de administración de antibióticos en la generación de resistencia en el microbioma (Zhang, Y. et al., 2013).

Los investigadores también introdujeron una *E. coli* marcada resistente a múltiples fármacos en las camas de los terneros y encontraron un aumento significativo en la población de *E. coli* en las camas de los terneros tratados con ceftiofur en comparación con los terneros controles no tratados (Liu, Y.Y., et al., 2016). La transmisión desde el lecho al animal se confirmó cuando se descubrió que los terneros excretaban *E. coli* resistente a múltiples fármacos en sus heces.

Los investigadores también encontraron co-selección de *E. coli* resistente al florfenicol después del tratamiento de animales con ceftiofur, y viceversa.

Este estudio ejemplifica muchos de los factores que dificultan el control de la resistencia a los antimicrobianos en un entorno veterinario, a saber:

1. Persistencia y liberación del fármaco al medio ambiente a través de la orina y las heces.
2. Selección de organismos resistentes a los antibióticos en el medio ambiente.
3. Transmisión de microbios resistentes a los medicamentos adquiridos del medio ambiente (Liu, Y.Y., et al., 2016).

La transmisión de bacterias y genes resistentes a los antibióticos de animales a humanos ha sido demostrada en la literatura (Wulf, M.W.H., et al., 2008; Smith, T.C., et al., 2015). La transmisión de la resistencia a los antimicrobianos en la granja se ha reportado para una amplia gama de animales: cerdos (Crombé, F., et al., 2013; Novais, C., et al., 2013), vacas (Wichmann, F., et al., 2014) e insectos (Zurek, L. y Ghosh, A., 2014; Usui, M., et al., 2015; Hammer, T.J., et al., 2016).

Una revisión reciente de la literatura académica que aborda el tema del uso de antibióticos en la agricultura sugiere, entre múltiples aspectos, que solo en siete estudios (5 %) no se encontró relación entre el consumo de antibióticos en animales y la resistencia en hu-

manos, mientras que en 100 (72 %) sí se encontró evidencia (O'Neill, J., 2015).

El grado en que se realiza esta transmisión de animales a humanos y viceversa es de gran interés y tiene importantes implicancias para la salud pública y animal (Weir, M., et al., 2012; Woolhouse, M., et al., 2015; Klous, G., et al., 2016).

Siempre debemos considerar que estamos trabajando en un sistema multicompartimental: cada especie animal recibe antimicrobianos y los intercambia, junto con bacterias patógenas y saprófitas, susceptibles o resistentes, y determinantes de resistencia, con otros animales o con el ambiente, en un equilibrio dinámico. La complejidad de este sistema requiere un enfoque multidisciplinario para su comprensión y manejo.

c) Aplicación al suelo de estiércol y lodos

El tratamiento biológico de las aguas residuales genera lodos o “biosólidos”, un material de desecho de la planta de tratamiento de aguas residuales que tiene un alto contenido de proteínas, aceites y grasas no degradados, así como de microorganismos y productos de todo tipo, incluidos fármacos no degradados, los cuales pueden ser detectados desde menos de ng/L hasta $>10 \mu\text{g/L}$ (Fick, J., et al., 2010; McClellan, K. y Halden, R., 2010).

Se estima que el 37 % de los biosólidos se aplican al suelo en Europa, lo que equivale a aproximadamente $2,39 \times 10^6$ toneladas secas por año (Kinney, C.A., et al., 2008). En 2008 se produjeron aproximadamente 1,4 millones de toneladas de lodos secos en Inglaterra y Gales, de los cuales el 77 % se dispersó en la tierra con fines agrícolas (Water U.K., 2010).

Los biosólidos representan menos del 5 % del material orgánico total que se destina a las tierras agrícolas (Water U.K., 2010). En el caso del Reino Unido, todos los biosólidos utilizados en tierras agrícolas se aplican de acuerdo con las Regulaciones de Lodos (uso en

agricultura) y el Código de prácticas para el uso agrícola de lodos de plantas depuradoras.

Los reglamentos se ocupan principalmente del impacto de los metales contenidos en el lodo en el suelo receptor y en los cuerpos de agua adyacentes (subterráneos y superficiales). Sin embargo, abordan genéricamente cualquier componente del lodo que afecte negativamente el rendimiento de los cultivos o ponga en peligro a animales o humanos, ya sea directamente o a través de la cadena alimentaria (Defra, 2006).

Los antibióticos que se encuentran con mayor frecuencia en los lodos son aquellos que generalmente son menos solubles en agua, por ejemplo, norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacina, trimetoprima, sulfametoxazol y doxiciclina (McClellan, K. y Halden, R., 2010; Clarke, B.O. y Smith, S.R., 2011).

La concentración de antibióticos en el lodo y el estiércol variará mucho según el origen del afluente, las condiciones de tratamiento, las propiedades de partición de los antibióticos y las condiciones ambientales (Hörsing, M. et al., 2011; Chen, Q., et al., 2013; Li, W. et al., 2013).

Dos biocidas, triclocarbán y triclosán, fueron los analitos (componentes de interés analítico de una muestra) más abundantes en un amplio estudio de productos farmacéuticos y de cuidado personal en lodos de aguas residuales en los EE. UU. Alcanzaron concentraciones tan altas como 48,1 y 19,7 mg/kg (peso seco), respectivamente, con concentraciones medias de 36 ± 8 y $12,6 \pm 3,8$ mg/kg (peso seco). Estos productos tienen propiedades antimicrobianas y se usan en productos de higiene personal, lo que explica su elevada presencia en el medio ambiente.

La segunda clase más abundante de químicos fueron los antibióticos, en orden decreciente de concentración: ciprofloxacina > ofloxacin > 4-epitetraciclina > tetraciclina > minociclina > doxiciclina > azitromicina, variando entre $6,8 \pm 2,3$ y $0,8 \pm 0,2$ mg/kg peso seco (McClellan, K. y Halden, R., 2010).

En particular, los biocidas y antibióticos estudiados por McClellan y Halden (2010) eran típicos del pequeño subconjunto de antibióticos y biocidas con alta afinidad por la adsorción en lodos de depuradora (Li, B. y Zhang, T., 2010).

Los riesgos toxicológicos y de selección de resistencia a los antimicrobianos no pueden predecirse fácilmente conociendo únicamente la concentración de antibióticos, metales y biocidas, debido a incertidumbres significativas en la biodisponibilidad (Jechalke, S., et al., 2014; Aga, D.S., et al., 2016).

Se ha demostrado que las fluoroquinolonas son relativamente bioindisponibles en algunos suelos modificados con lodos, lo que no se correlacionó con cambios significativos en ciertos servicios del ecosistema, como nitrificación y desnitrificación; no obstante, la estructura de la comunidad y otros servicios ecosistémicos podrían haber sido afectados, pero lamentablemente no se examinaron (Rosen-dahl, I., et al., 2012).

De manera similar, la fauna del suelo, como lombrices de tierra y otros anélidos, colémbolos y enquitreidos (compost del suelo compuesto por gusanos, anélidos y poliquetos), expuestos a concentraciones ambientalmente relevantes de antibióticos en el suelo, no mostraron una reducción significativa en la reproducción (Baguer, A.J., et al., 2000).

La reducción de la biodisponibilidad de antibióticos, biocidas y metales en los lodos a menudo disminuirá la exposición y la respuesta tóxica en la mesofauna. De manera similar, al reducir la biodisponibilidad de estos productos químicos, es probable que disminuya el peligro para los microorganismos, lo que podría resultar en una reducción de la presión selectiva (Jechalke, S., et al., 2014; Dodgen, L.K., y Zheng, W., 2016).

Sigue sin determinarse hasta qué punto la biodisponibilidad controla la selección de genes de resistencia en el medio ambiente, cuestión que surge como una importante brecha de conocimiento.

IMPORTANCIA ECOLÓGICA DE LA CONCENTRACIÓN DE ANTIBIÓTICOS

La concentración inhibitoria mínima (CIM), bien establecida en entornos clínicos, se refiere a las concentraciones necesarias para inhibir el crecimiento o matar un patógeno objetivo. La concentración a la que un gen de resistencia ofrece una ventaja selectiva a su “huésped” estará por debajo de la CIM, de lo contrario el microorganismo no sobreviviría.

La CSM (concentración selectiva mínima) es un término útil que se refiere a la concentración mínima de un químico requerida para proporcionar una ventaja selectiva a un microorganismo portador del gen de resistencia, en relación con la misma bacteria sensible al químico, es decir, que no contiene el gen de resistencia (Gullberg, E., et al., 2011; Hughes, D., y Andersson, D.I., 2012; Lundström, S.V., et al., 2016).

La CSM es un umbral teórico que se puede determinar cuidadosamente en el laboratorio para cualquier par de microorganismos y productos químicos (Liu, A., et al., 2011), pero adquiere un significado diferente cuando se aplica a escenarios más realistas de múltiples especies y múltiples productos químicos. Se están realizando esfuerzos para determinar las CSM para sistemas más complejos y, como resultado de sus condiciones más realistas, podrían ofrecer una mayor comprensión de la relevancia ecológica de las bajas concentraciones de antibióticos en el medio ambiente (Yergeau, E., et al., 2010, 2012).

Se ha demostrado que la CSM es sensible a una variedad de factores biológicos y fisicoquímicos (Gullberg, E., et al., 2014). Se cree que la heterogeneidad en la concentración de un antibiótico, a través de la partición diferencial en poros del suelo, sedimentos, biopelículas, materia orgánica, etc., juega un papel importante al permitir la ubicación conjunta de microorganismos resistentes y sensibles a los antibióticos (Baquero, F., Negri, M.C., 1997; Hughes, D., Andersson, D.I., 2012).

La heterogeneidad en la exposición de microorganismos a concentraciones subletales débilmente selectivas de antibiótico dentro de una matriz (p. ej., suelo, sedimento, hojas, partículas suspendidas y biopelículas) permite la selección y persistencia de las mutaciones de efecto pequeño, más comunes y frecuentes. La ubicación próxima de los microorganismos a concentraciones más altas o más bajas de estos productos químicos que impulsan la resistencia, contribuye además al establecimiento de estas pequeñas mutaciones acumuladas en la población (Hughes, D., Andersson, D.I., 2012; Chait, R., et al., 2016).

CO-SELECCIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DEBIDO A OTROS CONTAMINANTES

Biocidas

Otros compuestos antimicrobianos no antibióticos que se ha observado que co-seleccionan con los genes de resistencia a los antibióticos son los biocidas (Wales, A.D., et al., 2015). Los biocidas son sustancias químicas sintéticas o de origen natural destinadas a destruir, neutralizar o controlar cualquier organismo considerado nocivo para el ser humano.

Los usos comunes de los biocidas incluyen: desinfectantes hospitalarios; desinfección de equipos y superficies en instalaciones como granjas y corrales de producción animal; antisépticos en superficies corporales; descontaminantes y conservantes en productos farmacéuticos y alimentos (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, *Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides*); lavado de ruedas de transporte, pezuñas/patas de animales, calzado de personal; y una variedad de procesos industriales, incluido el control de incrustaciones y acidificación de tuberías, incluso en pozos petroleros (p. ej., fracturación hidráulica) (Kahrilas, G.A., et al., 2015).

Algunos biocidas comunes son: etanol, formaldehído, clorhexidina, triclosán y compuestos de amonio cuaternario (QAC), como cloruro de cetilpiridinio, alquilaminoalquilglicinas y cloruro de didecildimetilamonio (DDAC) (Russell, A.D., 2003; Buffet-Bataillon, S., et al., 2012).

El cloro, lógicamente, es un biocida de elevada presencia en el ambiente. El peróxido de hidrógeno, los amonios cuaternarios, el formaldehído y la clorhexidina se encuentran entre los desinfectantes más frecuentemente hallados. Entre los herbicidas, se deberían mencionar 2,4-D, glifosato y paraquat. Algunos fungicidas también pueden ser detectados. Entre los insecticidas, DDT, lindano, compuestos fosforados y, últimamente, neonicotinoides representan problemas. Finalmente, los rodenticidas (cumarínicos, algunos metales pesados, bromadiolona y difenacum) constituyen otro grupo de importancia, especialmente por su utilización muchas veces poco prudente.

En Europa, la comercialización, el uso y la eliminación de biocidas están regulados por el Reglamento sobre productos biocidas (UE) 528/2012 (Comisión Europea, 2012). La legislación también controla su uso en el ámbito veterinario. El mercado global de biocidas creció un 40 % entre 1992 y 2007 (Sattar, S.A., et al., 2007).

Los biocidas se utilizan en grandes cantidades. En Europa, el mercado de estos productos en 2006 se estimó en 10–11 mil millones de euros, y se evalúa que el uso ha aumentado desde entonces (Maillard, J.Y., 2018) y, particularmente, se ha incrementado drásticamente debido a la pandemia de COVID-19 (Paul, D., et al., 2018).

En consecuencia, no sorprende la presencia de biocidas en el medio ambiente. Por ejemplo, se han detectado altas cantidades de triclosán y otros biocidas en ríos y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. Más específicamente, se vertieron 138 g/día de triclosán y 214 g/día de triclocarbán en el río Savannah, en Georgia (EE. UU.), desde tres plantas de tratamiento de aguas residuales (Kumar, K.S., et al., 2010).

En un estudio realizado en ocho plantas depuradoras de aguas residuales y el medio acuático receptor en Tailandia, se encontraron altas cantidades de metilparabeno de hasta 15,2 µg/L en el río receptor Chao Phraya, 8,47 µg/g de triclocarbán en lodos y sedimentos y 1,20 µg/g de triclosán en muestras de pescado (Juksu, K., et al., 2019). Esto confirma y pone números a lo que ya se conoce: la gran cantidad de antibióticos, pero también de otros antimicrobianos, biocidas, plaguicidas y fármacos de diversas características (muchos de ellos disruptores hormonales), presentes en las aguas en concentraciones elevadas.

Las bacterias han desarrollado varios mecanismos de resistencia a los biocidas (Gnanadhas, D.P., et al., 2013), incluida la alteración del blanco (McMurry, L.M., et al., 1999; Heath, R.J., et al., 2000), la impermeabilidad, las bombas de eflujo (Tattawasart, U., et al., 1999; Winder, C.L., et al., 2000) y la inactivación de biocidas (Nishihara, T., et al., 2000; Meade, M.J., 2001).

Al igual que la resistencia a los metales pesados, la resistencia a los biocidas tiene la capacidad de co-seleccionar con los antibióticos (Wales, A.D., et al., 2015) y aumentar la resistencia a estos últimos (Kampf, G., 2018).

Por ejemplo, la exposición al cloruro de benzalconio aumentó las CIM de una comunidad microbiana frente al propio cloruro de benzalconio, ciprofloxacina, tetraciclina y penicilina G (Tandukar, M., et al., 2013). El cloruro de benzalconio, así como el digluconato de clorhexidina (Morita, Y., et al., 2003), pueden inducir la bomba de salida de múltiples fármacos MexCD-OprJ en *Pseudomonas aeruginosa*, lo que contribuye a la resistencia a fluoroquinolonas (Shigemura, K., et al., 2015).

En un estudio reciente, se demostró que la exposición a niveles bajos de digluconato de clorhexidina (24,4 µg/L) y triclosán (0,1 mg/L) en *E. coli* aumenta significativamente la transferencia horizontal de elementos genéticos móviles resistentes por conjugación (Jutkina, J., et al., 2018).

Se ha demostrado que la CIM para seis biocidas diferentes oscila entre 0,4 y >1000 mg/L en 16 bacterias diferentes (p. ej., *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter* sp.).

Se ha observado que el triclosán, junto con otros biocidas como la clorhexidina y los compuestos de amonio cuaternario, selecciona resistencia a antibióticos (Comisión Europea, 2009; Bridier, O., et al., 2011; Carey, D.E., y McNamara, P.J., 2014; Webber, M.A., et al., 2015; Buffet-Bataillon, S., et al., 2016).

La exposición al triclosán también puede reducir la susceptibilidad a antimicrobianos importantes en la clínica, como ciprofloxacina y levofloxacina, en aislados de *E. coli* de muestras de orina (Zeng, W., et al., 2020).

Además, la exposición de *Salmonella enteritidis* al cloro aumentó ocho veces los valores de CIM para tetraciclina, ácido nalidíxico y cloranfenicol (Potenski, C.J., et al., 2003). No obstante, todos estos datos, la información sobre la contribución real de los biocidas a la aparición y transmisión de genes de resistencia a los antibióticos en la cadena alimentaria sigue siendo escasa (Hardy, K., et al., 2018).

De la misma manera que las concentraciones subletales de antibióticos pueden seleccionar genes de resistencia, también se ha demostrado que concentraciones subletales de biocidas seleccionan mutaciones comunes que confieren resistencia a antibióticos clínicamente relevantes (Webber, M.A., et al., 2015).

Como se mencionó anteriormente, algunos mecanismos de resistencia son comunes tanto a los biocidas como a los antibióticos, lo que permite la selección conjunta de genes de resistencia (McBain, A.J., et al., 2002; Levy, S.B., 2002; Russell, A.D., 2003).

En el caso de la co-resistencia de *S. aureus* al biocida cloruro de benzalconio y al antibiótico oxacilina, la cepa resistente adquiere una tolerancia ocho veces mayor al antibiótico que su cepa sensible de tipo salvaje (Yamamoto, T., et al., 1988).

La ubicación frecuente de estos genes en plásmidos (pequeñas moléculas de ADN dentro de las bacterias, físicamente separadas del

ADN cromosómico y capaces de replicarse de forma independiente), junto con genes de resistencia a antibióticos, les otorga una mayor resiliencia y movilidad, lo que permite su rápida propagación a través de comunidades microbianas y patógenos (Gaze, W.H., et al., 2005; Pal, C., et al., 2015).

Será necesario determinar la relevancia ecológica de los biocidas para clasificar de manera efectiva los riesgos de los productos químicos que impulsan la resistencia.

El Comité Científico sobre Riesgos Sanitarios Emergentes y Recientemente Identificados (CCRSERI) de la Comisión Europea destacó hace varios años las posibles consecuencias para el medio ambiente y la salud humana del uso generalizado de biocidas, en un informe titulado “Evaluación de los efectos de los biocidas en la resistencia a los antibióticos”, en el que se sugieren:

1. Una mejor comprensión de la cantidad de biocidas y sus residuos en el medio ambiente y de sus efectos en la selección de bacterias resistentes.
2. El desarrollo de metodologías para evaluar el impacto en la RAM.
3. Estudios que caractericen las bacterias resistentes y la co-selección (CCRSERI, 2009).

Evidentemente, estamos frente a un problema adicional: no solamente los antibióticos generan resistencia a ellos mismos. Esas resistencias se cruzan. Pero aparece este fenómeno, al que no se le prestaba suficiente atención: la co-selección y la co-resistencia. Metales pesados, biocidas y otros antisépticos no solo pueden contribuir a la selección de microorganismos resistentes a ellos mismos, sino que también favorecen el desarrollo de resistencias a varios antibióticos.

Vías relevantes para la contaminación con biocidas

La ruta hacia el medio ambiente para los biocidas es similar a la de los antibióticos, sobre todo a través de las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales. La eliminación inadecuada de biocidas, mediante su simple dilución y descarga desde estas estaciones, puede aumentar

la carga de biocidas que ingresa al medio ambiente y, al mismo tiempo, incrementar la probabilidad de generar resistencia.

Metales pesados

Bajo la denominación de metales pesados se incluye un conjunto de aproximadamente 65 elementos de la Tabla Periódica, con una densidad mayor o igual a 5 g/cm^3 en su forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos). Estos presentan diferentes características físicas, químicas y biológicas; se encuentran formando complejos, como iones libres o participando en reacciones redox que resultan potencialmente tóxicas para los organismos (Duffus, J.H., 2002).

Los metales pesados suelen concentrarse en el proceso de transformación natural de las rocas durante la formación de los suelos, pero su concentración final no rebasa los umbrales de toxicidad y se encuentran bajo formas muy poco asimilables por los organismos. Sin embargo, la actividad humana ha incrementado su contenido en el medio ambiente de forma accidental o deliberada, por medio de prácticas agrícolas o industriales, como la producción de estaño u otras aleaciones, la galvanización del hierro, etc. (Marrero-Coto, J., et al., 2011).

La resistencia a los antibióticos en patógenos humanos prolifera bajo presiones selectivas. Los metales pesados en reservorios ambientales contribuyen a seleccionar cepas resistentes a los antibióticos. Para determinar la vinculación entre los metales pesados y la resistencia a los antibióticos, se realizó una revisión sistemática de la literatura, recolectando y categorizando la evidencia de la coexistencia de resistencia a metales pesados y antibióticos dentro de bacterias patógenas humanas en agua, aguas residuales y suelos (Nguyen, C.C., et al., 2019).

En total, 42 publicaciones se ajustaron a los criterios de inclusión. En todos los reservorios estudiados, el zinc y el cadmio fueron los metales pesados más comúnmente observados en asociación con

resistencia a antibióticos. *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* fueron las bacterias estudiadas con más frecuencia y se notificó una coexistencia de resistencia a varios metales pesados y clases de antibióticos.

Como agentes de co-selección, la prevalencia de metales pesados en el medio ambiente puede favorecer la proliferación de resistencia a estos agentes y a los antibióticos, a través de mecanismos de co-resistencia y resistencia cruzada.

Al comparar diferentes reservorios, los suelos y sedimentos albergan una mayor resistencia a metales pesados y antibióticos que los ambientes acuáticos. Además, factores abióticos como el pH pueden afectar la solubilidad y, por lo tanto, la disponibilidad de metales pesados para los patógenos bacterianos. En general, la revisión demuestra que los metales pesados actúan como agentes de co-selección en la proliferación de resistencia a antibióticos en patógenos humanos en múltiples reservorios ambientales.

Cadmio, cobre, plomo, cromo, arsénico y mercurio son metales pesados ubicuos en suelo y agua, debido a su presencia (como subproductos) en fertilizantes, materiales de construcción y pinturas antiincrustantes (Dafforn, K.A., et al., 2011; Li, Z., et al., 2014). No es que los metales pesados se incluyan deliberadamente en la formulación de fertilizantes: suelen estar presentes como contaminantes de algunos insumos o del agua usada en las aplicaciones. Debe quedar claro que hablamos de fertilizantes inorgánicos; los orgánicos no deberían contener metales pesados.

La exposición a los metales pesados se produce principalmente mediante la cadena alimentaria, a través de la absorción por las raíces de las plantas o la ingestión directa al beber agua subterránea contaminada (Chowdhury, S., 2016).

Recientemente, el Congreso de los EE. UU. informó que algunos alimentos para bebés estaban contaminados con niveles peligrosos de metales pesados (Subcommittee on Economic and Consumer Policy, Committee on Oversight and Reform, 2021). Los metales pesados,

en concentraciones excesivas, pueden interferir con funciones celulares vitales y son altamente tóxicos para la mayoría de los organismos (Tchounwou, P.B., et al., 2012). Obviamente, para cada metal deben existir estudios que certifiquen su toxicidad y definan los niveles por encima de los cuales los alimentos se vuelven riesgosos.

En el medio ambiente urbano, los principales aportes de metales pesados a las plantas de tratamiento de aguas residuales provienen de efluentes domésticos, agua de drenaje, efluentes comerciales (p. ej., lavado de autos, usos dentales, otras empresas), deposición atmosférica y emisiones relacionadas con el tráfico (escape de vehículos, revestimientos de frenos, llantas, desgaste del asfalto, fugas de gasolina/aceite) (Karvelas, M., et al., 2003; Marrero-Coto, J., 2011).

Las nanopartículas metálicas (p. ej., titanio, cobre y plata) se han vuelto ampliamente utilizadas en alimentos, textiles, productos domésticos, productos industriales y hospitalarios, y desinfectantes (Selck, H., et al., 2016).

Las fuentes de entrada de metales pesados al suelo agrícola, en masa decreciente (g/ha/año), fueron: estiércol de ganado (11.312), lodos (4.557), lodos de papel (1.380), fertilizantes [89,7; incluyendo: nitrógeno (2,2), fósforo (34), potasa (0,5), cal (53)], atmósfera (221) y agua de riego (39) (Nicholson, F.A., et al., 2003).

La mayoría de los metales pesados de origen animal se pueden encontrar en el pienso, con una media de 150–2920 mg Zn/kg de materia seca (MS) y 18–217 mg Cu/kg MS en dietas para cerdos, valores que dependen de la edad del animal (Nicholson, F.A., et al., 1999).

Los alimentos para aves contienen un rango más amplio, con 28–4030 mg Zn/kg MS y 5–234 mg Cu/kg MS, nuevamente con variación según edad y raza del pollo (Nicholson, F.A., et al., 1999). En cambio, las concentraciones de Zn y Cu en alimentos para ganado lechero y de carne fueron mucho más bajas que en los alimentos para cerdos y aves.

El alimento para ganado lechero y de carne (torta láctea/nueces) contenía 130–190 mg Zn/kg MS y 35–40 mg Cu/kg MS (Nicholson,

F.A., et al., 1999). Los suplementos contenían una media de 2900 mg Zn/kg y 1500 mg Cu/kg MS, mientras que también presentaban niveles más altos de Ni, Pb, Cd, As y Cr que otros componentes del alimento (Nicholson, F.A., et al., 1999).

Se ha observado que los metales pesados tienen importancia fisiológica de moderada a alta para algunas especies bacterianas (Nies, D.H., 1999). Las bacterias han coevolucionado mecanismos de resistencia a metales pesados y antibióticos, basados en el secuestro extracelular e intracelular, la desintoxicación enzimática y la eliminación de metales (Seiler, C., et al., 2012).

Se cree que tales mecanismos de resistencia convergen (Li, L.G., et al., 2017), en base a la coexistencia de resistomas respectivos en los genomas bacterianos (Pal, C., et al., 2014) y, como resultado, aumentan la resistencia incluso en ausencia de tratamiento antibiótico (Wales, A.D., Davies, R.H., 2015).

La resistencia a metales y antibióticos puede compartir sistemas estructurales y funcionales de resistencia, tales como:

1. Permeabilidad de membrana reducida

- Metales: As, Cu, Zn, Mn, Co, Ag.
- Antibióticos: ciprofloxacina, tetraciclina, cloranfenicol y β -lactámicos.
- Esta menor permeabilidad no se debe solo a efectos sobre bombas de eflujo, sino también a modificaciones estructurales de las membranas.

2. Alteración de fármacos y metales

- Metales: As, Hg.
- Antibióticos: β -lactámicos, cloranfenicol. El objetivo de la alteración es disminuir la toxicidad o reducir la afinidad por sus dianas.

3. Eflujo de fármacos y metales

- Metales: Cu, Co, Zn, Cd, Ni, As.

- Antibióticos: tetraciclinas, cloranfenicol, β -lactámicos. Las bacterias pueden bombear metales pesados y antibióticos fuera de la célula, reduciendo su efecto.

4. Alteración de dianas celulares

- Metales: Hg, Zn, Cu.
- Antibióticos: ciprofloxacina, β -lactámicos, trimetoprima, rifampicina. Las bacterias pueden modificar las proteínas o estructuras diana para que los metales o antibióticos no puedan ejercer su efecto.

5. Secuestro de fármacos y metales

- Metales: Zn, Cd, Cu.
- Antibióticos: cumermicina A. Las bacterias pueden unir metales pesados y ciertos antibióticos mediante moléculas específicas, atrapándolos y evitando que dañen la célula (Baker-Austin, C., et al., 2006).

La toxicidad de los metales para los microorganismos se relaciona directamente con la afinidad del metal por los compuestos tiólicos, como el glutatión, dentro de la célula. El orden decreciente de “toxicidad” /afinidad se observa en la siguiente tabla (Nies, D.H., 2003):

Metal	Toxicidad
Mercurio (Hg)	Muy alta
Plata (Ag)	Alta
Cobre (Cu)	Alta
Plomo (Pb)	Alta
Cadmio (Cd)	Alta
Níquel (Ni)	Moderada
Zinc (Zn)	Moderada
Cobalto (Co)	Baja
Manganeso (Mn)	Baja

Un cambio logarítmico en la afinidad por el azufre provoca una disminución logarítmica en la cantidad de metal necesaria para inhibir el crecimiento, es decir, aumenta la toxicidad (Nies, D.H., 2003).

Esta serie de metales con toxicidad decreciente se compara de manera interesante con una base de datos de genes de resistencia a metales y biocidas antibacterianos, conocida como BacMet (<http://bacmet.biomedicine.gu.se>). Se trata de una base de datos seleccionada manualmente de genes de resistencia a biocidas antibacterianos y metales pesados, basada en una revisión en profundidad de la literatura científica. La base de datos BacMet contiene 470 genes de resistencia verificados experimentalmente. Además, incluye 25.477 genes potenciales de resistencia recopilados de secuencias de depósitos públicos. Todos los genes de resistencia en BacMet se han organizado según su función molecular y el fenotipo de resistencia inducido (Pal, C., et al., 2014).

De los 20 genes de resistencia a metales para los que existe evidencia experimental de su función, los genes de cobre son los más abundantes, seguidos —en orden decreciente— por aquellos de metales no esenciales para la vida: Cu, Zn, Ni, (Cd), Co, Fe, Mn, (As), (Ag), (Te), (Hg), (Pb), (Cr), (Au), (Ga), (Sb), (V), Se, (Bi) (Pal, C., et al., 2014). El hecho de que algunos estén entre paréntesis indica que la evidencia es menos robusta.

Una posible justificación para esta distribución se relaciona con un equilibrio entre los costos y beneficios de aptitud, y con discrepancias entre la clasificación de toxicidad y la prevalencia de genes de resistencia a metales en BacMet. Esto podría explicarse por una anotación incompleta de la función de algunos genes, encuestas no exhaustivas de prevalencia de genes en laboratorio y en el medio ambiente, etc.

No obstante, sigue poco explorada la relación entre la biodisponibilidad y la especiación de metales, y la selección de genes de resistencia. El deseo de limitar la selección de resistencia en los suelos podría hacer necesario repensar los umbrales ambientales establecidos

para la distribución de estiércol y lodos en la tierra, ya que los efectos combinados de antibióticos, biocidas y metales podrían exceder la CSM para algunos mecanismos de resistencia compartidos.

Los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales se interrumpen como resultado de los efectos tóxicos de los metales pesados en el afluente. Un conjunto creciente de evidencias sugiere que los microorganismos son mucho más sensibles al estrés por metales pesados que los animales del suelo o las plantas que crecen en el mismo suelo.

No es sorprendente que la mayoría de los estudios sobre toxicidad de metales pesados para los microorganismos del suelo se hayan concentrado en efectos en los que se puede observar una pérdida de función microbiana; sin embargo, tales estudios pueden enmascarar efectos subyacentes sobre la biodiversidad dentro de poblaciones y comunidades microbianas. Giller, K.E., et al. (1998), han evaluado las evidencias disponibles para determinar concentraciones o cargas críticas de metales para procesos y poblaciones microbianas en suelos agrícolas, particularmente en relación con el uso agrícola de lodos de depuradoras.

Gran parte de la confusión a la hora de derivar concentraciones tóxicas críticas de metales pesados en suelos surge de la comparación de resultados experimentales basados en estudios ecotoxicológicos de laboratorio a corto plazo, con resultados de seguimiento de exposiciones a metales pesados a largo plazo en poblaciones microbianas en experimentos de campo (Giller, K.E., et al., 1998); tales como: nitrificación (Smith, R.C., et al., 2006), desnitrificación (Braam, F., Klapwijk, A., 1981; Waara, K.O., 1992) y eliminación de materia orgánica (Ajmal, M., et al., 1983).

La toxicidad de los metales pesados en aguas residuales es sensible a la especie y concentración del metal, pH, concentración de lodos, contaminantes del agua residual y solubilidad de los iones metálicos, entre otros factores (Chipasa, K.B., 2003).

Se ha demostrado que las bacterias que portan genes de resistencia a metales presentan con mayor frecuencia genes de resistencia a antimicrobianos, en comparación con aquellas sin genes de resistencia a metales, y que estos genes suelen encontrarse en plásmidos (Pal, C., et al., 2015; Di Cesare, A., et al., 2016).

Es común que un microbio tenga tanto genes de resistencia a antibióticos como genes de resistencia a metales; sin embargo, un estudio de 4582 plásmidos reveló que solo en el 5 % de los casos se encuentran ambos tipos de genes en el mismo plásmido (Pal, C., et al., 2015). No está claro si la base de datos pública de plásmidos en la que se basó este estudio ofrece una visión representativa de la ecología de los plásmidos; futuros estudios dirigidos y mejor controlados ayudarán a respaldar o cuestionar esta importante observación.

Se trata de observaciones que no coinciden plenamente con los resultados mencionados anteriormente, lo que demuestra que se trata de un terreno complejo sobre el que debemos seguir trabajando. Queda, sin embargo, claramente expuesta la vinculación entre metales pesados y antimicrobianos, y la necesidad de tomarla en cuenta cuando se analiza el desarrollo ambiental de la resistencia antimicrobiana.

Vías relevantes para la contaminación con metales pesados

Los metales siguen vías de ingreso al ambiente similares a las de los biocidas y los antimicrobianos. No obstante, la proporción relativa de cada fuente puede diferir según la presencia y tipo de actividad industrial, la intensidad de la producción agrícola (pesticidas, biosólidos) y la importancia relativa de las aguas residuales o de las aguas pluviales.

Los ríos situados aguas abajo de áreas urbanas, donde los escurrimientos pluviales son significativos, y las regiones con antecedentes de actividad minera suelen presentar concentraciones elevadas de metales pesados (Johnston, D., et al., 2008).

Antibióticos

La liberación crónica de antibióticos en las plantas de tratamiento de aguas residuales es concomitante con la liberación de genes de resistencia. Estos genes se originan principalmente en el tracto gastrointestinal de los humanos (Hu et al., 2013; Chang et al., 2015; Newton et al., 2015).

La ubicación conjunta de antibióticos y genes de resistencia en las plantas de tratamiento de aguas puede, y de hecho suele, seleccionar combinaciones genéticas novedosas, que se comparten entre microorganismos mediante transferencia horizontal de genes (THG) a través de elementos genéticos móviles (EGM), como los plásmidos. Esto aumenta la prevalencia y la combinación de resistencias a múltiples fármacos en la comunidad microbiana (Szczepanowski et al., 2005; Xu et al., 2015).

El entorno competitivo y químicamente desafiante de una planta de tratamiento de aguas residuales ofrece condiciones favorables para la amplificación de genes de resistencia existentes, así como para la creación de nuevos genes de resistencia o ensamblajes genómicos (Zhang y Zhang, 2011).

Los antibióticos pueden desencadenar la respuesta SOS bacteriana, en la que las bacterias experimentan una hipermutación transitoria en todo el genoma, generando variabilidad genética en momentos de estrés (Baharoglu y Mazel, 2014). La respuesta SOS también puede activar la transferencia horizontal de genes (HGT) de resistencia a los antibióticos, lo que constituye un mecanismo muy eficaz para la propagación de la resistencia (Beaber et al., 2004).

Se han identificado muchos impulsores adicionales (químicos y ambientales) de la HGT (Hastings et al., 2004; Antonova y Hammer, 2011), incluidas fuentes abióticas (Warnes et al., 2012; Kotnik, 2013). La importancia relativa de cada uno de estos impulsores aún no se ha evaluado a escala ecológicamente relevante, pero la HGT aparece como un mecanismo fundamental para la consolidación y expansión

de nuevos determinantes de resistencia generados en las plantas de tratamiento.

La resistencia puede ser intrínseca, cuando se encuentra de manera universal en el genoma de una especie bacteriana, o adquirida, cuando se incorpora mediante nuevo material genético o por mutaciones esporádicas en genes intrínsecos (Hollenbeck, B.L. y Rice, L.B., 2012).

La resistencia intrínseca se mantiene en una especie independientemente de cualquier presión selectiva antibiótica; es decir, es independiente de la exposición previa a antibióticos y no está relacionada con la transferencia horizontal de genes (Cox, G. y Wright, G.D., 2013). En algunos microorganismos ambientales productores de antibióticos, a diferencia de los patógenos clínicamente relevantes, existe un grado significativo de resistencia intrínseca que parece ser independiente de la presión selectiva reciente, un rasgo que se considera antiguo y anterior al uso clínico de antibióticos (D'Costa, V.M., et al., 2011; Cox, G. y Wright, G.D., 2013).

El riesgo de que las resistencias intrínsecas presentes en microorganismos ambientales se transfieran a patógenos es ya evidente y motivo de gran preocupación (Forsberg K.J., et al., 2012; Cox, G. y Wright, G.D., 2013; O'Neill, J. y The Review on Antimicrobial Resistance, 2015).

Un mecanismo clave para la resistencia adquirida se basa en los elementos genéticos móviles (MGE, por sus siglas en inglés). Los MGE pueden movilizarse entre células mediante:

1. **Transformación:** adquisición de ADN libre presente en el ambiente (Davison, J., 1999; Gaze, W.H., et al., 2013).
2. **Conjugación:** transferencia de genes a través del contacto directo entre dos bacterias (Lopatkin, A.J., et al., 2016).
3. **Transducción:** transferencia de genes mediante bacteriófagos (virus que infectan bacterias) de una célula bacteriana a otra, pudiendo transportar determinantes de resistencia (Brown-Jaque, M., et al., 2015).

Un ejemplo ilustrativo es *Escherichia coli*, que puede intercambiar material genético a través de plásmidos, transposones e integrones. Este intercambio facilita su adaptación a entornos nuevos y adversos y contribuye al desarrollo de enfermedades intestinales o extraintestinales. Si bien las cepas de *E. coli* se diferencian por su virulencia, resistencia, incidencia y gravedad, también se distinguen por el resultado de su interacción con los factores del huésped y con el ambiente (Sanchez, V., Rojas, T., et al., 2020).

Los MGE intracelulares o elementos transponibles (TE) incluyen transposones (Tn), secuencias de inserción (IS) e integrones (Siguier, P. et al., 2014). Los transposones incluyen transposones conjugativos y elementos integrativos y conjugativos (ICE) (Wozniak, R.A., Waldor, M.K., 2010).

Las integrasas y recombinasas codificadas por los ICE son elementos genéticos que se encuentran tanto en bacterias grampositivas como gramnegativas. Sus funciones incluyen integración, escisión, transferencia y regulación. Tienen un papel crucial en la recombinación genética, proceso mediante el cual se intercambia material genético entre distintas moléculas de ADN. Estos elementos residen principalmente en el cromosoma del huésped, pero conservan la capacidad de escindirse y transferirse por conjugación. Aunque los ICE utilizan distintos mecanismos para cumplir sus funciones, comparten características comunes que permiten agruparlos conceptualmente (Wozniak, R.A., Waldor, M.K., 2010).

La relevancia de todos estos MGE radica en que muchos contienen genes de resistencia que pueden conferir fenotipos diversos, incluida la resistencia a antimicrobianos, a la célula receptora (Roberts, A.P., Mullany, P., 2011; Johnson, C.M., Grossman, A.D., 2015). Son precisamente las múltiples vías por las cuales los genes de resistencia se movilizan y transfieren de una célula a otra lo que hace que el resistoma ambiental sea tan relevante para humanos y animales (Perry, J.A., Wright, G.D., 2013).

Vías relevantes para la contaminación por antibióticos

El uso de antibióticos ha aumentado globalmente a lo largo de los años. Un estudio que abarcó 76 países entre 2000 y 2015 mostró un incremento del 65 % en el consumo de antibióticos (Klein, E.Y., et al., 2018). Para una interpretación más precisa, sería necesario correlacionar ese aumento con el crecimiento poblacional, pero el incremento absoluto es, de todos modos, significativo.

El monitoreo de los genes de resistencia en el medio ambiente puede ayudar a comprender el alcance de la acumulación de resistencia a antibióticos en diferentes hábitats (Chen, Q., et al., 2017). Algunos investigadores, sin embargo, difieren en cuanto a la existencia de una correlación positiva clara entre los antibióticos acumulados en el ambiente y la presencia de sus respectivos genes de resistencia (Jia, J. et al., 2018; Wu, D., et al., 2015).

Pese a estas discrepancias, los estudios sobre genes de resistencia en el ambiente ofrecen una vía alternativa para estimar el movimiento de antibióticos desde los ámbitos clínicos y de producción animal hacia otros compartimientos. Los antibióticos presentes en el medio ambiental generan presiones selectivas sobre las bacterias que favorecen la proliferación de cepas resistentes, especialmente cuando las condiciones de adaptación están facilitadas (Bengtsson-Palme, J., et al., 2018).

Las bacterias resistentes a los antibióticos son importantes diseminadoras de genes de resistencia dentro de los subresistomas, y sus plásmidos desempeñan un papel central en la transferencia horizontal de genes (Lerminiaux, N.A. y Cameron, A.D.S., 2019; Sultan, I., et al., 2018).

LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN EL CONTEXTO DE UNA SALUD

Antimicrobianos en el ambiente

Numerosas actividades humanas ejercen una presión selectiva favorable al desarrollo de resistencia en microorganismos ambientales. Es bien conocido que el uso de antibióticos, especialmente cuando es inapropiado, induce una presión selectiva sobre las bacterias presentes en nuestro organismo, lo que puede conducir al desarrollo de resistencia.

El cuerpo humano elimina gran parte del medicamento ingerido que no ha sido inactivado metabólicamente. Una fracción sustancial del principio activo, estimada entre el 30 % y el 90 %, se excreta a través de residuos domésticos y hospitalarios (Samal, K., et al., 2022; Giardina, S. et al., 2021).

Por otra parte, decenas de miles de toneladas de medicamentos para uso humano y veterinario se venden anualmente en todo el mundo, pero en muchos casos las cantidades no utilizadas no se eliminan de manera adecuada, contribuyendo así a la contaminación ambiental.

Como consecuencia, bacterias resistentes, antimicrobianos y metabolitos activos terminan en las aguas residuales municipales y en las plantas depuradoras, donde ni siquiera las tecnologías más avanzadas logran su eliminación completa. De este modo, contaminan los cursos de agua —incluidos lagos y mares—, las aguas de riego e incluso el aire (Castiglioni, S. et al., 2018; Riva, F., et al., 2018).

Una vez en el ambiente, los fármacos pueden degradarse o acumularse, dependiendo de sus características fisicoquímicas. Algunos antibióticos tienen una vida media ambiental superior a un año; otros persisten menos tiempo, pero algunos pueden contaminar durante décadas (Pan, M., Chu, L.M., 2017). Las tetraciclinas se encuentran entre los grupos más persistentes en el suelo.

A pesar de las diferencias de persistencia entre clases, los antibióticos y, en general, los medicamentos se consideran “semipersistentes”, debido a que su uso es continuo y masivo: diariamente se liberan al ambiente cantidades significativas procedentes de la medicina humana y veterinaria.

También debemos considerar múltiples procesos industriales, granjas agrícolas, criaderos de cerdos y bovinos, y, como componente importante, la acuicultura —una gran fuente de alimentos a nivel global, con calidades de manejo muy heterogéneas—. A ello se suman los lixiviados de vertederos y las escorrentías urbanas, que también contribuyen a la contaminación ambiental (Giardina, S. et al., 2021).

La contaminación por medicamentos de uso humano y veterinario, documentada desde hace décadas, tiene una dimensión global y se correlaciona fuertemente con la presencia humana. Algunos estudios han demostrado que en aguas del norte de Europa predominan sedantes y antidepresivos, mientras que en las regiones más al sur la mayoría de los contaminantes farmacológicos corresponden a antibióticos (Halling-Sorensen, B. et al., 1998; Zuccato, E. et al., 2000; Heberer, T., 2002).

Las β -lactamasas de espectro extendido

Los residuos de medicamentos pueden favorecer y seleccionar resistencia antimicrobiana en microorganismos y, dada la elevada velocidad de replicación bacteriana, la resistencia se propaga en el ambiente de manera difícil de controlar. Esto ocurre, por ejemplo, con cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL), enzimas capaces de conferir resistencia a varios antibióticos, en particular a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, así como con aislados de *E. coli* productores de AmpC transportadas por plásmidos (pAmpC).

Las β -lactamasas AmpC confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas de segunda y tercera generación y cefamicinas. También

generan resistencia a las combinaciones de estos antibióticos con sustancias diseñadas, justamente, para inhibir el efecto de las β -lactamasas (Giardina, S. et al., 2021).

A menudo, las infecciones humanas van precedidas de un estado de portador asintomático de ESBL/pAmpC, lo que dificulta establecer el origen de la infección.

Para reducir la frecuencia y la transferencia de ESBL/pAmpC se requiere una colaboración sostenida entre profesionales y agencias de salud humana, de salud animal y de la industria alimentaria. La articulación con especialistas en ambiente resulta igualmente crítica (Singer, A.C. et al., 2016).

En Suecia, por ejemplo, los alimentos y los animales de granja parecen contribuir de forma limitada a la presencia de *E. coli* productora de ESBL/pAmpC en portadores comunitarios y a su creciente prevalencia en infecciones humanas. Sin embargo, los alimentos pueden constituir una vía de diseminación y los animales de granja pueden funcionar como reservorio potencial de genes que codifican ESBL/pAmpC y de plásmidos que los portan. A nivel de genes/plásmidos, existe solapamiento entre alimentos/animales de granja —principalmente aves de corral— y humanos, pero este solapamiento es limitado en comparación con lo observado en otros países europeos (Börjesson, S., et al., 2016).

En varios estudios se evaluó la contribución relativa de distintos reservorios al estado de portador intestinal de *E. coli* ESBL o pAmpC. Se concluyó que la transmisión comunitaria entre humanos es la principal fuente, seguida por los alimentos y el contacto con mascotas, mientras que las actividades recreativas en aguas superficiales o el contacto con aves silvestres tendrían una contribución menor (Giardina, S. et al., 2021).

En trabajos recientes se ha estimado que entre el 10 % y el 30 % de los aislamientos clínicos de *E. coli* productora de ESBL pueden proceder de granjas de animales, aunque esta proporción depende del nivel de resolución con que se estudien las relaciones genéticas entre cepas,

y está sujeta a variaciones geográficas, temporales y según el origen de las muestras (Mughini-Gras, L., et al., 2019; Dorado-García, A., et al., 2018).

Se considera, por tanto, que las fuentes no humanas desempeñan un papel muy relevante en el mantenimiento de la transmisión de estas resistencias, y que los estudios de seguimiento longitudinal y continuo serán fundamentales para establecer los riesgos atribuibles y diseñar intervenciones de salud pública.

Los niveles crecientes de RAM en patógenos comunes transmitidos por los alimentos han puesto de relieve la necesidad de mejorar la inocuidad alimentaria y reforzar la coordinación intersectorial. Las autoridades de seguridad alimentaria desempeñan un rol clave en el fortalecimiento del marco legal relativo a residuos de antimicrobianos en los alimentos (Giardina, S. et al., 2021).

La actividad de las organizaciones internacionales

El Codex Alimentarius, que desarrolla normas y directrices con el objetivo de proteger la salud y facilitar un comercio equilibrado en el sector alimentario, incluye lineamientos específicos para la gestión de la resistencia a los antimicrobianos a lo largo de la cadena alimentaria y en la alimentación animal. El uso prudente de antimicrobianos en la producción agrícola, ganadera y acuícola es clave para reducir el riesgo de adquirir patógenos resistentes a través de los alimentos (Codex standards and antimicrobial resistance, 2020, FAO, Roma).

Aun con los importantes esfuerzos científicos realizados, y en particular el apoyo brindado por la Comisión Europea y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) al enfoque de Una Salud (One Health) en los Estados miembros, no se han observado aún resultados claramente demostrables en términos de reducción de la resistencia a los antimicrobianos (European Court of Auditors, 2019).

Por ejemplo, en Italia se han notificado aislados resistentes de *E. coli* en granjas porcinas ecológicas (Österberg, J. et al., 2016) y se ha demostrado la presencia de bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos, en especial enterobacterias, en animales marinos sanos y enfermos, contribuyendo a la difusión de estos determinantes (Blasi, C. et al., 2020). Las aves silvestres también han sido identificadas como fuente de cepas bacterianas resistentes, por ejemplo, *Salmonella* spp. (Martín-Maldonado, B. et al., 2020). Asimismo, se ha evaluado el riesgo para la salud humana durante actividades recreativas en aguas superficiales (Nappier, S.P., et al., 2020).

El impacto de la resistencia antimicrobiana inducida por el hombre sobre el sector ambiental sigue siendo poco conocido y, por lo general, sólo se investiga a escala local.

En Europa, por primera vez en 1993, la Directiva 93/39/CEE introdujo la necesidad de informar sobre cualquier posible riesgo ambiental asociado al uso de medicamentos. Posteriormente, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) incorporó el principio de evaluación de riesgo ambiental para todos los medicamentos nuevos antes de su registro (Giardina, S. et al., 2021).

Si bien la evaluación anual del *Piano Nazionale Residui* (PNR) (Ministero della Salute, Italia, 2019) asegura que la población no esté expuesta a sustancias antibacterianas por el consumo de alimentos de origen animal, resulta difícil establecer el impacto en la salud humana de la exposición crónica a microorganismos resistentes y residuos de antimicrobianos a través de la matriz ambiental. Diversos factores pueden afectar los resultados de los estudios de evaluación de riesgo, entre ellos:

- la sensibilidad de los métodos analíticos,
- la capacitación del personal involucrado,
- el grado de dilución de los antimicrobianos en el ambiente y sus tiempos de degradación, la posibilidad de bioconcentración y biomagnificación.

Por estos motivos, para combatir el fenómeno de la resistencia antimicrobiana es necesaria una colaboración global y transversal, tanto entre países como entre los distintos sectores, y desarrollar una agenda común de salud que incluya de manera explícita a los sectores veterinario y ambiental (Giardina, S. et al., 2021).

En 2015, los Estados Miembros de la OMS aprobaron por unanimidad un Plan de Acción Mundial para abordar la resistencia a los antimicrobianos, y la Organización instó a todos los países a adoptar medidas concertadas en todos los sectores de la actividad humana, bajo el enfoque de Una Sola Salud. En la Semana Mundial del Uso Consciente de los Antimicrobianos (18-24 de noviembre de 2020), las tres organizaciones —la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)—, como parte de su llamado conjunto a la acción para preservar la eficacia de los antimicrobianos, anunciaron el establecimiento del “Grupo de Líderes Mundiales de One Health sobre Resistencia a los Antimicrobianos”. El grupo fue creado a instancias del Grupo de Coordinación Interagencial (IACG) y cuenta con el apoyo del Secretario General de las Naciones Unidas (Giardina, S. et al., 2021).

Como señaló el Director General de la FAO, Qu Dongyu, en la apertura de la primera reunión de este grupo mundial (26 de enero de 2021), la pandemia de COVID-19 también representa una oportunidad, dado que ha aumentado nuestra sensibilidad frente a la fragilidad de los sistemas de salud y la necesidad de abordar colectivamente las amenazas sanitarias de manera holística, coherente y coordinada.

La Red Europea de Regulación de Medicamentos ha subrayado igualmente la necesidad de una colaboración intersectorial, reconociendo la relación entre salud humana, salud animal y medio ambiente para reforzar las medidas frente a la resistencia antimicrobiana (Pelfrene, E., et al., 2021).

Una visión de *Una Salud* en la biosfera

En la escala del planeta, la historia del ser humano representa apenas una brevísima fracción del tiempo. Litosfera, atmósfera e hidrosfera, combinadas en un delicado equilibrio con todas las formas de vida, conforman la biosfera. Sus primeros habitantes, miles de millones de años atrás, bacterias y arqueas, siguen siendo aún hoy el soporte vital del planeta.

Desde esta perspectiva, resulta pretencioso escuchar a personas u organizaciones abogar por la “salvación del planeta”. Las bacterias nos llevan una ventaja temporal inmensa. La humanidad, en sus escasos 200.000 años, es una recién llegada en esta historia.

Desde nuestro punto de vista, la biosfera enfrenta múltiples problemas, de origen antropogénico y natural. Entre los primeros podemos mencionar:

- distintos tipos de contaminación: sonora, radiactiva, lumínica, térmica, química y biológica;
- explotación no sustentable de recursos: agricultura intensiva mal manejada, deforestación;
- pérdida de biodiversidad, muchas veces asociada a invasiones biológicas;
- emisiones de gases de efecto invernadero, emisiones contaminantes y partículas en suspensión.

A ello se suman fenómenos naturales —grandes tormentas, terremotos, maremotos, erupciones volcánicas, entre otros— capaces de generar contaminaciones de todo tipo.

Todos estos problemas tienen, en mayor o menor medida, impacto directo en la salud. En la era contemporánea, la noción de salud ha evolucionado más allá de los confines tradicionales de clínicas y hospitales, abarcando un panorama más amplio que involucra a humanos, animales, plantas y el entorno en el que coexisten.

Este enfoque integral, conocido como *Una Salud*, reconoce la interdependencia entre la salud humana, animal y ambiental, y asume

que las enfermedades no conocen fronteras y que los desafíos sanitarios están intrínsecamente ligados a la salud del planeta.

En este contexto, la salud no puede considerarse de manera aislada; debe entenderse como un sistema interrelacionado donde las enfermedades humanas, animales y vegetales se entrelazan con la patología ambiental y con las zoonosis. Las fronteras entre estas categorías se difuminan, evidenciando la necesidad de una perspectiva global y transdisciplinaria para abordar los complejos desafíos sanitarios que enfrenta la biosfera.

Las enfermedades emergentes y reemergentes son indicadores críticos de esta interconexión. Muchas de ellas se originan en la interfaz entre humanos, animales y ambiente, subrayando la importancia de comprender y gestionar los factores que contribuyen a su emergencia y diseminación: contaminación, cambio climático, globalización, crecimiento demográfico, deforestación, agricultura intensiva y resistencia microbiana, entre otros.

La interdependencia también se refleja en desafíos globales como la escasez de agua, las crisis energéticas, la inseguridad alimentaria, la degradación ambiental y la pérdida de biodiversidad. Estos problemas no pueden abordarse de forma efectiva sin considerar sus impactos directos e indirectos en la salud humana, animal y vegetal. Una Salud busca integrar soluciones que promuevan un equilibrio sostenible entre estos componentes, reconociendo que la salud de uno afecta inevitablemente a los demás.

En todos estos casos, *Una Salud* emerge como un enfoque imprescindible para enfrentar los problemas urgentes que se presentan en la interacción entre la humanidad y el planeta. Este paradigma nos insta a superar las barreras disciplinarias y geográficas y a colaborar globalmente para preservar la salud en su sentido más amplio.

En el campo específico de las resistencias microbianas, cuanto más avanzan el conocimiento y las tecnologías de laboratorio, más evidente se vuelve la complejidad del problema. No obstante, inten-

taremos encuadrar el fenómeno dentro de un marco definido y analizarlo de la manera más clara posible.

Componentes del sistema: antibióticos y bacterias

Los dos componentes centrales del fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos son, lógicamente, los antibióticos y las bacterias.

En este trabajo ya se han analizado las distintas familias de antibióticos, sus modos de acción, sus formas de uso en humanos y animales, así como los usos incorrectos y su presencia ambiental. Los antibióticos se administran de modos diversos a animales y personas y, posteriormente, son eliminados e incorporados al medio ambiente. Su persistencia y circulación ambiental dependerán de las características propias del fármaco y de las del entorno en que se encuentren.

En cuanto a las bacterias, se ha introducido el concepto de bacterias saprófitas, patógenas y de determinantes de resistencia, junto con los mecanismos de transferencia de esos determinantes. Sin embargo, restan algunos aspectos relevantes por analizar.

Para implementar un tratamiento antibacteriano es esencial conocer la susceptibilidad del microorganismo causante de la infección. Es decir, siempre que sea posible, el tratamiento debería basarse en un diagnóstico de laboratorio (aislamiento, identificación y antibiograma). Pero es importante interpretar con prudencia los resultados, dado que, en la placa de Petri, el microorganismo se encuentra en condiciones óptimas para crecer, mientras que en el organismo huésped debe enfrentarse a defensas y a un medio hostil.

Los resultados de laboratorio describen la respuesta de bacterias planctónicas, es decir, células que flotan libremente en un medio acuoso. En la práctica clínica, sin embargo, intervienen otros estados bacterianos. Entre ellos destacan:

- **bacterias persistentes**, que reducen su metabolismo, no se reproducen activamente y suelen dar lugar a infecciones crónicas de muy difícil erradicación si no se tratan adecuadamente;

- **biofilms**, comunidades microbianas altamente organizadas que se adhieren a superficies bióticas o abióticas, envueltas en una matriz extracelular de polisacáridos, proteínas y ADN.

La formación y el funcionamiento de los biofilms involucran múltiples procesos, entre ellos la producción de moco, la percepción de quorum (*quorum sensing*) y diversos mecanismos de comunicación celular, lo que los hace muy difíciles de tratar.

La percepción de quorum se emplea para describir el fenómeno por el cual la acumulación de moléculas señal permite a una bacteria individual “percibir” la densidad celular en su entorno, desencadenando la expresión coordinada de genes específicos y una transición hacia un comportamiento multicelular. Este fenómeno, también denominado comunicación célula-a-célula y autoinducción, ocurre cuando las condiciones son apropiadas y la población bacteriana supera un umbral crítico (Rojas Badia, M., 2011).

Una vez descritos estos dos factores fundamentales —antibióticos y bacterias—, podemos avanzar hacia los distintos compartimientos del sistema, sintetizados en la Figura 1.



Figura 1. Modelo de múltiples compartimientos que muestra el movimiento de fármacos, vectores, microorganismos, microorganismos resistentes y determinantes de resistencia.

Componentes humanos en el modelo de *Una Salud*

Los compartimientos que involucran a la población humana incluyen:

1. Población urbana

Comprende a la población general y a los enfermos ambulatorios.

Los antimicrobianos utilizados en este sector incluyen:

- antibióticos recetados con fines terapéuticos;
- antibióticos usados sin receta (automedicación, tratamientos erróneos, innecesarios o incompletos);
- tratamientos de mascotas (nuevo componente crítico en *Una Salud*);
- uso intensivo e irracional de productos químicos de diverso tipo.

2. Población hospitalaria

En este compartimiento la presión antiséptica y quimioterápica es muy elevada. Entre los principales aspectos se incluyen:

- uso profiláctico y terapéutico de antibióticos;
- empleo de antisépticos, desinfectantes y material estéril;
- riesgo asociado a prácticas inadecuadas de prescripción y de control de infecciones.
- Los quirófanos y las unidades de cuidados críticos son sitios de especial relevancia.

3. Población rural

El personal que trabaja en empresas agropecuarias representa un grupo relativamente pequeño en número, pero de alto riesgo, por su estrecho contacto con animales y fármacos. En este ámbito:

- el uso profiláctico de antimicrobianos debe estar sólidamente justificado;
- el uso metafiláctico requiere criterios precisos;
- el empleo de antimicrobianos como promotores del crecimiento, ya ampliamente discutido, debe ser progresivamente abandonado;
- el uso terapéutico debe basarse en diagnóstico clínico y, cuando sea posible, en evidencia microbiológica.

Además, los plaguicidas, antiparasitarios, repelentes y otros fármacos de uso rural deben emplearse con prudencia. El personal necesita entrenamiento en buenas prácticas clínicas y agrícolas, así como equipamiento y vestimenta adecuados. En este grupo deben incluirse también los trabajadores de granjas acuícolas y quienes se desempeñan en cultivos vegetales.

Otro grupo humano de riesgo frente a la RAM y a la toxicidad de otros químicos es el de los trabajadores de plantas elaboradoras de fármacos —tanto de uso humano como veterinario— y de la industria química en general. Este personal debe contar con protección adecuada, instalaciones seguras, equipamiento apropiado y forma-

ción en buenas prácticas de manufactura y manejo de sustancias peligrosas.

Las personas que trabajan en la cadena alimentaria, en todos sus eslabones, también deben estar protegidas y correctamente entrenadas. La cadena alimentaria, desde la granja hasta la mesa, constituye un proceso esencial para la sociedad y debe funcionar con altos estándares de inocuidad. Se trata de una vía de contacto indirecto entre animales, vegetales y humanos que exige monitoreo permanente.

En este contexto, no debe omitirse el análisis de los sacrificios de animales para producción de alimentos artesanales. Se trata de procesos tradicionales que suelen carecer de control externo y, por lo tanto, requieren programas de formación específicos. Los productos obtenidos no cuentan con las mismas garantías de calidad que aquellos de cadenas oficiales, pero son prácticas muy arraigadas y difíciles de erradicar; por ello, resulta imprescindible contribuir a mejorar su seguridad.

El personal involucrado en plantas de tratamiento de aguas residuales y en la disposición de residuos sólidos constituye otro grupo clave. Debe ser adecuadamente protegido, capacitado y supervisado.

En la Figura 1 se representan diversos compartimientos conectados por flechas. Las flechas rojas indican sitios de presión antimicrobiana: lugares donde se administran antibióticos u otros quimioterápicos, ya sea en forma individual o grupal. Se trata de puntos críticos de entrada de antimicrobianos al sistema.

Las flechas verdes señalan flujos: de antimicrobianos (flujos no necesariamente asociados a su uso médico o veterinario directo), de microorganismos, de microorganismos resistentes y de determinantes de resistencia.

Acuicultura en el modelo multicompartamental

Entre los compartimientos representados en la Figura 1 se encuentra la acuicultura, una explotación de enorme magnitud mundial, particularmente en Asia, y en expansión en América Latina.

Existen importantes limitantes para el uso prudente y racional de antimicrobianos en especies acuícolas, entre ellas:

- el escaso conocimiento de la farmacología de antimicrobianos en muchas especies de peces e invertebrados;
- la condición poiquilotérmica de estos animales, que hace que sus procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación varíen con la temperatura ambiental.

Esta combinación —información farmacológica limitada y variabilidad metabólica ligada a la temperatura— complejiza significativamente el diseño de terapias responsables. En algunas especies de alto valor económico se ha avanzado en el conocimiento de la farmacología de antimicrobianos, dada la importancia de estos tratamientos para alcanzar los niveles productivos requeridos.

Como ejemplo simplificado, para el tratamiento de salmones se podría considerar:

$$\text{Dosis} \approx (\text{Peso del pez (kg)} \times \text{concentración deseada (mg/kg)} \times \text{volumen de agua (L)}) / \text{peso corporal total de los peces en el tanque (kg)}$$

y, a modo ilustrativo, podrían emplearse esquemas de:

- 10–20 mg/kg durante 5–7 días para infecciones leves;
- 30–40 mg/kg durante 10–14 días para infecciones graves.

Dada la variación metabólica generada por los cambios de temperatura, el cálculo del período de retirada es un punto crítico, que siempre será más prolongado a temperaturas bajas. Otros factores condicionantes incluyen la especie, el tipo de antibiótico y la dosis administrada.

En términos generales, temperaturas más altas aceleran el metabolismo y la eliminación del antibiótico, reduciendo el período de retirada, mientras que temperaturas más bajas lo prolongan.

A modo de guía conceptual, el período de retirada (PR) podría expresarse como:

$$\text{PR (días)} \approx (\text{Dosis} \times \text{Grado-día}) / (\text{Temperatura ambiente} \times \text{factor de seguridad})$$

donde:

- Dosis: dosis total administrada (mg/kg),
- Grado-día: producto de temperatura media diaria (°C) × número de días de tratamiento,
- Temperatura ambiente: temperatura media diaria (°C),
- Factor de seguridad: coeficiente que introduce un margen de seguridad interindividual (habitualmente ≥ 2).

Ejemplo:

Si se administra una dosis de 10 mg/kg de oxitetraciclina a truchas a 15 °C durante 10 días:

$$\text{Grado-día} = 15 \text{ °C} \times 10 \text{ días} = 150 \text{ grados-día}$$

$$\text{PR} \approx (10 \times 150) / (15 \times 2) = 50 \text{ días}$$

En este ejemplo, el período de retirada estimado sería de 50 días, disminuyendo a temperaturas ambientales más elevadas.

En Asia es frecuente la combinación de producciones de peces, cerdos e incluso aves en un mismo establecimiento. El esquema típico consiste en una laguna donde se crían peces (a menudo carpas), sobre la cual se ha construido una estructura sobre pilotes (*palafitos*) con instalaciones para aves o cerdos y vivienda para el personal. Desde el punto de vista productivo, se trata de un sistema cerrado y altamente eficiente en el reciclado de nutrientes:

- los residuos de las instalaciones aéreas (restos de alimento, deyecciones animales y humanas, cadáveres) caen a la laguna y son consumidos por los peces;
- los peces muertos se utilizan como alimento para los animales terrestres;
- las personas consumen peces, aves y cerdos.

En términos de circulación de microorganismos y determinantes de resistencia entre 3 o 4 especies, se configura un sistema intensamente interconectado, al que además se suman aves, roedores y otros componentes de la fauna silvestre. Cuando en este sistema se introduce un antimicrobiano, se genera una selección e intercambio de determinantes de resistencia de magnitud excepcional.

Estas instalaciones, promovidas en su momento por la FAO por su eficiencia productiva, deben ser replanteadas desde la perspectiva de la resistencia antimicrobiana. No existe, en la práctica, un diseño terapéutico que garantice eficacia clínica sin un impacto ambiental y sobre las resistencias muy significativo.

En contraste, los criaderos de salmones en aguas abiertas suelen operar con sistemas muy afinados, apoyados en buenas prácticas y en la inmunoprofilaxis, reduciendo al mínimo el uso de antimicrobianos. El diseño cuidadoso de las terapias, así como de los alimentos medicados, permite que éstos sean consumidos casi en su totalidad antes de sedimentar, minimizando su liberación al medio marino.

Los alimentos utilizados en acuicultura son un elemento crítico, y su origen y calidad deben ser cuidadosamente evaluados. A modo de ejemplo, un laboratorio latinoamericano solicitó estudiar residuos en pollos, incluyendo concentraciones en plumas. La razón fue que las plumas se destinaban a la producción de alimentos balanceados para peces, por lo que era necesario asegurar que los niveles de residuos al sacrificio no excedieran los límites de seguridad. Las plumas pueden constituir, por lo tanto, una vía de entrada significativa de fármacos al sistema acuícola.

Cultivos vegetales y agricultura intensiva

Otro compartimiento crítico en el modelo de la Figura 1 lo representan los cultivos vegetales. La evolución tecnológica de la agricultura ha permitido ser más optimistas respecto del futuro alimentario de la humanidad, pero también ha suscitado cuestionamientos.

La contaminación del agua, la degradación de suelos y la pérdida de biodiversidad se vinculan, en parte, con prácticas de agricultura intensiva mal diseñadas.

¿Es la agricultura intensiva “mala” en sí misma? Si así fuera, la humanidad quedaría en una situación muy comprometida. En realidad, la agricultura intensiva es una herramienta necesaria para alimentar una población mundial en crecimiento, pero debe practicarse de manera sostenible para minimizar su impacto ambiental.

Entre los pilares de una agricultura intensiva sostenible se incluyen:

- fertilizantes y pesticidas de baja toxicidad y uso racional;
- prácticas de cultivo conservacionistas;
- uso eficiente del agua;
- manejo integrado de plagas;
- protección de la biodiversidad y de los servicios ecosistémicos.

En este contexto, el uso de antimicrobianos tiene también relevancia. Algunas plagas vegetales y enfermedades de cultivos han sido tratadas con antibióticos, aunque existe una tendencia clara a limitar estos usos mediante prácticas agrícolas alternativas.

Por otro lado, se han empleado genes de resistencia a antibióticos como marcadores de selección en la transformación genética de plantas. En estos casos, el gen de interés se inserta junto con un gen marcador de resistencia. La selección de células transformadas es sencilla: sólo aquellas que han integrado el gen marcador sobreviven al tratamiento con el antibiótico correspondiente.

Sin embargo, estas metodologías son objeto de debate, ya que incorporan genes de resistencia al ambiente. Las agencias reguladoras

siguen de cerca este tema; la Unión Europea ha prohibido su uso y, en los Estados Unidos, se requiere autorización especial.

Fauna silvestre y vectores

La fauna silvestre tiene un rol cada vez más reconocido en *Una Salud*. Diversas especies de fauna y flora pueden actuar como vectores o reservorios en múltiples enfermedades, junto con numerosos artrópodos.

- Las aves padecen influenza aviar y la transmiten entre sí y a ciertos mamíferos —como se ha observado en lobos marinos—, además de encefalomiелitis equina, epidemia que afecta actualmente al Cono Sur. Muchas especies son migratorias y pueden transportar patógenos a grandes distancias, incluso entre continentes. La portación de genes de resistencia en aves se ha reconocido como un mecanismo epidemiológico importante. Por ejemplo, se han analizado heces de aves migratorias en Australia y China y se han encontrado bacterias portadoras de genes de resistencia a vancomicina, colistina y carbapenems, especialmente en aves que se alimentan en ambientes acuáticos como humedales y arrozales (Wang, J., et al., 2020).
- Los murciélagos cumplen roles esenciales en distintos ciclos epidemiológicos y constituyen importantes reservorios de patógenos. Pueden transmitir rabia, ébola y otras virosis, además de enfermedades bacterianas y parasitarias. Su papel en varias virosis emergentes y reemergentes es ampliamente reconocido.
- Los artrópodos —mosquitos, garrapatas, pulgas, moscas, piojos, chinches, triatominos, simúlidos, flebótomos— cumplen funciones ecológicas relevantes, pero, al mismo tiempo, actúan como vectores de numerosas patologías. Lo mismo ocurre con múltiples vertebrados que intervienen como reservorios o vectores en diversas cadenas de transmisión.

Presiones quimioterápicas y flujos en el sistema

En este complejo sistema existen intensas presiones quimioterápicas. Los grandes vectores de fármacos —antibióticos, antiparasitarios, antineoplásicos, entre otros— se concentran fundamentalmente en:

- hospitales y otros centros asistenciales,
- pacientes ambulatorios,
- personas automedicadas,
- trabajadores de plantas químicas y farmacéuticas,
- personal rural y de granjas acuícolas,
- establecimientos de producción animal intensiva (bovinos, porcinos, aves, peces),
- ciertos cultivos vegetales donde aún se utilizan antimicrobianos.

Existen además flujos secundarios mediados por el agua, el aire o los suelos, siendo el componente acuático el más relevante. A través de estos flujos circulan no sólo antimicrobianos, sino también microorganismos, microorganismos resistentes y determinantes de resistencia.

Se ha debatido extensamente sobre la viabilidad de determinantes de resistencia liberados al ambiente. A la luz del conocimiento actual, es probable que no todos ellos sean funcionalmente viables, pero no cabe duda de que algunos pueden mantenerse y ser incorporados por microorganismos ambientales, dando lugar a nuevas combinaciones de resistencia.

CONTROL DE PUNTOS CRÍTICOS: ¿UNA ALTERNATIVA VIABLE PARA EL CONTROL DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA?

El sistema HACCP

Las infecciones e intoxicaciones alimentarias continúan representando graves problemas de salud pública, incluso en los países más desarrollados. Los consumidores padecen consecuencias infecciosas o

toxicológicas pagando productos caros y, eventualmente, inseguros, mientras que las empresas sufren pérdidas económicas, deterioro de su prestigio e incluso desastres financieros.

Clásicamente, el control alimentario se ha orientado hacia la identificación de efectos, pero no al control de las causas que los originan. Esto representa un problema evidente: una vez producidos los efectos indeseables, las pérdidas ya se han generado.

Disponiendo de una amplia gama de conocimientos y experiencia en la materia, el descontrol de la situación es el resultado de una grave falla estratégica.

La medicina humana y la veterinaria se basan en cuatro principios:

- Anamnesis
- Diagnóstico
- Terapia
- Seguimiento

Este esquema es percibido de manera intuitiva como un método lógico de análisis e intervención: se estudia al paciente, se determina el curso a seguir, se aplica el tratamiento y se evalúa su evolución.

Es obvia la importancia del seguimiento: el paciente será controlado no sólo por iniciativa del médico o veterinario tratante, sino también por la preocupación del propio paciente o del propietario/encargado. Esto asegura la monitorización del curso del tratamiento.

El control alimentario, por su parte, clásicamente se ha planteado como la necesidad de controlar productos terminados. Además de ser muy difícil, este enfoque identifica, como se ha dicho, efectos y no causas.

Frente a esta realidad, se plantean dos alternativas:

- Intensificación de los controles
- Reingeniería del sistema

La intensificación de los controles sólo haría más eficiente la identificación de problemas, pero siempre ex post. La reingeniería,

con todos los riesgos y resistencias que implica su aplicación, era y es el camino a seguir.

El sistema HACCP (Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos) es el resultado de la reingeniería del control alimentario.

Antecedentes del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos

El concepto tiene ya varias décadas. Se inició en los años 60 a través de un sistema implementado por la NASA para el control de los alimentos destinados a los astronautas.

Posteriormente, en 1991, la FDA inició un programa de control voluntario basado en HACCP para productos pesqueros.

El sistema se centra en asegurar la ausencia de contaminación a lo largo de todo el proceso productivo, en lugar de basarse únicamente en el control del producto final.

Se trata de analizar todos los riesgos en forma experta y concienzuda. Para ello, se deben identificar todas las etapas, situaciones y prácticas que constituyan un peligro químico o microbiológico. Estos riesgos son los puntos críticos.

A través del sistema se eliminan primero los riesgos sistemáticos y, mediante la monitorización y el perfeccionamiento continuo, se van previniendo las faltas accidentales.

El HACCP es racional, amplio, continuo y sistemático, y consta de siete etapas:

1. Identificación de riesgos potenciales.
2. Determinación de puntos críticos de control.
3. Establecimiento de límites críticos.
4. Instalación de sistemas de monitorización.
5. Generación de acciones correctivas cuando los límites son superados.
6. Confección y mantenimiento de registros adecuados y completos.

7. Verificación periódica del sistema para asegurar su funcionamiento normal.

Muchos industriales están bien entrenados en las etapas 1, 2 y 3, pero sus resultados son pobres en los puntos 4, 5, 6 y 7. Para tener éxito, el sistema requiere un estudio profundo, un planeamiento exhaustivo y un diseño que no deje puntos librados al azar.

La base del sistema son los **SSOP** (*Sanitation Standard Operating Procedures*).

En los sistemas de producción agropecuaria, el control de puntos críticos presenta algunas diferencias importantes. El proceso comienza mucho antes, “al pie” de la vaca, el cerdo, las aves o el animal productivo de que se trate, y siempre termina en el mismo momento: cuando el producto llega al plato —o a la taza— del consumidor.

Se trata de un sistema que requiere un alto compromiso de todos los participantes. La formación técnica de los involucrados en el proceso primario es condición *sine qua non* para su mejora.

El control de puntos críticos para el control de la resistencia microbiana en sistemas pecuarios

Punto crítico 1. Implementación de Buenas Prácticas de Manejo Sanitario

Se basa fundamentalmente en la prevención. Incluye:

- Programas de vacunación correctamente diseñados.
- Desparasitaciones estratégicas.
- Administración de minerales y vitaminas sólo cuando sea necesario.
- Consideración estricta del bienestar animal.
- Buenas prácticas agrícolas y veterinarias.
- Estricta higiene y correcto funcionamiento de las instalaciones de manejo.

Punto crítico 2. ¿Tratar o no tratar?

Aun con un excelente manejo sanitario, algunos animales enferman clínicamente. El tipo de enfermedad justificará o no un tratamiento antimicrobiano. Para resolverlo, el diagnóstico es esencial.

Las enfermedades virales no deben tratarse con antibióticos. Por lo tanto, es crucial contar con un buen diagnóstico. El diagnóstico de laboratorio es una herramienta central, aunque muchas veces no es fácil de obtener, por lo que en muchos casos se trata “a ciegas”.

El tratamiento a ciegas no es necesariamente malo si se realiza con criterio. Las diferencias entre tratamiento con y sin soporte de laboratorio pueden esquematizarse así:

Con soporte de laboratorio	Sin soporte de laboratorio
Diagnóstico clínico	Diagnóstico clínico
Diagnóstico bacteriológico (aislamiento, identificación, antibiograma)	Sin diagnóstico de laboratorio (tratamiento a ciegas)
Elección del antibiótico al que el germen es susceptible	Considerar la historia del establecimiento y del animal
Diseño de un régimen de administración adecuado	Elegir el antibiótico que mejor cubra las expectativas
Cumplimiento meticuloso del régimen	Preferencia por antibióticos de espectro medio–amplio con buen plan de administración
Control clínico de la evolución y final del tratamiento	Control clínico de la evolución y final del tratamiento

Debe evaluarse:

- ¿Se dispone de un medicamento eficaz?
- ¿Conviene económicamente tratar frente a no tratar o descartar el animal?

En este último caso, considerar:

- Valor del animal en carne.
- Valor genético-productivo.
- Costo del medicamento.
- Leche descartada (en tambos) o pérdidas de peso/calidad en otros sistemas.
- Tiempo de retirada.
- Riesgo de contagio.
- Costo del reemplazo.

Una vez tomada la decisión de tratar, se debe evaluar la respuesta. Esto estará a cargo del veterinario, quien puede discriminar entre:

- Cura clínica
- Cura bacteriológica (sin esta última, la recaída es posible o probable).

La identificación del microorganismo es fundamental. Es importante recordar que muchas enfermedades son controladas o curadas por el propio animal. Los antimicrobianos, en esencia, disminuyen la carga de microorganismos a un nivel que el organismo pueda manejar.

Para evitar fallos terapéuticos es crucial la correcta elección de:

- Fármaco
- Dosis
- Vía de administración
- Duración del tratamiento

Punto crítico 3. Establecer una relación Veterinario-Cliente-Paciente adecuada

El veterinario tiene la responsabilidad del juicio profesional. Es quien:

- Determina la necesidad o no de tratamiento.
- Define el esquema terapéutico.
- Realiza el seguimiento.
- Decide el alta.

El cliente debe aceptar y respaldar las decisiones del veterinario y poner a su disposición los medios para que pueda trabajar, facilitando la relación con el personal de campo (encargados, peones). Esto no exime al veterinario de esforzarse por cultivar la mejor relación posible con los empleados del establecimiento.

Se trata de un aspecto fundamental para que las tareas se ejecuten con convicción y precisión. El veterinario debe conocer el establecimiento, los animales y su historia, a través de la monitorización continua, y estar disponible para seguir el caso, especialmente cuando la evolución no es la esperada.

Punto crítico 4. Usar solamente medicamentos aprobados para la indicación decidida

El uso de un medicamento aprobado debería asegurar:

- Eficacia.
- Baja toxicidad.
- Conocimiento cabal de los períodos de retirada en leche y carne.

El uso de medicamentos fuera de etiqueta debe ser decidido y monitorizado por un veterinario, que asume la responsabilidad de los resultados.

Punto crítico 5. Etiquetas de acuerdo con los requerimientos del ente regulador (SENASA en Argentina)

La etiqueta debe incluir, como mínimo:

- Nombre y concentración de la droga.
- Lista de ingredientes activos.
- Directivas de uso.
- Tiempos de retirada en carne y leche.
- Nombre del fabricante.
- Número de lote.
- Fecha de elaboración y vencimiento.

Cuando se recurre al uso fuera de etiqueta, el veterinario debe documentar claramente las condiciones de uso, incluyendo los períodos de retirada que recomienda. En estos casos, la responsabilidad sobre eficacia, posibles fallas, pérdidas productivas o toxicidad recae en el profesional.

Punto crítico 6. Almacenar los medicamentos correctamente

Todos conocemos, al menos en términos generales, cómo se almacenan habitualmente los medicamentos en los establecimientos productivos. Sin embargo, el correcto almacenamiento e inventario es esencial.

Para un establecimiento de cría o engorde bovino se sugiere:

- Estante o sección 1: Antibióticos para vacas, toros y terneros, divididos en:
 - sistémicos,
 - locales (pastas, aerosoles),otros. Todos, medicamentos sin usar.
- Estante o sección 2: Medicamentos ya abiertos, que pasarán de este estante al refrigerador dentro de las 24 horas de haber sido abiertos. En el refrigerador permanecerán como máximo 72 horas, salvo indicación precisa del elaborador.
- Otros estantes: para medicamentos metabólicos, reproductivos, antiinflamatorios, etc.

En el caso de tambos, el objetivo fundamental es:

- Evitar la administración de sustancias no autorizadas a vacas en lactación.
- Evitar la presencia de residuos no autorizados en leche.

En un estante especial deben ubicarse todos los antimicrobianos:

- sistémicos en un estante
- Intramamarios en otro
- Locales en otro

El resto de los quimioterápicos debe mantenerse separado de los destinados a vacas en lactación.

Es indispensable controlar:

- Fecha de vencimiento.
- Temperatura de mantenimiento.
- Tiempo de exposición de las drogas al aire.
- Correcto funcionamiento del refrigerador.

Debe tenerse siempre presente que un frasco abierto ya no conserva el período de validez declarado en la etiqueta, salvo indicación expresa en contrario. Los frascos para inyectables deben ser manipulados de modo de minimizar todo riesgo de contaminación del contenido.

Punto crítico 7. Administrar los medicamentos correctamente e identificar los animales tratados

La mejor forma de cumplir este punto es:

- Respetar estrictamente las indicaciones de la etiqueta.
- Identificar al animal tratado en el mismo momento de la administración (caravanas, bandas, etc.).

Las bandas pueden ser una alternativa particularmente práctica en nuestro medio.

Punto crítico 8. Mantener y utilizar registros adecuados de animales tratados

Los registros deberían incluir:

- Fecha del tratamiento.
- Identificación del animal.
- Diagnóstico.
- Medicamento administrado.
- Vía de administración.

- Régimen de administración.
- Período de retirada para carne y leche.
- Evolución clínica día a día.
- Identificación (iniciales) del personal actuante.

Punto crítico 9. En tambos: recurrir a pruebas rápidas de determinación de residuos

Deberían utilizarse pruebas rápidas al pie de la vaca, especialmente cuando exista duda razonable sobre la posible persistencia de residuos, aun habiendo respetado el período de retirada.

Pautas básicas:

- No analizar leche anormal.
- No emplear tests para acortar períodos de retirada.
- Testear la leche de los cuatro cuartos.
- Descartar siempre la leche con resultado positivo.
- Coordinar la metodología con la de la usina láctea.

Situaciones que justifican el uso de pruebas rápidas:

- Uso fuera de etiqueta.
- Tratamiento de animales seriamente enfermos o deshidratados.
- Antes de despachar la leche de una vaca que vuelve a lactación luego de un tratamiento en período seco, especialmente si lo hace tempranamente.
- Antes de despachar leche de animales recién comprados, cuya historia sanitaria se desconoce.
- En cualquier otra circunstancia en la que surjan dudas.

Punto crítico 10. Educación del personal

Es esencial educar al encargado, peones y, cuando corresponda, a sus familias, sobre el manejo adecuado de medicamentos, a fin de evitar la producción de alimentos adulterados.

En el tambo la situación es especialmente delicada, dado que los antimicrobianos se incorporan muy rápidamente a la cadena alimentaria.

Los casos más claros de violación se producen cuando una persona trata y otra vende, o una trata y otra ordeña. En estos casos, el punto crítico debe explicarse extensamente; el uso de registros detallados, la adecuada identificación de animales tratados y la firma o iniciales de cada operador en cada maniobra son la base para construir responsabilidad individual y colectiva.

El control de puntos críticos para el uso racional de antimicrobianos en seres humanos

Para los médicos

Punto crítico 1. Prevención

El concepto de médico de familia sigue teniendo una importancia esencial en:

- la orientación del grupo familiar,
- los programas de vacunación,
- la promoción de estilos de vida saludables.

La mejor relación posible médico–paciente–familia es la base de una medicina racional.

Punto crítico 2. Historia clínica completa y actualizada

Ningún detalle de la historia del paciente y su familia está de más. Puede ser clave en decisiones futuras, incluidas las relacionadas con antibióticos.

Punto crítico 3. Uso de antimicrobianos sólo cuando sea necesario

Ante una manifestación que sugiera enfermedad infecciosa, debe discernirse —en la medida de lo posible— entre origen viral y bacte-

riano antes de decidir el uso de antibióticos. Es decir, se debe arribar al diagnóstico más preciso posible.

Punto crítico 4. Reconocer el foco infeccioso y el estado del huésped

Se debe reconocer el foco de la infección clínica y epidemiológicamente, considerando siempre el estado inmunitario del huésped. En un paciente comprometido, además de la gravedad de la infección, pueden existir cambios fisiológicos relevantes que afecten la cinética de los fármacos (por ejemplo, el volumen de distribución), exigiendo ajustes en los regímenes de administración.

Punto crítico 5. Aprovechar el diagnóstico de laboratorio

El aislamiento, identificación y antibiograma continúan siendo herramientas fundamentales para diseñar un plan de administración adecuado al paciente y a las circunstancias.

Punto crítico 6. Uso del antimicrobiano apropiado

El antibiograma orientará la elección. En ausencia de diagnóstico de laboratorio, el tratamiento a ciegas no es en sí mismo algo negativo, siempre que se funde en:

- anamnesis detallada,
- historia del paciente y su entorno,
- buen examen físico,
- análisis de datos clínicos y, cuando corresponde, estudios complementarios.

Se debería elegir el agente de espectro más reducido posible que cubra al microorganismo sospechado. Los antibióticos de amplio espectro deben reservarse para situaciones de duda etiológica o cuadros graves. Las asociaciones deben limitarse a indicaciones precisas (flora mixta, determinados cuadros críticos, etc.).

Punto crítico 7. La prescripción medicamentosa

La receta es una responsabilidad central del médico. El tiempo dedicado a confeccionarla correctamente nunca está perdido.

Datos que deberían constar:

- Nombre del profesional actuante.
- Número de matrícula.
- Fecha y firma.
- Dirección y teléfono del consultorio.
- Nombre completo del paciente, fecha de nacimiento y dirección.

Medicamento: nombre genérico o comercial.

Dosis por toma (ejemplo: 100 mg).

Frecuencia de las tomas.

Duración total del tratamiento.

Instrucciones de uso (con o sin alimentos, interacciones, restricciones, etc.).

Punto crítico 8. Adecuación del tratamiento al huésped

Debe analizarse cuidadosamente el perfil del paciente:

- edad (niño, adulto, anciano)
- comorbilidades
- función renal y hepática
- estado nutricional
- posibles interacciones medicamentosas
- embarazo o lactancia, cuando corresponda

Las características fisiológicas pueden modificar la absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco, condicionando la eficacia y el riesgo de toxicidad.

Punto crítico 9. Dosis, vía y duración del tratamiento

Se debe instruir claramente al paciente sobre:

- dosis
- intervalos interdosis
- duración del tratamiento
- qué hacer si olvida una dosis

El conocimiento de la farmacología del antimicrobiano permite diseñar el mejor plan de administración (tiempo–dependiente, concentración–dependiente, con efecto post-antibiótico, etc.).

Punto crítico 10. Manejo de recaídas

Ante la recaída de una infección, nunca repetir automáticamente el mismo antibiótico y el mismo esquema. Se sabe que, en microorganismos en recalcimiento, las CIM pueden ser 4 a 8 veces superiores a las originales y el efecto bactericida ser bajo o nulo luego de la segunda dosis (Blaser y cols., 1987).

Finalmente, debe hacerse un uso racional del arsenal diagnóstico disponible (laboratorio, imágenes y otros). Pero siempre recordando que la medicina la practica el médico y que la anamnesis y el examen clínico siguen siendo los pasos fundamentales, que no deben soslayarse.

El control de puntos críticos para el uso prudente de antibióticos por parte de los pacientes

1. No solicite antibióticos en la farmacia sin receta.
2. No se automedique: no utilice antibióticos sin que se los haya prescrito un médico.
3. No almacene antibióticos sobrantes en casa. Evitará su uso inapropiado en el futuro.
4. No recomiende antibióticos a otras personas, familiares o no, y nunca entregue a otros envases parcialmente utilizados por usted.
5. Devuelva los antibióticos no usados o vencidos a la farmacia, que se encargará de su correcta disposición.

6. Siga las indicaciones del médico: respete dosis, horarios y duración del tratamiento. No modifique el esquema sin consultar.
7. El uso incorrecto de antibióticos puede dificultar el tratamiento de infecciones graves en el futuro. Sin antibióticos eficaces, muchas infecciones serían incurables y no se podrían realizar con seguridad trasplantes, cirugías complejas ni ciertos tratamientos oncológicos.
8. La mayoría de las infecciones respiratorias no requieren el uso de antibióticos.
9. El enfermo debe extremar las medidas de higiene, protegerse y aislarse en lo posible para evitar transmitir la infección.
10. Es frecuente escuchar recomendaciones informales de medicamentos. No recomiende antibióticos, mucho menos a niños: sólo el médico debe hacerlo.

Mitigar la emergencia y diseminación de resistencias microbianas en el ambiente: un desafío multisectorial

La resistencia a los antimicrobianos (RAM), como se ha explicado a lo largo de esta obra, se ha convertido en una de las mayores amenazas para la salud global.

El uso inapropiado y excesivo de antibióticos en medicina humana, veterinaria y agricultura ha favorecido la aparición y diseminación de bacterias, virus, hongos y parásitos resistentes a los tratamientos convencionales.

El ambiente juega un papel crucial en la emergencia y diseminación de la RAM. Las bacterias resistentes pueden provenir de múltiples fuentes —ciudades, hospitales, establecimientos de producción agropecuaria, explotaciones ictícolas— y se diseminan a través de aguas, vectores animales, vientos, suelos, la cadena alimentaria formal y, aún más, la informal.

A grandes rasgos, las intervenciones pueden agruparse en cuatro ejes:

1. Reducir la entrada de bacterias resistentes al ambiente

- Uso racional de antibióticos: implementar programas de educación y formación para profesionales de la salud y la producción agropecuaria sobre el empleo responsable de antimicrobianos.
- Restringir el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en animales, fomentando prácticas de producción sostenible que no dependan de ellos para mejorar la productividad.
- Mejorar el tratamiento de aguas residuales: diseñar e implementar sistemas eficientes capaces de reducir la carga de bacterias y genes de resistencia antes de la descarga al medio ambiente.

2. Intervenir en los fenómenos que tienen lugar en el bacterioma ambiental

- Investigar la transferencia horizontal de genes de resistencia: profundizar en los mecanismos de transferencia para diseñar estrategias de control.
- Estudiar la dinámica de los microorganismos saprófitos: evaluar su rol en la diseminación de genes de resistencia.
- Monitorear la existencia y circulación de determinantes de resistencia: desarrollar programas de vigilancia ambiental para detectar y rastrear nuevos genes de resistencia.

3. Controlar los vectores

- Implementar medidas de bioseguridad en la producción animal y vegetal: reducir la transmisión de bacterias resistentes entre animales, plantas y humanos.
- Analizar el papel de la fauna silvestre en la diseminación de bacterias resistentes y considerar medidas de manejo compatibles con la conservación.

4. Proteger el agua, los suelos y el aire

- Gestión sostenible del agua: proteger las fuentes de agua frente a la contaminación por antimicrobianos, microorganismos, bacterias resistentes y determinantes de resistencia.
- Mejorar el manejo de suelos: reducir la aplicación indiscriminada de quimioterápicos y otros productos químicos.
- Reducir la contaminación del aire: implementar medidas para disminuir la emisión de partículas finas y otros contaminantes que contribuyan al transporte de fármacos, microorganismos y determinantes de resistencia.

Mitigar la emergencia y la diseminación de la RAM en el ambiente requiere un enfoque multisectorial, que involucre a:

- comunidad científica
- gobiernos
- industria
- sociedad civil

La implementación de las intervenciones mencionadas es fundamental para proteger la salud humana, animal y ambiental.

Es importante destacar que:

- la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos son esenciales,
- la inversión en infraestructura y tecnología para el tratamiento de aguas residuales es crítica,
- la educación y la comunicación son claves para generar conciencia y promover el uso responsable de antimicrobianos.

La acción conjunta y el compromiso de todos los sectores son indispensables para enfrentar este desafío global.

CONCLUSIONES

La resistencia a los antibióticos representa un problema de salud mundial. El suelo, el agua, el ganado, la fauna y la flora, los alimentos y, por supuesto, el ser humano, están directa o indirectamente expuestos a los antibióticos debido a su uso agrícola, terapéutico o por contaminación ambiental. Esta presión selectiva ha modificado profundamente la competencia bacteriana en el ambiente y constituye una fuente relevante de emergencia de bacterias resistentes a los antibióticos.

Durante las últimas décadas, la investigación se ha centrado en el uso de antimicrobianos, sus residuos en alimentos, la aparición de patógenos resistentes y sus determinantes de resistencia, e incluso en el flujo de fármacos, microorganismos y genes en el ambiente. Con el advenimiento del concepto de *Una Salud*, el enfoque se ha ampliado para incluir también a las bacterias comensales como generadoras, donantes y vehículos de genes determinantes de resistencia.

A pesar de los esfuerzos de las autoridades nacionales e internacionales —tanto de países desarrollados como en desarrollo— por reducir la prescripción excesiva de antibióticos en seres humanos y animales, el flujo selectivo de microorganismos portadores de determinantes de resistencia entre el ambiente y la clínica, en ambas direcciones, continúa en aumento.

La prevalencia de genes de resistencia en el medio ambiente es el resultado de una combinación compleja de factores que reflejan un equilibrio dinámico de costos y beneficios en términos de aptitud biológica:

- los costos de portar genes de resistencia en el contexto del genoma del huésped y del ambiente en el que se encuentra (Maher, M.C., et al., 2012; Roux, D., et al., 2015);
- la gravedad y frecuencia de la amenaza (Gullberg, E., et al., 2011, 2014);
- factores ambientales físicos como temperatura, humedad y pH (Gifford, D.R., et al., 2016);

- la ecología microbiana (Amini, S., et al., 2011), entre otros.

La naturaleza generalizada de los genes de resistencia a antibióticos en el medio ambiente está bien documentada en países y regiones de seis continentes. Sin embargo, los modos de acción de muchos genes de resistencia, así como las interacciones entre ellos, aún no se conocen completamente. Además, es necesario identificar genes marcadores clave dentro de los resistomas que permitan interpretar tasas de transferencia de resistencia entre diferentes bacterias.

La evolución del resistoma es compleja y multifactorial. El estudio de los genes de resistencia requiere herramientas “ómicas” sofisticadas, disponibles sólo en laboratorios altamente especializados. Por lo tanto, la investigación de resistomas debe plantearse como un esfuerzo colaborativo que integre diversos conocimientos y metodologías para dilucidar las intrincadas relaciones entre genes de resistencia, bacterias resistentes y factores ambientales en distintos entornos.

Si bien se ha demostrado que los metales pesados, la estruvita, el biocarbón y otros factores influyen en la diversidad y abundancia de bacterias resistentes y genes de resistencia, no está claro cómo cada uno de ellos, en forma individual o combinada, afecta el desarrollo y evolución del resistoma. Se requieren experimentos en condiciones controladas que se aproximen lo más posible a los hábitats reales, para desentrañar la dinámica del resistoma bajo distintos escenarios.

Es imprescindible contar con una comprensión sólida del comportamiento de los genes de resistencia en el medio ambiente, así como de las diferentes formas de diseminación dentro de cada hábitat y entre ellos, antes de proponer estrategias eficaces para prevenir o limitar la propagación de resistencias en el entorno.

En lo referido a las acciones a nivel de la regulación ambiental, la relevancia de las vías de exposición y de los generadores de resistencia antimicrobiana puede sintetizarse en tres puntos principales:

1. Selección directa y coselección a bajas concentraciones

Niveles bajos de antibióticos, metales y biocidas pueden seleccionar (y coseleccionar) directamente genes de resistencia a antibióticos en efluentes de aguas residuales, ríos, lodos, sistemas de riego, (bio)aerosoles, acuicultura, industria y aguas subterráneas.

2. Vías de diseminación bajo responsabilidad ambiental

Las rutas de diseminación de antibióticos, metales, biocidas y genes de resistencia en animales, plantas, alimentos (de origen animal, vegetal y marino), aguas subterráneas, ríos y aguas recreacionales son, en gran medida, competencia de quienes tienen responsabilidad en el cuidado y la gestión del medio ambiente.

3. Efectos subletales y servicios ecosistémicos

Los efectos subletales de antibióticos, metales y biocidas sobre los organismos, su microbioma y los servicios ecosistémicos (por ejemplo, ríos, aguas costeras y suelos) pueden afectar la salud, el rendimiento y la inocuidad de productos alimentarios económicamente importantes, así como el funcionamiento del bioma en su conjunto.

Es evidente que las autoridades responsables de la protección del medio ambiente deben desempeñar un papel relevante en los esfuerzos destinados a mitigar los riesgos ambientales y sanitarios asociados a la resistencia antimicrobiana. Sin embargo, también está claro que constituyen sólo una de las múltiples partes interesadas que deben contribuir a las soluciones.

La implementación de estrategias “previas”, inspiradas en el enfoque “reducir, reutilizar, reciclar”, exigirá acciones coordinadas entre diversos organismos reguladores y actores sociales, entre ellos: ministerios o departamentos de Salud, Medicamentos, Alimentos, Agricultura, Pesca y Medio Ambiente, empresas de agua y alcantarillado, la industria y la sociedad en general. El primer paso hacia una estrategia verdaderamente holística de mitigación de la resistencia antimicrobiana debería ser que cada una de estas partes evalúe de

manera crítica el papel que desempeña tanto en la generación como en la difusión de los productos químicos que impulsan la resistencia, y en el control de los flujos de fármacos, microorganismos y genes.

Es importante reconocer que la ausencia de un enfoque ambiental robusto en muchos Planes de Acción sobre Resistencia a los Antimicrobianos, así como en la Revisión O'Neill (2015), se debe probablemente a que nuestra comprensión de la resistencia en el medio ambiente sigue siendo insuficiente; en este contexto, existen pocas recomendaciones firmes que puedan proponerse sin recurrir de manera central al principio de precaución.

A ello se suma que disciplinas como la contaminación ambiental, la microbiología ambiental y, en general, los campos relacionados con las enfermedades infecciosas, han estado crónicamente subfinanciados, incluso en países considerados desarrollados (Head et al., 2013; Bragginton y Piddock, 2014; Kelly et al., 2016; Piddock, 2016). Esto repercute directamente en la incapacidad para generar la evidencia necesaria que permita informar adecuadamente a los decisores políticos y motivar acciones eficaces frente a la resistencia antimicrobiana y la eliminación conjunta o reducción de otros contaminantes y peligros.

Por otro lado, las acciones exclusivamente enfocadas en los aspectos científico-médicos de la RAM difícilmente resulten suficientes si no se acompañan de avances significativos en otros planos. Entre ellos:

- Las desigualdades siguen siendo un desafío central para la Cobertura Sanitaria Universal. Los datos agregados suelen ocultar profundas inequidades en la cobertura de servicios, tanto entre países como dentro de ellos, incluso en los denominados países desarrollados.
- A pesar de los enormes avances científicos en las ciencias médicas, estos progresos no se reflejan de manera homogénea en la atención real de los pacientes. Tanto en países desarrollados como

en países en vías de desarrollo, los sistemas de salud enfrentan graves dificultades.

- Las listas de espera para la atención médica representan una situación crítica: las enfermedades —y en particular las infecciones bacterianas— evolucionan mucho más rápido que la capacidad de respuesta de los sistemas de salud.
- El déficit en la prevención de enfermedades, la dificultad para implementar programas de vacunación eficientes y sostenibles, las condiciones ambientales desfavorables y la pobreza contribuyen de forma significativa al agravamiento del problema.

Las Naciones Unidas (Noticias ONU, revisado el 12 de abril de 2023) han llamado la atención sobre el déficit global de vacunación contra COVID-19, denunciando que la falta de equidad en la distribución de las vacunas incrementa las desigualdades.

Si bien el número total de dosis administradas ha aumentado enormemente, también lo ha hecho la desigualdad en su distribución: de los 10.700 millones de dosis suministradas en todo el mundo, sólo alrededor del 1 % ha llegado a los países de bajos ingresos, que son además los más numerosos. Esto significa que aproximadamente 2.800 millones de personas en el mundo seguían esperando recibir su primera dosis de vacuna.

Estas cifras —tanto las provistas por la OMS como por el Banco Mundial y las Naciones Unidas—, si bien constituyen una guía, muy probablemente estén por debajo de la realidad. Si frente a una enfermedad que alcanzó niveles mediáticos sin precedentes la respuesta vacunal global fue insuficiente, es razonable inferir lo que ocurre con el uso de otras vacunas indispensables para la prevención de enfermedades infecciosas que, en ausencia de cobertura vacunal, requieren tratamiento antibiótico.

En forma concreta, sin una mejora sostenida del nivel de vida de la población mundial, será extremadamente difícil alcanzar logros significativos en el control de la resistencia bacteriana a los antibió-

ticos y, en consecuencia, reducir la mortalidad por enfermedades infectocontagiosas y la contaminación ambiental con genes de resistencia y el desarrollo de resistomas complejos.

Se vuelve absolutamente necesario encarar con seriedad la mejora de las condiciones de vida de las poblaciones marginales y en extrema pobreza. No puede pretenderse controlar las enfermedades en general —y las infecciones bacterianas en particular— si las condiciones básicas de vida de los habitantes son precarias.

Es imprescindible promover y asegurar aspectos básicos de infraestructura, tales como:

- acceso a agua potable,
- sistemas adecuados de saneamiento (cloacas),
- energía,
- atención médica,
- medios de transporte,
- correcta disposición de residuos, entre otros.

De nada sirve recomendar un correcto lavado de manos si la población no dispone de agua segura para hacerlo.

Finalmente, debe propiciarse la implementación de sistemas nacionales integrados de salud eficientes, que garanticen la más amplia cobertura posible a la población de todos los países, así como la existencia de bancos de datos confiables sobre las condiciones de salud y el uso de medicamentos. Sólo con información sólida podrá priorizarse la acción en función de la situación sanitaria real de cada comunidad.

No obstante las dificultades, existen motivos para el optimismo. Por primera vez, en América Latina —y también en ámbitos como las reuniones de los foros globales de gobernanza— comienza a percibirse una toma de conciencia más clara del problema, impulsada por la acción de organismos supranacionales como la OMS, la FAO y la OPS, por las estructuras oficiales de competencia nacional, los organismos regulatorios, las sociedades científicas, instituciones de

salud, laboratorios, fabricantes y profesionales de la salud en todos los niveles.

Varios países latinoamericanos se encuentran diseñando e implementando sus propios planes de acción contra el avance de la resistencia antimicrobiana, lo que resulta alentador en las primeras décadas del siglo XXI. Dada la gravedad del problema, ninguna acción tendiente a limitar la resistencia a los antimicrobianos debería ser descartada a priori.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aga, D. S., Lenczewski, M., Snow, D., Muurinen, J., Sallach, J. B., Wallace, J. S. (2016). Challenges in the measurement of antibiotics and in evaluating their impacts in agroecosystems: a critical review. *J. Environ. Qual.* 45 407–419.
- Ahmed, M. B., Zhou J. L., Ngo H. H., Guo W. (2015). Adsorptive removal of antibiotics from water and wastewater: progress and challenges. *Sci. Total Environ.* 532 112–126. 10.1016/j.scitotenv.2015.05.130.
- Ajmal, M., Ahmad, A., Nomani, A. A. (1983). Influence of toxic metals on the repression of carbonaceous oxygen demand. *Water Res.* 17 799–802.
- Akiyama, T., Presedo, J., Khan, A.A. 2013. The tetA gene decrease tigecycline sensitivity of *Salmonella enterica* isolates. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 42, 133–140.
- Alekshun, M. N., Levy, S. B. (1999). The mar regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. *Trends Microbiol.* 7 410–413. 10.1016/S0966-842X(99)01589-9.
- Al-Tawfiq, J.A., Laxminarayan, R., Mendelson, M., 2017. How should we respond to the emergence of plasmid-mediated colistin resistance in humans and animals ?. *Int. J. Infect. Dis.* 54, 77–84.

- Amini, S., Hottes, A. K., Smith, L. E., Tavazoie, S. (2011). Fitness landscape of antibiotic tolerance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *PLoS Pathog.* 7:e1002298 10.1371/journal.ppat.1002298
- Anthony, E.T., Ojemaye, M.O., Okoh, O.O., Okoh, A.I., 2020. A critical review on the occurrence of resistomes in the environment and their removal from wastewater using apposite treatment technologies: limitations, success and future improvement. *Environ. Pollut.* 263, 113791.
- Arango-Argoty, G., Garner, E., Pruden, A., Heath, L.S., Vikesland, P., Zhang, L., 2018. DeepARG: a deep learning approach for predicting antibiotic resistance genes from metagenomic data. *Microbiome*. 2018 Feb 1;6(1):23. doi: 10.1186/s40168-018-0401-z.
- Ardestani, M. M., van Straalen, N. M., van Gestel, C. A. M. (2015). Biotic ligand modeling approach: synthesis of the effect of major cations on the toxicity of metals to soil and aquatic organisms. *Environ. Toxicol. Chem.* 34 2194–2204.
- Baguer, A. J., Jensen, J., Krogh, P. H. (2000). Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna. *Chemosphere* 40 751–757.
- Baker-Austin, C., Wright, M.S., Stepanauskas, R., McArthur, J.V. Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends Microbiol.* 2006 Apr;14(4):176-82. doi: 10.1016/j.tim.2006.02.006. Epub 2006 Mar 14. PMID: 16537105.
- Bakkeren, E., Huisman, J.S., Fattinger, S.A., Hausmann, A., Furter, M., Egli, A., Slack, E., Sellin, M.E., Bonhoeffer, S., Regoes, R.R., et al. *Salmonella* persisters promote the Spread of Antibiotic Resistance Plasmids in the Gut. *Nature* 2019, 573, 270–280.
- Baquero, F., Negri, M. C. (1997). Selective compartments for resistant microorganisms in antibiotic gradients. *Bioessays* 19 731–736. 10.1002/bies.950190814.
- Baran, W., Adamek, E., Ziemianska, J., Sobczak, A. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *J. Hazard Mater.* 2011;196:1–15.

- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D.G.J., 2018. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 68-80.
- Bengtsson-Palme, J., Larsson, D.G.J., Kristiansson, E., 2017, Using metagenomics to investigate human and environmental resistomes. *J. Antimicrob. Chemother.* 72,2690-2703.
- Bengtsson-Palme, J., Milakovic, M., Švecová H., Ganjto, M., Jons-son, V., Grabic, R. Udikovic-Kolic, N, 2019. Industrial wastewater treatment plant enriches antibiotic resistance genes and alters the structure of microbial communities. *Water Research*, Vol. 162, p. 437-445. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.073>.
- Berendsen, B. J. A., Wegh, R. S., Memelink, J., Zuidema, T., Stolker, L. A. M. (2015). The analysis of animal faeces as a tool to monitor antibiotic usage. *Talanta* 132 258–268. 10.1016/j.talanta.2014.09.022
- Bertrand, D., Shaw, J., Kalathiappan, M., Hui Qi Ng, A., Muthiah, S., Li, C., Dvornicic, M., Soldo J. Koh, J.Y., Ng, O.Te., Barkham, T., Young, B., Marimuthu B.K., Rei, C.K., Sikic, M., Nagarajan, N., 2018. Nanopore sequencing enables high-resolution analysis of resistance determinants and mobile elements in the human gut microbiome. *bioRxiv* 456905. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/456905v1>.
- Bezanson, G.S.; MacInnis, R.; Potter, G.; Hughes, T. Presence and Potential for Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance in Oxidase-Positive Bacteria Populating Raw Salad Vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 2008, 127, 37–42.
- Bing K., Yue, H., Yang, W., Chengtun, Q., Jun T., Yuman, W., Wenbing, Ta., Ying, Y., Tingqiao, Y., The relationships between heavy metals and bacterial communities in a coal gangue site. *Environmental Pollution*, Volume 322,2023,121136. ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121136>.
- Blanco, P., Hernando-Amado, S., Reales-Calderon, J., Corona, F., Lira, F., Alcalde-Rico, M., et al. (2016). Bacterial multidrug efflux

- pumps: much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms* 4:E14 10.3390/microorganisms4010014.
- Blaser, M. J., & cols. (1987). Persistence of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in poultry-associated environments and its elimination by competitive exclusion. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(7), 1594-1599.
- Börjesson, S., Ny, S., Egervärn, M., Bergström, J., Rosengren, Å., Englund, S., Löfmark, S. and Byfors, S., Limited Dissemination of Extended-Spectrum β -Lactamase- and Plasmid-Encoded AmpC-Producing *Escherichia coli* from Food and Farm Animals, Sweden. *Emerg Infect Dis*. 2016 Apr; 22(4): 634–640.
- Borowiak, M., Fischer, J., Hammerl, J.A., Hendriksen, R.S., Szabo, I., Malorny, B. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J. Antimicrob. Chemother.*, 72 (2017), pp. 3317-3324.
- Boyce, R.; Lenhart, A.; Kroeger, A.; Velayudhan, R.; Roberts, B.; Horstick, O. *Bacillus Thuringiensis Israelensis* (Bti) for the Control of Dengue Vectors: Systematic Literature Review. *Trop. Med. Int. Health* 2013, 18, 564–577.
- Braam, F., Klapwijk, A. Effect of copper on nitrification in activated sludge, *Water Research*, Volume 15, Issue 9, 1981, Pages 1093-1098.
- Bragoszewska, E., Biedron, I., 2018. Indoor air quality and potential health risk impacts of exposure to antibiotic resistant bacteria in an office rooms in Southern Poland. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health* 15, 2604.
- Brochmann, P.R., Hesketh, A., Brodersen, J.B., Guardabassi, G.H., 2018. Transcriptome analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to cefotaxime. *Sci. Rep.* 8, 1.11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34191-3>.

- Brown, E.D., Wright, G.D.. (January 2016). "Antibacterial drug discovery in the resistance era". *Nature*. 529 (7586): 336–43. doi:10.1038/nature17042. PMID 26791724. S2CID 4401156.
- Brown-Jaque, M., Calero-Cáceres, W., Muniesa, M. Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements. *Plasmid*. 2015 May;79:1-7. doi: 10.1016/j.plasmid.2015.01.001. Epub 2015 Jan 15. PMID: 25597519.
- Bruneel, O., Mghazli, N., Sbabou, L., Héry, M. Casiot, C. et al.. Role of microorganisms in rehabilitation of mining sites, focus on Sub Saharan African countries. *Journal of Geochemical Exploration*, 2019, 205, pp.106327. ff10.1016/j.gexplo.2019.06.009ff. fhal-02615510f.
- Buffet-Bataillon, S., Tattevin, P., Bonnaure-Mallet, M., Jolivet-Gougeon, A. (2012). Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds—a critical review. *Int. J. Antimicrob. Agents* 39 381–389.
- Burch, T.R., Sadowsky, M.J. & LaPara, T.M. Modeling the fate of antibiotic resistance genes and class 1 integrons during thermophilic anaerobic digestion of municipal wastewater solids. *Appl Microbiol Biotechnol* 100, 1437–1444 (2016).
- Cabello, F.C.; Godfrey, H.P.; Buschmann, A.H.; Dölz, H.J. Aquaculture as yet Another Environmental Gateway to the Development and Globalisation of Antimicrobial Resistance. *Lancet Infect. Dis*. 2016, 16, e127–e133.
- Calderón-Preciado, D., Matamoros, V., Savé, R., Muñoz, P., Biel, C., Bayona, J. M. (2013). Uptake of microcontaminants by crops irrigated with reclaimed water and groundwater under real field greenhouse conditions. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 20 3629–3638. 10.1007/s11356-013-1509-0.
- Call, D. R., Matthews, L., Subbiah, M., Liu, J. (2013). Do antibiotic residues in soils play a role in amplification and transmission of antibiotic resistant bacteria in cattle populations? *Front. Microbiol.* 4:193 10.3389/fmicb.2013.00193.

- Canton, R., Antibiotic resistance genes from the environment: a perspective through newly identified antibiotic resistance mechanisms in the clinical setting. *Clin Microbiol Infect*, 15:20-25 (2009).
- Carattoli, A., Villa, L., Feudi, C., Curcio, L., Orsini, S., Luppi, A., Pezzotti, G., Magistrali, C.F. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016, *Euro Surveill.*, 22 (2017), p. 30589,
- Cardoso, M.H., de Almeida, K.C., Candido, E.S., Fernandes, G, Dias, S.C., de Alencar, S.A., Franco, O.L., 2018. Comparative transcriptome analyses of magainin I-susceptible and -resistant *Escherichia coli* strains. *Microbiol.* 164, 1383.
- Carvalho, A.; Silva, J.; Teixeira, P. Lettuce and Fruits as a Source of Multidrug Resistant *Acinetobacter* spp. *Food Microbiol.* 2017, 64, 119–125.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Zucato, E. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science & Technology* 2006;40:357-63.
- Castiglioni, S., Davoli, E., Riva, F., Palmiotto, M., Camporini, P., Marenti, A., et al. Mass balance of emerging contaminants in the water cycle of a highly urbanized and industrialized area of Italy. *Water Research*, 2018;131:287-98.
- Catara, V. *Pseudomonas Corrugata*: Plant Pathogen and/or Biological Resource? *Mol. Plant. Pathol.* 2007, 8, 233–244.
- CDC, Foodborne Antibiotics: Antibiotic Resistance (AR) Solutions Initiative; CDC: Atlanta, GA, USA, 2020.
- CDC, Antibiotic/Antimicrobial Resistance (AR/AMR). Available online: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html> (accessed on 11 November 2020).
- Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance from the Farm to the Table. Available online: <https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/ar-infographic-508c.pdf> (accessed on 24 August 2017).

- Centers for Disease Control and Prevention. Foodborne Antibiotics: Antibiotic Resistance (AR) Solutions Initiative; CDC: Atlanta, GA, USA, 2020.
- CEVA, La metafilaxia: qué es y cuándo está justificada. <https://ruminants.ceva.pro/es/antibioticos-animales-metafilaxia> (visitado 30 marzo 2023).
- Chait, R., Palmer, A. C., Yelin, I., Kishony, R. (2016). Pervasive selection for and against antibiotic resistance in inhomogeneous multitstress environments. *Nat. Commun.* 7:10333 10.1038/ncomms10333.
- Chang, Y., Hou, F., Pan, Z., et al. (17 December 2019). "Optimization of culturomics strategy in human fecal samples". *Frontiers in Microbiology*. 10: 2891. doi:10.3389/fmicb.2019.02891. PMC 6927924.
- Che, Y., Xia, Y, Liu, L., Li, A.D. Yang, Y. Zhang, T. 2019. Mobile antibiotic resistome in wastewater treatment plants revealed by Nanopore metagenomic sequencing. *Microbiome* 7, 1-13.
- Chen Q, An X, Li H, Su J, Ma Y, Zhu YG. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil. *Environ Int.* 2016 Jul-Aug;92-93:1-10. doi: 10.1016/j.envint.2016.03.026. Epub 2016 Apr 2. PMID: 27043971.
- Chen, Q.L., An, X.L., Zhu, Y.G., Su, J., Gillings, M.R., Ye, Z.L., Cui, L., 2017. Application of struvite alters the antibiotic resistome in soil, rhizosphere, and phyllosphere. *Environ. Sci. Technol.* 51, 8149-8157. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01420>.
- Chernov, V.M., Chernova, O.A., Mouzykantov, A.A., Lopukhov, L.L., Aminov, R.I. Omics of antimicrobials and antimicrobial resistance. *Expert Opin Drug Discov.* (2019) 14:455–68. 10.1080/17460441.2019.1588880.
- Chick-fil-A Inc. (2014). Inside Chick-fil-A - Chick-fil-A to Serve Antibiotic-Free Chicken. Available at: <http://inside.chick-fil-a.com/antibiotic-free-chicken>.

- Chipasa, K. B. (2003). Accumulation and fate of selected heavy metals in a biological wastewater treatment system. *Waste Manag.* 23 135–143.
- Chowdhury, S.; Mazumder, M.A.J.; Al-Attas, O.; Husain, T. Heavy Metals in Drinking Water: Occurrences, Implications, and Future Needs in Developing Countries. *Sci. Total Environ.* 2016, 569–570, 476–488.
- Clardy, J.; Fischbach, M.A.; Currie, C.R. The Natural History of Antibiotics. *Curr. Biol.*, 19, R437–R4 Craig W, 200141, 2009.
- Clarke, B.O., Smith, S.R. (2011). Review of “emerging” organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. *Environ. Int.* 37 226–247.
- Codex standards and antimicrobial resistance, 2020, FAO, Rome.
- Comber, S., Gardner, M., Jones, V., Ellor, B. (2015). Source apportionment of trace contaminants in urban sewer catchments. *Environ. Technol.* 36 573–587.
- Comité científico de los riesgos sanitarios emergentes y recientemente identificados de la Comisión Europea (CCRSERI, 2009).
- Costa, J.I., 2019. Explorando el resistoma natural de suelos de la Península Antártica con distintos grados de intervención humana. Diciembre 2019, Santiago de Chile, Facultad de Ciencias.
- Cox, G., Wright, G.D. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int J Med Microbiol.* 2013 Aug;303(6-7):287-92. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009. Epub 2013 Mar 13. PMID: 23499305.
- Craig, W. (2001). Does the Dose Matter? *Clin. Infect. Dis.* 33(Suppl. 3):S233-237.
- Crits-Christoph, A.; Diamond, S.; Butterfield, C.N.; Thomas, B.C.; Banfield, J.F. Novel Soil Bacteria Possess Diverse Genes for Secondary Metabolite Biosynthesis. *Nature* 2018, 558, 440–444.
- Crombé, F., Angeles Argudín, M., Vanderhaeghen, W., Hermans, K., Haesebrouck, F., Patrick Butaye, P. Transmission Dynamics of

- Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Pigs. *Front Microbiol.* 2013; 4: 57.
- Cueto, M.; Jensen, P.R.; Kauffman, C.; Fenical, W.; Lobkovsky, E.; Clardy, J. Pestalone, a New Antibiotic Produced by a Marine Fungus in Response to Bacterial Challenge. *J. Nat. Prod.* 2001, 64, 1444–1446.
- Curiao, T., Marchi, E., Grandgirard, D., León-Sampedro, R., Viti, C., Leib, S. L., et al. (2016). Multiple adaptive routes of *Salmonella enterica* Typhimurium to biocide and antibiotic exposure. *BMC Genomics* 17:491 10.1186/s12864-016-2778-z.
- D'Costa, V.M.; King, C.E.; Kalan, L.; Morar, M.; Sung, W.W.L.; Schwarz, C.; Froese, D.; Zazula, G.; Calmels, F.; Debruyne, R.; et al. Antibiotic Resistance Is Ancient. *Nature*, 2011, 477, 457–461.
- D'Costa, V.M., V.M.; McGrann, K.M.; Hughes, D.W.; Wright, G.D. Sampling the Antibiotic Resistome. *Science* 2006, 311, 374–377.
- Dafforn, K.A.; Lewis, J.A.; Johnston, E.L. Antifouling Strategies: History and Regulation, Ecological Impacts and Mitigation. *Mar. Pollut. Bull.* 2011, 62, 453–465.
- Dantas, G.; Sommer, M.O.A.; Oluwasegun, R.D.; Church, G.M. Bacteria Subsisting on Antibiotics. *Science* 2008, 320, 100–103.
- Davis, G.S.; Price, L.B. Recent Research Examining Links among *Klebsiella pneumoniae* from Food, Food Animals, and Human Extraintestinal Infections. *Curr. Environ. Health Rep.* 2016, 3, 128–135.
- Davison, J. (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid* 42 73–91. 10.1006/plas.1999.1421.
- Errore. Il collegamento non è valido..
- Di Cesare, A., Eckert, E.M., D'Urso, S., Bertoni, R., Gillan, D.C., Wattiez, R., et al. (2016). Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal wastewater treatment plants. *Water Res.* 94 208–214.
- Diakite, A., Dubourg, G., Dione, N., et al. (December 2020). "Optimization and standardization of the culturomics technique for

- human microbiome exploration". *Scientific Reports*. 10 (1): 9674. doi:10.1038/s41598-020-66738-8. PMC 7295790.
- Dias, M.F., da Rocha Fernandes, G., Cristina de Paiva, M., Christina de Matos Salim, A., Santos, A.B., Amaral Nascimento, A.M. (May 2020). "Exploring the resistome, virulome and microbiome of drinking water in environmental and clinical settings". *Water Research*. 174: 115630.
- Dimopoulou, A.; Theologidis, I.; Liebmann, B.; Kalantidis, K.; Vassilakos, N.; Skandalis, N. *Bacillus Amyloliquefaciens* MBI600 Differentially Induces Tomato Defense Signaling Pathways Depending on Plant Part and Dose of Application. *Sci. Rep.* 2019, 9, 1–2.
- Dodgen, L.K., Zheng, W. (2016). Effects of reclaimed water matrix on fate of pharmaceuticals and personal care products in soil. *Chemosphere* 156 286–293. 10.1016/j.chemosphere.2016.04.109.
- Dong, P., Wang, H., Fang, T., Wang, Y., Ye, Q., 2019. Assessment of extracellular antibiotic resistance genes (eARGs) in typical environmental samples and the transforming ability of eARG. *Environ. Int.* 125, 90–96.
- Dorado-García, A, Smid, J.H., van Pelt, W., Bonten, M,J,M,, Fluit. A.C., van den Bunt, G., et al. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018;73(2):339-47.
- Dos Santos, D.F., Istvan, P., Quirino, B,F, Kruger, R.H. Functional Metagenomics as a Tool for Identification of New Antibiotic Resistance Genes from Natural Environments. *Microb Ecol.* 2017 Feb;73(2):479-491. doi: 10.1007/s00248-016-0866-x.
- Duan, M., Li, H., Gu, J., Tuo, X., Sun, W., Qian, X., Wang, X. Effects of biochar on reducing the abundance of oxytetracycline, antibiotic resistance genes, and human pathogenic bacteria in soil and lettuce. *Environmental Pollution*. Vol. 224, May 2017, Pages 787-795
- Duan, M., Zhang, Y., Zhou, B., Wang, Q., Gu, J., Liu, G., Qin, Z., Li, Z., 2019. Changes in antibiotic resistance genes and mobile gene-

- tic elements during cattle manure composting after inoculation with *Bacillus subtilis*. *Bioresource Technol.* 292, 122011.
- Duan, Y., Chen, Z., Tan, L., Wang, X., Xue, Y., Wang, S., Wang, Q., Das, R., Lin, H., Hou, J., Li, L., Mao, D., Luo, Y., 2020. Gut resistoma, microbiota and antibiotic residues in Chinese patients undergoing antibiotic administration and healthy individuals. *Sci. Total Environ* 705. 135674.
- Duffus, J.H. "Heavy metals"—a meaningless term? *Pure Appl Chem.* 2002;74(5):793-807.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance of antimicrobial consumption in Europe 2018. Stockholm:ECDC; 2019
- Enault, F., Briet, A., Bouteille, L., Roux, S., Sullivan, M. B., Petit, M.-A. (2016). Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. *ISME J.* 10.1038/ismej.2016.90
- Erickson, K.E., Winkler, J.D., Nguyen, D.T., Gill, R.T., Chatterjee, A. 2017. The tolerome: a database of transcriptom-level contributions to diverse *Escherichia coli* resistance and tolerance phenotypes. *ACS Synth. Biol.* 6, 2302-2315.
- Errecalde, J. (2004) *Uso de antimicrobianos en animales de consumo*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ISBN: 92-5-305150-7.
- European Medicines Agency (2015). *Sales of Veterinary Antimicrobial Agents*.
- Fahrenfeld, N., Ma, Y., O'Brien, M., Pruden, A. (2013). Reclaimed water as a reservoir of antibiotic resistance genes: distribution system and irrigation implications. *Front. Microbiol.* 4:130 10.3389/fmicb.2013.00130.
- Faleye, A.C.; Adegoke, A.A.; Ramluckan, K.; Fick, J.; Bux, F.; Stenström, T.A. Concentration and Reduction of Antibiotic Residues in Selected Wastewater Treatment Plants and Receiving Water-

- bodies in Durban, South Africa. *Sci. Total Environ.* 2019, 678, 10–20.
- FAO, Codex Alimentarius, Directrices para el análisis de riesgos de resistencia a los antimicrobianos transmitidos por los alimentos. Referencia CXG77-2011. Última modificación, 2021..
- FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura, 2018.
- FDA, Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals; Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA, 2018.
- FDA. Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals; Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA, 2016.
- Felis, E.; Kalka, J.; Sochacki, A.; Kowalska, K.; Bajkacz, S.; Harnisz, M.; Korzeniewska, E. Antimicrobial Pharmaceuticals in the Aquatic Environment—Occurrence and Environmental Implications. *Eur. J. Pharmacol.* 2020, 866, 172813.
- Feng, J., Li, B., Jiang, X., Yang, Y., Wells, G.F., Zhang, T. Li, X. 2017. Antibiotic resistance in a large-scale healthy human gut microbiota deciphered by metagenomic and network analyses. *Environ. Microbiol.* 20, 355-368.
- Fenical, W.; Jensen, P.R. Developing a New Resource for Drug Discovery: Marine Actinomycete Bacteria. *Nat. Chem. Biol.* 2006, 2, 666–673.
- Fernandes, P. (2003). Solvent tolerance in bacteria: role of efflux pumps and cross-resistance with antibiotics. *Int. J. Antimicrob. Agents* 22 211–216. 10.1016/S0924-8579(03)00209-7.
- Fick, J., Lindberg, R.H., Tysklind, M., Larsson, J. Predicted critical environmental concentrations for 500 pharmaceuticals, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*,
- Fillinger, U.; Lindsay, S.W. Suppression of Exposure to Malaria Vectors by an Order of Magnitude Using Microbial Larvicides in Rural Kenya. *Trop. Med. Int. Health* 2006, 11, 1629–1642.

- Finley, S., Barrington, S., Lyew, D. (2009). Reuse of domestic greywater for the irrigation of food crops. *Water Air Soil Pollut.* 199 235–245. 10.1007/s11270-008-9874-x.
- Fodor, A.; Abate, B.A.; Deák, P.; Fodor, L.; Klein, M.G.; Makrai, L.; Muvevi, J.; Vozik, D. An Overview of Multi-Antibiotic Resistance in Pathogenic Bacteria - From Selected Genetic and Evolutionary Aspects - A Review. *Preprints* 2018, 2018080036. <https://doi.org/10.20944/preprints201808.0036.v1>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018 The State of World Fisheries and Aquaculture: Meeting the Sustainable Development Goals; FAO: Rome, Italy, 2018; ISBN 9789251305621.
- Forsberg, K.J.; Reyes, A.; Wang, B.; Selleck, E.M.; Sommer, M.O.A.; Dantas, G. The Shared Antibiotic Resistome of Soil Bacteria and Human Pathogens. *Science* 2012, 337, 1107–1111.
- Foti, M.; Giacopello, C.; Bottari, T.; Fisichella, V.; Rinaldo, D.; Mamma, C. Antibiotic Resistance of Gram Negatives Isolates from Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in the Central Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 2009, 58, 1363–1366.
- Fraile, L., Sanidad animal y los antibióticos. Seguridad, profilaxis, bioseguridad y comercio internacional. 3Tres3.com. 2 agosto 2016.
- Franklin, A.M.; Williams, C.F.; Watson, J.E. Assessment of Soil to Mitigate Antibiotics in the Environment Due to Release of Wastewater Treatment Plant Effluent. *J. Environ. Qual.* 2018, 47, 1347–1355.
- Chipasa, K.B., Friedman, M. (2015). Antibiotic-resistant bacteria: prevalence in food and inactivation by food-compatible compounds and plant extracts. *J. Agric. Food Chem.* 63 3805–3822. 10.1021/acs.jafc.5b00778.
- Gadd, G.M. (2010) Metals, Minerals and Microbes: Geomicrobiology and Bioremediation. *Microbiology*, 156, 609-643. <https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0>

- Gao, P., He, S., Huang, S., Li, K., Liu, Z., Xue, G., Sun, W., 2015. Impacts of coexisting antibiotics, antibacterial residues, and heavy metals on the occurrence of erythromycin resistance genes in urban wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, 397-3980.
- Gardner, M., Jones, V., Comber, S., Scrimshaw, M. D., Coello-Garcia, T., Cartmell, E., et al. (2013). Performance of UK wastewater treatment works with respect to trace contaminants. *Sci. Total Environ.* 45 359–369.
- Gaze, W. H., Abdouslam, N., Hawkey, P. M., Wellington, E. M. H. (2005). Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49 1802–1807.
- Gelband, H., Miller-Petrie, M., Pant, S., Mandra, S., Levinson, J., Carter, D., et al. (2015). *The State of the World's Antibiotics*. Washington, DC: Centre for Disease Dynamics, Economics & Policy.
- Giardina, S., Castiglioni, S., Como, R., Fanelli, R., Maggi, C., Migliore, L., Sabbattuci M., Sesta, G., Zaghi, G., Zucatto, E. *Approccio Ambientale all'antimicrobico-resistenza*. Istituto Superiore di Sanita. Rapporti Istisan 21/3. 2021.
- Gifford, D. R., Moss, E., MacLean, R. C. (2016). Environmental variation alters the fitness effects of rifampicin resistance mutations in *Pseudomonas aeruginosa*. *Evolution* 70 725–730. 10.1111/evo.12880.
- Giller, K.E., Witter, E., Mcgrath, S.P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 30, Issues 10–11, 1998, Pages 1389-1414, ISSN 0038-0717,
- Gnanadhas, D.P.; Marathe, S.A.; Chakravorty, D. Biocides–Resistance, Cross-Resistance Mechanisms and Assessment. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2013, 22, 191–206.
- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., Elseviers, M., Esac Project Group. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and

- association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* 365 579–587. 10.1016/S0140-6736(05)17907-0.
- Grabert, R., Boopathy, R., Nathaniel, R., LaFleur, G., 2018. Effect of tetracycline on ammonia and carbon removal by the facultative bacteria in anaerobic digester of a sewage treatment plant. *Biore-sour. Technol.* 267, 265–270.
- Greub, G. (December 2012). "Culturomics: a new approach to study the human microbiome". *Clinical Microbiology and Infection*. 18 (12): 1157–1159. doi:10.1111/1469-0691.12032.
- Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., Barceló, D. (2013). Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-perfor-mance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1292 173–188.
- Gullberg, E., Cao, S., Berg, O. G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., et al. (2011). Selection of resistant bacteria at very low anti-biotic concentrations. *PLoS Pathog.* 7:e1002158 10.1371/journal.ppat.1002158.
- Gupta, S., Arango-Argoty, G. Zhang, L., Pruden, A. Vikesland, P., 2019. Identification of discriminatory antibiotic resistance genes among environmental resistomes using extremely randomized tree algorithm. *Microbiome* 7, 1–15.
- Gurnee, E.A.; Ndao, I.M.; Johnson, J.R.; Johnston, B.D.; Gonzalez, M.D.; Burnham, C.-A.D.; Hall-Moore, C.M.; McGhee, J.E.; Mel-lmann, A.; Warner, B.B.; et al. Gut Colonization of Healthy Chil-dren and Their Mothers With Pathogenic Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 2015, 212, 1862–1868.
- Halling-Sørensen, B., Nielsen, S.N., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Hol-ten Lützhøft, H.C., Jørgensen, S.E., Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment. *Chemosphere* 1998;36:2:357–93.
- Hamilton, A. J., Boland A.,-M., Stevens, D., Kelly, J., Radcliffe, J., Ziehl, A., et al. (2005). Position of the Australian horticultural

- industry with respect to the use of reclaimed water. *Agric. Water Manage.* 71 181–209. 10.1016/j.agwat. 2004.11.001.
- Hammer, T. J., Fierer, N., Hardwick, B., Simojoki, A., Slade, E., Taponen, J., Viljanen, H., Tomas, R.,. Treating cattle with antibiotics affects greenhouse gas emissions, and microbiota in dung and dung beetles. *Proc. R. Soc. B.*283, 2016.
- Han, X.M., Hu, H.W., Shi, X.Z., Wang, J.T., Han L.L., Chen, D., He, J.Z. 2016. Impacts of reclaimed water irrigation on soil antibiotic resistome in urban parks of Victoria, Australia. *Environ. Pollut.* 211, 48–57.
- Hardy, K.; Sunnucks, K.; Gil, H.; Shabir, S.; Trampari, E.; Hawkey, P.;Webber, M. Increased Usage of Antiseptics Is Associated with Reduced Susceptibility in Clinical Isolates of *Staphylococcus Aureus*. *MBio* 2018, 9.
- Hatosy, S.M.; Martiny, A.C. The Ocean as a Global Reservoir of Antibiotic Resistance Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015, 81, 7593–7599.
- Head, S.R., Komori, H.K., LaMere, S.A., Whisenant, T., Van Nieuwerburgh, F., Salomon, D.R, Ordoukhanian, P. *Biotechniques* VOL. 56, NO. 2, Practical Guide. Published Online:3 Apr 2018, <https://doi.org/10.2144/000114133>.
- Heath, R.J.; Li, J.; Roland, G.E.; Rock, C.O. Inhibition of the *Staphylococcus Aureus* NADPH-Dependent Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase by Triclosan and Hexachlorophene. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 4654–4659.
- Heberer, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceuticals residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 2002;131,1–2:5–17.
- Heir, E.; Sundheim, G.; Holck, A.L. The *Staphylococcus qacH* Gene Product: A New Member of the SMR Family Encoding Multidrug Resistance. *FEMS Microbiol. Lett.* 1998, 163, 49–56.
- Herencias Rodríguez, C., Ramiro Martínez, P., Álvaro Llorente, L. y Rodríguez Beltrán, J. Evolución de resistencia a antibióticos por

- transferencia horizontal de genes. ¿Cómo funciona y qué podemos hacer para combatirla? Evolución de la resistencia a antibióticos y su impacto). Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, Nu. 213, 2022.
- Herencias, C., Rodriguez-Beltran, J., Leon-San Pedro, R., Alfonso del Valle, Aida, Palkovičová, Cantón, R., San Millan, A. Collateral sensitivity associated with antibiotic resistance plasmids. *eLife* 10:e65130, 2021.
- Hernández, J.; Stedt, J.; Bonnedahl, J.; Molin, Y.; Drobni, M.; Calisto-Ulloa, N.; Gomez-Fuentes, C.; Astorga-España, M.S.; González-Acuña, D.; Waldenström, J.; et al. Human-Associated Extended-Spectrum β -Lactamase in the Antarctic. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012, 78, 2056–2058.
- Hiberdrola. La huella hídrica, clave para preservar un recurso natural vital. <https://www.iberdrola.com/sostenibilidad/que-es-huella-hidrica#:~:text=De%20modo%20similar%20a%20la,bien%20de%20consumo%20o%20servicio>. Visitada el 8 de abril 2023.
- Hoa, P.T.P., Managaki, S., Nakada, N., Takada, H., Shimizu, A., Anh, D.H., Viet, P.H., Suzuki, S., 2011. Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern Vietnam. *Sci. Total Environ.* 409, 2894-2901.
- Hoerr, V., Duggan, G.E., Zbytnuik, L., Poon, K.K.H., Grobe, C., Neugebauer, U., Methling, K., Löffler, B., Vogel, H., 2016 Characterization and prediction of the mechanism of action of antibiotics through NMR metabolomics. *BMC Microbiol.* 16, 1-14.
- Hollenbeck, B.L., Rice, L.B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence.*, 2012 Aug 15;3(5):421-33. doi: 10.4161/viru.21282. Epub 2012 Aug 15. PMID: 23076243; PMCID: PMC3485979.
- Hölzel, C.S., Tetens, J.L., Schwaiger, K. Unraveling the Role of Vegetables in Spreading Antimicrobial-Resistant Bacteria: A Need for Quantitative Risk Assessment. *Foodborne Pathog. Dis.* 2018, 15, 671–688.

- Hörsing, M., Ledin, A., Grabic, R., Fick, J., Tysklind, M., Jansen, J., Andersen, H. R. Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge, *Water Research*, Volume 45, Issue 15, 2011, Pages 4470-4482.
- Hu, Y., Gao, G.F., Zhu, B., 2017. The antibiotic resistome: gene flow in environments, animals and human being. *Front. Med.* 11, 161-168.
- Hughes D., Andersson D. I. (2012). Selection of resistance at lethal and non-lethal antibiotic concentrations. *Curr. Opin. Microbiol.* 15 555–560. 10.1016/j.mib.2012.07.005.
- Hughes, P., Heritage, J. Antibiotic Growth-Promoters in Food Animals, FAO. https://www.aidiveter.com/ftp_public/articulo1138.pdf, 2004. in 26EU/EEACountries in 2013 (EMA/387934/2015).
- Jang, H.M., Lee, J., Kim, Y.B., Jeon, J.H., Shin, J., Park, M.R., Kim, Y.M. 2018. Fate of antibiotic resistance genes and metal resistance genes during thermophilic aerobic digestion of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* 249, 635-643.
- 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. Antibiotic Resistance in Bacterial Isolates from Freshwater Samples in Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Sci. Rep.* 2020, 10, 3145.
- Jechalke, S., Heuer, H., Siemens, J., Amelung, W., Smalla, K. (2014). Fate and effects of veterinary antibiotics in soil. *Trends Microbiol.* 22 536–545.
- Ji, X., Shen, Q., Liu, F. Ma, J., Xu, G., Wang, Y., Wu, M., 2012. Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China. *J. Hazard Mater.* 235-236.
- Jia, J., Yongjing, G., Mengqian, C., Hong, C., Jiafa, H., Song, W., Zai-zhao, W. Occurrence and distribution of antibiotics and antibiotic resistance genes in Ba River, China. *Environment*, Vol. 642,

- 15 November 2018, Pages 1136-1144. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.149.
- Johnson, C.M., Grossman, A.D. Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What They Do and How They Work. *Annu Rev Genet.* 2015;49:577-601. doi: 10.1146/annurev-genet-112414-055018. Epub 2015 Oct 14. PMID: 26473380; PMCID: PMC5180612.
- Johnson, J.R.; Kuskowski, M.A.; Smith, K.; O'Bryan, T.T.; Tatini, S. Antimicrobial-Resistant and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia Coli* in Retail Foods. *J. Infect. Dis.* 2005, 191, 1040–1049.
- Johnson, T. A., Stedtfeld, R. D., Wang, Q., Cole, J. R., Hashsham, S. A., Looft, T., et al. (2016). Clusters of antibiotic resistance genes enriched together stay together in swine agriculture. *MBio* 7:e02214-15 10.1128/mBio.02214-15.
- Johnston, D., Potter, H., Jone, C., Rolley, S., Watson, Ian, Pritchard, J., Abandoned mines and the water environment. Environment Agency, Science project SC030136-41. August, 2008.
- Ju, F., Li, B., Ma, L., Wang, Y., Huang, D., Zhang, T., 2016. Antibiotic resistance genes an human bacterial pathogens: Co-occurrence, removal, and enrichment in municipal sewage sludge digesters. *Water Res.*, 91, 1-10.
- Juksu, K.; Zhao, J.-L.; Liu, Y.-S.; Yao, L.; Sarin, C.; Sreesai, S.; Klomjek, P.; Jiang, Y.-X.; Ying, G.-G. Occurrence, Fate and Risk Assessment of Biocides in Wastewater Treatment Plants and Aquatic Environments in Thailand. *Sci. Total Environ.* 2019, 690.
- Jutkina, J.; Marathe, N.P.; Flach, C.-F.; Larsson, D.G.J. Antibiotics and Common Antibacterial Biocides Stimulate Horizontal transfer of resistance at low concentrations. *Sci Total Environ.* 2018 Mar;616-617:172-178. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.312.
- Kahrilas, G. A., Blotvogel, J., Stewart, P. S., Borch, T. (2015). Biocides in hydraulic fracturing fluids: a critical review of their usage, mobility, degradation, and toxicity. *Environ. Sci. Technol.* 49 16–32. 10.1021/es503724k.

- Kampf, G. Biocidal Agents Used for Disinfection Can Enhance Antibiotic Resistance in Gram-Negative Species. *Antibiotics* 2018, 7, 110.
- Karkman, A., Do, T.T., Walsh, F., Virta, M.P.J., 2018. Antibiotic-resistance genes in waste water. *Trends Microbiol.* 26, 220-2228.
- Karvelas, M., Katsoyiannis, A., Samara, C. (2003). Occurrence and fate of heavy metals in the wastewater treatment process. *Chemosphere* 53 1201–1210.
- Kaur, S. Molecular Approaches towards Development of Novel *Bacillus thuringiensis* Biopesticides. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2000, 16, 781–793.
- Kim, D.W., Chan, C.J. Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Exp Mol Med* 53, 301–309 (2021).
- Kim, S.Y., Kuppusamy, S., Kim, J.H., Yoon, Y.E., Kim, K.R., Lee, Y.B., 2016. Occurrence diversity of tetracycline resistance genes in the agricultural soils of South Korea. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 22190-22196.
- Kinney, C. A., Furlong, E. T., Kolpin, D. W., Burkhardt, M. R., Zaugg, S. D., Werner, S. L., et al. (2008). Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. *Environ. Sci. Technol.* 42 1863–1870. 10.1021/es702304c.
- Kinney, C. A., Furlong, E. T., Werner, S. L., Cahill, J. D. (2006). Presence and distribution of wastewater-derived pharmaceuticals in soil irrigated with reclaimed water. *Environ. Toxicol. Chem.* 25 317–326. 10.1897/05-187R.1.
- Klein, E.Y., Van Boeckel, T.P., Martinez, E.M., Pant, S, Gandra, S, Levin, S.A., Goossens, H., Laxminarayan, R., Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 Apr 10;115(15):E3463-E3470. doi: 10.1073/pnas.1717295115.

- Klous, G., Huss, A., Heederik, D., Coutinho, R.A., Human–livestock contacts and their relationship to transmission of zoonotic pathogens, a systematic review of literature, *One Health*, Volume 2, 2016, Pages 65-76, ISSN 2352-7714,
- Klümper, U., Recker, M., Zhang, L., Yin, X., Zhang, T., Buckling, A., Gaze, W.H., 2019. Selection of antimicrobial resistance is reduced when embedded in a natural microbial community. *ISME J.* 13, 2927. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0483>.
- Köck, R., Daniels-Haardt, I., Becker, K., Mellmann, A., Friedrich, A.W., Mevius, D., Schwarz, S., Jurke, A., 2018. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food producing, and companion animals: a systematic review. *Clin. Microbiol. Infect.* 24, 1241-1250.
- Kolpin, D.W.; Furlong, E.T.; Meyer, M.T.; Thurman, E.M.; Zaugg, S.D.; Barber, L.B.; Buxton, H.T. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 2002, 36, 1202–1211.
- Kou, B., Yue He, Yang Wang, Chengtun Qu, Jun Tang, Yuman Wu, Wenbing Tan, Ying Yuan, Tingqiao Yu, .The relationships between heavy metals and bacterial communities in a coal gangue site, *Environmental Pollution*, Volume 322, 2023, 121136, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121136>.
- Kumar, K.S.; Priya, S.M.; Peck, A.M.; Sajwan, K.S. Mass Loadings of Triclosan and Triclocarbon from Four Wastewater Treatment Plants to Three Rivers and Landfill in Savannah, Georgia, USA. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2010, 58, 275–285.
- Kumar, M., Ji, B, Zengler, K., Nielsen, J. 2019. Modelling approaches for studying the microbiome. *Nat. Microbiol.* 4 1253.1267.
- Kumar, S., J. Kolassa, R. Reichle, W. Crow, G. de Lannoy, P. de Rosnay, N. MacBean, M. Giroto, A. Fox, T. Quaife, C. Draper, B. Forman, G. Balsamoa, S. Steele-Dunne, C. Albergel, B. Bonan, J.C. Calvet, J. Dong, H. Liddy, and B. Ruston, 2022: An agenda for land data

- assimilation priorities: Realizing the promise of terrestrial water, energy, and vegetation observations from space. *J. Adv. Model. Earth Syst.*, 14, no. 11, e2022MS003259.
- Kwon, H.C.; Kauffman, C.A.; Jensen, P.R.; Fenical, W. Marinomycins A-D, Antitumor-Antibiotics of a New Structure Class from a Marine Actinomycete of the Recently Discovered Genus "Marinisporea". *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 1622–1632.
- Kyselková, M., Jirout, J., Vrchotová, N., Schmitt, H., Elhottová, D. (2015). Spread of tetracycline resistance genes at a conventional dairy farm. *Front. Microbiol.* 6:536 10.3389/fmicb.2015.00536
- Lagier, J, Armougom, F, Million, M., et al. (December 2012). "Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study". *Clinical Microbiology and Infection.* 18 (12): 1185–1193. doi:10.1111/1469-0691.12023.
- Lagier, J., Khelaifia, S., Alou, M., et al. (December 2016). "Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics". *Nature Microbiology.* 1 (12): 16203. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.203.
- Lam, K. N., Cheng, J., Engel, K., Neufeld, J. D., Charles, T. C., *Frontiers in Microbiology*, Vol. 6, 2015. Current and future resources for functional metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 6, 1196, 2015.
- Larsson, D. G. J. (2014). Pollution from drug manufacturing: review and perspectives. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 369:20130571 10.1098
- Lee, S.W., Wendy, W., 2017. Antibiotic and heavy metal resistance of *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* isolated from red hybrid tilapia (*Oreochromis spp.*) coinfectd with motile aeromonas septicemia and edwardsiellosis. *Vet. World* 10, 803-807.
- Lerminiaux, N.A., Cameron, A.D.S., 2019. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can. J. Microbiol.* 65, 344.

- Levy, S. B. (2002). Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance. *J. Appl. Microbiol.* 92(Suppl.) 65S–71S. 10.1046/j.1365-2672.92.5s1.4.x.
- Lewis, G.; Wang, B.; Shafiei Jahani, P.; Hurrell, B.P.; Banie, H.; Aleman Muench, G.R.; Maazi, H.; Helou, D.G.; Howard, E.; Galle-Treger, L.; et al. Dietary Fiber-Induced Microbial Short Chain Fatty Acids Suppress ILC2-Dependent Airway Inflammation. *Front. Immunol.* 2019, 10, 2051.
- Li B., Zhang T. (2010). Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. *Environ. Sci. Technol.* 44 3468–3473.
- Li, C., Lu., J., Liu, J., Zhang, G., Tong, Y., Ma, N., 2016. Exploring the correlations between antibiotics and antibiotics resistance genes in the wastewater treatment plants of hospitals in Xinjiang, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 15111-15121.
- Li, L.G.; Xia, Y.; Zhang, T. Co-Occurrence of Antibiotic and Metal Resistance Genes Revealed in Complete Genome Collection. *ISME J.* 2017, 11, 651–662.
- Li, Z.; Ma, Z.; van der Kuip, T.J.; Yuan, Z.; Huang, L. A Review of Soil Heavy Metal Pollution from Mines in China: Pollution and Health Risk Assessment. *Sci. Total Environ.* 2014, 468, 843–853.
- Liu, A., Fong, A., Becket, E., Yuan, J., Tamae, C., Medrano, L., et al. (2011). Selective advantage of resistant strains at trace levels of antibiotics: a simple and ultrasensitive color test for detection of antibiotics and genotoxic agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55 1204–1210.
- Liu, B., Yao, J., Ma, B., Chen, Z., Zhao, C., Zhu, X., Li, M., Cao, Y., Pang, W., Li, H., Feng, L., Mihucz, V.G., Duran, R., Microbial community profiles in soils adjacent to mining and smelting areas: Contrasting potentially toxic metals and co-occurrence patterns, *Chemosphere*, Volume 282, 2021, 130992, ISSN 0045-6535.
- Liu, M., Feng, M., Yang, K., Cao, Y., Zhang, J., Xu, J., Hernandez, S.H., Wei, X., Fan, M., 2020a. Transcriptomic and metabolomic

- analyses reveal antibacterial mechanism of astringent persimmon tannin against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from pork. *Food Chem.* 309, 125692.
- Liu, Y., Dyall-Smith, M., Marenda, M., Hu, H.W., Browning, G., Billman-Jacobe, H., 2020b. Antibiotic resistance genes in antibiotic-free chicken farms, *Antibiotics* 9, 120.
- Liu J., Zhao Z., Orfe L., Subbiah M., Call D. R. (2016). Soil-borne reservoirs of antibiotic-resistant bacteria are established following therapeutic treatment of dairy calves. *Environ. Microbiol.* 18 557–564. 10.1111/1462-2920.13097
- Liu, Y.Y., Wang, Y., Walsh, T.R., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J.H., Shen, J., 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect. Dis.* 16, 161-168.
- Liu, Z., Klumpe, U. Liu, Y., Yang, Y. Wei, Q. Lin, J.G., Gu, J.D., Li, M., 2019. Metagenomic and metatranscriptomic analyses reveal activity and hosts antibiotic resistance genes in activated sludge. *Environ. Int.* 129, 208-220.
- Lopatkin, A. J., Huang, S., Smith, R. P., Srimani, J. K., Sysoeva, T. A., Bewick, S., et al. (2016). Antibiotics as a selective driver for conjugation dynamics. *Nat. Microbiol.* 1:16044 10.1038/nmicrobiol.2016.44.
- Lu, X.M., Lu, P.Z., 2019. Distribution of antibiotic resistance genes in soil amended using *Azolla imbricata* and its driving mechanisms. *Sci. Total Environ.* 692, 422-431.
- Luczkiewicz, A.; Kotlarska, E.; Artichowicz, W.; Tarasewicz, K.; Fudala-Ksiazek, S. Antimicrobial Resistance of *Pseudomonas* Spp. Isolated from Wastewater and Wastewater-Impacted Marine Coastal Zone. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2015, 22, 19823–19834.
- Lundström, S. V., Östman, M., Bengtsson-Palme, J., Rutgersson, C., Thoudal, M., Sircar, T., et al. (2016). Minimal selective concen-

- trations of tetracycline in complex aquatic bacterial biofilms. *Sci. Total Environ.* 553 587–595.
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., et al. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Sci. Total Environ.* 47 619–641.
- Ma, L., Xia Y., Li, B., Yang, Y., Li-Guan Li , Tiedje, J.M., Thang, T. Metagenomic Assembly Reveals Hosts of Antibiotic Resistance Genes and the Shared Resistome in Pig, Chicken, and Human Feces. *Environ. Sci. Technol.* 2016, 50, 1, 420–427.
- Maeusli, T.M., Lee, B.; Miller, S.; Reyna, Z.; Lu, P.; Yan, J.; Ulhaq, A.; Skandalis, N.; Spellberg, B.; Luna, B. Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance from *Acinetobacter Baylyi* to *Escherichia Coli* on Lettuce and Subsequent Antibiotic Resistance Transmission to the Gut Microbiome. *mSphere* 2020, 5.
- Maher, M. C., Alemayehu W., Lakew T., Gaynor B. D., Haug S., Cevallos V., et al. (2012). The fitness cost of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*: insight from the field. *PLoS ONE* 7:e29407 10.1371.
- Maillard, J.-Y. Resistance of Bacteria to Biocides. *Microbiol. Spectr.* 2018, 6.
- Manaia, CM, Rocha, J, Scaccia, N, Marano, R, Radu, E, Biancullo, F, et al. (June 2018). "Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: Tackling the black box". *Environment International.* 115: 312–324. doi:10.1016/j.envint.2018.03.044. PMID 29626693. S2CID 4686577.
- Manyi-Loh, C.; Mamphweli, S.; Meyer, E.; Okoh, A. Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: Potential Public Health Implications. *Molecules* 2018, 23, 795.
- Mao, D., Yu, S., Rysz, M., Luo, Y, Yang, F, Li, F, Hou, J., Mu, Q., Alvarez, P.J.J., 2015. Prevalence and proliferation of antibiotic resis-

- tance genes in two municipal wastewater treatment plants. *Water Res.* 85, 458-466.
- Marcelino, V.R., Wille, M., Hurt, A.C., Gonzalez-Acuña, D., Klaassen, M., Schlub, T.E., Eden, J.S., Shi, M., Iredell, J.R., Sorrel, T.C., Holmes, E.C., 2019. Metatranscriptomics reveals a diverse antibiotic resistance pool in avian microbiomes. *BMC Biol.* 17, 1-11.
- Marcoleta, A.E., Arros, P., Varas, M.A., Costa, J., Rojas-Salgado, J., Berríos-Pastén C., Tapia-Fuentes, S., Silva, D., Fierro, J., Canales, N., Chávez, F.P., Gaete, A., González, M., Allende, M.L., Lagos, R. The highly diverse Antarctic Peninsula soil microbiota as a source of novel resistance genes. *Sci Total Environ.* 2022 Mar 1;810:152003.
- Marrero-Coto, J.; Díaz-Valdivia, A.; Coto-Pérez, O. Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 41, núm. 1, enero-abril, 2010, pp. 67-78
- Marshall, B.M.; Levy, S.B. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011, 24, 718–733.
- Marti, R., Scott, A., Tien, Y.C., Murray, R., Sabourin, L., Zhang, Y., Topp, E. 2013. Impact of manure fertilization on the abundance of antibiotic-resistant bacteria and frequency of detection of antibiotic resistance genes in soil and on vegetables at harvest. *Appl. Environ. Microbiology.* 79, 5701-5709.
- Martínez, J.L. (July 2008). "Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments". *Science.* 321 (5887): 365–7.
- Martiny, A.C.; Martiny, J.B.H.; Weihe, C.; Field, A.; Ellis, J.C. Functional Metagenomics Reveals Previously Unrecognized Diversity of Antibiotic Resistance Genes in Gulls. *Front. Microbiol.* 2011, 2, 238.
- Mathivanan, K., Uthaya, J., Annadurai, V., Huaqun, Y., Xueduan, L., Delong Meng, Bacterial adaptive strategies to cope with metal toxicity in the contaminated environment – A review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 226, 2021.

- Mayrhofer, S.; Paulsen, P.; Smulders, F.J.M.; Hilbert, F. Antimicrobial Resistance in Commensal *Escherichia Coli* Isolated from Muscle Foods as Related to the Veterinary Use of Antimicrobial Agents in Food-Producing Animals in Austria. *Microb. Drug Resist.* 2006, 12, 278–283.
- McArthur, A.G., Waglechner, N., Nizam, F., Yan, A., Azad, M.A., Baylay, A.J., et al. (July 2013). "The comprehensive antibiotic resistance database". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 57 (7): 3348–57. doi:10.1128/AAC.00419-13. PMC 3697360. PMID 23650175.
- McBain, A. J., Rickard, A. H., Gilbert, P. (2002). Possible implications of biocide accumulation in the environment on the prevalence of bacterial antibiotic resistance. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 29 326–330. 10.1038/sj.jim.7000324.
- McClellan, K. & Halden R.,. Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA National Sewage Sludge Survey. *Water Res.* 2010 Jan;44(2):658-68. doi: 10.1016/j.watres.2009.12.032. Epub 2010 Jan 4.
- McDonalds Corporation (2015). McDonald's Global Vision for Antimicrobial Stewardship in Food Animals. Available at: http://www.aboutmcdonalds.com/content/dam/AboutMcDonalds/Sustainability/Antimicrobial_Stewardship_Vision.pdf.
- McMahon, M.A.S.; Xu, J.; Moore, J.E.; Blair, I.S.; McDowell, D.A. Environmental Stress and Antibiotic Resistance in Food-Related Pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, 73, 211–217.
- McMurry, L.M.; McDermott, P.F.; Levy, S.B. Genetic Evidence That *InhA* of *Mycobacterium smegmatis* Is a Target for Triclosan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999, 43, 711–713.
- Meade, M.J.; Waddell, R.L.; Callahan, T.M. Soil Bacteria *Pseudomonas putida* and *Alcaligenes xylosoxidans* Subsp. *denitrificans* Inactivate Triclosan in Liquid and Solid Substrates. *FEMS Microbiol. Lett.* 2001, 204, 45–48.

- Mendez, J. El editor genético CRISPR explicado para principiantes. SINC. Ciencias Clínicas. 20 Noviembre 2017.
- Miller, R.V.; Gammon, K.; Day, M.J. Antibiotic Resistance among Bacteria Isolated from Seawater and Penguin Fecal Samples Collected near Palmer Station, Antarctica. *Can. J. Microbiol.* 2009, 55, 37–45.
- Mills, M.C., Lee, J. 2019. The threat of carbapenem-resistant bacteria in the environment: evidence of widespread contamination of reservoirs at a global scale. *Environ. Pollut.* 255, 113143. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113143>.
- Mitchell, S. M., Subbiah, M., Ullman, J. L., Frear, C., Call, D. R. (2015). Evaluation of 27 different biochars for potential sequestration of antibiotic residues in food animal production environments. *J. Environ. Chem. Eng.* 3 162–169.
- Morita, Y.; Murata, T.; Mima, T.; Shiota, S.; Kuroda, T.; Mizushima, T.; Gotoh, N.; Nishino, T.; Tsuchiya, T. Induction of mexCD-oprJ Operon for a Multidrug Efflux Pump by Disinfectants in Wild-Type *Pseudomonas Aeruginosa* PAO1. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 51, 991–994.
- Mughini-Gras, L., Dorado-García, A., van Duijkeren, E., van den Bunt, G., Dierikx, C.M., Bonten, M.J.M., et al., Attributable sources of community-acquired carriage of *Escherichia coli* containing β -lactam antibiotic resistance genes: a population-based modelling study. *The Lancet Planetary Health* 2019;3(8):E357-E369.
- Munther, D.S.; Carter, M.Q.; Aldric, C.V.; Ivanek, R.; Brandl, M.T. Formation of *Escherichia Coli* O157:H7 persister Cells in the Lettuce Phyllosphere and Application of Differential Equation Models To Predict Their Prevalence on Lettuce Plants in the Field. *Appl. Environ. Microbiol.* 2020, 86.
- Na, W., Xiaohong, Y., Shaojun, J., Zhang, B.Y., Shixiang, G., Sulfonamide-Resistant Bacteria and Their Resistance Genes in Soils Fertilized with Manures from Jiangsu Province, Southeastern China. *PLoS One.* 2014; 9(11): e112626.

- Nadimpalli, M.; Delarocque-Astagneau, E.; Love, D.C.; Price, L.B.; Huynh, B.-T.; Collard, J.-M.; Lay, K.S.; Borand, L.; Ndir, A.; Walsh, T.R.; et al. Combating Global Antibiotic Resistance: Emerging One Health Concerns in Lower- and Middle-Income Countries. *Clin. Infect. Dis.* 2018, 66, 963–969.
- Nasfi, Z.; Busch, H.; Kehraus, S.; Linares-Otoya, L.; König, G.M.; Schäberle, T.F.; Bachoual, R. Soil Bacteria Isolated From Tunisian Arid Areas Show Promising Antimicrobial Activities Against Gram-Negatives. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 2742.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. Available online: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m45/> (accessed on 2 September 2020).
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement; CLSI: Annapolis Junction, MD, USA, 2013.
- Negri, L.M., Aimar, M.V., 2016. Guías de Buenas Prácticas para el Tambo.
- Neyra, R.C.; Frisancho, J.A.; Rinsky, J.L.; Resnick, C.; Carroll, K.C.; Rule, A.M.; Ross, T.; You, Y.; Price, L.B.; Silbergeld, E.K. Multi-drug-Resistant and Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) in Hog Slaughter and Processing Plant Workers and Their Community in North Carolina (USA). *Environ. Health Perspect.* 2014, 122, 471–477.
- Nguyen, C.C., Hugie, C.N., Kile, M.L. et al. Association between heavy metals and antibiotic-resistant human pathogens in environmental reservoirs: A review. *Front. Environ. Sci. Eng.* 13, 46 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11783-019-1129-0>.
- Nichol, D., Rutter, J., Bryant, C, Hujer, A.M., Lek, S., Adams, M, Jeavons, Anderson, A., Bonomo, R., Scott, J. G. Antibiotic collateral

- sensitivity is contingent on the repeatability of evolution. *Nature Communications*, 19 January 2019.
- Nicholson, F. A., Smith, S. R., Alloway, B. J., Carlton-Smith, C., Chambers, B. J. (2003). An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *Sci. Total Environ.* 311 205–219.
- Nicholson, F.A., Chambers, B., Williams, J., Unwin, R. (1999). Heavy metal contents of livestock feeds animal manures in England and Wales. *Bioresour. Technol.* 70 23–31. 10.1016/S0960-8524(99)00017-6.
- Nies, D.H. Microbial Heavy-Metal Resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1999, 51, 730–750.
- NIH, National Human Research Institute. Next generation dna sequencing. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Next-Generation-DNA-Sequencing>, 5 April, 2023.
- Nishihara, T, Okamoto, T, Nishiyama, N. Biodegradation of didecyl dimethylammonium chloride by *Pseudomonas fluorescens*. TN4 Isolated from Activated Sludge. *J. Appl. Microbiol.* 2000, 88, 641–647.
- Novais, C., Freitas, A., Silveira, E., Antunez, P., Silva, R., Coque, T.M., Peixe, L., Spread of multidrug-resistant *Enterococcus* to animals and humans: an underestimated role for the pig farm environment, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 68, Issue 12, December 2013, Pages 2746–2754.
- Nowrotek, M., Jałowicki, L., Harnisz, M., Grażyna, A.P., Culturomics and metagenomics: In understanding of environmental resistome. *Frontiers of Environmental Science & Engineering* volume 13, Article number: 40 (2019).
- O’Flaherty, E.; Solimini, A.G.; Pantanella, F.; De Giusti, M.; Cummins, E. Human Exposure to Antibiotic Resistant-*Escherichia Coli* through Irrigated Lettuce. *Environ. Int.* 2019, 122, 270–280.
- O’Neill, J., The Review on Antimicrobial Resistance, 2015. *Antimicrobials in Agriculture and the Environment: Reducing Unne-*

- cessary Use and Waste. Available at: <http://amr-review.org/sites/default/files/Antimicrobials%20in%20agriculture%20and%20the%20environment%20-%20Reducing%20unnecessary%20use%20and%20waste.pdf>
- O'Neill, C.B.Y.J. The Review on Antimicrobial Resistance. Available online: https://www.wipo.int/edocs/mdocs/mdocs/en/wipo_who_wto_ip_ge_16/wipo_who_wto_ip_ge_16_www_356156.pdf. (accessed on 2 February 2020).
- Ohashi, Y. and Fujisawa, T. Detection of antibiotic resistance genes in the feces of young adult Japanese. *Biosci Microbiota Food Health*. 2017; 36(4): 151–154.
- Olaniran, A. O., Balgobind, A., Pillay, B. (2013). Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 14 10197–10228.
- OMS-OPS <https://www.paho.org/es/emergencias-salud/reglas-oro-oms-para-preparacion-higienica-alimentos>. Visitado 19/11/2022.
- Otterpohl, R., Braun, U., Oldenburg, M. (2004). Innovative technologies for decentralised water-, wastewater and biowaste management in urban and peri-urban areas. *Water Sci. Technol.* 48 23–32.
- Pal C., Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D. G. J. (2015). Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics* 16:964.
- Pal C., Bengtsson-Palme, J., Kristiansson E., Larsson, D. G. J., 2015. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics* 16:964 10.1186/s12864-015-2153-5.
- Pal, C., Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D.G.J., 2016. The structure and diversity of human, animal and environmental resistome. *Microbiome* 4, 54.

- Pal, C.; Bengtsson-Palme, J.; Rensing, C.; Kristiansson, E.; Larsson, D.G.J. BacMet: Antibacterial Biocide and Metal Resistance Genes Database. *Nucleic Acids Res.* 2014, 42, 737–743.
- Palacios, O.A., Contreras, C.A., Muñoz-Castellanos, L.N., González-Rangel, M.O., Rubio-Arias, H., Palacios-Espinosa, A., Nevárez-Moorillón, G.V. Monitoring of Indicator and Multidrug Resistant Bacteria in Agricultural Soils under Different Irrigation Patterns. *Agric. Water Manag.* 2017, 184, 19–27.
- Pan M, Chu LM. Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops. *Science of the Total Environment* 2017;599-600:500-12.
- Arango-Argoty., Narciso-da-Rocha, C.; Kneis, D.; Berendonk, T.U.; Cacace, D.; Do, T.T.; Elpers, C.; Fatta-Kassinos, D.; Henriques, I.; Jaeger, T.; et al. Antibiotic Resistance in European Wastewater Treatment Plants Mirrors the Pattern of Clinical Antibiotic Resistance Prevalence. *Sci. Adv.* 2019, 5, eaau9124.
- Parro, V., Paz, M.M. (2014). Metatranscriptome. In: Amils, R., et al. *Encyclopedia of Astrobiology*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-27833-4_5171-1
- Paul, D.; Mondal, S.K.; Mandal, S.M. *Biologia Futura: Use of Biocides during COVID-19-Global Reshuffling of the Microbiota*. Biol. Futur. 2021.
- Peiris, C., Gunatilake, S.R., Mlsna, T.E, Mohan, D., Vithanage, M., 2017. Biochar based removal of antibiotic sulfonamides and tetracyclines in aquatic environments: a critical review. *Bio-resour. Technol.* 246, 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.biotech.2017.07.150>.
- Percival S. L., Bowler P. G., Russell, D. (2005). Bacterial resistance to silver in wound care. *J. Hosp. Infect.* 60 1–7. 10.1016/j.jhin.2004.11.014.
- Pérombelon, M.C.M. Potato Diseases Caused by Soft Rot *Erwinias*: An Overview of Pathogenesis. *Plant. Pathol.* 2002, 51, 1–12.

- Perreten, V., Boerlin, P., 2003. A new sulfonamide resistance gen (sul3) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of Switzerland. *Anticomb. Agents Chemother*, 47, 1169-1172.
- Perry, J.A., Wright, G.D., 2014. Forces shaping the antibiotic resistome. *Bioessays* 36, 1179-1184.
- Perry, J.A., Wright, G.D., The antibiotic resistance “mobilome”: searching for the link between environment and clinic. *Front. Microbiol.*, 30 May 2013. Sec. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy, Volume 4 – 2013.
- Perry, J.A., Westman, E.L., Wright, G.D. The antibiotic resistome: what's new ?. *Curr. Opin. Microbiol.*, 21, 45-50, 2014.
- Pezhman, K., Parviz, M., Rasool, Y.M., Manoochehr, K., Mojtaba, H.Y., Dara D., Mohammad, Y.A. Molecular Characterization of Clinical and Environmental *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated in a Burn Center. *Saudi J. Biol. Sci.* 2019, 26, 1731–1736.
- Polesel, F., Lehnberg, K., Dott, W., Trapp, S., Thomas, K. V., Plósz, B. G. (2015). Factors influencing sorption of ciprofloxacin onto activated sludge: experimental assessment and modelling implications. *Chemosphere* 119 105–111. 10.1016/j.chemosphere.2014.05.048.
- Port, J.A.; Wallace, J.C.; Griffith, W.C.; Faustman, E.M. Metagenomic Profiling of Microbial Composition and Antibiotic Resistance Determinants in Puget Sound. *PLoS ONE* 2012, 7, e48000.
- Potenski, C.J.; Gandhi, M.; Matthews, K.R. Exposure of *Salmonella* Enteritidis to Chlorine or Food Preservatives Increases Susceptibility to Antibiotics. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003, 220, 181–186.
- Potter, R.F., D'Souza, A.W., Dantas, G., 2016. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Drug Resist. Updates* 29, 30-46.
- Prudhomme, C., Young, A., Watts, G., Haxton, T., Crooks, S., Williamson, J., et al. (2012). The drying up of Britain? A national estimate of changes in seasonal river flows from 11 regional cli-

- mate model simulations. *Hydrol. Process.* 26 1115–1118. 10.1002/hyp.8434.
- Pu, C. Yu, Y., Diao, J., Gong, X., Li, J., Sun, Y., 2019 Exploring the persistence and spreading of antibiotic resistance from manure to biocompost, soils and vegetables. *Sci. Total Environ.* 688, 262-269.
- Public Health England, Report 2021-2022. English Surveillance Programme for Antimicrobial Utilisation and Resistance (ESPAUR). Publications Office of the European Union. State of the Art on the Contribution of Water to Antimicrobial Resistance; Publications Office of the European Union: Luxembourg, 2018; ISBN 9789279984785.
- Qian, X., Gu, J., Sun, W., Wang, X.J., Su, J.Q., Stedfeld, R., 2018. Diversity, abundance and persistence of antibiotic resistance genes in various types of animal manure following industrial composting. *J. Hazard Mater.* 344, 716-722.
- Qiao, M., Ying, G.G., Singer, A.C., Zhu, Y.G., 2018. Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environ. Int.* 110, 160-172.
- Rabbia, V.; Bello-Toledo, H.; Jiménez, S.; Quezada, M.; Domínguez, M.; Vergara, L.; Gómez-Fuentes, C.; Calisto-Ulloa, N.; González-Acuña, D.; López, J.; et al. Antibiotic Resistance in *Escherichia Coli* Strains Isolated from Antarctic Bird Feces, Water from inside a Wastewater Treatment Plant, and Seawater Samples Collected in the Antarctic Treaty Area. *Polar Sci.* 2016, 10, 123–131.
- Rahman, M.M.; Husna, A.; Elshabrawy, H.A.; Alam, J.; Runa, N.Y.; Badruzzaman, A.T.M.; Banu, N.A.; Al Mamun, M.; Paul, B.; Das, S.; et al. Isolation and Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia Coli* from Chicken Meat. *Sci. Rep.* 2020, 10, 21999.
- Rahube, T.O., Marti, R., Scott, A., Tien, Y.C., Murray, R. Sabourin, L., Zhang, Y. Duenk, P., Lapen, D.R. Topp, E. 2014. Impact of fertilizing with raw or anaerobically digested sewage sludge on the abundance of antibiotic-resistant coliforms, antibiotic resistance

- genes, and pathogenic bacteria in soil and on vegetables at harvest. *Appl. Environ. Microbiology*. 80,6898-6907.
- Ramos, J. L., Duque, E., Gallegos, M.-T., Godoy, P., Ramos-Gonzalez, M. I., Rojas, A., et al. (2002). Mechanisms of solvent tolerance in gram-negative bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 56 743–768. 10.1146/annurev.micro.56.012302.161038.
- Rinke, C., Schwientek, P., Sczyrba, A., et al. (25 July 2013). "Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter". *Nature*. 499 (7459): 431–437. doi:10.1038/nature12352.
- Riva, F., Castiglioni, S., Fattore, E., Manenti, A., Davoli, E., Zuccato, E. Monitoring emerging contaminants in the drinking water of Milan and assessment of the human risk. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2018;221(3):451-7.
- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G., Ocampo-Pérez, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere* 93 1268–1287.
- Roberts, A.P., Mullany, P. Tn916-like genetic elements: a diverse group of modular mobile elements conferring antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2011 Sep;35(5):856-71. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00283.x. Epub 2011 Jul 4. PMID: 21658082.
- Rodriguez-Mozaz, S. Chamorro, S., Marti, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., Borrego, C., Damià Barceló, D., Balcázar, J.L. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river, *Water Research*, Volume 69, 2015, Pages 234-242, ISSN 0043-1354, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.021>.
- Rosenblueth, M. and Martinez-Romero, E. 2006. Bacterial endophytes and their interaction with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19:827-837. Disponible en línea: <http://aps-journals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/MPMI-19-0827>.
- Rosendahl, I., Siemens, J., Kindler, R., Groeneweg, J., Zimmermann, J., Czerwinski, S., et al. (2012). Persistence of the fluoroquinolone

- antibiotic difloxacin in soil and lacking effects on nitrogen turnover. *J. Environ. Qual.* 41 1275–1283.
- Rouch, D.A.; Cram, D.S.; DiBerardino, D.; Littlejohn, T.G.; Skurray, R.A. Efflux-Mediated Antiseptic Resistance Gene *qacA* from *Staphylococcus Aureus*: Common Ancestry with Tetracycline- and Sugar-Transport Proteins. *Mol. Microbiol.* 1990, 4, 2051–2062.
- Roux, D., Danilchanka, O., Guillard, T., Cattoir, V., Aschard, H., Fu, Y., et al. (2015). Fitness cost of antibiotic susceptibility during bacterial infection. *Sci. Transl. Med.* 7:297ra114 10.1126/scitranslmed.aab1621.
- Russell, A. D. (2003). Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect. Dis.* 3 794–803.
- Ryu, S.-H.; Park, S.-G.; Choi, S.-M.; Hwang, Y.-O.; Ham, H.-J.; Kim, S.-U.; Lee, Y.-K.; Kim, M.-S.; Park, G.-Y.; Kim, K.-S.; et al. Antimicrobial Resistance and Resistance Genes in *Escherichia Coli* Strains Isolated from Commercial Fish and Seafood. *Int. J. Food Microbiol.* 2012, 152, 14–18.
- Safrany, N. And Monnet, D.L., (2012). Antibiotics obtained without prescription in Europe. *Lancet Infec. Dis.* 12, 182-183.
- Samal, K., Mahapatra, S., Md Hibzur Ali, H. Pharmaceutical wastewater as Emerging Contaminants (EC): Treatment technologies, impact on environment and human health, *Energy Nexus*, Volume 6, 2022, 100076, ISSN 2772-4271.
- Sarmah A. K., Meyer M. T., Boxall A. B. A. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65 725–759.
- Sattar, S. A., Tetro, J. A., Springthorpe, V. S. (2007). “Effects of environmental chemicals and the host-pathogen relationship: are there any negative consequences for human health?,” in *New Biocides Development* ed. Zhu P. C. (Washington, DC: American Chemical Society;) 2–30. 10.1021/bk-2007-0967.ch001.

- Schaffer, A. 2012. TR10 Secuenciación de nanoporos. MIT, Technology Review (2012).
- Schelli, K., Zhong, F., Zhu, J., 2017. Comparative metabolomics revealing *Staphylococcus aureus* metabolic response to different antibiotics. *Microb. Biotechnol.* 10, 1764-1774.
- Schmeisser, C., Steele, H., Streit, W.R., 2007. Metagenomics, biotechnology with non-culturable microbes, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 955-962.
- Schnepf, E.; Crickmore, N.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Feitelson, J.; Zeigler, D.R.; Dean, D.H. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998, 62, 775-806. Antibiotics 2021, 10, 640 14 of 14.
- Schülter, A., Szczepanowski, R., Pühler, A., Top, E.M., 2007. Genomics of IncP-1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, 449-477.
- Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides. Available online: https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihp/docs/scenihp_o_021.pdf (accessed on 20 March 2021).
- Seiler, C.; Berendonk, T.U. Heavy Metal Driven Co-Selection of Antibiotic Resistance in Soil and Water Bodies Impacted by Agriculture and Aquaculture. *Front. Microbiol.* 2012, 3.
- Selck H., Handy R. D., Fernandes T. F., Klaine S. J., Petersen E. J. (2016). Nanomaterials in the aquatic environment: a European Union-United States perspective on the status of ecotoxicity testing, research priorities, and challenges ahead. *Environ. Toxicol. Chem.* 35 1055-1067.
- Sender, R., Fuchs, F., Milo, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *Cell* 164, January 28, 2016.
- Shigemura, K.; Osawa, K.; Kato, A.; Tokimatsu, I.; Arakawa, S.; Shirakawa, T.; Fujisawa, M. Association of Overexpression of Efflux

- Pump Genes with Antibiotic Resistance in *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Clinically Isolated from Urinary Tract infection patients. *J Antibiot (Tokyo)* . 2015 Sep;68(9):568-72.
- Siguier, P. Gourbeyre, E., Chandle, M. Bacterial insertion sequences: their genomic impact and diversity. *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 38, Issue 5, September 2014, Pages 865–891.
- Singer, A. C., Colizza V., Schmitt, H., Andrews, J., Balcan, D., Huang, W. E., et al. (2011). Assessing the ecotoxicologic hazards of a pandemic influenza medical response. *Environ. Health Perspect.* 119 1084–1090.
- Smith, S. R. (2009). A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environ. Int.* 35 142–156.
- Smith, R.C., Oerther, D.B. Respirometric evaluation of side-stream treatment of reject water as a source of nitrifying bacteria for main-stream activated sludge bioreactors. *Water Sci Technol.* 2009;60(10):2677-84.
- Smith, T.C., Livestock-Associated *Staphylococcus aureus*: The United States Experience. *Plos Pathogens*, February 5, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004564>
- Sneath, P. H., Sokal, R. R. (1973). *Numerical Taxonomy*. WH Freeman & Co. San Francisco, 573 pp.
- Soucy, S.M., Huang, J., Gogarten, J.P. Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet.* 2015 Aug;16(8):472-82. doi: 10.1038/nrg3962. PMID: 26184597.
- Spellberg, B.; Barlett, J.G.; Gilbert, D.N. The Future of Antibiotics and Resistance. *N. Engl. J. Med.* 2013.
- Spellberg, B.; Guidos, R.; Gilbert, D.; Bradley, J.; Boucher, H.W. ; W Michael W.; n G Bartlett, J.; Edwards, J. Jr. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008 Jan 15;46(2):155-64.doi: 10.1086/524891.

- Spellberg, B.; Hansen, G.R.; Kar, A.; Cordova, C.D.; Price, L.B.; Johnson, J.R. Antibiotic Resistance in Humans and Animals. NAM Perspect. 2016. Discussion paper 6.
- Srinivasan, V.; Nguyen, L.T.; Headrick, S.I.; Murinda, S.E.; Oliver, S.P. Antimicrobial Resistance Patterns of Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* O157:H7 and O157:H7- from Different Origins. *Microb. Drug Resist.* 2007, 13, 44–51.
- Stange, C., Sidhu, J.P.S., Tiehm, A., Toze, S., 2016. Antibiotic resistance and virulence genes in coliform water isolates. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 219, 823-831.
- Stoll, C., Sidhu, J.P.S., Tiehm, A., Toze, S., 2012. Prevalence of clinically relevant antibiotic resistance genes in surface water samples collected from Germany and Australia. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9176-9726.
- Su, J.Q., An, X.L., Li, B., Chen, Q.L., Gillings, M.R., Chen, H., Zhang, T., Zhu, Y.G. 2017. Metagenomics of urban sewage identifies an extensively shared antibiotic resistome in China. *Microbiome* 5, 84.
- Suay-García, B., Pérez-Gracia, M.T., Present and future of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) infections. *Antibiotics*, 8 (2019), p. 122.
- Subcommittee on Economic and Consumer Policy, Committee on Oversight and Reform. Baby Foods Are Tainted with Dangerous Levels of Arsenic, Lead, Cadmium, and Mercury; U.S. House of Representatives: Washington, DC, USA, 2021.
- Subway Ip Inc. (2016). SUBWAY® Sandwich Shop Introduces New Rotisserie-Style Chicken Raised without Antibiotics. Available at: <http://www.prnewswire.com/news-releases/subway-sandwich-shop-introduces-new-rotisserie-style-chicken-raised-without-antibiotics-300226838.html>.
- Suclupe-Campos D-O, Aguilar-Gamboa F-R. Persistencia bacteriana: un fenotipo celular de importancia clínica en infecciones crónicas y recurrentes. *Horiz Med* [Internet]. 26 de marzo de 2020.

- Sultan, I., Rahman, S., Jan, A.T., Siddiqui, M.T., Mondal, A.H., Haq, Q.M.R. Antibiotics, Resistome and Resistance Mechanisms: A Bacterial Perspective. *Front Microbiol.* 2018 Sep 21;9:2066. doi: 10.3389/fmicb.2018.02066. PMID: 30298054; PMCID: PMC6160567.
- Sun, J., Zhang, H., Liu, Y.H., Feng, Y. Towards understanding MCR-like colistin resistance *Trends Microbiol.*, 26 (2018), pp. 794-808,
- Sundin, G.W.; Wang, N. Antibiotic Resistance in Plant-Pathogenic Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2018, 56, 161–180.
- Taco Bell Corp (2016). Statement Regarding Antibiotics - Taco Bell. Available at: <https://www.tacobell.com/news/statement-regarding-antibiotics>.
- Tandukar, M.; Oh, S.; Tezel, U.; Konstantinidis, K.T.; Pavlostathis, S.G. Long-Term Exposure to Benzalkonium Chloride Disinfectants Results in Change of Microbial Community Structure and Increased Antimicrobial Resistance. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, 9730–9738.
- Tattawasart, U.; Maillard, J.Y.; Furr, J.R.; Russell, A.D. Development of Resistance to Chlorhexidine Diacetate and Cetylpyridinium Chloride in *Pseudomonas stutzeri* and Changes in Antibiotic Susceptibility. *J. Hosp. Infect.* 1999, 42, 219–229.
- Tchounwou, P.B.; Yedjou, C.G.; Patlolla, A.K.; Sutton, D.J. Heavy Metal Toxicity and the Environment. *Exp. Suppl.* 2012, 101, 133–164.
- Thanner S., Drissner D., Walsh F. (2016). Antimicrobial resistance in agriculture. *MBio* 7:e2227-15 10.1128/mBio.02227-15.
- Tian, Z., Zhang, Y., Yu, B., Yang, M., 2016. Changes of resistome, mobilome and potential hosts of antibiotic resistance genes during transformation of anaerobic digestion from mesophilic to thermophilic. *Water Res.* 98, 26-269. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.04.031>.
- Tipping E., Lofts S. (2013). Metal mixture toxicity to aquatic biota in laboratory experiments: application of the WHAM-FTOX model. *Aquat. Toxicol.* 14 114–122.

- Torres, C., Zarazaga, M., Gac Sanit vol.16 no.2 Barcelona mar./abr. 2002.
- Tschudin-Sutter, S.; Frei, R.; Stephan, R.; Hächler, H.; Nogarth, D.; Widmer, A.F. Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae: A Threat from the Kitchen. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2014, 35, 581–584.
- Tyson Fresh Meat Inc. (2014). Tyson Fresh Meats Launches Open Prairie™ Natural Pork. Available at: <http://www.tysonfoods.com/Media/News-Releases/2016/02/Natural-Pork-Launch.aspx> (accessed March 11 2016).
- Udikovic-Kolic N., Wichmann F., Broderick N. A., Handelsman J. (2014). Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111 15202–15207.
- US Food and Drug Administration. Investigation Summary: Factors Potentially Contributing to the Contamination of Romaine Lettuce Implicated in the Fall 2018 Multi-State Outbreak of *E. coli* O157: H7; US Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA, 2019.
- Usui, M., Shirakawa, T., Fukuda, A., and Tamura, Y. (2015). The role of flies in disseminating plasmids with antimicrobial-resistance genes between farms. *Microb. Drug Resist.* 21, 562–569. doi: 10.1089/mdr.2015.0033.
- Van Boeckel T. P., Gandra S., Ashok A., Caudron Q., Grenfell B. T., Levin S. A., et al. (2014). Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect. Dis.* 14 742–750. 10.1016/S1473-3099(14)70780-7.
- Van Der Helm, E., Imamovic, L., Ellabaan, M.M., Van Schaik, W., Koza, A., Sommer, M.O.A., 2017. Rapid resistome mapping, using nanopore sequencing. *Nucleic Acids Res.*, 45, 1-8.
- Vega Sánchez, V., Talavera Rojas, M., Zepeda Velázquez, J. Paloma, A, Reyes Rodríguez, N.E, (2020). Antimicrobial resistance of *Es-*

cherichia coli isolated from cattle carcasses and feces in Center of Mexico. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(4), 991-1003.

- Verlicchi, P., Zambello, E., Predicted and measured concentrations of pharmaceuticals in hospital effluents. Examination of the strengths and weaknesses of the two approaches through the analysis of a case study. *The Science of The Total Environment* 565:82-94, September 2016.
- Verraes, C.; Van Boxtael, S.; Van Meervenne, E.; Van Coillie, E.; Bultay, P.; Catry, B.; de Schaetzen, M.-A.; Van Huffel, X.; Imberechts, H.; Dierick, K.; et al. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10, 2643–2669.
- Versporten A., Bolokhovets G., Ghazaryan L., Abilova V., Pyshnik G., Spasojevic T., et al. (2014). Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect. Dis.* 14 381–387. 10.1016/S1473-3099(14)70071-4.
- Vetsigian, K., 2017. Diverse modes of eco-evolutionary dynamics in communities of antibiotic-producing microorganisms. *Nat. Ecol. Evol.* 1, 1-9.
- Villa, F.A.; Gerwick, L. Marine Natural Product Drug Discovery: Leads for Treatment of Inflammation, Cancer, Infections, and Neurological Disorders. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2010, 32, 228–237.
- Vranakis, I., Goniou, I., Psaroulaki, A., Sandalakis, V., Tselentis, Y., Gevaert, K., Tsiotis, G., 2014. Proteome studies of bacterial antibiotic resistance mechanisms. *J. Proteomics* 97, 88-99.
- Waara, K.-O. (1992). Effects of copper, cadmium, lead and zinc on nitrate reduction in a synthetic water medium and lake water from Northern Sweden. *Water Res.* 26 355–364.
- Wales, A.D.; Davies, R.H. Co-Selection of Resistance to Antibiotics, Biocides and Heavy Metals, and Its Relevance to Foodborne Pathogens. *Antibiotics* 2015, 4, 567–604.

- Wang, R., van Dorp, L., Shaw, L., Bradley, P. Wang, Q., Wang, X., Jin, L., Zhang, Y., Liu, Y., Rieux, A. Dorai-Schneiders, T., Weinert, L.A., Iqbal, Z., Didelot, X., Wang, H., Balloux, F. The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene *mcr-1* Nat. Commun., 9 (2018), p. 1179.
- Wang, J., et al., 2020. "Migratory birds spread antibiotic resistance genes between Australia and China." *Nature Microbiology* 5.7 (2020): 1050-1056.
- Water UK (2010). Recycling of Biosolids to Agricultural Land. Available at: <https://dl.dropboxusercontent.com/u/299993612/Publications/Reports/Waste%20recycling/recycling-biosolids-to-agricultural-land-january-2010-final.pdf>.
- Watts, J.E.M., Schreier, H.J., Lanska, L., Hale, M.S., 2017. The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. *Mar. Drug* 15, 1-16.
- Webber, M. A., Whitehead, R. N., Mount, M., Loman, N. J., Pallen, M. J., Piddock, L. J. V. (2015). Parallel evolutionary pathways to antibiotic resistance selected by biocide exposure. *J. Antimicrob Chemother.* 70 2241–2248. 10.1093/jac/dkv109.
- Weir, M., Rajić, A., Dutil, L., Cernicchiaro, N., Uhland, F., Mercier, B., & Tuševljak, N. (2012). Zoonotic bacteria, antimicrobial use and antimicrobial resistance in ornamental fish: A systematic review of the existing research and survey of aquaculture-allied professionals. *Epidemiology & Infection*, 140(2), 192-206. doi:10.1017/S0950268811001798.
- Weixiao Cheng, Hong Chen, Chao Su, Shuhai Yan. Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: A comprehensive investigation in eastern China, *Environment International*, Volume 61, 2013
- Wesgate, R., Grasha, P., Maillard, J.-Y. (2016). Use of a predictive protocol to measure the antimicrobial resistance risks associated with biocidal product usage. *Am. J. Infect. Control* 44 458–464. 10.1016/j.ajic.2015.11.009.

- WHO, Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> Octubre 13, 2020.
- Wichmann, F., Udikovic-Kolic, N., Andrew, S., Handelsman, J., Diverse Antibiotic Resistance Genes in Dairy Cow Manure. *ASM Journals mBio*, Vol. 5, No. 2, 2014.
- Williams-Nguyen, J.; Sallach, J.B.; Bartelt-Hunt, S.; Boxall, A.B.; Durso, L.M.; McLain, J.E.; Singer, R.S.; Snow, D.D.; Zilles, J.L. Antibiotics and Antibiotic Resistance in Agroecosystems: State of the Science. *J. Environ. Qual.* 2016, 45, 394–406.
- Wilson, H., Török, M.E., 2018. Extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Microb. Genom.* 4. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000197>.
- Windels, E.M., Michiels, J.E., Fauvart, M., Wenseleers, T., Van den Bergh, B. Michiels, J. 2019. Bacterial persistence promotess the evolution of antibiotic resistance by increasing survival and mutation rates. *ISME J.* 13, 1239-1251.
- Winder, C.L.; Al-Adham, I.S.; Abdel Malek, S.M.; Buultjens, T.E.; Horrocks, A.J.; Collier, P.J. Outer Membrane Protein Shifts in Biocide-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* PAO1. *J. Appl. Microbiol.* 2000, 89, 289–295.
- Winkler, J., 2018. The Resistome: Updating a Standardized Resource for Analyzing Resistance Phenotypes. <https://doi.org/10.1101/418814> bioRxiv 418814.
- Wishart, D.S., 2019. NMR metabolomics: a look ahead. *J. Magn. Reson.* 306, 155-161.
- Woolhouse, M., Ward, M., Van Bunnik, B. & Farrar, J., 2015. Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment *Phil. Trans. R. Soc.* B3702014008320140083. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0083>.
- Wozniak, R.A., Waldor, M.K., Integrative and conjugative elements: mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene

- flow. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Aug;8(8):552-63. doi: 10.1038/nr-micro2382. Epub 2010 Jul 5. PMID: 20601965.
- Wright, G.D. The antibiotic resistome. *Expert Opin Drug Discov*, 5:779-788, 2010.
- Wright G.D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microbiol.* 2007 Mar;5(3):175-86. doi: 10.1038/nrmicro1614. PMID: 17277795.
- Wu, D., Huang, Z., Yang, K., Graham, D., Xie, B., 2015. Relationships between antibiotics and antibiotic resistance gene levels in municipal solid waste leachates in Shanghai, China. *Environ. Sci. Technol.* 49, 4122-4128.
- Wu, J., Su, Y., Deng, Y., Guo, Z., Cheng, C., Ma, H., Liu, G., Xu, L., Feng, J., 2019. Spatial and temporal variation of antibiotic resistance in marine fish cage-culture area of Guandong, China. *Environ. Pollut.* 246, 463-471.
- Wu, N., Zhang, W., Xie, S., Zeng, M., Liu, H., Yang, J., Liu, X., Yang, F., 2020. Increasing prevalence of antibiotic resistance genes in manured agricultural soils in northern China. *Front. Environ. Sci. Eng.* 14, 1.
- Wulf, M.W.H., Sørum, M., van Nes, A., Skov, R., Melchers, W.J.G., Klaassen, C.H.W., Voss, A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study, *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 14, Issue 1, 2008, Pages 29-34.
- Xia, J., Sun, H, Zhang, X., Zhang, T., Ren, H., Ye, L., 2019. Aromatic compounds lead to increase abundance of antibiotic resistance genes in wastewater treatment bioreactors. *Water Res.* 166, 115073.
- Xiang, L., Wu, X.L., Jiang, Y.N., Yan, Q.Y., Li, Y.W., Huang, X.P., Cai, Q.Y., Mo, C.H., 2016. Occurrence and risk assessment of tetracycline antibiotics in soil from organic vegetables farms in a subtropical city, south China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 13984-13995.

- Xie, W.Y., Shen, Q., Zhao, F.J., 2018. Antibiotics and antibiotic resistance from animal from animal manures to soil: a review. *Eur. J. Soil Sci.* 69, 181-195.
- Xiong, W., Wang, Y., Sun, Y., Ma, L., Zeng, Q. Jiang, X., Li, A., Zeng, Z., Zhang, T., 2018. Antibiotic-mediated changes in the fecal microbiome of broiler chickens define the incidences of antibiotic resistance genes. *Microbiome* 6, 34.
- Xu, J., Xu, Y., Wang, H., Guo, C., Qiu, H., He, Y., Zhang, Y., Li, X., Meng, W., 2015. Occurrence of antibiotics and antibiotics resistance genes in a sewage treatment plants and its effluent-receiving river. *Chemosphere* 119, 1379-1385.
- Yamamoto T., Tamura Y., Yokota T. (1988). Antiseptic and antibiotic resistance plasmid in *Staphylococcus aureus* that possesses ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32 932-935.
- Yang, L., Li, Y.X., Lei, C.W., Zhang A.Y., Wang, H.H., 2018b. Novel plasmid mediated colistin resistance gene *mcr-7.1* in *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 73, 1791-1795.
- Yang, L., Liu, W., Zhu, D., Hou, J., Ma, T., Wu, L., Zhu, Y., Christie, P., 2018^a. Application fo biosolids drives the diversity of antibiotic resistance genes in soil, and lettuce harvest. *Soil Biol. Biochem.* 122, 131-140.
- Yang, S. F., Lin, C.-F., Wu, C.-J., Ng, K.-K., Lin, A. Y.-C., Hong. P.-K. A. (2012). Fate of sulfonamide antibiotics in contact with activated sludge-sorption and biodegradation. *Water Res.* 46 1301-1308. 10.1016.
- Yang, Y., Liu, W., Xu, C., Wei, B., Wang, J., 2017. Antibiotic resistance genes in lakes from middle and lower reaches of the Yangtze River, China: effect of land use and sediment characteristics. *Chemosphere* 178, 19-25.
- Yang, Y.; Wu, R.; Hu, J.; Xing, S.; Huang, C.; Mi, J.; Liao, X. Dominant Denitrifying Bacteria Are Important Hosts of Antibiotic Resistan-

- ce Genes in Pig Farm Anoxic-Oxic Wastewater Treatment Processes. *Environ. Int.* 2020, 143, 105897.
- Yekani, M., Azargun, R., Sharifi, S., Nabizadeh, E., Sadri Nahand, J., Karimi Ansari, N., Yousef Memar, M., Soki, J. Collateral sensitivity: An evolutionary trade-off between antibiotic resistance mechanisms, attractive for dealing with drug-resistance crisis. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hsr2.1418>. 11 July 2023.
- Yergeau, E., Lawrence, J. R., Waiser, M. J., Korber, D. R., Greer, C. W. (2010). Metatranscriptomic analysis of the response of river biofilms to pharmaceutical products, using anonymous DNA microarrays. *Appl. Environ. Microbiol.* 76 5432–5439. 10.1128/AEM.00873-10.
- You, R., Margenat, A., Lanzas, C.S., Cañameras, N., Carazo, N., Navarro-Martin, L., Matamoros, V., Bayona, J.M., Diez, S. (2020). Dose effect of Zn and Cu in sludge-amended soils on vegetable uptake of trace elements, antibiotics and antibiotic resistance genes: human health implications. *Environ. Res.* 191, 109879.
- Zaheer, R., Noyes, N., Ortega Polo, R., Cook, S.R., Marinier, E., Van Domselaar, G., Belk, K.E., Morley, P.S., McAllister, T.A., 2018. Impact of sequencing depth on the characterization of the microbiome and resistome. *Sci. Rep.* 8, 5890.
- Zeineldin, M.,* Ameer Megahed, M., Burton, B., Blair, B., Aldridge, B., and Lowe, F.J. Effect of Single Dose of Antimicrobial Administration at Birth on Fecal Microbiota Development and Prevalence of Antimicrobial Resistance Genes in Piglets. *Front Microbiol.* 2019; 10: 1414.
- Zeng, W.; Xu, W.; Xu, Y.; Liao, W.; Zhao, Y.; Zheng, X.; Xu, C.; Zhou, T.; Cao, J. The Prevalence and Mechanism of Triclosan Resistance in *Escherichia Coli* Isolated from Urine Samples in Wenzhou, China. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2020, 9, 1–10.
- Zhang T, Zhang X-X, Ye L. Plasmid metagenome reveals high levels of antibiotic resistance genes. *ISME J.* 2011;5:928–937

- Zhang, L., Li, L., Sha, G., Liu, C., Wang, Z., Wang, L., 2020. Aerobic composting as a an effective cow manure management strategy for reducing the dissemination of antibiotic resistnace genes: an integrated meta-omics study. *J. Hazard Mater*, 386 , 121895.
- Zhang, A.N., Gaston, J.M., Dai, C.L., Zhao, S., Poyet, M., Groussin, M., et al.. An omics-based framework for assessing the health risk of antimicrobial resistance genes. *Nat Commun.* (2021) 12:4765. 10.1038/s41467-021-25096-3
- Zhang, H., Li, X., Yang, Q., Sun, L., Yang, X, Zhou, M., Deng, R., Bi, L., 2017. Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic sistem of Pakchoi under antibiotic exposure. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health* 14, 1336.
- Zhang, Q.Q., Ying, G.G., Pan, C.G., Liu, Y.S., Zhao, J.L., 2015. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance. *Envirno. Sci. Technol.* 49, 6772-6782.
- Zhang, T., 2016. Antibiotics and resistance genes in wastewater treatment plants. *Amr. Food, Water Environ.* 8, 120-125.
- Zhang, T., Li, X., Wang, M., Chen, H., Yang, Y., Chen, Q., Yao, M., 2019. Time-resolved spread of antibiotic resistance genes in highly polluted air. *Environ. Int.* 127, 333-339.
- Zhang, Y.; Zhang, C.; Parker, D.B.; Snow, D.D.; Zhou, Z.; Li, X. Occurrence of Antimicrobials and Antimicrobial Resistance Genes in Beef Cattle Storage Ponds and Swine Treatment Lagoons. *Sci Total Environ.* 2013 Oct 1;463-464:631-8. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.016.
- Zhu, Y.G., Johnson, T.A., Su, J.Q., Qiao, M., Guo, G.X., Stedtfeld, R.D., et al. (2013) Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 3435–3440.
- Zhuang, M., Achmon, Y., Cao, Y., Liang, X., Liang, C., Wang, H., Siamme, B., Leung, K. Distribution of antibiotic resistance genes in environment. *Environmental Pollution* 285, (2021), 117402.

Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., Fanelli, R. Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet*. 2000 May 20;355(9217):1789-90.

Zurek, L. y Ghosh, A., Insects Represent a Link between Food Animal Farms and the Urban Environment for Antibiotic Resistance Traits. *ASM Journals, Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 80, No. 12.

El libro aborda la resistencia a los antimicrobianos como un fenómeno complejo que trasciende lo clínico y se inscribe en la interacción entre biología, ambiente y sociedad. Desde una perspectiva de Una Salud, analiza cómo el uso masivo de antibióticos en medicina humana, veterinaria y producción agropecuaria genera una presión selectiva que favorece la aparición y diseminación de genes de resistencia.

Se destaca el concepto de “resistoma” como el conjunto dinámico de estos genes presentes en diversos ecosistemas, incluidos el suelo, el agua y los alimentos. Asimismo, se examinan los mecanismos de transferencia genética —en particular la transferencia horizontal— y las múltiples vías de contaminación ambiental, como efluentes, estiércol y prácticas productivas.

El libro también analiza el impacto de factores como los metales pesados, los biocidas y los sistemas intensivos de producción. Finalmente, propone un enfoque integral, preventivo y multisectorial, con énfasis en el uso prudente de antimicrobianos, el monitoreo ambiental y el desarrollo de estrategias innovadoras para mitigar la propagación de la resistencia.

Jorge Errecalde

Médico y Médico Veterinario. Bachelor, Master y Doctor en Ciencias Veterinarias (Farmacología y Toxicología). Director Científico de INCAM S.A. Fue Profesor Titular en UNLP, UNICEN y UNLPam, y en Ciencias Médicas (UNLP). Fellow de la American Academy y Miembro Honorario del European College. Integra academias científicas nacionales e internacionales. Fue miembro de JECFA (FAO/OMS). Actualmente preside la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria y AIACIVET.

Carlos Eddi

Doctor en Medicina Veterinaria (DVM), Master of Science (MS) y PhD por Louisiana State University (EE. UU.). Fue Senior Officer y Coordinador de la Unidad de Enfermedades Zoonóticas de FAO (Naciones Unidas) y Coordinador de Parasitología en INTA Castelar. Se desempeñó como Profesor Titular en USAL, UNLPam y UNLZ. Es Académico correspondiente de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Participó en proyectos internacionales sobre enfermedades zoonóticas y en programas de erradicación en el Caribe.