



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

USO DE ANTIBIOTICOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN
ANIMAL Y SUS CONSECUENCIAS PARA
LA SALUD PUBLICA.

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

A N A H I S O R I A F L O R E S



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Jurado asignado:

Presidente	Prof. Biserka Sveshtarova Pekarkova
Vocal	Prof. María del Pilar Granada Macías
Secretario	Prof. Miguel Angel Hidalgo Torres
1er. Suplente	Prof. María del Carmen Wachter Rodarte
2do. Suplente	Prof. Martha Giles Gómez

Sitio en donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Microbiología Anexo al
Laboratorio 1-D, Facultad de Química

Asesor: Dra. Biserka Sveshtarova Pekarkova

B. Sveshtarova

Sustentante: Anahí Soria Flores

Anahí Soria Flores

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Anahí Soria

Flores

FECHA: 20/04/04

FIRMA: [Firma]

DEDICATORIAS

A mis padres porque gracias a su apoyo incondicional he llegado a este momento. Este logro también es suyo. Gracias por confiar en mí.

A mi familia: Mamá Julieta Flores, Papá Héctor Soria, a mis hermanos Héctor Soria y Dafne Soria, a mis tíos Portirio Flores y Josefina Flores, a mi prima Edna López y a Ricardo Alvarado y Andrés Estrada porque a lo largo de esta trayectoria siempre han estado al pendiente de mí y, de cada uno de ustedes, he recibido muchas enseñanzas que me han ayudado a seguir adelante.

A Carlos Lugo G. porque eres parte importante en mi vida y me has apoyado en muchos momentos. Gracias por ayudarme a realizar este trabajo.

A G R A D E C I M I E N T O S

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de formarme dentro de sus instalaciones.

A la profesora Biserka Sveshtarova Pekarkova por darme la oportunidad de trabajar con ella, así como también por el tiempo y apoyo brindado para la realización de este trabajo.

A la profesora Ma. del Pilar Granada Macías y al Profesor Miguel Ángel Hidalgo Torres por el tiempo dedicado para la revisión de este trabajo ya que por medio de sus observaciones fue posible mejorarlo.

A ti mamá por tu lucha y esfuerzo constante para ayudarnos, a mis hermanos y a mi, a realizar nuestros sueños. Gracias por querernos tanto.

A ti papá por tu esfuerzo para darnos la oportunidad de estudiar y siempre estar al pendiente de nuestro bienestar.

A mis hermanos Héctor A. y Dafne Soria Flores espero que la relación entre nosotros mejore y tengan presente que cuentan conmigo siempre.

A mis tíos Porfirio y Josefina Flores por darme siempre su apoyo incondicional y por haber ayudado a mi formación por tantos años. Gracias por todos los consejos que me han dado.

A mi prima Edna M. López por tu comprensión y apoyo todo este tiempo. Eres mi hermana mayor.

A Ricardo Alvarado por ser parte de esta familia y por tu apoyo en los momentos buenos y en los malos.

A mi tío Alejandro Flores porque en cierta forma, por ti conocí y estudié esta carrera.

A Carlos Lugo por todo este tiempo compartido y por el gran apoyo que me has brindado. Por demostrarme antes que nada, que eres mi gran amigo; por la paciencia, comprensión, confianza y amor que me has dado.

A la familia Lugo González por haberme permitido conocerlos y haberme abierto las puertas de su casa. Al Sr. Jaime Lugo (q.p.d.) porque el tiempo que lo conocí fue suficiente para tenerlo siempre en mi memoria. A la Sra., Mercedes González por las atenciones que ha tenido conmigo y por permitirme estar en su casa tantas y tantas veces. A Francisco Lugo por ser tan cordial conmigo, espero poder conocerte más.

A Jazmin Osorio por ser tan buena amiga, por abrirme las puertas de tu casa aquí y en Veracruz. Por permitirme conocer a tu familia, todos han sido muy cálidos y hospitalarios conmigo. Gracias.

Al los verdaderos amigos que esta Facultad me permitió conocer: Adriana Méndez, Alma Gutiérrez, Ángel Islas, Belinda Ortiz, Carlos Catana, Carlos Lugo, Cinthia Castro, Claudia Rico, Jazmín Osorio, Norma Pérez, Roberto Razo que puedo decirles... por todos los momentos buenos, malos y hasta los peores que hemos pasado juntos. Espero que nos mantengamos en contacto toda la vida.

A Mónica Vidal y Luis E. Chavarría gracias por brindarme su amistad, con ambos pasó poco tiempo para hacernos buenos amigos. Espero que sigamos cultivando esta relación.

Al Profesor Raúl Guadarrama Guillén por ser un profesor y amigo incomparable. A pesar de la distancia, tengo recuerdos muy gratos de sus clases.

C O N T E N I D O

1. INTRODUCCIÓN	1
2. GENERALIDADES	3
2.1. Los antibióticos	3
2.1.1. Espectro de acción	3
2.1.2. Mecanismo de acción	4
2.2. Uso de los antibióticos en la alimentación animal	6
2.2.1. Antibióticos, aditivos en alimentación animal	9
2.2.2. Promotores de crecimiento	11
2.3. Transferencia de la resistencia a antibióticos entre microorganismos	13
2.3.1. Mecanismos de transferencia de resistencia	14
2.3.1.1. Transducción	15
2.3.1.2. Transformación	15
2.3.1.3. Conjugación	15
2.3.2. Zoonosis bacterianas	18
2.3.3. Tipos de resistencia	20
2.3.3.1. Resistencia natural	20
2.3.3.1.1. Naturaleza bioquímica de la resistencia a antibióticos	21
2.3.3.2. Resistencia adquirida	22
2.3.3.2.1. Mutación cromosomal	23
2.3.3.2.2. Resistencia por material genético transferible	23
2.3.4. Plásmidos R	24
2.3.5. Resistencia cruzada	29
2.3.6. Resistencia múltiple	30

2.4. Microorganismos antibiótico-resistentes aislados de alimentos de origen animal	32
2.4.1. Resistencia en <i>Salmonella sp.</i>	34
2.4.2. Resistencia en <i>Campylobacter sp.</i>	39
2.4.3. Resistencia en <i>Escherichia coli</i>	41
2.4.4. Resistencia en enterococos	42
2.4.5. Resistencia en <i>Listeria monocytogenes</i>	46
2.4.6. Resistencia en <i>Staphylococcus aureus</i>	48
2.5. Consecuencias para salud pública	49
2.5.1. Límite máximo residual de un antibiótico	49
2.5.2. Reglamentación	51
2.6. Alternativas al uso de antibióticos en alimentación animal	56
2.6.1. Promotores de crecimiento alternativos	56
2.6.2. Bacteriocinas	57
2.6.3. Revitalización de antiguos antibióticos	58
2.6.4. Desarrollo de vacunas	59
2.7. Otros usos de los antibióticos en la industria alimentaria	60
3. DISCUSIÓN	63
3.1. Perspectiva nacional	63
3.2. Perspectiva internacional	66
3.3. Medidas de seguridad que es recomendable considerar para evitar la propagación de bacterias antibiótico-resistentes	69
4. CONCLUSIONES	74
5. GLOSARIO	76
6. ANEXO I	79
7. BIBLIOGRAFÍA	89

1. I N T R O D U C C I Ó N

En 1929, el investigador escocés Alexander Fleming descubrió el primer antibiótico², la penicilina, cuando por accidente observó en una placa de cultivo que una bacteria no pudo sobrevivir en presencia de un hongo contaminante (*Penicillium notatum*). Fue en 1930 que la penicilina pudo ser extraída y purificada de este hongo. El término antibiótico fue propuesto por Waksman (1944) para definir sustancias dotadas de actividad antimicrobiana y extraídas de estructuras orgánicas vivientes [4, 42].

Los antibióticos se usan para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas y constituyen uno de los agentes farmacológicos más utilizados, tanto a nivel médico como veterinario, siendo administrados en muchas ocasiones en dosis inadecuadas. Si las bacterias se hacen resistentes, el antibiótico se vuelve ineficaz; la consecuencia de esto es que algunas enfermedades que se creía que estaban ya controladas vuelven a cobrar fuerza, y que algunas infecciones son cada vez más difíciles de tratar. Esto es especialmente relevante para los grupos más vulnerables de la sociedad como son: los niños, los ancianos y los enfermos [8, 9, 34, 55].

El uso excesivo de antibióticos en la medicina humana esta bien reconocido y es el principal factor que contribuye al desarrollo de resistencia a antibióticos. Sin embargo, su uso en veterinaria ha recibido últimamente mayor atención como factor contribuyente a la resistencia desarrollada por bacterias en el tratamiento de enfermedades en humanos. En los animales productores de alimentos, como aves, cerdos y ganado vacuno, algunos antibióticos se utilizan para promover el crecimiento y mejorar la eficiencia de la alimentación. El empleo indiscriminado de estos productos puede acompañarse de complicaciones tales como reacciones alérgicas, retrasos en la identificación del microorganismo causal, y tal vez una de las

complicaciones más importantes, es la aparición de bacterias antibiótico-resistentes que a su vez, crea la necesidad de buscar nuevos medicamentos [9].

Con este trabajo se busca mostrar las evidencias que soportan que la prevalencia de los microorganismos patógenos⁸ antibiótico-resistentes se está incrementando y el uso de antibióticos en animales para consumo humano está favoreciendo su selección y sobrevivencia. La presencia de estas bacterias en los animales supone un riesgo, ya que, pueden transferir genes de resistencia a los microorganismos comensales⁷ presentes en el hombre. lo cual puede conducir a una reducción en la eficacia de tales componentes en el tratamiento de infecciones en los seres humanos.

2. G E N E R A L I D A D E S

2.1. LOS ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos representan un avance importante en la medicina moderna. Sin embargo evidencias recientes apuntan hacia un aumento en el predominio de cepas antibiótico-resistentes²¹ debido al uso de estas sustancias en diversos campos [21, 37].

Como todos los agentes antimicrobianos, los antibióticos actúan ya sea destruyendo a los microorganismos o inhibiendo su crecimiento y reproducción. En el primer caso, la lisis o muerte se denomina efecto bacteriolítico o bactericida, mientras que la inmovilización del crecimiento, evitando así la división celular, se designa efecto bacteriostático [4, 37, 42, 63].

Los antibióticos son producidos por los microorganismos como metabolitos secundarios. La obtención de estos agentes se realiza industrialmente mediante el cultivo en condiciones óptimas de los agentes productores correspondientes (fermentación). La adición de precursores, que modificados ligeramente o no, formarán parte de la molécula del antibiótico, regulan directamente los procesos metabólicos. Por otra parte, mediante la mutación de las formas primitivas, se originan cepas de altos rendimientos cuyos mecanismos reguladores se hallan alterados en beneficio de la producción del antibiótico [8, 42, 69].

2.1.1. Espectro de acción

Todos los antibióticos poseen un espectro de actividad conocido sobre los microorganismos patógenos en virtud de su mecanismo de acción específico. En cuanto al número de especies o familias sensibles, el espectro de los antibióticos puede ser reducido, medio o amplio. Las

bacterias Gram positivas son generalmente mas sensibles a los antibióticos que las bacterias Gram negativas. Un antibiótico de amplio espectro actúa tanto sobre bacterias Gram positivas como Gram negativas. Y un antibiótico de corto espectro actúa solo sobre un grupo de microorganismos. Algunos antibióticos tienen un espectro de acción extremadamente limitado siendo solo efectivos sobre una especie bacteriana. El conocimiento de la resistencia natural o primaria, de la cual hablaremos mas adelante, forma parte del espectro de acción de cada antibiótico [4, 37, 42, 69].

2.1.2. Mecanismo de acción

El principio fundamental de la acción antibacteriana es que el agente debe ser selectivamente tóxico, dañando sólo a los microorganismos indeseables. Los antibióticos ejercen su efecto interfiriendo con la maquinaria metabólica de la célula bacteriana, poniendo a prueba su habilidad para sobrevivir y reproducirse [8].

La acción de los antibióticos incide sobre muchos elementos celulares (Tabla 1). Las penicilinas, las cefalosporinas, la bacitracina y la novobiocina, inhiben la biosíntesis de la pared celular de las bacterias Gram positivas. La estreptomina perturba las funciones de la membrana citoplasmática que regula las condiciones de permeabilidad, de tal modo que puede producirse la muerte de la célula por falta de regulación osmótica. El bloqueo de procesos metabólicos, especialmente la biosíntesis de proteínas, es propio de una serie de antibióticos, como el cloranfenicol, las tetraciclinas, los macrólidos y la estreptomina, entre otros [8, 69].

Tabla 1. Modo de acción de diferentes grupos de antibióticos [37]

Modo de acción	Grupo de antibióticos
Inhiben la síntesis de pared celular	β -lactámicos ⁴ (Penicilinas, Cefalosporinas), Bacitracina, Glicopéptidos
Inhiben la síntesis de proteínas	Aminoglucósidos ³ , Macrólidos ⁵ , Tetraciclinas
Interfieren con la función de la membrana celular	Polipéptidos ⁶
Interfieren con la síntesis de ADN/ARN	Quinolonas
Inhiben metabolismo	Sulfonamidas, Nitrofuranos, Nitroimidazoles
Desconocido	Poliéteres

2.2. USO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

El campo más amplio e importante de empleo no médico de los antibióticos es su utilización como ergotrópicos¹³ o estimulantes de los rendimientos en veterinaria (Tabla 2). La respuesta de crecimiento y la eficiencia alimentaria puede variar de época a época, de un lugar a otro y entre especies animales. Los antibióticos más importantes usados en veterinaria son: penicilina, estreptomina, clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, cloranfenicol, bacitracina, tilosina, kanamicina, neomicina, polimixina y sulfamidas [10, 16, 24, 69, 77].

Tabla 2. (A) Antibióticos utilizados tanto en veterinaria como en medicina humana y (B) Antibióticos utilizados como promotores de crecimiento y para aumentar la eficiencia alimentaria en animales [67]

(A)	(B)
Penicilinas, Cefalosporinas, Tetraciclinas, Cloranfenicol, Aminoglicosidos, Macrolidos, Nitrofuranos, Nitroimidazoles, Sulfonamidas y Quinolonas	Ampicilina, Ácido arsenílico, Bacitracina, Clortetraciclina, Penicilina, Espectinomina, y Virginamicina

En alimentación animal los antibióticos actúan con dos fines claramente diferenciados [9, 14, 36, 68]:

- a) Como promotores de crecimiento, favoreciéndose de esta forma el control de la flora bacteriana del animal, lo que se traduce en un mayor aprovechamiento de los nutrimentos y un aumento considerable de peso. En este caso, se incorpora al pienso¹⁷ en forma de aditivo y a concentraciones subterapéuticas que son más

bajas que las utilizadas en forma terapéutica, es decir, para tratamiento de enfermedades.

- b) Como terapéuticos y/o profilácticos, los piensos constituyen una de las vías de administración más usadas para suministrar los fármacos en el sector veterinario. Los antibióticos se incorporan a los piensos en forma de premezclas medicamentosas (sólidas o líquidas).

El utilizar a los antibióticos como suplementos, presenta las siguientes ventajas [16, 69]:

- a) Mayor incremento de peso diario
- b) Profilaxis²⁰ contra las infecciones y enfermedades
- c) Mejora de la constitución, estado de la carne y vitalidad
- d) Desarrollo regular de los grupos de la misma edad

Además de mejorar el rendimiento y de acelerar el crecimiento, los antibióticos por lo general [23]:

- a) Reducen la incidencia de diarrea en los animales jóvenes, en particular mamíferos de corta edad privados de calostro
- b) Reducen la propensión de los animales a dejar de comer
- c) En corderos que reciben raciones ricas en granos, reducen las pérdidas por enterotoxemia¹²
- d) También se utilizan para mejorar el rendimiento de los alimentos en los rumiantes y porcinos
- e) En avicultura se utilizan para mejorar la producción, incubación y calidad de los huevos

Las principales enfermedades tratadas con antibióticos en animales son las infecciones entéricas, pulmonares y la mastitis. Los mecanismos de acción comprobados de los antibióticos son los siguientes [23, 42, 67]:

- a) Economizar ciertos principios nutritivos. Se ha comprobado que los antibióticos pueden sustituir los consumos inadecuados de determinadas vitaminas y aminoácidos.
- b) Inhibir de manera selectiva el desarrollo de microorganismos que puedan destruir principios nutritivos y favorecer, al mismo tiempo, el desarrollo de los que elaboran estos principios.
- c) Aumentar el consumo de alimentos y/o agua.
- d) Inhibir el desarrollo de microorganismos que producen desechos tóxicos o toxinas.
- e) Destruir o inhibir a microorganismos patógenos dentro del tracto gastrointestinal o en otra parte del cuerpo del animal.
- f) Mejorar la digestión y la posterior absorción de ciertos principios nutritivos.

Los animales productores de alimentos generalmente se manejan en grupos grandes. Por ejemplo, los animales productores de carne se crían con el objetivo de obtener peso rápidamente y mandarlos a sacrificio lo cual sucede generalmente antes de que alcancen la madurez fisiológica. La juventud de los animales, el alojamiento en largos grupos, el frecuente movimiento y la mezcla de animales de diferentes granjas, facilita la introducción y propagación de enfermedades. Por esto, es práctica común el tratamiento de grupos enteros de animales tan pronto como los síntomas clínicos aparecen en algunos miembros del grupo (uso terapéutico). En los sistemas de producción intensivos, el tratamiento de grupos de animales antes de que los síntomas clínicos aparezcan (uso profiláctico) es una práctica rutinaria. El administrar antibióticos junto con el alimento a grupos grandes de animales, resulta práctico para fines terapéuticos, pero presenta la desventaja de que los animales enfermos y débiles con menor apetito consumen menor cantidad de antibiótico en comparación con los animales sanos. Generalmente todos los antibióticos utilizados como profilácticos se administran a través del alimento y el agua, y los antibióticos utilizados como promotores de crecimiento se administran como aditivos. Los antibióticos utilizados en alimentación animal con fines terapéuticos y

profilácticos generalmente se administran en mayor concentración en comparación con los antibióticos que se utilizan como promotores de crecimiento [32, 71].

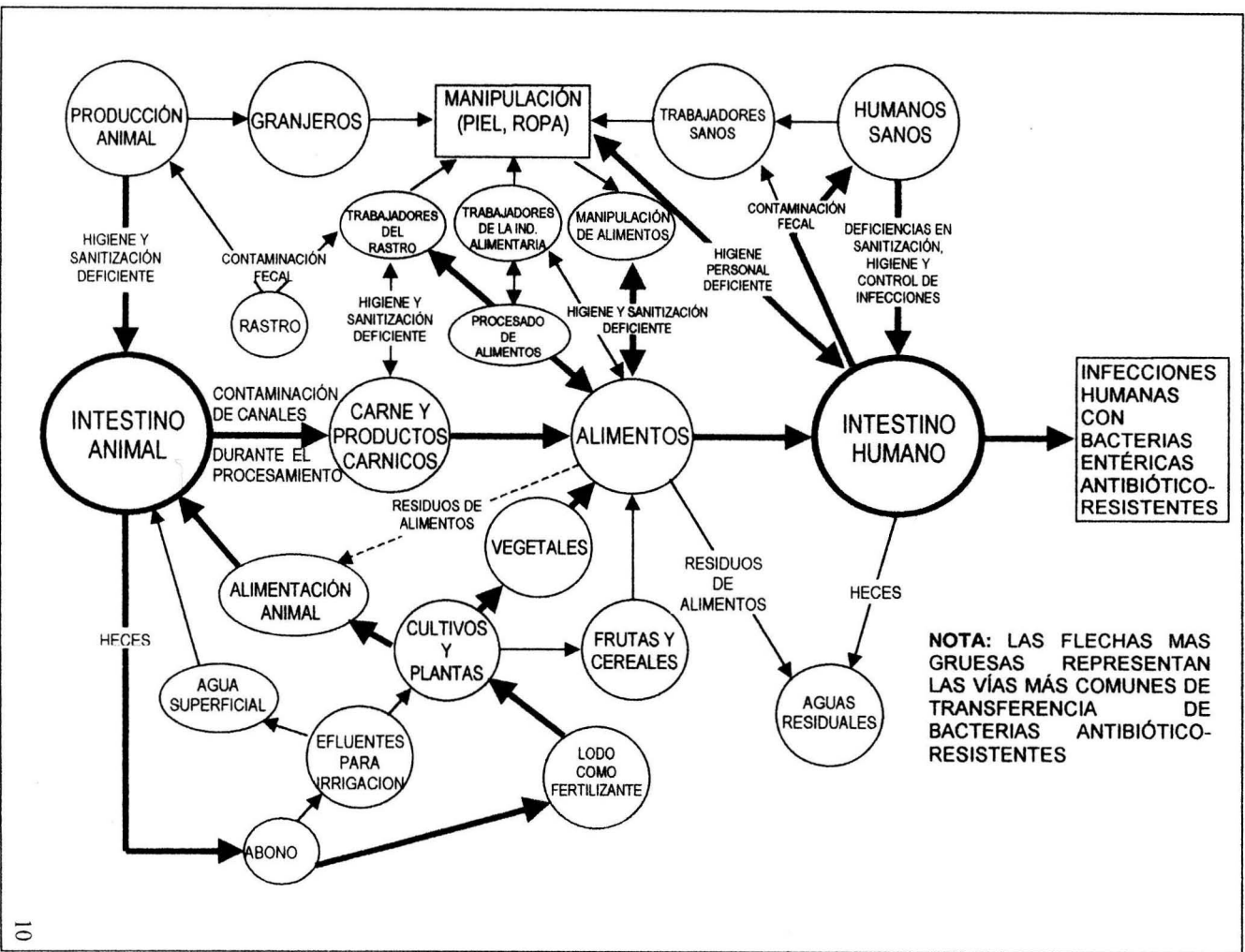
El consumo continuo de antibióticos promotores de crecimiento, aún a concentraciones subterapéuticas, fomenta la aparición de cepas de microorganismos antibiótico-resistentes en los animales por lo que los alimentos procedentes de estos, pueden contener trazas de antibióticos que se incorporan al organismo humano a través de la cadena alimenticia, fomentando la aparición de microorganismos antibiótico-resistentes en el hombre. Debido a que los ecosistemas de humanos y animales están estrechamente conectados (Figura 1), la resistencia a antibióticos cruza las fronteras fácilmente [8, 9, 15, 26, 42, 71, 75].

2.2.1. Antibióticos, aditivos en alimentación animal

El término “antibiótico alimentario” (feed additive), es utilizado en países como Estados Unidos, donde estos fármacos pueden incorporarse en la alimentación del ganado para promover el crecimiento sin prescripción veterinaria [58].

En Europa, la lista de antibióticos aptos como promotores de crecimiento en alimentación animal, se ha visto reducida durante los últimos años. Antes de 1997 se podían emplear nueve antibióticos como promotores de crecimiento: avoparcina, tilosina, espiramicina, bacitracina, virginamicina, monesina, espiramicina, flavofosfolipol y avilamicina. En ese año, la Comunidad Europea prohibió la avoparcina para evitar el riesgo de disminuir la eficacia de la virginamicina que se utiliza en medicina humana. Actualmente se admite el uso de la monesina, salinomicina, flavofosfolipol y avilamicina. Los cuatro antibióticos legalizados permiten el control de las bacterias patógenas Gram positivas que pueden colonizar el intestino de los animales, lo cual

Figura 1. Posibles vías de transmisión, presión de selección y reservorios principales de bacterias antibiótico-resistentes y genes de resistencia entre animales y humanos [37, 64, 67, 75]



facilita que el animal pueda absorber y aprovechar mejor los nutrientes que recibe a través de la dieta. Como resultado de este tratamiento se observa un crecimiento equilibrado, acorde con el alimento recibido. En explotaciones ganaderas de sistema intensivo, esta práctica facilita la producción de animales sanos, el control de la zoonosis²³ y la garantía de una producción de alimentos más seguros [9, 14, 36].

2.2.2. Promotores de crecimiento

En 1940 se inició la comercialización de productos derivados de la fermentación tales como penicilina y vitamina B₁₂. Los residuos de dichas fermentaciones se evaluaron, en aquel entonces, como alternativa para la alimentación de ganado y aves de corral y se observaron efectos favorables en el mejoramiento de la eficiencia en cuanto a crecimiento y alimentación. También se observó una disminución en los problemas de salud de los animales así como un beneficio económico considerable. Después de este descubrimiento, no pasó mucho tiempo para que se expresara que este efecto benéfico estaba asociado con la presencia de antibióticos en los residuos de la fermentación. Este hecho condujo a la utilización de niveles subterapéuticos de antibióticos en la alimentación animal, particularmente en el ganado porcino, como promotores de crecimiento [15, 30, 32].

El mecanismo de acción de los antibióticos utilizados como promotores de crecimiento no se conoce completamente. Sin embargo, algunas de las teorías más aceptadas por el momento, son las siguientes [15, 42]:

- a) Se reprimen los microorganismos responsables de infecciones poco severas
- b) Se reduce la producción de toxinas que retardan el crecimiento

- c) Los antibióticos reducen la destrucción bacteriana de nutrientes indispensables en el intestino o, a la inversa, mejoran la síntesis de vitaminas u otros factores de crecimiento
- d) Se mejora la eficiencia de absorción de nutrientes porque la pared intestinal es más delgada

Los antibióticos de amplio espectro (como la clortetraciclina) generalmente son más efectivos que los antibióticos de espectro reducido (como la penicilina y la bacitracina) en cuanto a su uso como promotores de crecimiento [15].

2.3. TRANSFERENCIA DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS ENTRE MICROORGANISMOS

En los años siguientes a la introducción y uso generalizado de la penicilina, se aislaron numerosas cepas bacterianas resistentes. Se introdujeron otros antibióticos, pero de nuevo pronto surgieron cepas resistentes, muchas de estas a más de un antibiótico. La aparición rápida y extendida de resistencia a los antibióticos en las bacterias se ha debido principalmente a su capacidad para transferir genes horizontalmente, es decir, entre individuos, además de verticalmente, es decir, de padres a hijos [44].

Se pueden identificar tres pasos críticos en la transferencia de resistencia a antibióticos de animales a humanos [37]:

Paso 1. La resistencia a antibióticos se presenta en las poblaciones bacterianas de animales ya sea por mutación de genes o porque el animal adquiere una bacteria resistente; los animales productores de alimentos son expuestos a los antibióticos; por dicha exposición las bacterias susceptibles mueren y permiten que las bacterias resistentes aumenten en número (amplificación) a expensas de las susceptibles (enriquecimiento) y; las bacterias resistentes se transmiten a otros animales de la misma manada.

Paso 2. Las bacterias resistentes se transmiten de los animales a los humanos de manera indirecta a través de la cadena alimenticia (p.ej. por contaminación de las canales en los rastros) o menos común por contacto directo (p.ej. granjeros o manipuladores de alimentos) y; las bacterias resistentes empiezan a colonizar el intestino, atacan e inician una infección (patógenos) o se mantienen de manera transitoria en el tracto gastrointestinal.

Paso 3. Los humanos con bacterias resistentes desarrollan enfermedad, el tratamiento con antibióticos ya no es efectivo y entonces se prolonga la enfermedad, o se presenta más severa, el tratamiento falla y la persona puede morir.

2.3.1. Mecanismos de transferencia de resistencia

Las bacterias antibiótico-resistentes también se pueden propagar de la granja al ambiente. Las bacterias que han adquirido resistencia y los antibióticos activos o los metabolitos activos del antibiótico, se propagan en las tierras de cultivo con el estiércol. Las bacterias resistentes son transmitidas al hombre por medio de los alimentos o por contacto con los animales. Estas observaciones sugieren que los antibióticos utilizados en la cría de ganado conducen al desarrollo de resistencia a antibióticos en algunas especies de bacterias patógenas. Desafortunadamente, una vez se ha diseminado un gen de resistencia, es difícil conocer cual fue el origen [71, 75].

Cuando una población de bacterias se enfrenta por primera vez a un antibiótico, las células más susceptibles mueren rápidamente. Sin embargo, las células que para ese entonces poseen cierto grado de resistencia o la adquieren en el momento (a través de alguna mutación o por intercambio genético), pueden sobrevivir y proliferar. El esparcimiento de bacterias antibiótico-resistentes de los animales a los humanos puede darse ya sea por la difusión de bacterias o por la difusión de genes de resistencia. Los tres métodos mediante los que las bacterias pueden transferir genes horizontalmente son: transducción, transformación, y conjugación. Sin embargo, la conjugación es el mecanismo más significativo [8, 37, 44, 45].

2.3.1.1. Transducción

La transferencia de genes de una célula a otra puede ocurrir de dos maneras. En la primera, llamada transducción generalizada, un ADN bacteriano, que puede proceder de cualquier porción del genoma de un hospedero, pasa a formar parte del ADN de una partícula vírica madura en lugar del genoma del virus. La segunda, denominada transducción especializada, ocurre sólo en algunos virus atemperados; el ADN de una región específica del cromosoma del hospedero se integra directamente en el genoma del virus, normalmente reemplazando algunos de los genes víricos. La partícula vírica transductora, tanto en la transducción generalizada como en la especializada, es normalmente defectiva como virus, es decir, no puede iniciar una infección vírica normal porque no contiene ADN vírico, ya que algunos genes víricos necesarios están reemplazados por genes bacterianos. El mejor ejemplo de transducción del fago es la transferencia del gen que codifica para la β -lactamasa de un *Staphylococcus sp.* resistente a un *Staphylococcus sp.* susceptible [33, 42, 58].

2.3.1.2. Transformación

En términos clínicos, este es un método poco importante de transferencia de genes en el cual el ADN pasa de una célula a otra alterando el genotipo de la célula receptora transformada. En algunos casos los transposones²² son transferidos de esta forma [42, 58].

2.3.1.3. Conjugación

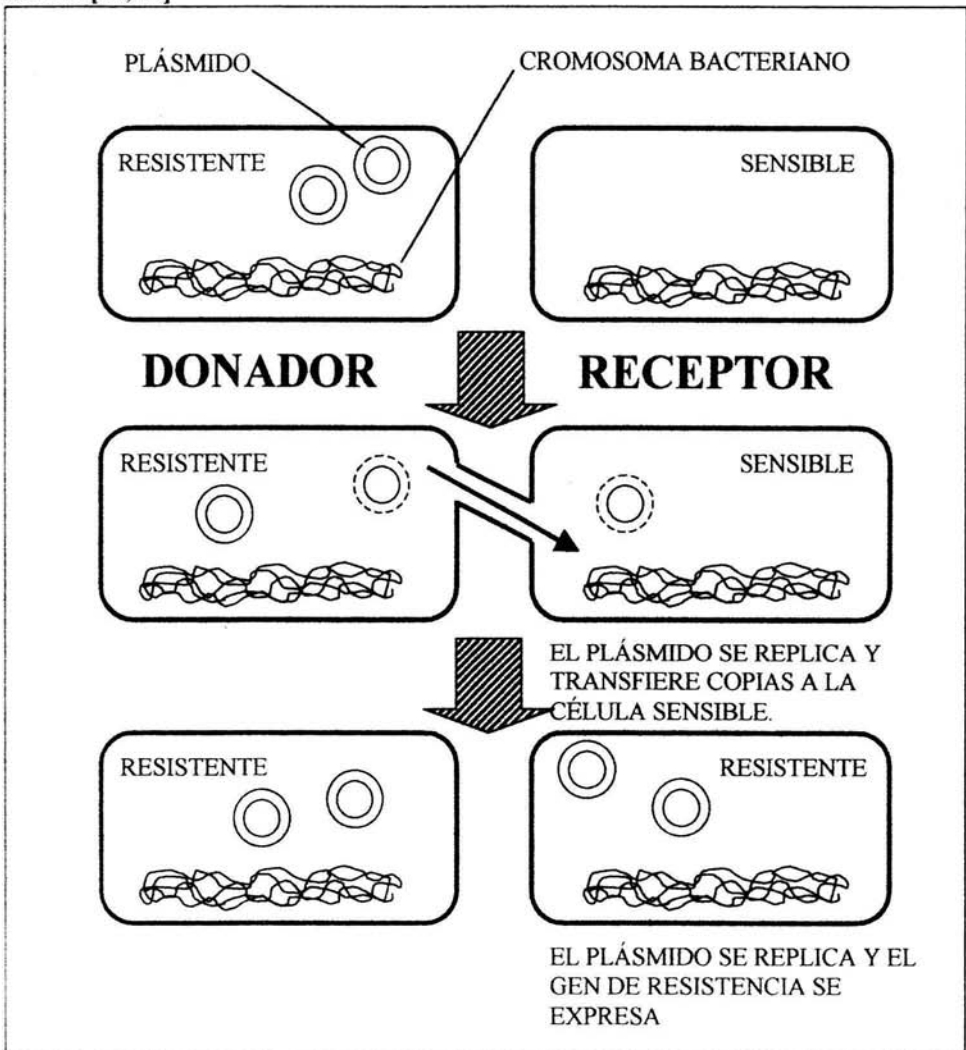
En este proceso común de transferencia de genes, una bacteria donadora sintetiza un *pili* sexual que se une a una bacteria receptora en un proceso de apareamiento y transfiere copias de

plásmidos¹⁸ con genes mediadores de resistencia al receptor, es decir, se desarrolla un puente citoplasmático entre la cepa donante (R+) y la receptora (R-), a través del cual puede pasar el ácido nucleico y el plásmido R (Figura 2). El donador retiene copias del plásmido y el receptor se vuelve un donador potencial. Esta transferencia puede ocurrir entre cepas de bacterias de la misma especie, en especies del mismo género o incluso en especies de familias diferentes. La cepa receptora y sus descendientes no sólo son antibiótico-resistentes, sino que también pueden llegar a conjugarse y pasar en forma de plásmido a otras bacterias. La importancia de la conjugación estriba en el hecho de que muchos genes de resistencia a antibióticos están situados en plásmidos. Aquellos plásmidos que portan uno o más genes de resistencia, reciben el nombre de factores o plásmidos R [33, 42, 58].

La importancia de la transferencia horizontal de resistencia surge debido al enorme número de bacterias presentes en el ambiente externo e interno tanto de los animales como del hombre. Para que se de la transferencia horizontal de genes de resistencia, no es necesario que la bacteria se exponga al antibiótico. Sin embargo las bacterias que se vuelven resistentes de esta forma, intensifican dicha resistencia si después se exponen a la acción de un antibiótico. El uso de antibióticos crea un ambiente que favorece la supervivencia de cepas que poseen plásmidos R. Estas cepas actúan entonces como reservorio para la transferencia de estos factores a otras cepas cualesquiera, incluyendo patógenos. La transferencia horizontal de genes que poseen resistencia a antibióticos ha sido demostrada entre bacterias entéricas y bacterias Gram positivas en el colon humano. Si las técnicas de manipulación de alimentos son inadecuadas aumenta la probabilidad de enfrentarse a bacterias antibiótico-resistentes. Por medio de análisis moleculares de microorganismos resistentes se ha observado que muchos genes de resistencia a antibióticos de diferentes cepas de bacterias, tanto de fuentes animales como de humanos, se mueven dentro de

estos dos grandes reservorios por medio de elementos horizontalmente móviles (HME's) ya sea a través de plásmidos, transposones o integrones¹⁴ [21, 30, 34, 37, 38, 45].

Figura 2. Transferencia de un plásmido de resistencia de una célula a otra por conjugación. Al final, cada célula tiene una copia del plásmido original y se vuelve a su vez un donador potencial [37, 44]



La resistencia a antibióticos puede presentarse ya sea por alguna mutación en el genoma bacteriano o por la adquisición de genes que codifican para la resistencia. Estos cambios genéticos alteran la función protectora de la bacteria por cambios en el blanco de acción del antibiótico, ya sea por detoxificación o expulsión del antibiótico o por la alteración de la ruta metabólica involucrada. Los mutantes resistentes a los fármacos pueden estar en desventaja en un medio que no posea antibióticos, ya que los cambios en la morfología o en la bioquímica celular que determinan la resistencia pueden reducir su capacidad para competir con las células que viven en la naturaleza [33, 75].

2.3.2. Zoonosis bacterianas

Los fenotipos de resistencia a antibióticos han sido reconocidos entre diversos microorganismos zoonóticos incluyendo a: *Salmonella no typhi*, *Campylobacter sp.*, *Escherichia coli* y los enterococos. Estos cuatro grupos son las bacterias entéricas más importantes porque se transmiten frecuentemente de animales a humanos a través de la cadena alimenticia. *Salmonella* y *Campylobacter* son bacterias zoonóticas⁹ que se transfieren al humano por contacto directo con animales o productos de estos. Son las dos causas más comunes de enfermedades transmitidas por alimentos y generalmente se transmiten por carne roja o pollo que se pueden contaminar fácilmente en los rastros por bacterias del tracto gastrointestinal de los animales. Los enterococos y *Escherichia coli* son parte de la flora normal del intestino tanto de humanos como de animales pero pueden causar enfermedad si tienen acceso a otros tejidos o heridas principalmente en pacientes inmunocomprometidos [37].

Estos microorganismos están presentes en el intestino de los animales y provocan infecciones en humanos que se vuelven difíciles de tratar debido al fenómeno de resistencia. Las

zoonosis bacterianas especialmente importantes son: tuberculosis, salmonelosis y enfermedad estafilocócica (Tabla 3). Estas enfermedades constituyen un gran riesgo por asociarse con epidemias o porque pueden causar gran morbilidad y/o mortalidad [1, 74, 75].

Tabla 3. Zoonosis bacterianas más importantes asociadas con epidemias en humanos [1]

Agente patógeno	Enfermedad	Descripción	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis	<p>Reservorio: hombre, bovinos, ovejas, cabras, cerdos, gatos, perros.</p> <p>Epidemiología: transmisión entre animales por gotas respiratorias o por vía fecal/oral. Las madres infectadas pueden transmitir la enfermedad por la leche a sus crías.</p>	<p>Diagnóstico: radiografía en pacientes humanos. Cultivo e identificación.</p> <p>Recomendaciones: eliminación del ganado enfermo. La vacuna BCG y la quimioterapia se usan solamente en el hombre.</p>
<i>Salmonella</i>	Salmonelosis	<p>Reservorio: un complejo de contaminación animal y seres humanos, mamíferos y aves infectados.</p> <p>Epidemiología: ciclos de infección entre hombre y animales a través de heces, aguas negras y efluentes que contaminan el agua potable y alimentos como leche, aves de corral congeladas, huevos, carne y productos cárnicos.</p>	<p>Diagnóstico: cultivo directo y determinación de serotipos.</p> <p>Recomendaciones: cortar la propagación de la infección por la cadena alimentaria, tratamiento de efluentes. Higiene durante el sacrificio, procesado, manipulación y cocinado de alimentos de origen animal. Pasteurización de la leche.</p> <p><u>Uso adecuado de antibióticos para los portadores y evitar la difusión de cepas antibiótico-resistentes.</u></p>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Enfermedad estafilocócica	<p>Reservorio: diversos mamíferos, inclusive el hombre.</p> <p>Epidemiología: se transmite por lesiones supuradas o mastitis, por contacto directo, objetos contaminados.</p>	<p>Diagnóstico: cultivo en laboratorio</p> <p>Recomendaciones: higiene personal.</p> <p><u>Uso adecuado de antibióticos en animales y el hombre.</u> Desinfección adecuada de materiales.</p>

2.3.3. Tipos de resistencia

La resistencia a los antibióticos se puede dividir en dos categorías: la resistencia natural debido a la fisiología, la bioquímica o la morfología de la cepa bacteriana en cuestión, y la resistencia adquirida por las bacterias después de una exposición a los antibióticos [33, 42, 58, 65].

2.3.3.1. Resistencia natural

Es la resistencia denominada también como primaria y definida como una insensibilidad de todas las bacterias aisladas de una especie. Las bacterias pueden ser resistentes a los antibióticos por la ausencia de mecanismos celulares necesarios para la acción del antibiótico. Este tipo de resistencia está presente en las enterobacterias que son resistentes de manera inherente a la penicilina G y en las bacterias Gram positivas que presentan resistencia contra la polimixina B. Algunas bacterias que son susceptibles *in vitro* pueden ser resistentes *in vivo*, tal es el caso de algunas bacterias Gram positivas que pueden perder su pared celular y permanecer dentro del cuerpo lo cual las hace resistentes a antibióticos β -lactámicos. De igual forma, las bacterias Gram positivas que *in vivo* se multiplican lentamente pueden también ser resistentes a antibióticos que actúan a nivel de pared celular ya que estos sólo afectan a aquellos organismos que se desarrollan rápidamente. Generalmente las bacterias Gram negativas son más resistentes a los antibióticos que las Gram positivas debido a que las primeras poseen una membrana externa que es rica en lípidos y envuelve a la pared celular. La mayor resistencia intrínseca de los organismos Gram negativos a los antibióticos puede depender de la existencia de una permeabilidad inespecífica a nivel de la membrana externa, evitando el paso de las moléculas de

antibióticos a su lugar de acción. Si las bacterias Gram negativas se tratan con agentes que extraen de manera selectiva una parte de la membrana externa se pierde la resistencia intrínseca a los antibióticos. Por ejemplo el tratamiento de *Escherichia coli* con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) extrae los lipopolisacáridos de la membrana externa y sensibiliza a la célula frente a los antibiótico. Por otro lado, el género *Enterococcus* muestra resistencia intrínseca contra las cefalosporinas, la mayoría de los antibióticos β -lactámicos y en menor intensidad contra los aminoglucósidos. [4, 22, 33, 37, 58].

2.3.3.1.1. Naturaleza bioquímica de la resistencia a antibióticos

La naturaleza bioquímica de la resistencia a antibióticos se puede deber a los siguientes factores:

- a) Modificaciones de la zona bacteriana en donde actúa el antibiótico, haciéndola insensible al fármaco, manteniendo sus funciones celulares normales.
Esto puede provocar cambios de la morfología celular o de su bioquímica. La resistencia de algunas bacterias a la estreptomycin se ha demostrado que se debe a modificaciones específicas de la estructura de los ribosomas bacterianos que evitan la unión del antibiótico con ellos [2, 4, 28, 33, 37, 42, 79].
- b) La imposibilidad de acceso del antibiótico a su lugar de acción.
La pérdida de la permeabilidad celular para el antibiótico, con la consiguiente incapacidad por parte del fármaco para alcanzar una concentración interna suficiente para dañar la célula se debe, con frecuencia, al resultado de cambios específicos en la envoltura celular. Se ha demostrado que los mutantes resistentes a la ampicilina de *Salmonella typhimurium* y de *Escherichia coli* poseen modificaciones de los polisacáridos de la pared celular [31, 33, 42, 79].

c) La síntesis de enzimas que destruyen los antibióticos.

En la práctica clínica, los microorganismos que destruyen a los antibióticos son, en general, las bacterias Gram positivas que fabrican penicilinas, particularmente ciertas cepas de *Staphylococcus sp.* Estas enzimas hidrolizan el anillo β -lactámico liberando ácido penicilóico o cefalospórico, que son biológicamente inactivos. Estas cepas deben su resistencia a la inactivación enzimática del antibiótico, ya que la pared celular aislada se comporta de manera similar a la de las cepas progenitoras sensibles a la penicilina. La enzima cloranfenicol acetiltransferasa, que puede ser inducida por el cloranfenicol en el *Staphylococcus aureus*, produce la acetilación del antibiótico y origina derivados mono y diacéticos que son inactivos. También se ha demostrado la presencia de enzimas capaces de hidrolizar a las polimixinas y adenilar la estreptomycinina en bacterias resistentes a los antibióticos. El grupo de antibióticos aminoglucósidos se inactivan por tres mecanismos: adenilación, y fosforilación de grupos hidroxilo y acetilación de grupos amino [2, 4, 28, 33, 79].

2.3.3.2. Resistencia adquirida

Cuando una población de cualquier tipo de organismos se expone a un estrés, se presenta una selección natural a favor de aquellos individuos mejor dotados para la supervivencia. Los antibióticos actúan como agentes seleccionadores que evitan el crecimiento de las células sensibles y permiten la aparición de cepas mutantes resistentes. La resistencia adquirida se diferencia de la resistencia natural porque se alcanza de un modo parcial por pocos o muchos integrantes de una misma especie o cepa pero no por la totalidad. Por lo tanto es fragmentaria, no abarca a toda la especie. Este tipo de resistencia se puede originar por una mutación a nivel de cromosomas o por la adquisición de material genético transferible. Una vez un gen de resistencia o una mutación está presente y expresada, las células que lo contienen se enriquecen por selección, es decir, son capaces de desarrollarse en presencia del antibiótico y crecer a expensas

de las células susceptibles. Como ejemplo se pueden mencionar a los enterococos que presentan resistencia adquirida frente al cloranfenicol, las tetracinas y los glicopéptidos [4, 22, 29, 33, 37, 39, 58].

2.3.3.2.1. Mutación cromosomal

Las mutaciones cromosomales que originan resistencia tienden a producir cambios estructurales en la célula de la bacteria mientras que la resistencia transferible tiende a codificar para enzimas que metabolizan antibióticos. Generalmente la resistencia cromosomal es gradual. La variación en los eventos de mutación son característicos para cada antibiótico. Los antibióticos para los cuales las bacterias desarrollan rápidamente resistencia cromosomal (como la eritromicina y la estreptomycin) son utilizados a menudo en combinación con otros antibióticos.

Los mecanismos de resistencia que se dan son los siguientes [37, 58]:

- a) Inactivación enzimática de los antibióticos
- b) Alteración de la permeabilidad de la célula
- c) Alteración en los receptores diana
- d) Desarrollo de mecanismos alternos a la ruta metabólica
- e) Desarrollo de enzimas con baja afinidad al antibiótico
- f) Producción de metabolitos competitivos

2.3.3.2.2. Resistencia por material genético transferible

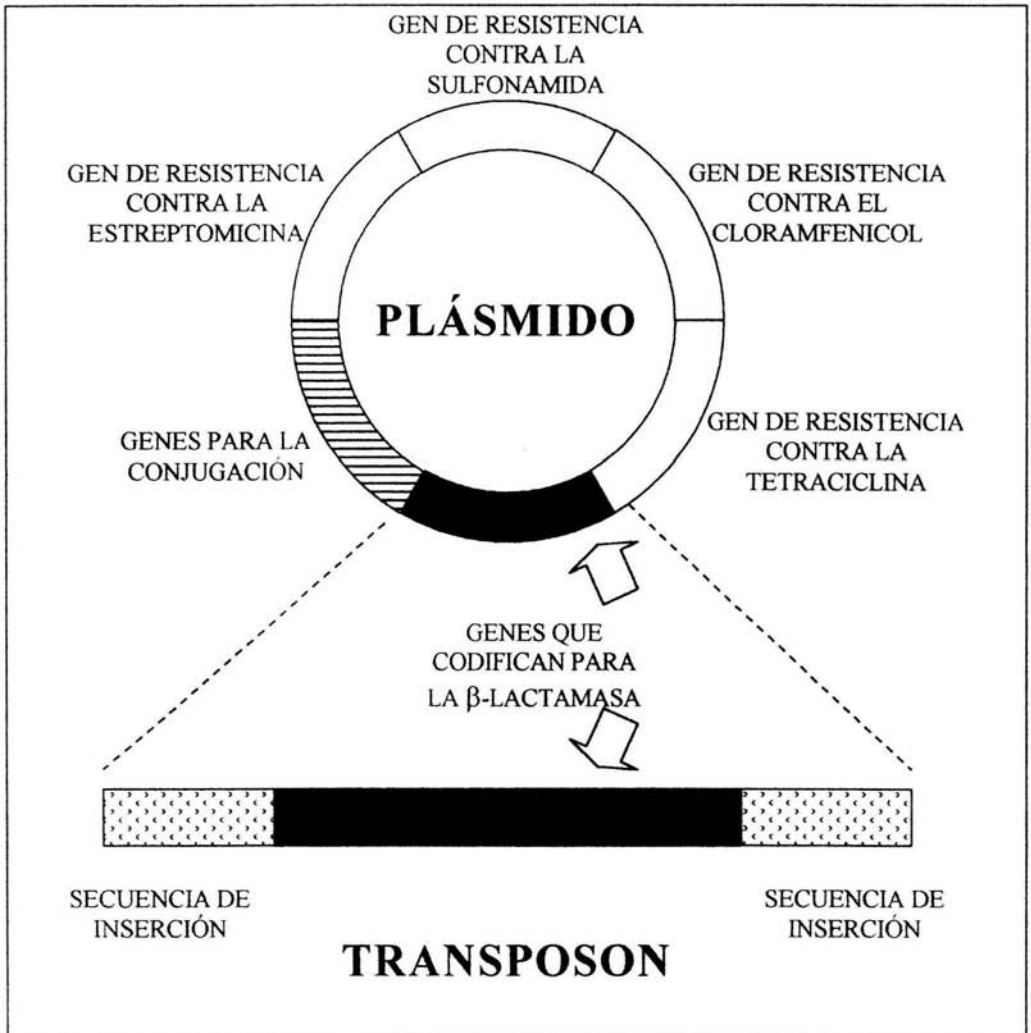
La transferencia de material genético produce resistencia a menudo para varios antibióticos al mismo tiempo. El ADN extracromosomal responsable de la resistencia puede reproducirse por

si mismo dentro de la célula y después dispersarse a otras células. Las poblaciones bacterianas tienen la habilidad de compartir información genética para promover su sobrevivencia en ambientes adversos. La ausencia de una membrana nuclear implica que los genes pueden moverse libremente entre el cromosoma y otros elementos genéticos en la célula y de ahí, mediante bacteriófagos, conjugación o por transformación, pueden moverse hacia otras bacterias [37, 58].

2.3.4. Plásmidos R

Los elementos genéticos responsables de la transferencia de resistencia a antibióticos son los plásmidos R y estos pueden determinar la aparición de resistencia a diversos antibióticos de forma individual o colectiva ya que poseen regiones con genes que pueden codificar para la resistencia a uno o más antibióticos (resistencia múltiple), y para la capacidad de la bacteria de transferir genes por conjugación (Figura 3). Estos factores se encuentran en las bacterias en forma de ADN extracromosomal y se replican de forma independiente pero sincronizada con el ADN cromosomal. Son relativamente estables y se pueden heredar pero no son requeridos para la sobrevivencia de la bacteria. La preocupación es que estos plásmidos R pueden ser transferidos desde la flora presente en el ganado cuya dieta incluye antibióticos, a la flora presente en el intestino humano. En general, los plásmidos R pueden llevar una gran variedad de genes de resistencia los cuales codifican proteínas que inactivan el antibiótico o afectan su transporte hacia el interior de la célula. Por ejemplo, el plásmido R100 lleva genes de resistencia para las sulfonamidas, estreptomycin y espectinomycin, cloranfenicol y tetraciclinas. Este plásmido se transfiere entre bacterias entéricas de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* y *Shigella* [15, 22, 28, 42, 64].

Figura 3. Composición de un plásmido (izquierda) que confiere multiresistencia a antibióticos; y estructura de un transposon (derecha) que contiene los genes que confieren resistencia y pueden ser transferidos entre plásmidos o de un plásmido al ADN cromosomal [58].



Al principio fue difícil comprender como podían surgir los plásmidos, debido a la pequeñísima probabilidad de que varias de las mutaciones necesarias tuvieran lugar en el mismo plásmido. La contestación llegó con el descubrimiento en los años 70 de los transposones (Figura 4). En las bacterias los transposones pueden moverse dentro de los plásmidos y entre los plásmidos y el cromosoma bacteriano principal. Pueden también insertarse y escindirse del ADN de los bacteriófagos. El aspecto más importante de los transposones es que contienen uno o más genes además de los requeridos para la transposición los cuales, a menudo, confieren resistencia a los antibióticos [4, 42, 45].

Aunque no se dispone de una evidencia específica acerca del origen de los plásmidos R de resistencia múltiple a los antibióticos, hay una serie de hechos que sugieren que estos ya existían antes de que se iniciara la era antibiótica. Una explicación cercana a esto se presenta en la “Hipótesis del reservorio” donde se plantea que el creciente uso de los antibióticos proporcionó condiciones selectivas para la dispersión de los plásmidos R con uno o más genes de resistencia a los antibióticos (Figura 5). Por ejemplo, una cepa de *Escherichia coli* que fue congelada en 1946, contenía un plásmido con genes que conferían resistencia a la tetraciclina y a la estreptomina, a pesar de que ninguno de estos antibióticos empezó a utilizarse en clínica hasta varios años después. Lo que tal vez tiene aún más significado ecológico es que los plásmidos R que confieren resistencia a los antibióticos, han sido detectados en algunas bacterias no patógenas habitantes del suelo. En el suelo, esta resistencia puede conferir ventaja selectiva porque los principales organismos productores de antibióticos (*Streptomyces* y *Penicillium*) son también organismos habitantes normales del suelo. Más tarde, el uso extendido de los antibióticos proporcionó las condiciones selectivas para una rápida dispersión de estos plásmidos R. Los plásmidos R son por

tanto, un producto predecible de la selección natural e imponen límites significativos a la utilización a largo plazo de cualquier antibiótico como agente terapéutico [34, 42].

Figura 4. Estructura típica de un transposon en este caso el transposon Tn3. Entre las repeticiones invertidas hay un gen que codifica para la enzima transposasa que es necesaria para la inserción, un gen Ap que confiere resistencia a la ampicilina y a otros antibióticos β -lactámicos relacionados, y un gen que codifica para una proteína represora que controla la transcripción del gen de la transposasa y del propio gen represor. Las flechas indican la dirección de la transcripción [45]

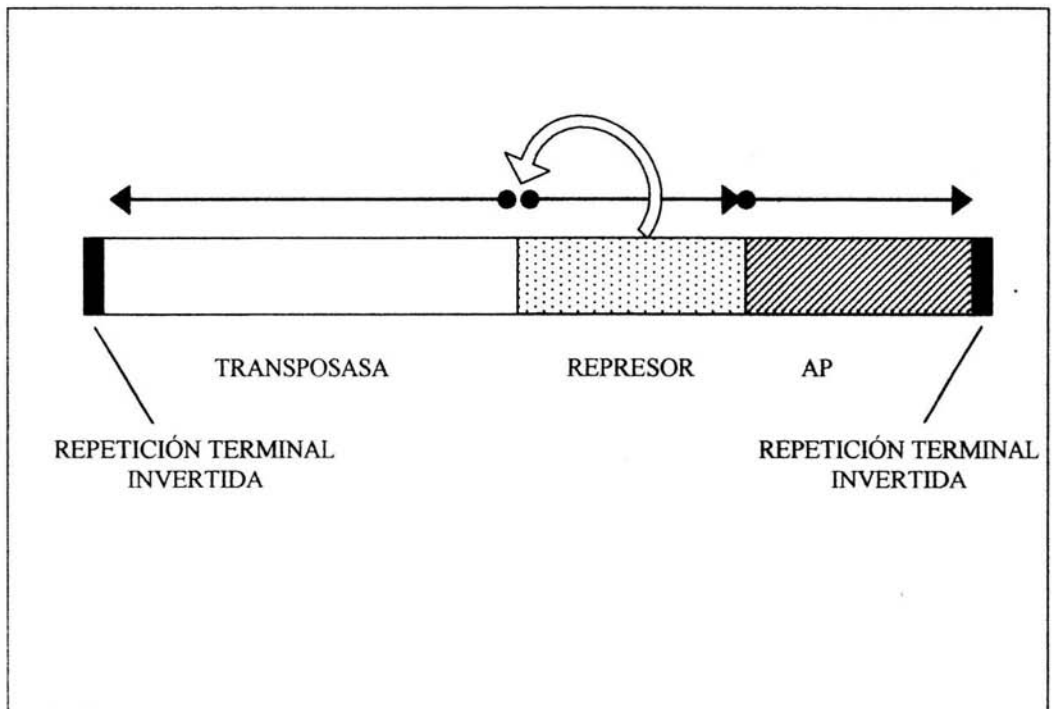
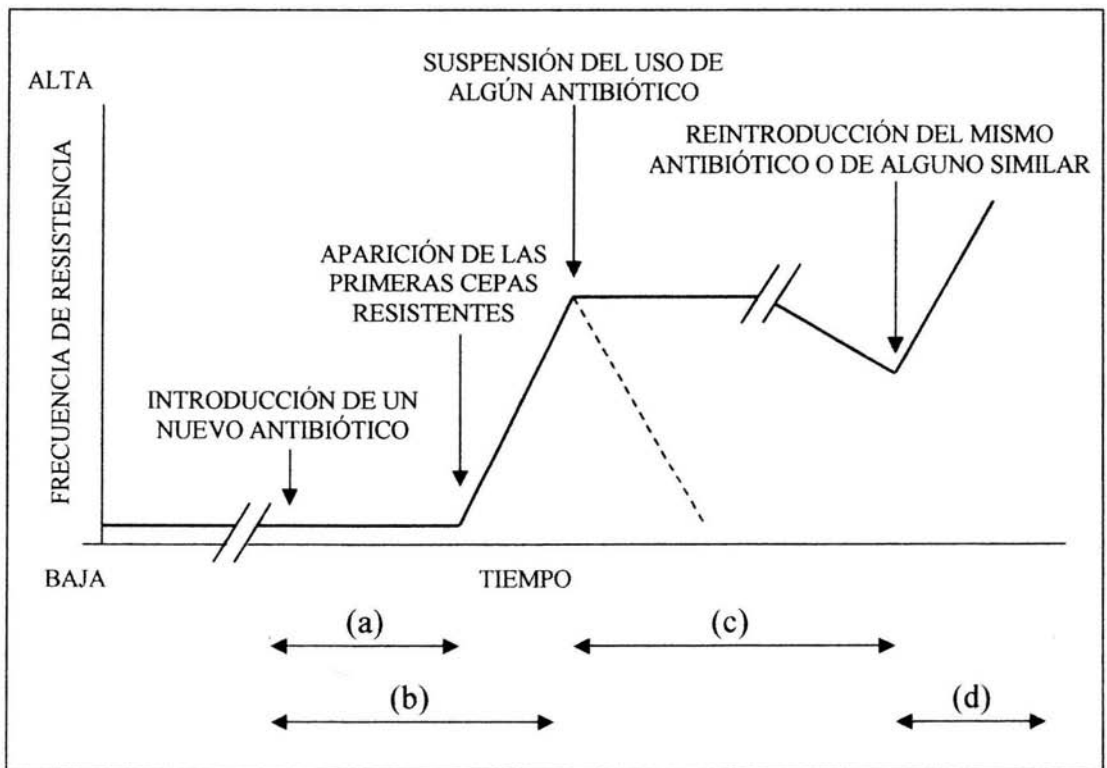


Figura 5. "Hipótesis del reservorio". (a) Antes de que el hombre utilizara los antibióticos los microorganismos resistentes y los microorganismos susceptibles mantenían un equilibrio en el ambiente, predominando en cierta forma los microorganismos susceptibles (b) Cuando el hombre empieza a utilizar los antibióticos se crea una presión de selección donde solo sobreviven los microorganismos mas fuertes, en este caso la población resistente y entonces se empiezan a aislar cepas resistentes a mas de un antibiótico (c) Si se reduce o detiene el uso de los antibióticos entonces los microorganismos susceptibles mas competitivos podrían drenar el reservorio de microorganismos resistentes (d) Sin embargo, el fenómeno de resistencia podría no disminuir y si se reintroducen antibióticos similares, entonces la resistencia podría resurgir de manera considerable y en un lapso de tiempo mas corto [34]



2.3.5. Resistencia cruzada

La resistencia cruzada se da cuando un microorganismo haciéndose resistente a un antibiótico, en ese momento se vuelve también resistente a otro(s) antibiótico(s) ya sean del mismo o de diferente grupo (Tabla 4). Por ejemplo, los genes que codifican para la resistencia contra el cloranfenicol, están situados de forma adyacente a los genes que codifican para resistencia contra la estreptomina, espectinomicina y ampicilina, por lo que una bacteria que presenta plásmidos R para el cloranfenicol¹¹ puede también presentar resistencia contra al menos tres antibióticos más. En *Staphylococcus aureus*, se ha encontrado que la exposición a un antibiótico, como la ampicilina, puede aumentar también la resistencia de la bacteria contra otros antibióticos [8]. Otro ejemplo se observa en los aminoglicósidos, donde la resistencia frente a nuevos antibióticos, como la gentamicina, está asociada con resistencia frente a antibióticos más viejos como la neomicina. La resistencia cruzada es común entre los antibióticos macrólidos. De 1992 a 1996, Australia importó un promedio de 582 kg de vancomicina por año con fines medicinales y 62,642 kg de avoparcina por año para cría de ganado. La vancomicina y la avoparcina tienen el mismo modo de acción; por lo que si se presenta resistencia a una, entonces se puede conferir resistencia a la otra. El concepto de resistencia cruzada es de interés médico, porque engloba a los antibióticos con estructura química idéntica. Si el mecanismo de acción del fármaco es similar, la bacteria resistente a uno de los integrantes del grupo lo será también a los demás [4, 7, 37, 58, 75].

Tabla 4. Antibióticos utilizados en Agricultura que provocan resistencia cruzada con antibióticos de importancia clínica en humanos (36)

Antibiótico utilizado en agricultura	Grupo de antibióticos al que pertenece	Antibiótico utilizado en medicina humana
Avoparcina	Glicopéptidos	Vancomicina
Eurofloxacina	Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina
Espiramicina	Macrólidos	Eritromicina
Virginamicina	Estreptograminas	Eritromicina
Avilomicina	Oligosacáridos	Everinomicina

2.3.6 Resistencia múltiple

Además de la preocupación por la resistencia desarrollada a un solo antibiótico, esta la aparición de multiresistencia. En este caso, una sola mutación provoca resistencia frente a antibióticos que no poseen parentesco químico ni el mismo mecanismo de acción. La presencia de resistencia múltiple a los antibióticos se debe al hecho de que un solo plásmido contiene varios genes que codifican diferentes enzimas que inactivan a diferentes antibióticos. Por ejemplo las cepas que llevan plásmidos R que confieren resistencia frente a los antibióticos aminoglicósidos contienen enzimas que modifican químicamente los antibióticos, ya sea por fosforilación, acetilación o adenilación. El fármaco modificado carece entonces de actividad antibiótica. En el caso de bacterias patógenas, la resistencia a aminoglicósidos, con pocas excepciones, esta codificada en transposones lo cual explica la rápida diseminación de resistencia entre la población bacteriana. Se han encontrado plásmidos R en cepas aisladas de *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* que contienen diferentes genes de multiresistencia a

antibióticos. En el caso de las penicilinas, la resistencia del plásmido R se debe a la formación de penicilinasas que rompen el anillo β -lactámico, destruyendo así la molécula. Por otro lado la resistencia al cloranfenicol mediada por un plásmido R surge por la presencia de una enzima que acetila al antibiótico [18, 37, 42, 69, 79].

2.4. MICROORGANISMOS ANTIBIÓTICO-RESISTENTES AISLADOS DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Las bacterias relacionadas con los alimentos forman parte de un grupo heterogéneo que habita en nichos muy diversos donde se producen y manipulan los alimentos para consumo humano. Por muchas décadas el foco de atención sobre la dispersión y los mecanismos que involucran la resistencia a antibióticos se había concentrado en las bacterias patógenas. Ahora, también se busca conocer la movilidad y transferencia de genes de resistencia entre bacterias de la flora normal de animales y humanos. La microflora intestinal es un componente indispensable en la fisiología humana porque actúa como barrera contra la colonización del tracto gastrointestinal por bacterias patógenas. También juegan un papel importante en la digestión de los alimentos y el metabolismo de los fármacos y nutrientes. Exposiciones repetidas a dosis terapéuticas de antibióticos pueden perturbar la microflora normal del intestino humano por cambios en la densidad de población y composición, alterando la actividad enzimática del metabolismo de sustancias endógenas y exógenas y actuando como barrera ante la colonización por patógenos lo cual puede incrementar la susceptibilidad a la infección por bacterias entéricas como *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* [11]. Se han realizado algunos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* para conocer el efecto de los residuos de antibióticos tanto en la microflora del intestino como en microorganismos patógenos y así conocer el riesgo potencial que se puede presentar para el ser humano. En Europa, específicamente en Holanda, se han reportado casos de *Campylobacter jejuni* resistente a las quinolonas en carne de pollo, por lo que el uso de quinolonas, al igual que de otros antibióticos en veterinaria debe ser regulado con más rigor. Enterococos vancomicina-resistentes también se han detectado en pollo como consecuencia del uso de avoparcina como promotor de crecimiento. Por otro lado, se ha encontrado que

Salmonella y *Escherichia coli* aisladas de animales destinados para consumo humano y de muestras de carne en Estados Unidos contienen el gen *bla*_{CMY-4}, que es responsable de la resistencia a la ampicilina y amoxicilina. El 41% de 200 muestras analizadas de carne de pollo, res, pavo y puerco adquiridas en tres supermercados de Washington D.C., resultaron contaminadas con *Salmonella* y cerca del 53% de las cepas aisladas resultaron resistentes a, por lo menos, tres antibióticos. En Ghana, la carne de pollo que se consume a nivel local y también la de importación, resultó ser fuente potencial de bacterias multiresistentes a antibióticos correspondientes a los géneros *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Escherichia coli*. Todas las cepas de *Escherichia coli* aisladas de 12 serotipos diferentes resultaron resistentes a la ampicilina, penicilina, tetraciclina y eritromicina [64].

Muchos patógenos relacionados con los alimentos así como algunas bacterias oportunistas tienen o pueden tener hábitats en la piel o en el tracto gastrointestinal de los animales destinados para consumo humano. También pueden entrar en los productos cárnicos y lácteos durante el sacrificio y la ordeña respectivamente o pueden contaminar vegetales crudos cuando el suelo es fertilizado con estiércol [67].

Para reducir la presencia de bacterias antibiótico-resistentes se deben cambiar las prácticas actuales del uso de estos. Si el amplio uso de antibióticos ha dado lugar al aumento de cepas antibiótico-resistentes aisladas, entonces el utilizarlos moderadamente o incluso suspender su uso puede ayudar a disminuir el número de estos microorganismos, especialmente a través de la reducción o eliminación de dosis subterapéuticas en los animales destinados a consumo humano. Especialistas de todo el mundo llevan décadas advirtiendo de los riesgos que supone para la salud el incremento de microorganismos resistentes a los antibióticos y de la necesidad, por tanto, de hacer un uso moderado de estos medicamentos en el hombre y en los animales (Tabla 6).

Tabla 6. Principal preocupación con respecto a la presencia de bacterias patógenas antibiótico-resistentes [37]

Microorganismo	Preocupación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Resistencia frente a antibióticos β -lactámicos en cepas MRSA. Aumento de la resistencia a antibióticos orales (rifampicina, ciprofloxacina y ácido fusídico)
<i>Salmonella no typhi</i>	Resistencia frente a las fluoroquinolonas; aumento de las cepas multiresistentes en Europa y USA especialmente <i>Salmonella</i> DT104.
<i>Salmonella typhi</i>	Cepas multiresistentes especialmente en Asia.
<i>Escherichia coli</i>	Alta resistencia a la penicilina especialmente a las cefalosporinas de primera generación, tercera generación, fluoroquinolonas.
<i>Enterococcus spp.</i>	Resistencia a glicopéptidos (vancomicina y teicoplanina). Resistencia a aminoglicósidos.

La propagación de resistencia ha estado bajo inspección por diversos grupos alrededor del mundo. Existen diversos estudios que se han realizado para conocer y evaluar el desarrollo de la resistencia a antibióticos en microorganismos. A continuación se presentan las evidencias científicas que soportan lo antes mencionado.

2.4.1. Resistencia en *Salmonella sp.*

El uso excesivo de antibióticos como aditivos en alimentación animal y en el control y tratamiento de infecciones causadas por *Salmonella sp.* en ganado vacuno constituyen factores de predisposición para el desarrollo de cepas multiresistentes como *Salmonella typhimurium* DT104 la cual generalmente constituye una amenaza significativa para la industria alimenticia. Existe una alta probabilidad para la transmisión de dichas cepas multiresistentes a los humanos a través

de la cadena alimenticia. Piddock (1996) sugiere tres posibles vías en las cuales el uso de antibióticos puede resultar un riesgo para la salud humana las cuales son: (1) se seleccionan patógenos antibiótico-resistentes en animales, después los productos alimenticios se contaminan durante el sacrificio del animal y/o durante la preparación del alimento, posteriormente el alimento es ingerido provocando infección que requiere tratamiento con antibióticos y la terapia se ve comprometida por la presencia de cepas resistentes; (2) bacterias resistentes que no son patógenas se seleccionan en animales y después se transfieren a los humanos por el consumo de alimentos contaminados y los genes de resistencia se transfieren a otras bacterias en el intestino; (3) los antibióticos que pueden permanecer como residuos en los productos de origen animal como la carne y la leche también pueden permitir la selección de bacterias resistentes en el consumidor del producto alimenticio [21].

La mayoría de las infecciones causadas por *Salmonella* en humanos resultan de la ingestión de carne de pollo, res, puerco, huevos, leche o agua contaminados [20, 73]. La infección intestinal típica se supera en 5 o 7 días y no requiere de tratamiento con antibióticos. Sin embargo cuando la infección se esparce a lo largo del tracto gastrointestinal se puede utilizar una terapia a base de antibióticos apropiada como el ciprofloxacina en adultos y el ceftriaxón en niños. Generalmente las infecciones causadas por *S. typhi* se tratan con fluoroquinolonas y cloranfenicol, y algunas cepas responden al tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol y algunos β -lactámicos como la ampicilina [37]. El uso de agentes antimicrobianos en cualquier ambiente crea una presión de selección¹⁹ que favorece la sobrevivencia de patógenos antibiótico-resistentes. De acuerdo al reporte de enfermedades infecciosas que se dio a conocer por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2000, dichos microorganismos se han encontrado en diversos países. A lo largo de los últimos 10 años, la incidencia de infecciones

humanas con *S. typhimurium* DT104 multiresistente han aumentado considerablemente. Recientemente se han aislado cepas de *S. typhimurium* resistentes a más de un antibiótico en Gran Bretaña y Estados Unidos. Este microorganismo se ha diseminado de los animales al hombre a través de la cadena alimenticia y esto ha provocado un aumento en las cepas resistentes aisladas obtenidas de infecciones en humanos.

White *et al.*, analizaron muestras de carne cruda de diversos supermercados de Washington D.C. y encontraron que el 20% de estas estaban contaminadas con *Salmonella*. El 84% de un grupo de cepas aisladas (38 de 45) mostraron resistencia a al menos un antibiótico, y 53% (24 de 45) mostraron resistencia a por lo menos tres antibióticos. Con respecto a la multiresistencia a antibióticos se observó que las cepas eran resistentes a la estreptomycinina, sulfametoxazol, y tetraciclina. Gupta *et al.*, también analizaron muestras de carne en E.U.A. y además de reportar resistencia a los antibióticos antes mencionados, también encontraron cepas resistentes a la ampicilina y el cloranfenicol. De particular importancia resultaron las cepas multiresistentes *S. typhimurium* serotipos DT208 y DT104. *S. typhimurium* DT104 es generalmente resistente a la ampicilina, el cloranfenicol, la estreptomycinina, las sulfonamidas y las tetraciclina [76]. La contaminación de carne de venta al menudeo que contiene *Salmonella* resistente proviene del ganado; por lo que las estrategias de control se deben enfocar principalmente a reducir el número de patógenos presentes en las granjas y en los rastros. El Ceftriofur (cefalosporina) es el único antibiótico de amplio espectro aprobado para uso en los animales destinados para consumo humano en Estados Unidos. El Ceftriaxon se utiliza comúnmente para tratar salmonelosis en niños por sus propiedades farmacocinéticas y la baja prevalencia de resistencia. Reportes previos han descrito cepas de *Salmonella* con el gen de resistencia *bla*_{CMY-2} que confiere resistencia tanto al Ceftriofur como al Ceftriaxon. Los integrones, que son elementos de ADN móviles, se han

asociado con la transferencia de resistencia y a menudo contienen uno o más genes asociados con la resistencia a antibióticos. También se han identificado integrones que confieren resistencia a la estreptomycin y trimetoprim en algunos serotipos de *Salmonella*, lo cual sugiere que los integrones juegan un papel importante en la transferencia de resistencia entre estos serotipos. Los descubrimientos de estos estudios demuestran que estas cepas multiresistentes pueden crecer dentro de los animales alimentados con dosis subterapéuticas de antibióticos cuando se reprimen las bacterias de la flora normal. El reservorio resultante puede persistir y transmitirse a otros animales y eventualmente al suministro de alimentos [31, 73].

Un estudio que se llevó a cabo durante siete años en España reveló que la resistencia a ampicilina presente en *Salmonella* aumentó de 8 a 44%, la resistencia a la tetraciclina de 1 a 42%, la resistencia al cloranfenicol de 1.7 a 26% y la resistencia al ácido nalidixico de 0.1 a 11%. En Estados Unidos la resistencia a la tetraciclina en *Salmonella* ha aumentado de 9% en 1980 a 24% en 1999 y la resistencia a la ampicilina de 10 a 14% [74].

Del Cerro *et al.* (2003), estudiaron 56 cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos crudos (carne picada, pollo, salchichas y huevo) y de granjas de cría de pollos en Asturias, España. El 54% de las cepas resultaron susceptibles a todos los antibióticos evaluados (estreptomycin, ampicilina, cloranfenicol, trimetoprim, tetraciclina, kanamicina, gentamicina); el 46% restante mostró de 2 a 8 resistencias probando a los antibióticos en diferentes combinaciones. 15 de las 21 cepas aisladas de carne de puerco, salchichas y carne picada, así como 4 de las 8 cepas aisladas de pollo mostraron multiresistencia frente a los antibióticos evaluados. Las cepas de *Salmonella* aisladas de muestras de productos cárnicos presentaron un alto porcentaje de multiresistencia frente a los antibióticos probados [20]. La resistencia frente a los antibióticos que presenta el género *Salmonella* es un problema de salud pública y veterinaria muy importante al grado de que

la Organización Mundial de la Salud (WHO) ha dado prioridad en cuanto a acción internacional se refiere.

En Irlanda, se permite el uso de antibióticos como la avilamicina, tilosina, virginamicina y salinomicina como aditivos alimentarios en diferentes campos como son la producción porcina y la de aves de corral. Debido a esto se realizó un estudio en Irlanda, donde se evaluaron muestras de carne cruda de venta al menudeo para saber que tan frecuente era la presencia de *Salmonella sp.* antibiótico-resistente y todas las cepas evaluadas resultaron resistentes a uno o más antibióticos [21]. La resistencia observada puede ser atribuida a diversas fuentes incluyendo la resistencia natural (intrínseca) de las especies a determinados antibióticos, posible transferencia de resistencia a antibióticos entre especies o al uso subterapéutico de antibióticos en la alimentación animal para mejorar la productividad de los animales.

La resistencia a las quinolonas es indeseable ya que estos antimicrobianos son altamente eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades producidas por bacterias multiresistentes en humanos. Orden y de la Fuente (2001) han descrito aislados de *Salmonella sp* resistentes a quinolonas y también han asociado esta resistencia al uso de estos antimicrobianos en medicina veterinaria. Se ha descrito en el Reino Unido un incremento en los últimos años de la resistencia al ácido nalidixico en cepas de *Salmonella* aisladas de animales y este incremento se ha asociado al uso de fluoroquinolonas en la práctica veterinaria [55].

El aumento de resistencia a los antibióticos entre especies de *Salmonella* es desafiante y es necesario aprender más acerca del fenómeno de resistencia y como limitar los efectos negativos si queremos controlar el uso seguro y efectivo de los antibióticos tanto en veterinaria como en medicina humana. Por ejemplo, en el Reino Unido, las infecciones causadas por *Salmonella* se vigilan por el método de análisis de riesgos y control de puntos críticos (HACCP) el cual incluye

el entrenamiento de los manipuladores de alimentos en cuanto a medidas de seguridad y también considera la importancia de prevenir contaminación cruzada de alimentos ya procesados con alimentos crudos y ayudar a la reducción de contaminación fecal de las canales en los rastros [37].

2.4.2. Resistencia en *Campylobacter* sp.

Los microorganismos pertenecientes al género *Campylobacter* son bacilos delgados, curvos móviles y Gram negativos. Generalmente son microaerófilos, sin embargo algunas cepas crecen en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. No sobreviven por mucho tiempo si se exponen a ambientes secos o al aire. Los brotes de enfermedades en alimentos por este microorganismo son poco comunes y cuando se presenta enfermedad generalmente causa diarrea. Las enfermedades gastrointestinales causadas por *Campylobacter* comparten muchos síntomas clínicos con las infecciones causadas por *Salmonella* como son diarrea, vómito y fiebre. *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* son generalmente susceptibles a una variedad de antibióticos, específicamente *Campylobacter jejuni* es susceptible, in vitro, a una amplia variedad de antibióticos como: la eritromicina (macrólido), quinolonas y nitrofuranos [37]. Sin embargo, últimamente se ha documentado el aumento en la resistencia frente a algunos antibióticos.

Entre 1982 y 1989, en Holanda, también se observó un incremento notable de la resistencia a fluoroquinolonas en cepas de *Campylobacter* aislada tanto de pollos (de 0-14%) como de humanos (de 0-11%). El amplio uso de fluoroquinolonas en pollos (utilizadas en el agua de forma profiláctica) y la casi exclusiva ruta de transmisión de esta bacteria de pollos a humanos, sugiere que dicha resistencia es por el uso de enrofloxacin en la cría de pollos [55].

Por otro lado, un estudio canadiense mostró que la resistencia a la tetraciclina en *Campylobacter jejuni* ha aumentado de 19.1% a 55.7% entre los años 1985 y 1995. Entre 1995 a 1997, más del 12% de cepas aisladas, presentaron resistencia a las quinolonas (ácido nalidíxico y ciprofloxacina) mientras que de 1985 a 1986 eran susceptibles a estos agentes. En un estudio realizado en España, el 88% de las cepas analizadas de *Campylobacter* mostraron resistencia a las fluoroquinolonas. El nivel alto de *Campylobacter* resistente a las fluoroquinolonas aislado tanto de humanos como de aves de corral impulsó al Centro de Medicina Veterinaria (CVM) de la FDA a anunciar en Octubre del 2000 una propuesta para retirar el uso de fluoroquinolonas en aves de corral [74, 77].

Bower y Daeschel (1999), observaron que el enrofloxacin, que es una fluoroquinolona, utilizada en Europa para la producción de aves, podría estar seleccionando cepas resistentes de *Campylobacter* que podrían entrar a la cadena alimenticia. Esta bacteria resistente también ha mostrado una disminución en la susceptibilidad al ciprofloxacina que es una fluoroquinolona utilizada en medicina humana. *Campylobacter jejuni* es frecuentemente aislado de la carne, particularmente del pollo, que esta disponible en los supermercados, y la incidencia de cepas resistentes a las fluoroquinolonas ha aumentado con la introducción de este fármaco a los animales [8].

En un estudio realizado en el noreste de Italia durante los años 2000 y 2001 para investigar la incidencia de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en ganado vacuno, porcino y en pollos, así como también en carne de res, cerdo y pollo, se encontró que *C. coli* es más resistente que *C. jejuni* y la mayor resistencia que presenta este último es frente a la tetraciclina y en segundo término frente a la estreptomycinina [57].

2.4.3. Resistencia en *Escherichia coli*

Escherichia coli es un microorganismo Gram negativo que forma parte de la flora normal del intestino. Sin embargo fuera de su hábitat normal puede causar infecciones en humanos. Generalmente, las cepas patógenas provocan infección en el tracto urinario pero también provocan la diarrea del viajero. *Escherichia coli* es una cepa que se transmite predominantemente, más no exclusivamente, por la cadena alimenticia de los animales a los humanos. *Escherichia coli* productora de shigatoxina (STEC, de las siglas en inglés shiga-toxin (Stx)-producing *E. coli*) fue reconocida por primer vez, como patógeno en humanos, en 1982 cuando *E. coli* O157:H7 se asoció a dos brotes de colitis hemorrágica asociada con el consumo de carne de res cocida inadecuadamente. Desde entonces, más de 200 serotipos de STEC han sido asociados con enfermedades en humanos. Investigaciones previas indican que las cepas de *E. coli* O157:H7 eran susceptibles a diferentes antibióticos. Sin embargo muchos estudios recientes reportan el desarrollo de resistencia entre diferentes cepas de *E. coli* O157:H7 aisladas. Los fenotipos más frecuentes de *E. coli* O157:H7 y O157:NM aislados y reportados presentan resistencia a la estreptomina, amoxicilina, y tetraciclina. Adicionalmente, *E. coli* O157:NM aislada de ganado vacuno ha presentado resistencia a seis antibióticos: ampicilina, kanamicina, sulfasoxazol, estreptomina, tetraciclina y ticarcilina. De hecho, también se ha documentado un aumento en la resistencia a la fosomicina que es el fármaco de elección para el tratamiento de infecciones gastrointestinales provocadas por STEC en Japón. *E. coli* no-O157 STEC aislada de humanos y animales también ha desarrollado fenotipos antibiótico-resistentes, y muchos son resistentes a diversos antibióticos utilizados comúnmente en medicina humana y en veterinaria. Schmidt *et al.* determinaron la susceptibilidad a los antibióticos entre 166 cepas de STEC aisladas de humanos. Diecinueve de las 166 cepas analizadas mostraron resistencia a por lo

menos un antibiótico, mientras que 7 cepas mostraron resistencia a cuatro o más antibióticos. Actualmente, permanece sensible frente a las cefalosporinas de tercera generación, las fluoroquinolonas y aminoglucósidos como la gentamicina [37, 74].

Una forma por la cual la resistencia a antibióticos puede ser transferida del ganado al hombre es por la contaminación con *Escherichia coli* y otras bacterias entéricas de las canales en los rastros. Mejorando las técnicas de procesamiento de la carne, se puede reducir o eliminar este potencial riesgo [15].

2.4.4. Resistencia en *Enterococcus sp*

Los enterococos son bacterias Gram positivas, anaerobios facultativos y forman parte de la flora normal del tracto gastrointestinal en animales y humanos. Normalmente se consideran bacterias de baja patogenicidad que solo infectan a personas con alguna predisposición. Constituyen una gran proporción de las bacterias autóctonas asociadas con el tracto gastrointestinal de los mamíferos. Una vez extraídas de su ambiente ya sea por heces fecales de humanos o animales, son capaces de colonizar diversos nichos debido a su habilidad de resistir o crecer en ambientes hostiles. Por lo tanto, los enterococos no sólo está asociados con animales, sino que también se les encuentra en el suelo, agua, plantas y vegetales. Son importantes en la microbiología tanto clínica como de alimentos. Presentan resistencia natural frente a las penicilinas semisintéticas, los aminoglicósidos y la vancomicina [27].

Las bacterias del género *Enterococcus* tienen un hábitat predominante en el tracto gastrointestinal de animales y humanos. Debido a que toleran altas temperaturas y sobreviven bajo condiciones ambientales adversas, pueden colonizar diversos nichos y por tanto pueden

servir como indicadores de calidad sanitaria en los alimentos. Por contaminación los enterococos pueden colonizar alimentos crudos, como leche o carne, y multiplicarse en estos materiales durante la fermentación. También pueden contaminar productos terminados durante el procesamiento, por lo que muchos productos fermentados hechos a base de carne o leche (especialmente carnes fermentadas y quesos), contienen enterococos. La presencia de este microorganismo en los productos lácteos ha sido considerada como indicador de condiciones sanitarias deficientes durante el procesamiento de la leche. Esta ventaja conduce a la inclusión de enterococos en ciertos cultivos iniciadores. Los enterococos antibiótico-resistentes han sido encontrados en productos cárnicos, productos lácteos, comida rápida y se ha encontrado que algunas cepas se utilizan como probióticos. Existe una gran evidencia epidemiológica de la relación entre el uso de antibióticos en medicina humana y su uso en la cría de ganado así como la propagación y persistencia de cepas resistentes en productos alimenticios de origen animal. Investigaciones realizadas con enterococos aislados de alimentos de origen animal y de heces de animales, han confirmado la relación tan cercana que existe entre el uso de antibióticos, como promotores de crecimiento, y los niveles altos de resistencia a antibióticos de importancia terapéutica para el hombre. Esta relación se ha investigado a fondo para el caso de la avoparcina-enterococos glicopéptido-resistentes, sin embargo también se han obtenido resultados para los antibióticos de tipo macrólidos como tilosina, espiramicina, avilamicina, virginamicina y bacitracina. los cuales también se utilizan como promotores de crecimiento [7, 29, 37, 39, 62, 63, 72]

Los enterococos pueden jugar un papel benéfico en la producción de diversos alimentos fermentados y pueden utilizarse satisfactoriamente como probióticos. La presencia y crecimiento de enterococos en alimentos fermentados como los quesos y las salchichas se traduce en

productos con características sensoriales únicas. El estudio sobre probióticos ha dado bases para conocer los beneficios de estos productos para la salud, entre los cuales se encuentran: la estabilización de la microflora intestinal por competencia contra los patógenos, reducción de la intolerancia a la lactosa, prevención de la diarrea inducida por antibióticos, prevención de cáncer de colon y estimulación del sistema inmune. Sin embargo, algunas cepas probióticas muestran resistencia a determinados antibióticos. La introducción en el mercado de probióticos antibiótico-resistentes puede tener consecuencias negativas si dicha resistencia se transfiere a patógenos en el intestino por lo que existe la preocupación sobre su uso como cultivos iniciadores en la industria alimentaria [13, 27, 66].

Se ha sugerido en diversos estudios que el uso de avoparcina como promotor de crecimiento en los animales productores de alimentos, puede estar relacionado con la resistencia de los enterococos frente a la vancomicina [64]. Para entender la difusión de estos microorganismos así como para la mejor selección y caracterización de cepas utilizadas comercialmente, es necesario considerar la taxonomía, ecología y la resistencia a antibióticos de estas bacterias. El factor más importante para la evaluación de los enterococos (ya sea de la microflora autónoma o de las cepas que se utilizan como cultivos iniciadores o como probióticos) es la resistencia frente a los antibióticos glicopéptidos como la vancomicina. Los glicopéptidos se utilizan como antibióticos de última opción para muchas infecciones nosocomiales provocadas por enterococos. Sin embargo desde los años 70's en diversos países europeos, la avoparcina, (antibiótico glicopéptido similar a la vancomicina) ha sido muy utilizada como promotor de crecimiento en animales, y se ha observado que confiere resistencia cruzada a la vancomicina. Algunos estudios han demostrado la presencia de enterococos vancomicina-resistentes (VRE) en muestras de carne (Italia) y alimentos listos para comer como quesos y salchichas (Suiza). Por

esto se puede pensar que los VRE pueden colonizar fácilmente el organismo del ser humano ya sea a través de la cadena alimenticia, por contacto directo con los animales o por el consumo de alimentos, transmitiendo la condición de resistencia por conjugación a la flora normal del intestino (el impacto de la resistencia de los enterococos en el intestino humano parece estar basado en la transferencia de genes de resistencia más que en la transferencia de cepas resistentes). Por lo anterior, el uso de avoparcina se prohibió en la Comunidad Europea y se han observado reducciones en la presencia de VRE en muestras de heces analizadas [7, 29, 39, 61, 71].

En Dinamarca en 1997, *E. faecium* se recuperó del 50% de muestras de carne de pollo de venta al menudeo y 10% de estas cepas resultaron resistentes a la vancomicina. En el caso de *E. faecium* aislada de pollos en los rastros, 48% resultaron resistentes a la vancomicina y en muestras aleatorias de carne de pollo de venta al menudeo, el 59% fue resistente a la virginamicina. La transferencia de genes de resistencia ha sido demostrada entre cepas de *E. faecium* del tracto gastrointestinal de ratas y *Escherichia coli* y entre *E. faecalis* y *Listeria monocytogenes* [41].

En Europa, Gorbach (2001) analizó muestras de pollo destazado obtenido de una tienda de abarrotes y muestras de carne de puerco después del sacrificio. En este estudio revela que *Enterococcus faecium* resistente a la estreptogramina y a los glicopéptidos es capaz de colonizar transitoriamente (más de 14 días) el tracto gastrointestinal de voluntarios saludables [30].

Riedl *et al.* (2000), Robredo *et al.* (2000), Giraffa (2002), Van den Bogaard (2002), Klare *et al.* (2003) y Peters *et al.* (2003), también han estudiado y demostrado el predominio de enterococos antibiótico-resistentes en animales de granja y en la carne que se obtiene de estos observando que la multiresistencia oscila entre un 60% y 100%. Cepas antibiótico-resistentes,

especialmente de *Enterococcus faecium*, han sido encontradas con gran frecuencia en pollo, puerco, res y algunos productos cárnicos (principalmente en salchichas, jamón y carne picada) y también se han encontrado en algunos quesos. El gen *vanA* que confiere resistencia contra los glicopéptidos, especialmente contra la vancomicina parece ser el fenotipo más frecuente asociado con enterococos antibiótico-resistentes en alimentos [29, 38, 56, 61, 62, 70].

Con las evidencias presentadas en los párrafos anteriores se puede establecer que la resistencia que se observa en *Salmonella* y *Campylobacter* se da por la transmisión de las bacterias como tales. Mientras que para *Escherichia coli* y los enterococos la adquisición de resistencia se da por la transferencia de genes.

2.4.5. Resistencia en *Listeria monocytogenes*^a

Listeria monocytogenes está ampliamente distribuida en la naturaleza y puede encontrarse en el suelo, heces de animales y aguas residuales. También se encuentra frecuentemente en el tracto gastrointestinal de humanos y animales (vacas, aves de corral y cerdos). Crece a temperatura de refrigeración y en condiciones mínimas en cuanto a nutrientes y es capaz de sobrevivir y multiplicarse en plantas, suelo y agua. Puede entrar fácilmente a los productos alimenticios a lo largo de diferentes etapas de la producción, procesamiento, manufactura y/o distribución. La ampicilina, rifampina, penicilina y la gentamicina son el tratamiento de elección para la mayoría de las manifestaciones de la listeriosis. En general, la mayoría de las cepas de *L.*

^a Aunque los cuatro tipos de bacterias que se asocian más con el fenómeno de resistencia son *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.*, *Escherichia coli* y enterococos, existen otros microorganismos que recientemente han adquirido gran importancia para la salud pública ya que también se transmiten al hombre a través de la cadena alimenticia. Por lo antes mencionado, también se mencionan las evidencias que muestran la presencia de resistencia en *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* que aunque por el momento son pocas las evidencias a este respecto es importante considerarlos para evitar que las cepas se vuelvan antibiótico-resistentes de manera potencial.

monocytogenes aisladas en clínica así como también de alimentos y de fuentes ambientales, son susceptibles a la acción de los antibióticos activos contra bacterias Gram positivas. La primera cepa resistente a antibióticos de *L. monocytogenes* aislada se reportó en 1988, desde entonces cepas de *Listeria spp.*, aisladas de muestras de alimentos, del ambiente o en casos esporádicos de humanos con listeriosis, han mostrado ser resistentes a uno o varios antibióticos. Charpentier *et al.* monitoreo 1100 cepas de *Listeria spp.* (60 de humanos y 1040 de muestras ambientales y de alimentos) recolectadas en diferentes países y encontró que la mayoría resultaron resistentes a los antibióticos. De 61 cepas resistentes a la tetraciclina, 57 contenían el gen *tet* (M) de la resistencia a la tetraciclina y 4 contenían el gen *tet* (S). Tres cepas de *L. monocytogenes* aisladas de muestras clínicas resultaron resistentes a niveles bajos de estreptomicina y una cepa resultó resistente al trimetoprim. Un estudio posterior de la cepa resistente a trimetoprim mostró que el gen *dfpD* que confiere resistencia a este antibiótico estaba localizado en el plásmido pIP823, el cual pertenece a la familia de los plásmidos comunes en el género *Staphylococcus*. Se encontró que el pIP823 tiene un amplio intervalo de hospederos incluyendo a *L. monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. La movilización conjugativa de pIP823 se puede dar entre *L. monocytogenes* y *Escherichia coli*, y entre cepas de *E. coli*. Los resultados indicaron que el flujo de genes que se presenta en la naturaleza de las bacterias Gram positivas a las Gram negativas se puede dar por conjugación. La resistencia al trimetoprim observada en *L. monocytogenes* es de particular importancia porque el uso de trimetoprim y sulfametoxazol combinados es un tratamiento alternativo muy exitoso para la listeriosis en humanos. Diversos estudios han demostrado que este patógeno es capaz de adquirir genes de resistencia a antibióticos de fuentes externas (principalmente pueden provenir de estreptococos y enterococos) a través de transposones. También se han reportado cepas resistentes, aunque en

baja proporción, de *L. monocytogenes* aisladas de muestras de alimentos como leche, queso fresco, carne de pollo, salchichas y chuletas [3, 74].

2.4.6. Resistencia en *Staphylococcus aureus*^b

Staphylococcus aureus fue una de las primeras bacterias en desarrollar resistencia contra la penicilina ya que produce β -lactamasa. A partir de los años 60's y 70's se han aislado diversas cepas de *S. aureus* multiresistentes, principalmente de pollos destinados para consumo humano [37, 76].

La industria farmacéutica inicio la producción masiva de penicilina en 1943, y su impacto en enfermedades infecciosas fue muy bueno. Sin embargo, por el año 1947, empezaron a aparecer cepas resistentes. Por ejemplo en Inglaterra en 1994 el 2% de los casos de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* eran provocados por *Staphylococcus aureus* multiresistente (MRSA) y para 1998 los casos aumentaron a un 30% [65].

^b Véase la nota a, pág. 46.

2.5. CONSECUENCIAS PARA LA SALUD PÚBLICA

Los peligros del empleo simultáneo de los mismos antibióticos para fines nutritivos en alimentación animal y terapéuticos en medicina humana, especialmente en lo que concierne al aumento de resistencia en la flora intestinal, obligan a separar ambos campos de aplicación. Por eso muchos países, como Estados Unidos, Gran Bretaña, Dinamarca, entre otros, no autorizan el uso de importantes antibióticos de empleo terapéutico para utilizarlos como aditivos de los piensos en alimentación animal [69].

Las consecuencias para la salud pública son severas, ya que las infecciones causadas por microorganismos resistentes no responden al tratamiento habitual provocando un periodo prolongado de la enfermedad o un mayor riesgo de muerte. Como consecuencia de ello, se han señalado las condiciones óptimas que deben reunir tales productos para adicionarlos a los piensos [69]:

- a) Estabilidad y miscibilidad
- b) Absorción nula o escasa en el tubo intestinal
- c) Ausencia de residuos en la canal
- d) No deben provocar resistencia en la flora intestinal ni resistencia cruzada con otros antibióticos de uso terapéutico
- e) Empleo económico

2.5.1 Límite máximo residual de un antibiótico

Como resultado de aplicar sobredosis de antibióticos en los piensos que consumen las especies animales explotadas, de no observar los plazos de ayuno prescritos (generalmente bastan 3-6 días para que los tejidos queden libres casi por completo), o de administrar a especies

animales no previstas o con edades improcedentes, pueden generarse residuos en el organismo animal con la subsiguiente presencia de estos en los alimentos obtenidos. La facilidad con que estos se eliminan, es variable. Algunos son desechados de forma rápida y otros permanecen en el organismo del animal durante días e incluso semanas, por esto es necesario establecer límites máximos residuales [10, 24, 69].

Tras la administración de un antibiótico a un animal tiene lugar una metabolización que favorece su eliminación y en conjunto, la detoxificación. Los antibióticos de los piensos medicamentosos pueden originar la presencia de residuos de dichos fármacos en los alimentos de origen animal destinados al consumo humano. Los residuos de cualquier medicamento veterinario, en general, son sustancias farmacológicamente activas (ya sea principios activos, excipientes, o bien productos de degradación y metabolitos) que permanecen en los productos alimenticios obtenidos a partir de animales a los que se les ha administrado el medicamento veterinario. La localización de estos residuos es variable. El tejido muscular y la grasa son los lugares preferentes, aunque también se han identificado en los tejidos menos consumidos como son el hígado o el riñón. La toxicidad de estos residuos varía desde la inocuidad hasta presentar consecuencias clínicas, bioquímicas o incluso causar la muerte. La desaparición de estos residuos puede ser rápida no dejando restos, o muy pocos, en los tejidos comestibles. Otros, en cambio, pueden originar residuos cuya desaparición es difícil necesitando un largo período para su eliminación o incluso, la prohibición de su uso. Resulta por ello necesario establecer límites máximos residuales¹⁵ (LMR) para aquellas sustancias farmacológicamente activas que se utilizan en los medicamentos veterinarios. Los LMR se fijan para cada especie animal y para cada tejido. De este modo, el valor de LMR de toda sustancia farmacológicamente activa quedará fijada como una pareja compuesta por un residuo marcador y el tejido diana correspondiente para cada

especie animal productora de alimentos. Los valores de los LMR en los diferentes tejidos deben reflejar la cinética de eliminación teniendo en cuenta todas las fuentes de alimento, las condiciones de uso del medicamento, la factibilidad de los tiempos de espera derivados y la disponibilidad de métodos analíticos adecuados para su determinación [9].

Para garantizar que la concentración residual de los antibióticos no sea superior a su correspondiente LMR, es necesario establecer un tiempo de espera. Este tiempo de espera es el plazo de tiempo que debe transcurrir, y ser respetado, desde el último tratamiento farmacológico hasta el sacrificio de los animales para poder consumir la carne o recoger sus productos (leche, huevos) para la comercialización. Estos tiempos se determinan en función del perfil cinético de la eliminación tisular de los fármacos en los animales. Cada antibiótico debe ir acompañado de un prospecto en donde conste el valor del tiempo de espera. Saltarse estas indicaciones supone un riesgo para la salud de los consumidores [9, 10].

2.5.2 Reglamentación

El empleo de antibióticos como aditivos a los piensos no debe perjudicar la calidad de los productos alimenticios de origen animal, así como tampoco poner en peligro la salud de los consumidores. La autorización de empleo exige, por consiguiente, un control muy estricto, basado en directrices y normas tanto nacionales como internacionales. En la comprobación y autorización de antibióticos como aditivos para piensos, deben tomarse en consideración y cumplirse las siguientes prescripciones [24, 36]:

- a) Para no poner en peligro la salud del hombre, sólo se considerarán como ergotrópicos aquellos antibióticos que no sean prescritos en medicina humana.

- b) Los antibióticos utilizados en alimentación animal no deben interferir en la acción de otros productos terapéuticos, ni provocar resistencia cruzada.
- c) Únicamente se utilizarán antibióticos con acción en el tracto digestivo, es decir, que no sean absorbidos en el intestino y que, como consecuencia, no dejen residuos en las canales.

En Europa no se permite el uso de antibióticos a niveles subterapéuticos en la alimentación animal. Desde 1968, el gobierno británico estableció un comité (SWAN) para monitorear el uso de antibióticos en veterinaria debido a las siguientes inquietudes [30]:

- a) Un brote de la resistencia a antibióticos por *Salmonella typhimurium* en becerros y su esparcimiento a la población en Gran Bretaña
- b) La detección de *Salmonella typhi* resistente al cloranfenicol en América Central
- c) La presencia de *Escherichia coli* resistente en la cría intensiva de cerdos y pollos debido al uso de antibióticos como promotores de crecimiento y
- d) El descubrimiento de la transmisión de la resistencia a antibióticos

Actualmente este comité valora el efecto del uso de antibióticos en la alimentación animal y su relación con la resistencia que se observa en el tratamiento de enfermedades en el hombre. Recomienda que los antibióticos que se utilizan como promotores de crecimiento en medicina humana deben retirarse y utilizarse de forma restringida en animales. También hace distinción entre los antibióticos en la alimentación animal y los utilizados con fines terapéuticos y sugiere el uso continuo de antibióticos en alimentación sólo si:

- a) El agente tiene aplicación limitada en medicina humana
- b) No perjudican el uso de antibióticos con fines terapéuticos en medicina humana a través de resistencia cruzada y
- c) Reducen el costo de producción del animal

Medidas similares a las mencionadas en el párrafo anterior se han adoptado en el resto de Europa y en Japón. En Dinamarca la industria porcina siempre ha aspirado a los estándares de calidad más altos para mantener la seguridad alimentaria. Por lo que en los últimos 10 años ha introducido diversas iniciativas con el propósito de controlar posibles riesgos asociados con la producción de tocino y carne de puerco principalmente. En 1995 estableció el DANMAP Programa Integral Danés de Investigación y Monitoreo de Resistencia a Antibióticos. Desde enero del año 2000 en este país se ha prohibido el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en la producción de carne de puerco y tocino. Como consecuencia de esto el número de bacterias antibiótico-resistentes en cerdos y pollos ha disminuido considerablemente [72].

En Australia la organización JETACAR desarrolló un programa que centra su atención en el uso simultáneo de antibióticos tanto en humanos como en animales. Y establecieron una junta directiva que pone atención en cinco puntos fundamentales para revertir, en cierta forma, el aumento de la resistencia a antibióticos [37]:

- a) Controles de regulación
- b) Monitoreo y vigilancia
- c) Estrategia para la prevención de infecciones y medidas higiénicas
- d) Investigación

Con este control se ha logrado disminuir la presencia de bacterias antibiótico-resistentes así como también se ha logrado mantener un control más estricto sobre la manipulación de animales destinados a consumo humano y los productos alimenticios de origen animal disminuyendo considerablemente el uso de antibióticos y de esta forma se ha observado una disminución de cepas de microorganismos antibiótico-resistentes.

En España, en las normas relativas a los aditivos en la alimentación de los animales se especifican los agentes antimicrobianos que pueden ser utilizados como aditivos, las especies animales a cuyos piensos pueden incorporarse y las dosis máximas de uso. La selección de los principios activos que se incluyen en estas listas se realiza de modo que se trate de agentes cuyo uso terapéutico en medicina humana no sea importante y que no den lugar a resistencia cruzada o perjudiquen de alguna forma el empleo de otros inhibidores en medicina humana o veterinaria. También se establece la obligatoriedad de efectuar las prescripciones en recetas extendidas por veterinarios legalmente capacitados, que serán exigibles para que se produzca la dispensación del medicamento. Además se establece la necesidad de fijar Límites Máximos de Residuos para las sustancias utilizadas en el tratamiento de las enfermedades de los animales de abasto, de modo que sus residuos no constituyan un riesgo para la salud humana. Con este objetivo, los medicamentos son clasificados en cuatro categorías [9]:

- I. Sustancias farmacológicamente activas utilizadas en medicamentos veterinarios para las cuales se ha establecido de forma definitiva sus LMR.
- II. Sustancias farmacológicamente activas utilizadas en medicamentos veterinarios que no están sujetas a valores de LMR ya que se eliminan muy rápido del organismo y no crean resistencia.
- III. Sustancias farmacológicamente activas utilizadas en medicamentos veterinarios para las que se ha establecido valores de LMR de forma provisional (se encuentran en este apartado porque existe algún aspecto que impide determinar definitivamente sus LMR).
- IV. Sustancias farmacológicamente activas utilizadas en medicamentos veterinarios para las que no ha sido posible establecer LMR. Son sustancias que se han prohibido debido a su toxicidad y que no pueden usarse en animales destinados al consumo humano.

Los grupos antes mencionados, se modifican periódicamente conforme se dispone de los datos toxicológicos que permiten la inclusión de nuevas sustancias en las diferentes categorías. Los riesgos para la salud derivados de la presencia en los alimentos de residuos de sustancias inhibidoras son fundamentalmente de dos tipos: reacciones de hipersensibilidad y resistencias bacterianas.

En Estados Unidos existe el Sistema Nacional de Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana NARMS, el cual publica un reporte anual donde resume la información de los patógenos bajo estudio. Este reporte describe el número y tipo de cepas aisladas recolectadas y las tendencias a adquirir resistencia frente a los antibióticos.

En México la vigilancia del cumplimiento de las normas esta a cargo de la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y de la Secretaria de Salud.

Además de la Ley Federal de Sanidad Animal, las normas mexicanas que regulan el control de los antibióticos, tanto en animales como en alimentos de origen animal son las siguientes (Ver Anexo 1):

NOM-004-ZOO-1994

MODIFICACIÓN a la NOM-004-ZOO-1994

NOM-012-ZOO-1993

NOM-032-ZOO-1996

NOM-040-ZOO-1995

NOM-061-ZOO-1999

NOM-064-ZOO-2000

NOM-091-SSA1-1994

NOM-121-SSA1-1994

NOM-122-SSA1-1994

2.6. ALTERNATIVAS AL USO DE ANTIBIÓTICOS EN ALIMENTACIÓN

ANIMAL

2.6.1. Promotores de crecimiento alternativos

En Europa se han desarrollado alternativas, después de que el uso de antibióticos fue prohibido. Las pérdidas económicas pueden minimizarse e incluso neutralizarse mejorando la calidad de la alimentación y la higiene en la manipulación del ganado así como también el mejorar las medidas de higiene en los rastros y en el procesamiento de alimentos, puede limitar los niveles de resistencia a antibióticos [30, 64].

En nutrición animal existen aditivos utilizados como promotores de crecimiento alternativos (Tabla 5). Estos presentan una mayor seguridad pero en ningún caso pueden llegar a tener los efectos que se derivan del empleo de antibióticos en alimentación animal. Por tanto, no pueden definirse como sustitutos de los mismos. Como promotores alternativos destacan las enzimas, los acidificantes orgánicos, los microminerales, las vitaminas (principalmente las relacionadas con la prevención de procesos oxidativos y de protección tisular), los cultivos y los probióticos (mejoran los procesos digestivos, ya sea a nivel de rumen o del sistema digestivo mediante microorganismos), los oligosacáridos (azúcares complejos no desdoblados por el sistema enzimático animal), los aceites esenciales y los extractos vegetales con marcado carácter antimicrobiano así como otros aditivos de carácter diverso [9].

Por otro lado, desde el punto de vista del aumento de los rendimientos las sustancias químicas sintéticas más importantes de este grupo son el derivado del furano Nitrovin y diversos quinoxal-derivados (Carbadox, Olaquinox, etc.), así como el sulfato de cobre. De acuerdo con los conocimientos actuales, estos estimulantes de la producción no generan ninguna

Tabla 5. Aditivos promotores del crecimiento alternativos a los antibióticos [9]

1. Enzimas	β -glucanasas, fitasas, xilanasas, y en menor medida: oligosacaridasas, amilasas, proteasas y celulasas
2. Acidificantes orgánicos	Ácido fórmico, ácido propiónico, ácido láctico
3. Microminerales	Selenio orgánico
4. Cultivos microbianos (Probióticos)	Levaduras, hongos, lactobacilos, bifidobacterias
5. Oligosacáridos	Oligofructanos, galactomananos
6. Vitaminas	
7. Aceites y extractos vegetales	Orégano, ajo, tomillo
8. Otros	Reguladores metabólicos, emulsionantes

resistencia bacteriana, ni resistencia cruzada (La cantidad absorbida de Nitrovin en el intestino es aproximadamente el 1% de la dosis ingerida. Esta escasa proporción de sustancia absorbida es excretada con extraordinaria rapidez a través de la bilis. También los derivados quinoxalínicos se absorben en el intestino. Sin embargo, también se produce la excreción relativamente rápida de los productos de su metabolismo) [24].

2.6.2. Bacteriocinas

Desde que la seguridad alimentaria se convirtió en un tema de importancia creciente a nivel internacional, la aplicación de péptidos antimicrobianos principalmente los producidos por bacterias ácido-lácticas (LAB) han recibido gran atención como alternativa al uso de antibióticos en alimentos. Para preservar su existencia, muchas especies han desarrollado sistemas de defensa siendo los péptidos los compuestos más importantes a este respecto. Existen diferentes

mecanismos de protección sin embargo el más común es modificando la permeabilidad de la membrana celular dando como resultado una pérdida de material celular provocando así la muerte de la célula. Las bacteriocinas¹⁰ actúan frente a patógenos presentes en los alimentos, y no presentan hasta el momento, toxicidad ni efectos adversos y presentan un gran potencial como conservadores naturales de los alimentos. También se ha demostrado que los organismos que presentan resistencia frente a los antibióticos no generan resistencia cruzada con las bacteriocinas y la resistencia de estas no está establecida genéticamente. Como ejemplo de esto están las investigaciones realizadas con la nisina¹⁶ la cual se ha utilizado como conservador de alimentos por más de 50 años y hasta el momento no se ha observado resistencia [12, 42, 65].

2.6.3. Revitalización de antiguos antibióticos

Otra forma que se está investigando para hacer frente al problema de resistencia es la revitalización de antiguos antibióticos inhibiendo de manera directa el mecanismo de resistencia que emplea la bacteria permitiendo así que el antibiótico pueda volver a actuar. A este respecto, se han investigado enzimas como en el siguiente caso: el uso extensivo de antibióticos β -lactámicos ha provocado problemas considerables de resistencia debido a que las bacterias producen β -lactamasa inhibiendo de esta forma la acción del antibiótico. Una forma de contrarrestar la actividad de la β -lactamasa es desarrollando (liberando al medio) un inhibidor de dicha enzima en combinación con el antibiótico β -lactámico. De esta forma las infecciones causadas por microorganismos resistentes a estos antibióticos, se pueden tratar combinando el antibiótico β -lactámico con ácido clavulónico como inhibidor de la β -lactamasa. Por medio de investigaciones en biología molecular se pueden identificar potentes inhibidores que en

combinación con los antibióticos utilizados pueden ser muy útiles contra bacterias antibiótico-resistentes [65].

2.6.4. Desarrollo de vacunas

Otra forma de enfrentar la resistencia a antibióticos es el desarrollo de vacunas. Por ejemplo, se ha expresado la enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* en papas con el fin de crear una vacuna comestible. Se ha probado en ratones que una dosis alta de ingestión de papa produce un alto nivel de producción de anticuerpos frente a la toxina. Lo anterior da una clara evidencia de que existe la posibilidad de desarrollar cepas de papas o de otros vegetales que puedan expresar numerosos factores de virulencia como vacunas multifuncionales [8, 65].

2.7. OTROS USOS DE LOS ANTIBIÓTICOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

El uso de antibióticos ha contribuido a incrementar la producción de alimentos de origen animal. Sin embargo estos no se emplean únicamente para la profilaxis y terapéutica de las enfermedades infecciosas y estimular la producción en animales, sino también, aunque en escasa medida, para proteger las plantas, conservar alimentos y regular los procesos de fabricación. Los microorganismos juegan papeles fundamentales en la producción de energía, desarrollo de la agricultura y en el procesamiento de alimentos [8, 69].

Como consecuencia del gran éxito terapéutico de los antibióticos en las enfermedades bacterianas, era natural que se ensayasen como conservadores frente al deterioro microbiano de los alimentos. Estos ensayos se realizaron entre los años 1945 y 1960 y la mayoría de los antibióticos se probaron en múltiples alimentos perecederos de todas las formas imaginables. Goldberg *et al.*, (1953) demostraron que los antibióticos más efectivos para la carne fresca picada de vacuno eran la clortetraciclina, oxitetraciclina y cloranfenicol. Weiser y col. (1953), bañando solomillos de vaca con clortetraciclina, observaron una mejoría en la conservación a temperaturas ambiente y de refrigeración. Jay *et al.*, (1957) demostraron que las bacterias alterantes a menudo son más sensibles a las concentraciones bajas de clortetraciclina cuando se experimentan en la carne que cuando se utilizan medios de laboratorio. Ordal y Brown (1957) señalaron un aumento en la vida de almacén de la carne magra de cerdo picada, de unos 10 días, cuando se trataba conjuntamente con 10 ppm de oxitetraciclina y 3% de sal. La adición de oxitetraciclina a las soluciones de curado de jamón también daba lugar a una mayor vida de almacén. El empleo de antibióticos para el tratamiento de la carne ha sido puramente experimental y no se sabe de ningún ejemplo en el que su utilización comercial haya sido autorizada con este fin [35].

A medida que fue aumentando el conocimiento de microorganismos resistentes a los antibióticos fue disminuyendo su empleo como conservadores de los alimentos. En las industrias que procesaban carne de aves se observó el desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos comúnmente utilizados. Por lo que se pensó que el empleo de antibióticos como conservadores alimenticios podía convertirlos en ineficaces debido a que se habían seleccionado floras alterantes resistentes a los mismos. Desde el punto de vista económico, el uso de antibióticos en alimentos puede afectar la producción de derivados lácteos, como el queso o el yogurt, ya que estos productos requieren de microorganismos que fermentan la leche y estos son sensibles a la acción de los antibióticos. En agricultura, se ha demostrado que las bacterias fitopatogénicas pueden expresar resistencia ante los antibióticos utilizados en los huertos, lo cual representa un problema considerable fuera del campo veterinario [10, 67].

Los dos antibióticos más importantes empleados en muchos países con fines conservadores alimenticios son la nisina y la natamicina. La natamicina es un antibiótico originado por *Streptomyces natalensis*; su principal efecto es antifúngico. Y la nisina es una bacteriocina producida por *Streptococcus lactis* y en los Estados Unidos se permite su uso en la producción de quesos con alto contenido de humedad para prevenir el crecimiento de *Clostridium botulinum*. Se han realizado diversos estudios sobre la nisina para su aplicación en la conservación de alimentos. Es activo contra organismos Gram positivos especialmente previene la formación de esporas y tiene la ventaja de que no se utiliza en medicina. En otros países, también se utiliza en la prevención de deterioro de productos lácteos como leche condensada. No actúa contra microorganismos Gram negativos pero tiene la ventaja de no ser tóxica para los humanos y no causa resistencia cruzada y se degrada de manera inocua en el intestino. Algunos países permiten el uso limitado de algunos antibióticos como la tetraciclina y oxitetraciclina. Las carnes frescas,

el pescado y el pollo son productos perecederos que se pueden beneficiar de la acción de antibióticos de amplio espectro. La FDA permite la inmersión de pollos en soluciones con clortetraciclina u oxitetraciclina. Esto aumenta la vida de anaquel y los residuos de antibióticos se destruyen con los métodos usuales de cocción [8, 25, 65].

3. D I S C U S I Ó N

3.1. Perspectiva Nacional

En México una cantidad considerable de antibióticos se emplea para la prevención y tratamiento de enfermedades y la promoción del crecimiento de aves de corral, cerdos y ganado vacuno. La facilidad con que estos se eliminan en el organismo del animal, varía. Algunos son desechados de forma rápida y otros permanecen en el organismo del animal durante días e incluso semanas. Por lo anterior es importante que si las canales de los animales o los productos de estos tienen señalamientos como “no utilice la leche” o “mande al animal al rastro tantos días después de aplicar el medicamento”, deben vigilarse y controlarse, pero la realidad es que no sucede así, por lo que se favorece el uso excesivo de tales productos.

Dentro de la Ley Federal de Sanidad (ver Anexo 1) los antibióticos están englobados dentro de la regulación de los productos farmacéuticos para uso en animales y en otros casos se incluyen en la regulación del uso de aditivos en alimentos de origen animal. Sólo en una fracción del Artículo 16 los antibióticos se mencionan como tales.

En cuanto a las normas oficiales mexicanas también sucede algo similar a la Ley Federal de Sanidad en cuanto a que los antibióticos no se mencionan como tales a excepción de la NOM-032-ZOO-1996 la cual establece la metodología oficial para la determinación de antibióticos en diferentes tejidos animales para de esta forma, certificar la inocuidad de los productos alimenticios y poder ser competitivos en el comercio internacional.

A continuación se menciona brevemente de que manera están incluidos los antibióticos para su control en diferentes normas mexicanas:

La NOM-004-ZOO-1994 establece el control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de algunas especies animales destinadas a consumo humano y dentro del tipo de residuos que vigila en los alimentos menciona los de naturaleza química los cuales pueden estar presentes por el uso incorrecto de medicamentos veterinarios y es aquí donde están incluidos los antibióticos. Por otro lado, la NOM-040-ZOO-1995 establece las especificaciones para la comercialización de sales puras antimicrobianas para uso en animales y al igual que en la NOM-004-ZOO-1994, los antibióticos no están mencionados como tales pero si son objeto de esta norma ya que en las familias de antimicrobianos sujetas a regulación están considerados por grupos, es decir, como tetraciclinas, aminoglucósidos, etc. De todas las normas consultadas para este trabajo, estas dos son las únicas que consideran el riesgo de transmisión de patógenos antibiótico-resistentes a través de la cadena alimenticia por la aplicación de antibióticos a concentraciones subterapéuticas en animales.

En la NOM-012-ZOO-1993 los antibióticos están incluidos dentro del control de los productos farmacéuticos y/o alimenticios que se utilizan en animales con fines nutricionales, preventivos y de tratamiento de enfermedades.

La NOM-061-ZOO-1999 establece las especificaciones para los productos alimenticios para consumo animal y nuevamente, los antibióticos no están mencionados sin embargo si están considerados de manera indirecta cuando se habla de moduladores o promotores de crecimiento y cuando se mencionan a los aditivos ya que estos últimos incluyen cualquier material que favorezca la profilaxis, además de otras características, en animales. Como se planteó en el capítulo 2.2 que los antibióticos se utilizan con estos dos fines en alimentación animal entonces se puede asumir que esta norma considera dichas sustancias dentro de estos grupos (promotores de crecimiento y aditivos) para uso en animales destinados a consumo humano.

La NOM-064-ZOO-2000 define como producto farmacéutico veterinario a todo producto elaborado de origen natural o sintético con efecto terapéutico y/o preventivo para uso en animales por lo que los antibióticos también se consideran aquí de manera indirecta.

En la NOM-091-SSA1-1994 que establece las especificaciones sanitarias adecuadas para la manipulación de leche pasteurizada de vaca, establece una prueba de inhibidores bacterianos dentro de la cual están incluidos los antibióticos. Y la NOM-121-SSA1-1994 que establece las especificaciones sanitarias adecuadas para la producción de quesos establece como aditivos permitidos a la natamicina y la nisina Sin embargo en ambas normas, el fenómeno de resistencia no está considerado más bien ese control en cuanto a presencia de antibióticos es por la importancia de no contaminar tanques o pipas de leche con producto que contiene antibióticos, puesto que si la leche se destinará para producir quesos o yogurt donde se utilizarán bacterias como cultivos iniciadores, la presencia de antibióticos puede inhibir el crecimiento de dichos cultivos y el proceso no se llevará a cabo.

La NOM-122-SSA1-1994 regula las especificaciones sanitarias para los productos cárnicos y establece que la carne que se utilice no debe rebasar los límites de sustancias tóxicas y entre estas menciona a los antibióticos, de hecho toman como referencia a la NOM-004-ZOO-1993.

Realmente es muy poca la investigación y atención que se ha puesto sobre el problema de resistencia a antibióticos y sus posibles soluciones. Existen muchas áreas importantes que requieren de investigación. Esto incluye el desarrollo de alternativas a los promotores de crecimiento para la producción animal; alternativas al uso de antibióticos en animales y humanos (incluyendo vacunas) epidemiología de la resistencia (incluyendo biología molecular y mecanismos de transferencia de genes) y métodos rápidos de diagnóstico.

Las infecciones con bacterias resistentes a los antibióticos y la contaminación ambiental con estas sustancias, es un grave problema para la salud pública, sin embargo, la discusión se ha mantenido sólo a nivel de grupos profesionales, sin grandes repercusiones públicas que cuestionen las causas y los costos de esta situación. Tal vez sea necesaria la creación de un organismo autónomo y multidisciplinario que se preocupe tanto de la seguridad alimentaria, como de solucionar las problemáticas relacionadas con la inocuidad de los alimentos. Con las evidencias presentadas en el capítulo 2.4 se puede decir que la presencia de estas bacterias en los animales supone un doble riesgo, ya que en primer lugar constituyen un reservorio de organismos resistentes, capaces de infectar al hombre, pero también pueden actuar en forma indirecta por transferencia de los genes de resistencia a la flora presente en el hombre. Por otro lado, hay que considerar que la ingestión de alimentos que contienen residuos de antibióticos pueden originar en el hombre reacciones de alergia o hipersensibilidad.

3.2. Perspectiva internacional

La tendencia mundial es eliminar definitivamente los antibióticos de la alimentación animal, y en ese sentido, se han producido avances considerables en Europa y EE.UU. Por ejemplo, la incidencia de enterococos vancomicina-resistentes antes y después de que en Europa se prohibiera el uso de avoparcina como promotor de crecimiento, ha sido analizada en países como Dinamarca, Alemania y Holanda y al comparar los estudios se ha encontrado una reducción en la incidencia de estos microorganismos en los últimos años (Figuras 6 y 7).

Figura 6. Efecto de la prohibición en Europa del uso de avoparcina en cerdos (izquierda) y su efecto en humanos (derecha) [7]

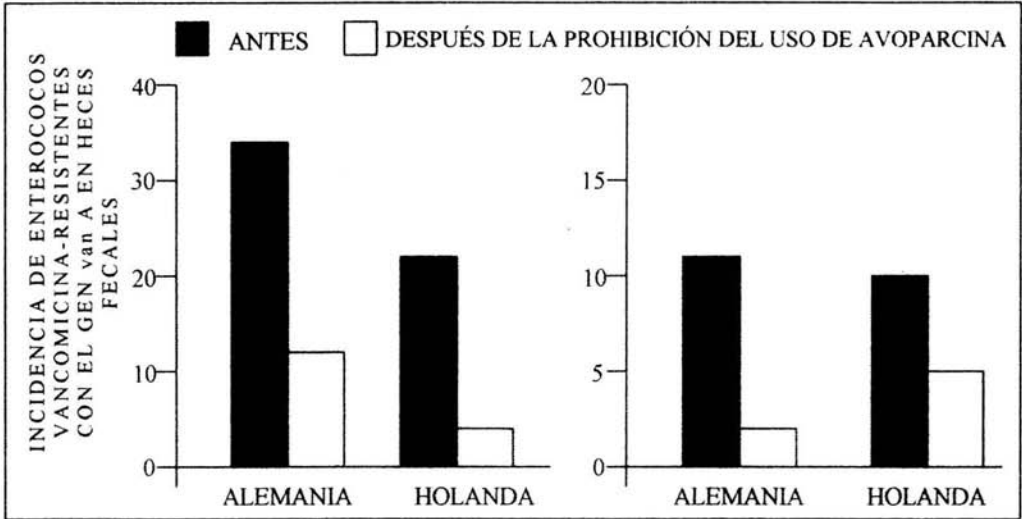
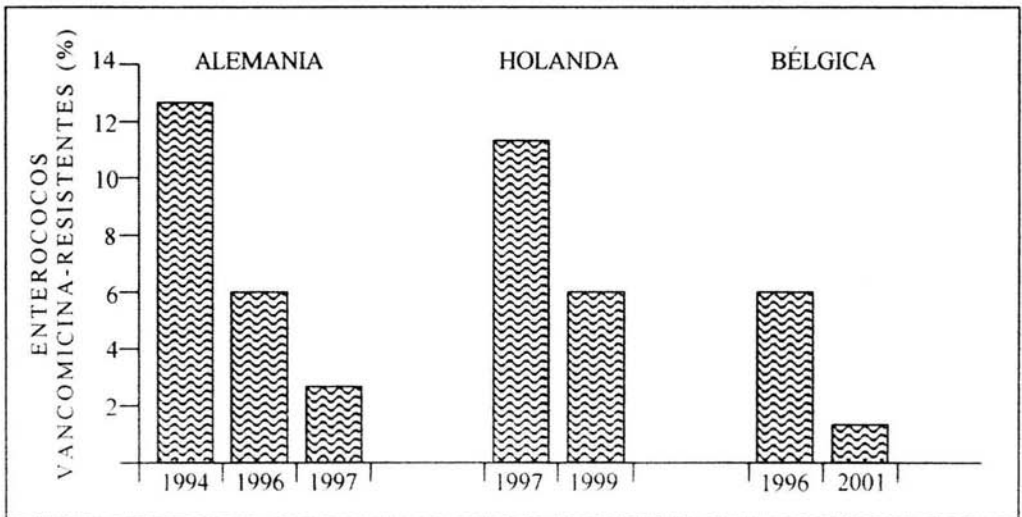


Figura 7. Enterococos vancomicina-resistentes aislados de muestras fecales de humanos sanos en Holanda y Alemania y de pacientes hospitalizados en Bélgica después de la prohibición del uso de avoparcina como promotor de crecimiento en animales [71]



También se ha detenido el uso de antibióticos como aditivos alimentarios en países como Suecia y Noruega adquiriendo la posición de que los antibióticos son para curar enfermedades por lo que no deben utilizarse para promover el crecimiento. En Noruega, los granjeros no pueden administrar antibióticos por ellos mismos, excepto cuando se haya establecido un tratamiento por el médico veterinario después de elaborar un diagnóstico a un solo animal. Por otro lado, en Escandinavia el uso de antibióticos es restringido y sólo se distribuyen a través de farmacias especializadas. Los médicos veterinarios no pueden vender estos productos a los granjeros a menos de que se haya iniciado un tratamiento previo [60].

Otro ejemplo es Dinamarca que tiene implementado un programa continuo en los rastros para monitorear la presencia de *Salmonella* en carne de puerco desde julio de 1993. Y, como podemos observar en la Tabla 7, la presencia de *Salmonella* en carne de puerco danesa también ha disminuido considerablemente.

Tabla 7. Frecuencia de *Salmonella* en muestras de carne de puerco [72]

Año	% muestras positivas
1996	1.2
1997	1.1
1998	1.2
1999	0.9
2000	0.7
2001	0.65

Estas son algunas evidencias a gran escala de que suspendiendo el uso de antibióticos en la agricultura se puede revertir el riesgo de bacterias antibiótico-resistentes en el ganado. La WHO ha planteado principios globales para reducir el uso excesivo de antibióticos en animales

productores de alimentos protegiendo así la salud pública. Dinamarca podría ser considerado como modelo a seguir para otros países debido a que todos los alimentos de origen animal (carne de res, carne de puerco, huevo, leche, productos lácteos y tocino) y los animales destinados a consumo humano se monitorean constantemente para *Salmonella* (en el 2002, Wheelock y Foster reportaron que los casos de salmonelosis registrados en humanos en el año 2001 fueron 2,918, es decir, 54.5 casos por cada 100 habitantes. Este numero representa un decremento en comparación con 1997 que se registraron 5,015 casos) [72].

3.3. Medidas de seguridad que es recomendable considerar para evitar la propagación de bacterias antibiótico resistentes.

Es importante aplicar buenas prácticas de manufactura, buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de inocuidad de alimentos e implementar sistemas de aseguramiento de la calidad. La necesidad del uso de antibióticos en animales productores de alimentos se puede reducir si los niveles de enfermedad se minimizan mediante el mejoramiento en el cuidado veterinario del ganado. En Europa, se han mejorado los estándares de calidad en cuanto al cuidado de los animales, alojamiento y nutrición particularmente en la industria intensiva de animales productores de alimentos. Y se ha demostrado que el uso de antibióticos como promotores de crecimiento actualmente puede no ser tan importante ni tan necesario como lo pudo haber sido antes.

También es importante realizar estudios destinados a establecer no sólo la eficacia clínica de estos fármacos, sino también conocer los factores que regulan la presencia de residuos en los tejidos comestibles y el desarrollo de resistencia de los organismos susceptibles a la acción de estos fármacos. Así como establecer el posible impacto ambiental que pudieran ocasionar estos

fármacos y sus metabolitos cuando son eliminados al ambiente. Se deben desarrollar y homologar metodologías analíticas y criterios para el establecimiento de límites máximos de residuos de los fármacos de mayor uso en animales. Los resultados de estos estudios pueden contribuir a facilitar el intercambio comercial de productos de origen animal y al mejoramiento de la calidad y seguridad de estos alimentos destinados al consumo humano y su impacto en la salud pública.

La OMS ha recomendado a todos los países que eliminen el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en los animales destinados al consumo. Y aunque no es de obligado cumplimiento, es un paso más en la lucha por resolver un importante problema sanitario actual como es la proliferación de bacterias antibiótico-resistentes. Se cuenta con información científica sólida que indica que los ganaderos pueden abandonar esta práctica sin sufrir efectos negativos ni para los animales ni para ellos mismos y que tendría efectos positivos para los humanos.

Los beneficios que se obtengan por el uso de los antibióticos utilizados tanto en medicina humana como en alimentación animal deben ser coordinados considerando utilizar patrones de referencia, y considerando también la tendencia de resistencia, datos de vigilancia, y recomendaciones de uso; todo esto en asociación con agencias regulatorias, compañías farmacéuticas, la industria alimenticia así como los profesionales encargados del cuidado de la salud tanto de animales como de humanos [6]. La resistencia a los antibióticos debe clasificarse considerando cada antibiótico utilizado, la concentración y la dosis administrada, la concentraciones en sangre y tejidos, las cepas bacterianas afectadas y las especies animales en las que se utiliza el antibiótico.

Y, como se mencionó en el capítulo 2.2, los antibióticos deben utilizarse exclusivamente en aquellos casos en que este demostrada su importancia para prevenir una infección por ejemplo, en

los ciclos iniciales de crecimiento de animales, especialmente sensibles a agentes infecciosos muy particulares, y como tratamiento de una infección documentada. Esta última es la forma ideal de tratamiento antimicrobiano, conociendo el agente causal ya que muchas veces el tratamiento se comienza de forma empírica en casos de sospecha de infección cuando se considera urgente la necesidad del mismo. Siempre que sea posible es importante realizar cultivos pertinentes previos, antes de instaurar el tratamiento, para poder valorar *a posteriori* la eficacia de los antibióticos utilizados. Es preferible además recurrir siempre a antibióticos de espectro reducido para poder aumentar la eficacia del tratamiento y reducir el eventual trastorno que el antibiótico ejercerá sobre la flora comensal. Únicamente se recomienda la asociación de antibióticos cuando estos presentan efectos aditivos o sinérgicos. Las dosis deben ser siempre terapéuticas puesto que los laboratorios farmacéuticos realizan los ensayos clínicos y los estudios cinéticos pertinentes que garantizan para la dosis propuesta, unos niveles de fármaco adecuados para eliminar a la bacteria

En la búsqueda de nuevas formas de enfrentarse al fenómeno de resistencia a antibióticos, el uso de bacteriófagos para combatir la multiresistencia parece prometedor. Algunos grupos de investigación en Polonia, Gran Bretaña, Rusia y Estados Unidos, han publicado algunos estudios de los bacteriófagos como alternativa a la terapia con antibióticos [65]. Sin embargo, existe el argumento de que el mismo escenario que se está observando con los antibióticos se podría desarrollar con el uso de bacteriófagos provocando resistencia en estos. Sin embargo, los antibióticos necesitan de dosis repetidas para alcanzar concentraciones bactericidas y este proceso tan lento podría fomentar la aparición de mutaciones que desarrollan resistencia. Sin embargo, el uso clínico de bacteriófagos, como alternativa al uso terapéutico de antibióticos, está todavía en las primeras fases de investigación y solo hasta que se tengan más detalles sobre la fisiología de

los bacteriófagos y el camino posible en los que podrían conferir virulencia, existe la posibilidad de no utilizarlos. Pero este es uno de los acercamientos mas prometedores en el esfuerzo que se esta realizando por combatir la multiresistencia. Los antibióticos pueden por si solos inducir resistencia en los microorganismos por la transferencia horizontal de elementos móviles. La elucidación de secuencias genómicas adicionales para los patógenos, identificando así antígenos potenciales para desarrollar vacunas, identificando el modo de prevenir o inhabilitar la transmisión de información genética también es un avance muy importante y que requiere mas investigación.

Por otro lado la resistencia de los microorganismos a tratamientos tanto físicos como químicos utilizados para la conservación tradicional de alimentos ha dado un nuevo riesgo a la seguridad del suministro de alimentos. Por lo que nuevas técnicas para inhibir el crecimiento microbiano deben desarrollarse continuamente en la medida que los microorganismos se adaptan y sobreviven a la presencia de métodos de control previamente efectivos. Entender porque cada método de conservación es efectivo es el primer paso para poder predecir la respuesta de resistencia y así controlarla conforme se van desarrollando.

En resumen podemos decir que la adición de antibióticos en los alimentos destinados a producción animal es eficaz porque se consigue una acción contra microorganismos en general. Además, como una vez absorbidos se distribuyen por vía sanguínea por la totalidad del organismo, se consigue el efecto protector en cualquier órgano, lo que permite que la energía y los nutrimentos ingeridos puedan dedicarse a la producción y no a otros esfuerzos energéticos como la defensa en contra de enfermedades. El mercado ofrece productos que permiten un incremento significativo de la producción animal, lo cual representa un valor añadido. Esta apreciación facilita un empleo generalizado y mundialmente aceptado de fármacos. Desde este

punto de vista, el uso de antibióticos se puede considerar como una técnica aceptable, ya que a bajo costo se consigue que los animales no enfermen, y con este beneficio, se obtiene una mejor producción y, si se aplican correctamente, no dejan residuos en la carne. Sin embargo, las evidencias científicas que se han venido publicando en los últimos 10 a 15 años revelan que el uso masivo de antibióticos provoca una selección de microorganismos con capacidad para resistir la acción antimicrobiana de estas sustancias. Por tanto, no se trata de un problema exclusivo de residuos, sino de interacciones entre las sustancias farmacológicas, el medio ambiente, los animales y el hombre, lo que complica su solución. Este rápido y extenso desarrollo de bacterias resistentes resulta en una necesidad de aumento en el descubrimiento de nuevos antibióticos así como investigar las posibles interacciones para prevenir el desarrollo de resistencia. Las implicaciones sobre la selección de microorganismos patógenos antibiótico-resistentes y posibles consecuencias medioambientales, han llevado finalmente a un control de estas sustancias. Actualmente se recomienda que el empleo de antibióticos debe ser controlado y que sólo hay que aplicarlo en aquellas situaciones en las que sea realmente necesario.

4. C O N C L U S I O N E S

- I. El uso de antibióticos, utilizados como promotores de crecimiento en animales, puede reducirse progresivamente si se mejoran las prácticas higiénicas en el manejo del ganado. Por ningún motivo los antibióticos se deben utilizar para enmascarar malas prácticas de higiene.
- II. El aumento de resistencia, impone la necesidad de separar los antibióticos utilizados en alimentación animal de los empleados con fines terapéuticos, tanto en veterinaria como en medicina humana.
- III. Se necesitan programas de vigilancia para monitorear el desarrollo de resistencia a antibióticos y organismos que vigilen su aplicación.
- IV. Es necesario que se implemente un Código de Práctica Internacional para el uso de antibióticos en alimentación animal. Así como regular estrictamente el comercio de los productos utilizados en el sector pecuario, para una aplicación responsable, que permita obtener alimentos en abundancia sin que atente contra la salud del ser humano.
- V. Con las evidencias que se presentaron sobre las alternativas que ha desarrollado Europa para disminuir la incidencia de microorganismos antibiótico-resistentes, queda demostrado que una disminución en el uso de antibióticos como promotores de crecimiento no implica una reducción en la productividad de los animales. Por lo tanto, tampoco produce pérdidas económicas para el productor de alimentos y los precios al consumidor tampoco deben aumentar por esta razón.
- VI. Es recomendable la investigación sobre métodos alternativos para mejorar el crecimiento y la eficiencia alimentaria.

- VII. La cantidad de bacterias antibiótico-resistentes tanto en animales como en humanos, se puede reducir si se establecen altos estándares de higiene y seguridad en el suministro de alimentos. La contaminación de los alimentos por microorganismos ha sido el tema principal de diversos grupos de regulación sanitaria alrededor del todo el mundo.
- VIII. Es necesario continuar con la búsqueda de nuevos compuestos que se puedan utilizar como alternativa para su uso como promotores de crecimiento.

5. G L O S A R I O

1. **Antibiograma (bioensayo):** es una prueba de resistencia o sensibilidad de las bacterias colocadas bajo la acción de antibióticos diversos. Si un microorganismo está en contacto con el fármaco y aún subsiste su capacidad vital, se deduce la inoperancia farmacológica del producto frente a ese microorganismo y se dice que hay resistencia al antibiótico. En forma inversa, si la zona que rodea al antibiótico está totalmente libre, es decir, que no hay desarrollo de bacterias, es sensible al fármaco. Es recomendable realizar previamente un antibiograma para conocer que la cepa a tratar es sensible al antibiótico que se va a utilizar [4].
2. **Antibiótico:** (1) Relacionado con la capacidad de destruir o impedir el desarrollo de un organismo vivo. (2) Sustancia obtenida por cultivo de un microorganismo o producida semisintéticamente, que se utiliza en el tratamiento de las infecciones [17].
3. **Antibióticos aminoglucósidos:** constituidos por azúcares amínicos en unión glucosídica, impiden la síntesis de las proteínas bacterianas y se utilizan principalmente en el tratamiento de infecciones producidas por bacterias Gram negativas [17].
4. **Antibióticos derivados de la penicilina (β -lactámicos):** inhiben la síntesis de mucopéptidos de la pared celular bacteriana durante la multiplicación de las bacterias [17].
5. **Antibióticos macrólidos:** impiden la síntesis de proteínas de las bacterias sensibles durante la multiplicación de éstas, sin alterar la síntesis del ácido nucléico [17].
6. **Antibióticos polipeptídicos:** son fundamentalmente bacteriostáticos y se cree que ejercen su acción por inhibición de la síntesis proteica de las bacterias [17].
7. **Bacteria comensal:** bacterias que viven en alguna parte del cuerpo (como intestino, piel) que no causa enfermedad (p. ej. *Escherichia coli*, enterococos) pero que puede causarla si tiene acceso a alguna parte del cuerpo diferente a su hábitat normal [17].
8. **Bacteria patógena:** es aquella que ocasiona perjuicio al hospedador [17].
9. **Bacterias zoonóticas:** son organismos patógenos que se transfieren al humano por contacto directo con animales o productos de estos (p. ej. *Brucella sp.*, *Salmonella* y *Campylobacter*) [17].

10. **Bacteriocinas:** péptidos sintetizados en los ribosomas (aunque algunas requieren una extensa modificación post-traducciona para adquirir actividad). El gen estructural de la bacteriocina y los genes que codifican las proteínas implicadas en su procesamiento y transporte (y en exhibir inmunidad a su acción) se encuentran, a menudo, en un plásmido o en un transposon. Se nombran de acuerdo con la especie del organismo que las produce, por ejemplo, *Escherichia coli* produce colicinas, *Bacillus subtilis* produce subtilinas [12, 42].
11. **Cloranfenicol:** antibiótico de amplio espectro, inhibe la síntesis proteica de la bacteria impidiendo el paso de los aminoácidos activados del ARN soluble a los ribosomas. Es un compuesto antimicrobiano, su peligrosidad radica en que produce anemia aplásica en individuos susceptibles, cuyo efecto no está relacionado a la dosis ingerida [17].
12. **Enterotoxemia:** enfermedad del ganado que se atribuye a toxinas absorbidas por los intestinos. La enfermedad es ocasionada por la bacteria *Clostridium perfringens*. Esta bacteria habita normalmente sin causar problemas. Sin embargo, hay ciertas condiciones que provocan un aumento exagerado del número de esta bacteria haciendo posible que se produzcan suficientes cantidades de toxinas y, como resultado, la muerte del animal [5].
13. **Ergotrópicos:** son aquellas sustancias que no resultan necesarias para la vida pero que elevan y estabilizan las producciones animales, mantienen la calidad de los piensos y mejoran la calidad de los productos de origen animal [24].
14. **Integron:** (1) serie de genes codificados en un elemento genético generalmente del tipo de un cartucho que permite la escisión e inserción de genes individuales, por ejemplo, enzimas (integrasas) o proteínas indispensables para la conjugación. (2) son elementos de ADN móviles que a menudo contienen uno o más genes asociados con la resistencia a antibióticos. (3) es un elemento genético dinámico, en el que por un mecanismo de recombinación sitio específica se acumula una combinación de genes estructurales organizados como un operón. Los genes estructurales presentes en los integrones conocidos son mayoritariamente, pero no exclusivamente, genes de resistencia a antibióticos [19, 59].
15. **Límite máximo residual (LMR):** se define como aquella concentración aceptable de una sustancia en los tejidos comestibles de un animal (músculo, hígado, riñones, grasa, leche, huevos) y que al ser ingerida por el ser humano no constituye ningún riesgo para su salud.
16. **Nisina:** es un antibiótico producido por *Lactococcus lactis*. Se presenta en la leche ácida y en el queso. Es un péptido antimicrobiano con denominación GRAS que está encontrando

utilidad como conservador de alimentos. Ejerce su acción bactericida formando poros dependientes de voltaje en el citoplasma de microorganismos susceptibles [9].

17. **Pienso alimenticio:** producto destinado a la alimentación de los animales domésticos.
18. **Plásmidos:** elementos genéticos que se replican independientemente del cromosoma del hospedador, los cuales codifican genes para diferentes funciones que no son indispensables para el crecimiento de la célula [42].
19. **Presión de selección:** el uso de un antibiótico en cualquier dosis o por cualquier periodo de tiempo, obliga a los microorganismos ya sea a adaptarse o morir frente a un fenómeno denominado presión de selección [42].
20. **Profilaxis:** conjunto de métodos encaminados a evitar las enfermedades o su propagación. Tratamiento preventivo de una enfermedad [5].
21. **Resistencia a antibióticos:** capacidad adquirida por un microorganismo para crecer en presencia de un antibiótico frente al cual el microorganismo es habitualmente sensible. La resistencia bacteriana se da cuando los microorganismos sobreviven a una concentración de antibiótico mayor a la que se puede alcanzar in vivo [63].
22. **Transposon (jumping gene):** secuencias cortas de ADN que se pueden trasponer entre plásmidos o de un plásmido hacia un cromosoma o hacia un fago sin necesidad de homología entre donador y receptor. Son capaces de decidir su propio sitio de inserción. Poseen el gen que codifica para la resistencia a antibióticos rodeado de dos secuencias de inserción. Pueden pasar de la posición de un genoma a otra posición en el mismo genoma o hacia un lugar diferente. Se pueden mover entre diversas estructuras genéticas intracelulares o entre células bacterianas [5, 58].
23. **Zoonosis:** describe cualquier enfermedad que es transmitida de manera directa de los animales al hombre [5].

6. A N E X O I ^c

Ley Federal de Sanidad Animal [40]

Titulo primero. Disposiciones generales., *Capítulo II*, Artículo 2

Análisis de riesgo: La evaluación de la probabilidad de entrada, radicación y propagación de enfermedades o plagas de los animales en el territorio nacional o zona del país, de conformidad con las medidas zoonosanitarias que pudieran aplicarse, así como las posibles consecuencias biológicas, económicas y ambientales. Incluye asimismo la evaluación de los posibles efectos perjudiciales para la salud humana y animal provenientes de aditivos, sustancias contaminantes, toxinas u organismos patógenos en alimentos de origen animal, bebidas y forrajes.

Casetas de vigilancia: Instalaciones ubicadas en las vías terrestres de comunicación donde se lleva a cabo la constatación de expedición del certificado zoonosanitario y la verificación física de animales, sus productos y subproductos, así como de los productos biológicos, farmacéuticos y alimenticios para uso en animales o consumo por estos, para el control de su movilización de una zona a otra, de acuerdo a lo establecido por esta ley.

Capítulo III, de la autoridad competente, Artículo 4

Fracción V. Aprobar médicos veterinarios, organismos nacionales de normalización, organismos de certificación, unidades de verificación y laboratorios de prueba en materia zoonosanitaria con apego a lo establecido en la Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Establecer sistemas de normalización los que deberán publicarse en el

^c En el presente capítulo, todos los textos subrayados son los que consideran, va sea de manera directa o indirecta, la regulación y control de los antibióticos en México.

Diario Oficial de la Federación, que contemplen los procedimientos de inspección con las especificaciones en la construcción y equipamiento de las plantas de sacrificio y proceso de los productos cárnicos, biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios para uso en animales que se encuentren en el extranjero susceptibles de ser importados a territorio nacional, así como crear un registro de estos, al cual tendrán acceso los particulares.

Fracción XI. Regular los animales, productos y subproductos de origen animal, los productos biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios para uso en animales o consumo por estos que constituyan un riesgo zoonosario y coadyuvar a evitar los riesgos para la salud humana, implementando las medidas zoonosarias pertinentes.

Título segundo. De las medidas zoonosarias.

Capítulo II. De los productos y subproductos animales y de los productos biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios, para uso en los animales o consumo por estos.

-Artículo 16. las normas oficiales fijarán tanto los límites máximos permitidos de residuos de antibióticos compuestos hormonales químicos y otros en productos y subproductos, así como el tiempo de eliminación de los mismos en animales vivos.

Capítulo V. De la movilización, importación y exportación

-Artículo 26. los agentes aduanales, así como quienes importen o movilicen por cualquier concepto animales, sus productos o subproductos y productos biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios, para uso en animales o consumo por estos, serán responsables de comprobar que exista, en su caso, el certificado zoonosario correspondiente.

-Artículo 27. en los productos y subproductos de origen animal, así como en los productos biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios para uso en animales o consumo por estos que no requieran de certificado zoonosanitario, deberán mencionarse ostensiblemente durante su comercialización, las especificaciones zoonosanitarias con que cumplen, sean éstas normas mexicanas, las del fabricante o del productor, las del país de origen o, en su defecto, las internacionales.

Título tercero. De la aprobación y verificación.

Capítulo II. De la verificación. La Secretaría deberá inspeccionar aleatoriamente, de acuerdo al nivel de riesgo, todos los animales, sus productos y subproductos, así como los productos biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios para uso o consumo en animales que cuenten con certificado zoonosanitario correspondiente, con objeto de comprobar el cumplimiento de Normas Oficiales Mexicanas en materia de sanidad animal, previa identificación de los servidores públicos que practiquen la inspección, quienes asentarán el resultado de la misma en un acta circunstanciada.

NOM-004-ZOO-1994 [46]

Esta Norma considera: Que el control de residuos tóxicos se establece con el fin de asegurar a los ciudadanos el suministro de alimentos sanos e inocuos. Que entre los beneficios que reporta el hecho de contar con un programa eficaz de residuos, se encuentra el de participar con mayor confianza en el comercio internacional de alimentos, contando de esta forma con las bases suficientes para certificar la inocuidad de los productos alimenticios cárnicos, tanto importados como exportados. Que los residuos presentes en los alimentos pueden ser de naturaleza biológica por contaminación microbiana proveniente del manejo inadecuado de los productos; química por el uso

incorrecto de medicamentos veterinarios o plaguicidas; por no concluir el lapso de retiro o plazo de seguridad estipulado.

En el punto 3.1.10. define al medicamento veterinario como cualquier sustancia aplicada o administrada a un animal destinado a la producción de alimentos con fines terapéuticos, profilácticos, de diagnóstico o para modificar las funciones fisiológicas y/o el comportamiento.

En el punto 4. DISPOSICIONES GENERALES en lo que respecta a antibióticos considera el siguiente riesgo:

La aplicación de antibióticos en concentraciones subterapéuticas para mejorar la conversión alimenticia o como promotores de crecimiento en los animales, conlleva el riesgo de poner en peligro la vida del consumidor de los productos de origen animal o la salud de éste, ya sea por una reacción de hipersensibilidad, un efecto específico o por el desarrollo y transmisión de organismos patógenos resistentes a la terapia con antibióticos.

MODIFICACIÓN a la NOM-004-ZOO-1994 [43]

En la fracción 5.2 (Cuadro 1) establece los limites máximos permisibles de antibióticos en grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovinos, caprinos, cérvidos, equinos, ovinos y porcinos. En la fracción 6.1 especifica los diferentes compuestos que deben detectarse en los tejidos señalados así como la metodología analítica oficial establecida (Cuadro 2).

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de antibióticos en los tejidos que señala esta norma

COMPUESTO	ESPECIE							
	TEJIDO	BOVINO	EQUINO	PORCINO	OVINO	AVE	CAPRINO	CERVIDO
Cloramfenicol	Músculo	0(0.005)*	0(0.005)*	0(0.005)*	0(0.005)*	0(0.005)*	0(0.005)*	0(0.005)*
Estreptomina	Hígado	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
	Riñón	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
	Músculo	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
Penicilina	Hígado	0.50	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
	Riñón	0.50	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
	Músculo	0.50	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Tetraciclina	Hígado	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
	Riñón	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
	Músculo	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
Eritromicina	Hígado	0.100	0.100	0.100	0.100	0.125	0.100	0.100
	Riñón	0.100	0.100	0.100	0.100	0.125	0.100	0.100
	Músculo	0.100	0.100	0.100	0.100	0.125	0.100	0.100
Neomicina	Hígado	0.500	0.500	0.750	1.250	0.750	1.250	1.250
	Riñón	0.750	0.750	1.000	1.250	1.000	1.250	1.250
	Músculo	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
*Los valores entre paréntesis indican los límites mínimos de detección en ppm, que se deben alcanzar en el laboratorio.								

Cuadro 2. Compuestos a identificar y metodología analítica establecida y aceptada para su determinación

COMPUESTOS	TEJIDOS PRIMARIOS	TEJIDOS SECUNDARIOS	MÉTODOS
ANTIBIÓTICOS (a excepción del cloranfenicol)	Hígado, riñón y músculo		Prueba de torunda, bioensayo ¹ Extracción líquido-líquido, Cromatografía de gases
SULFONAMIDAS	Músculo	Hígado	Extracción líquido-líquido, Cromatografía en capa fina

NOM-012-ZOO-1993 [47]

Esta norma considera: que los productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos, se emplean con fines nutricionales, preventivos, de diagnóstico, control y tratamiento de enfermedades, contribuyen al incremento en la producción pecuaria nacional. Y en la fracción 7.2.3. habla sobre los productos alimenticios, estableciendo que las técnicas analíticas para el control de calidad de estos, deben ser las reconocidas por organismos nacionales e internacionales; y debe incluir el análisis químico proximal, la determinación cuantitativa de minerales, vitaminas, antibióticos, antiparasitarios, fungicidas, plaguicidas, cuando así se requiera. Los resultados analíticos deben ser revisados y avalados por un profesionista responsable del laboratorio, para lo cual se debe contar con un registro de los cálculos, observaciones y resultados obtenidos.

NOM-032-ZOO-1996 [48]

Esta norma considera que el consumo de alimentos con residuos de antibióticos implica diversos riesgos para la salud. Y que entre los beneficios que reporta el determinar este tipo de residuos, se encuentra el de participar con mayor confianza en el comercio internacional de alimentos, contando de esta forma con las bases suficientes para certificar la inocuidad de los productos alimenticios cárnicos, tanto importados como exportados.

NOM-040-ZOO-1995 [49]

Esta Norma hace las siguientes consideraciones: Que el uso de los antimicrobianos puede constituir un riesgo para la salud pública, cuando su aplicación se proporciona en forma indiscriminada a los animales. Que los antimicrobianos constituyen un valioso apoyo en el tratamiento de las enfermedades más comunes en los animales, sin embargo, su abuso o mal uso puede ocasionar resistencia en algunas enfermedades de la salud pública. Que si se detectan residuos de antimicrobianos en las carnes, o grasas de los animales para consumo humano, procede el decomiso de las mismas, ocasionando con ello una pérdida económica para el productor.

Las siguientes familias de antimicrobianos están sujetas a las regulaciones de esta Norma: Penicilinas, Cefalosporinas, Aminoglucósidos, Macrólidos, Lincosamidas, Tetraciclinas, Diterpenos y Amfenicoles.

NOM-061-ZOO-1999 [50]

Esta Norma establece las siguientes definiciones:

Aditivos: Cualquier material de uso específico que se incluya en el alimento que favorezca su presentación, preservación, así como la ingestión, aprovechamiento, profilaxis o pigmentación en los animales y sus productos.

Moduladores o promotores de crecimiento: Productos de diversas características químicas, distinta acción biológica, con diversos grados de inocuidad y formas de uso. Estos compuestos no reemplazan los nutrimentos ni los alimentos, únicamente dirigen más eficientemente los procesos metabólicos, facilitando el anabolismo y la mejor fijación de proteínas en el organismo.

NOM-064-ZOO-2000 [51]

Esta Norma establece la siguiente definición:

Producto farmacéutico veterinario: Todo producto elaborado de origen natural o sintético con efecto terapéutico y/o preventivo para uso en animales o consumo por estos.

En el punto 4 establece los criterios para clasificación, prescripción y comercialización de los ingredientes activos de los productos farmacéuticos veterinarios, clasificándolos en tres grupos, de los cuales el grupo I es el que involucra el uso de antibióticos:

Grupo I: ingredientes activos de productos farmacéuticos veterinarios restringidos para venta mediante receta médica cuantificada y uso exclusivo del médico veterinario con cédula profesional. En este grupo se consideran aquellos productos farmacéuticos

veterinarios formulados con ingredientes activos cuyo efecto pueda ser psicotrópico, estupefaciente, anabólico, hormonal o aquellos que en algún momento puedan propiciar el uso indebido, el desvío de uso y/o el abuso.

En el punto 5 establece los criterios para elaborar una receta médica:

5.3.10. En el caso de medicamentos que se destinen para su empleo en animales cuyos productos y/o subproductos sean destinados para consumo humano, debe indicarse en la receta médica el tiempo de retiro previo a la postura, ordeña o sacrificio de los animales.

Y en el punto 6 establece los ingredientes activos que están prohibidos para uso directo en animales, o en la formulación de productos farmacéuticos veterinarios.

6.5. Ingredientes activos que por recomendación de organismos internacionales reconocidos hayan sido restringidos o prohibidos por razones sanitarias o zoonosológicas.

NOM-091-SSA1-1994 [52]

Esta Norma habla sobre las disposiciones y especificaciones sanitarias que deben cumplirse en cuanto a la manipulación de leche pasteurizada de vaca. Y en punto 6 establece la prueba de inhibidores bacterianos incluyendo a los antibióticos.

NOM-121-SSAI-1994 [53]

En el punto 7 establece las especificaciones sanitarias que se deben cumplir en la producción de los quesos objeto de esta Norma. En la fracción 7.6 habla sobre los aditivos para alimentos y establece lo siguiente:

7.6.3.1. Para los quesos madurados prensados se permite el uso de Natamicina o Pimaricina (sólo en la superficie de los quesos). 0,002% máx y

7.6.3.2. Para los quesos procesados se permite el uso de Nisina 0,00125% máx

NOM-122-SSAI-1994 [54]

En la fracción 6.3, habla de los productos de importación. Y establece que estos deben elaborarse con carne de animales autorizados para consumo humano que no rebasen los límites de sustancias tóxicas o nocivas, **antibióticos**, residuos de medicamentos y plaguicidas que se establecen en la Norma: NOM-004-ZOO- 1993. Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos.

7. B I B L I O G R A F Í A

1. ACHA P.N. 1986. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales.** 2ª edición. Ed. Organización Panamericana de la salud., OMS. Estados Unidos. 201, 209, 210 pp.
2. ANDERSSON D.I. 2003. **Persistence of antibiotic resistant bacteria.** *Cur. Op. Microb.* 6:452-456.
3. AURELI P., Ferrini A., 2003. **Susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Italy to antibiotics.** *Int. J. Food Microb.* 83:325-330.
4. BERGOGLIO R.M. 1993. **Antibióticos.** 5ª edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 3-12, 18-30pp.
5. BLOOD, D.C. 1988. **Diccionario de veterinaria.** Ed. Mc Graw Hill Interamericana. España.
6. Board on Agriculture National Research Council (BANRC). 1999. **The use of drugs in food animals, benefits and risks.** Ed. National Academy Press. Washington D.C. 22-26pp.
7. BONTEN M.J, Willems R, Weinstein R.A. 2001. **Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from?.** *THE LANCET Infectious Diseases.* Vol. 1 314-325.
8. BOWER, C.K. & Daeschel, M.A. 1999. **Resistance responses of microorganisms in food environments.** *Int. J. Food Microb.* 50:33-44.
9. CANCHO, G.B., García, F.M., Simal, G.J., 2000. **El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual.** *Cienc. Tecnol. Aliment.* 3:39-47.
10. CARRILLO L.E. 2001. **Antibióticos en alimentos de origen animal.** Gaceta Universitaria. Guadalajara.
11. CERNIGLIA C. and Kotarski S. 1999. **Evaluation of veterinary drug residues in food for their potential to affect human intestinal microflora.** *Reg. Tox. Pharm.* 29:238-261.

12. CLEVELAND J., Montville T.J., Nes I.F. Chikindas L.M. 2001. **Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation.** *Int. J. Food Microb.* 71:1-20.
13. COCCONCELLI P.S., Cattivelli D., Gazzola S., 2003. **Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among *Enterococcus faecalis* during cheese and sausage fermentations.** *Int. J. Food Microb.* 88:315-323.
14. COULTATE T.P. 1998. **Manual de química y bioquímica de los alimentos.** 2ª edición. Ed. Acirbia S.A. Zaragoza, España. 294, 295pp.
15. CHEEKE P.R. 1999. **Applied animal nutrition, feed and feeding.** 2ª edición. Ed. Prentice Hall. EUA. 245-248 pp.
16. CHURCH D.C. 1994. **Fundamentos de nutrición y alimentación de animales.** Ed. UTEHA Noriega Editores. México. 259-264pp.
17. D'ANGELO G., Clarós M. 2000. **Diccionario de medicina** Océano Mosby. 4ª edición. Ed. Grupo Océano. España 81-83pp.
18. DAVIES J, and Wright G, D. 1997. **Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics.** *Trends in Microb.* Vol. 5 No. 6 234-240.
19. DEAN A., Magnus R., Mazel D. 2001. **Integrans: natural tools for bacterial genome evolution.** *Cur. Op. Microb.* 4:565-569.
20. DEL CERRO A., Soto S.M., Mendoza M.C. 2003. **Virulence and antimicrobial-resistance gene profiles determined by PCR-based procedures for *Salmonella* isolated from samples of animal origin.** *Food Microb.* 20:431-438.
21. DUFFY G., Cloak O.M., Sullivan M.G., Guillet A., Sheridan J.J., Blair I.S., McDowell D.A. 1999 **The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella spp.* on Irish retail meat products.** *Food. Microb.* 16:623-631.
22. EDWARDS D. 1980. **Antimicrobial drug action.** Ed. David Edwards. Hong Kong. 55-81.
23. ENSMINGER M.E. 1983. **Alimentos y nutrición de los animales.** Ed. El Ateneo. Argentina. 99, 197 pp.

24. FEHLHABER K., Janetschke P. 1995. **Higiene veterinaria de los alimentos**. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 100-103pp.
25. FENNEMA O.R.1996. **Food chemistry**. 3ª edición. Ed. Marcel Dekker Inc. USA. 791-792pp.
26. FERNANDEZ A. 1997. **Evaluación de la resistencia a antibióticos en bacterias aisladas de alimentos de origen animal**. <http://www.unavarra.es/genmic/publicaciones/tfc/Alaitz%20Fernandez.htm>
27. FRANZ C., Stiles M.E., Schleifer K.H., Holzappel W.H. 2003. **Enterococci in foods a conundrum for food safety**. Review Article. *Int. J Food Microb.* www.sciencedirect.com.
28. GALE E.F. 1981. **The molecular basis of antibiotic action**. 2a edición. Ed. John Wiley & Sons. Gran Bretaña. 548-590 pp.
29. GIRAFFA, G. 2002. **Enterococci from foods**. *FEMS Microb. Rev.* 26:163-171.
30. GORBACH S.L. 2001. **Antimicrobial use in animal feed-time to stop**. *N. Engl. Med.* Vol. 345. No. 16
31. GRUPTA A., Fontana J., Crowe C., Bolstorff B., Stout A., 2003. **Emergence of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* serotype Newport Infections Resistant to Expanded-Spectrum Cephalosporins in the United States**. *The J. of Inf. Dis.* 188:1707-1716.
32. GUSTAFSON R.H. & Bowen R.E. 1997. **Antibiotic use in animal agriculture**. *J. Ap. Microb.* 83: 531-541.
33. HAMMOND S.M., Lambert P.A. 1980. **Antibióticos y acción antimicrobiana**. Ediciones Omega S.A. España. 53-63pp.
34. HEINEMANN J.A., Akenbauer R.G., Amabile-Cuevas C.F. 2000. **Do antibiotics maintain antibiotic resistance? DDT**. Vol. 5, No. 5. 195-204.
35. HERSOM, A.C., Hulland, E.D. 1995. **Conservas alimenticias**. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 68-72pp.

36. HUGHES D., Andersson D.I. 2001. **Antibiotic development and resistance**. Ed. Taylor and Francis. Londres. 137-154pp.
37. Joint Expert Advisory Committee on Antibiotic Resistance (JETACAR). 1999. Report. **The use of antibiotics in food-producing animals: antibiotic-resistant bacteria in animals and humans**. Australia.
38. KLARE I., Konstabel C., Badstübner D., Werner G., Witte W. 2003. **Ocurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium***. Review Article. *Int. J. Food Microb.* www.sciencedirect.com.
39. KLEIN G. 2003. **Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of Enterococci from food and the gastrointestinal tract**. *Int. J. Food. Microb.* www.sciencedirect.com.
40. **Ley Federal de Sanidad Animal**. Texto vigente (ultima reforma aplicada 12/06/2002)
41. LUND S.T., Blom M., Monnet D.L., 2001. **Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic-resistant *Enterococcus faecium* from chicken and pork**. *N. Engl. J. Med.* Vol. 345, No. 16
42. MADIGAN M.T., Martinko J.M., Parker J. 1998. Brock. **Biología de los microorganismos**. 8ª edición. Ed. Prentice Hall. España. 320-341, 398, 414, 415, 423-427, 434, 435, 440.
43. MODIFICACIÓN a la Norma Oficial Mexicana **NOM-004-ZOO-1994** grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovinos, caprinos, cérvidos, equinos, ovinos y porcinos. Residuos tóxicos. Límites máximos permisibles y procedimientos de muestreo.
44. NICHOLAS F.W. 1987. **Genética veterinaria**. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 309-315, 326-331pp.
45. NICHOLAS F.W. 1996. **Introducción a la genética veterinaria**. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 216, 217, 220 y 221 pp.
46. Norma Oficial Mexicana **NOM-004-ZOO-1994**. Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos.

47. Norma Oficial Mexicana **NOM-012-ZOO-1993**. Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos.
48. Norma Oficial Mexicana **NOM-032-ZOO-1996**. Determinación de antibióticos en hígado, músculo y riñón de bovinos, equinos, aves, caprinos y cérvidos por la prueba de la torunda y por bioensayo.
49. Norma Oficial Mexicana **NOM-040-ZOO-1995**. Especificaciones para la comercialización de sales puras antimicrobianas para uso en animales o consumo por estos.
50. Norma Oficial Mexicana **NOM-061-ZOO-1999**. Especificaciones zoonosológicas de los productos alimenticios para consumo animal.
51. Norma Oficial Mexicana **NOM-064-ZOO-2000**. Lineamientos para la clasificación y prescripción de productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos
52. Norma Oficial Mexicana **NOM-091-SSA1-1994**. Bienes Y Servicios. Leche Pasteurizada De Vaca. Disposiciones Y Especificaciones Sanitarias.
53. Norma Oficial Mexicana **NOM-121-SSA1-1994**. Bienes Y Servicios. Quesos: Frescos, Madurados Y Procesados. Especificaciones Sanitarias.
54. Norma Oficial Mexicana **NOM-122-SSA1-1994**. Bienes Y Servicios. Productos De La Carne. Productos Cárnicos Curados Y Cocidos, Y Curados Emulsionados Y Cocidos. Especificaciones Sanitarias.
55. ORDEN G.J., de la Fuente L.R., 2001. **Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal**. *Rev. Esp. Salud Pública*. 75: 313-320.
56. PETERS J., Mac K., Wichmann-Schauer H., Klein G., Ellerbroek L. 2003. **Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in germany**. *Int J. Food Microbiology*. 88:311-314.

57. PEZZOTTI G., Serafin A., Luzzi I., Mioni R., Milan M. Perin R. 2003. **Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy.** *Int. J. Food Microb.* 82:281-287.
58. PRESSCOT J.F., Baggot J.D. 1993. **Antimicrobial therapy in veterinary.** 2a edición. Ed. Iowastate University Press. USA. 21-33, 562-567pp.
59. RECCHIA G. D. & Hall R. M. 1997. **Origins of the mobile gene cassettes found in integrons.** *Trends in Microbiol.* Vol. 5. 389-394.
60. REFSDAL A.O. 2000. **To treat or not to treat: a proper use of hormones and antibiotics.** *Anim. Rep. Sc.* 60:109-119.
61. RIEDL S., Ohlsen K., Werner G., Witte W., Hacker J. 2000. **Impact of flavophospholipol and vancomycin on conjugational transfer of vancomycin resistance plasmids.** *Ant. Ag and Chem.* Vol. 4, No. 11, 3189-3192pp.
62. ROBREDO B., Singh V.K., Baquero F., Murria E.B., Torres C. 2000. **Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food.** *Int. J. Food. Microb.* 54: 197-204.
63. ROMERO C, R. 1993. **Microbiología y Parasitología Humana.** Ed. Panamericana. México. 41-51pp.
64. SORUM H, L'Abée-Lund T.M. 2002. **Antibiotics resistance in food-related bacteria a result of interfering with global web of bacterial genetics.** *Int. J. Food Microb.* 78:43-56.
65. TAN Y, Darren J., McKay I.A. 2000. **Molecular strategies for overcoming antibiotic resistance in bacteria.** *Molecular Medicine Today.* Vol. 6. 309-314.
66. TEMMERMAN R., Pot B., Huys G., Swings J. 2003. **Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products.** *Int. J Food Microb.* 81:1-10.
67. TEUBER M. 2001. **Veterinary use and antibiotic resistance.** *Cur. Op. Microb.* 4:493-499.

68. THRELFALL E.; Ward R.L., Frost J.A., Willshaw G.A. 2000. **The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria.** *Int. J. Food. Microb.* 62:1-5
69. TROLLENIER H. 1994. **Antibióticos en medicina veterinaria.** Ed. Acibria. Zaragoza, España 13-40pp.
70. VAN DEN BOGAARD A. E., Willems R., London N., Top J., Stobberingh E. E., 2002. **Antibiotic resistance of faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers.** *J. Antimicrob. Chem.* 49:497-505.
71. WEGENER H.C., 2003. **Antibiotics in animal feed and their role in resistance development.** *Cur Op in Microb.* 6: 439-445. www.current-opinion.com
72. WHEELOCK V. & Foster C. 2002. **Food safety and pig production in Denmark.** Verner Wheelock Associates Ltd.
73. WHITE D. Zhao S., Sudler R., Ayers S., Friedman S. 2001. **The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meats.** *N Engl. J. Med.* Vol. 345, No. 16.
74. WHITE D.G., Zhao S., Simlee S., Wagner D.D., McDermott F.P. 2002. **Antimicrobial resistance of foodborne pathogens.** *Microbes & Infections.* 4:405-412
75. WITTE W. 1998. **Medical consequences of antibiotic use in agriculture.** *Science magazine.* Vol. 279, No. 5353, 996-997pp.
76. WITTE W. 2004. Review. **International dissemination of antibiotic resistant strains of bacterial pathogens.** *Infection, Genetics and Evolution.* www.sciencedirect.com
77. World Health Organization (WHO). 2002a. Press Release WHO/73 **Antibiotic use in food-producing animals must be curtailed to prevent increased resistance in humans.** <http://www.who.int/>.
78. World Health Organization (WHO). 2002b. **Use of antimicrobials outside human medicine and resultant antimicrobial resistance in humans.** Annual Reports. <http://www.who.int/>.
79. WRIGHT G.D. 2003. **Mechanisms of resistance to antibiotics.** *Cur. Op. Chem. Biol.* 7:563-569.