

Aislamientos de *Escherichia coli* de origen porcino resistentes a antimicrobianos de importancia crítica para la salud pública

Porcine Escherichia coli isolates resistant to critically important antimicrobials for public health

Gómez, María Fernanda; Vinocur, Florencia; Rodríguez Ramos, Sofía; Garassino, Bárbara Julieta; Nievas, Hernán Darío; Nievas, Victorio Fabio; Alarcón, Laura Valeria; Armocida, Alberto Domingo; Pérez, Estefanía Marisol; Griffo, David; Giacoboni, Gabriela Isabel; Moredo, Fabiana Alicia

 **María Fernanda Gómez**

fernandagomezmedvet@gmail.com
Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos.
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad
Nacional de La Plata, Argentina

Florencia Vinocur

Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata,
Argentina

Sofía Rodríguez Ramos

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos.
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad
Nacional de La Plata, Argentina

Bárbara Julieta Garassino

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos.
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad
Nacional de La Plata, Argentina

Hernán Darío Nievas

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos.
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad
Nacional de La Plata, Argentina

Victorio Fabio Nievas

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos.
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad
Nacional de La Plata, Argentina

Laura Valeria Alarcón

Cátedra de Epidemiología Aplicada. Facultad de
Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La
Plata, Argentina

Alberto Domingo Armocida

Cátedra de Medicina Porcina. Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata,
Argentina

Estefanía Marisol Pérez

Resumen: El objetivo del trabajo fue establecer el comportamiento de aislamientos de *E. coli* resistentes a cefotaxima (CTX) y/o colistina, obtenidos de materia fecal de cerdos de la República Argentina, frente a antimicrobianos de importancia crítica para la salud pública. En 2018, se procesaron 56 muestras de 11 granjas localizadas en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y San Luis. Se obtuvieron 31 aislamientos resistentes a cefotaxima, 21 a colistina y 23 a ambos antimicrobianos. El 69 % de los aislamientos fue resistente a ácido nalidíxico y el 37,3 % a ciprofloxacina, antimicrobianos de máxima prioridad. No se aislaron *E. coli* resistentes a carbapenemes. Setenta y tres aislamientos se comportaron como multirresistentes, de los cuales el 50 % mostró resistencia frente a seis o siete grupos de antimicrobianos. La resistencia a cefalosporinas de tercera generación se relacionó principalmente con el gen *bla*CTX-M, particularmente, *bla*CTX-M-8/25, mientras que la resistencia a colistina se asoció con el gen *mcr-1*. De los resultados se desprende que existen cerdos en la República Argentina que portan *E. coli* con resistencia a múltiples antimicrobianos, incluyendo los de importancia crítica para medicina humana y veterinaria. Otros estudios complementarios permitirán determinar los clones de *E. coli* productores de β -lactamasas de espectro extendido circulantes en granjas porcinas y su implicancia sobre la salud pública.

Palabras clave: antimicrobianos de importancia crítica, *Escherichia coli*, cerdos, resistencia antimicrobiana.

Abstract: The goal of this study was to establish the behavior of cefotaxime (CTX)-resistant *E. coli* and/or colistin-resistant *E. coli*, isolated from fecal samples of pigs in Argentina to other antimicrobials classified by the WHO as critically important for public health. In 2018, 56 samples from 11 farms located in Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, and San Luis provinces were processed. Thirty-one cefotaxime-resistant *E. coli*, 21 colistin-resistant *E. coli*, and 23 cefotaxime-colistin-resistant *E. coli* were obtained. Sixty-nine percent of the *E. coli* isolated were resistant to

David Griffo

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

 **Gabriela Isabel Giacoboni**

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

 **Fabiana Alicia Moredo**

Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

nalidixic acid and 37.3 % to ciprofloxacin, antimicrobials classified as the highest priority. No carbapenem-resistant *E. coli* were isolated. Seventy-three isolates were classified as multiresistant, of which 50 % showed resistance against 6 or 7 antimicrobial groups. Third-generation cephalosporin resistance was mainly associated with the *bla*CTX-M gene, particularly *bla*CTX-M-8/25, while colistin resistance was associated with the *mcr-1* gene. The study evidence that Argentinian pigs harbor multidrug-resistant *E. coli* isolates, including resistance to antimicrobials of critical importance for human and veterinary medicine. Complementary analyses will be necessary to determine extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* clones circulating in pig farms and their implications for public health.

Keywords: critically important antimicrobials, *Escherichia coli*, pigs, antimicrobial resistance.

ANALECTA VETERINARIA

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1514-2590

Periodicidad: Frecuencia continua

vol. 42, e067, 2022

analecta@fcv.unlp.edu.ar

Recepción: 08 Febrero 2022

Revisado: 29 Agosto 2022

Aprobación: 07 Septiembre 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/25/253057008/>

DOI: <https://doi.org/10.24215/15142590e067>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Introducción

Debido al impacto que la resistencia a los antimicrobianos (RAM) tiene sobre la salud pública, en mayo de 2015, la Asamblea Mundial de la Salud consideró la necesidad de implementar un “Plan de acción mundial”, proponiendo intervenciones para controlarla y, en particular, para reducir el uso innecesario de antimicrobianos (ATM) en el ser humano y los animales (OMS, 2017). Muchos ATM administrados a animales para consumo son los mismos, o están estrechamente relacionados, con los utilizados en humanos, como son las cefalosporinas de tercera generación, macrólidos y quinolonas. En animales, los ATM se utilizan con fines terapéuticos, profilácticos o metafilácticos, lo que puede llevar a la selección y propagación de bacterias resistentes, que luego pueden transmitirse al humano a través de los alimentos u otras vías (OMS, 2017). En este contexto, la OMS elaboró un listado de antimicrobianos de importancia crítica (AIC) que incluye la totalidad de ATM utilizados en salud pública (OMS, 2018). En función de su importancia, los categorizó en tres grupos, entre los cuales, algunos aparecen incluidos en la lista de agentes ATM importantes para medicina veterinaria (OIE, 2021). La finalidad de los documentos es la de contribuir con la gestión de la RAM y garantizar que todos los ATM, sobre todo los AIC, se utilicen de forma prudente, tanto en medicina humana como en medicina veterinaria (OMS, 2017). Dentro del

grupo AIC, se incluyen los de “máxima prioridad” (cefalosporinas de tercera y cuarta generación, macrólidos, polimixinas y quinolonas). En 2015, en la República Argentina, por resolución conjunta de los ministerios de Salud y de Agricultura, Ganadería y Pesca N° 834/2015 y 391/2015, adoptando el concepto de “Una Salud” impulsado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), se formalizó la Estrategia Argentina para el Control de la Resistencia Antimicrobiana. El Servicio Nacional de Sanidad Animal, mediante la Resolución SENASA 591/2015, estableció el “Programa Nacional de Vigilancia de la RAM en animales destinados al consumo humano”. El mismo tiene como una de sus finalidades, determinar y monitorear, de forma sostenida en el tiempo, la prevalencia de la resistencia de bacterias comensales y zoonóticas a diferentes antimicrobianos de importancia en salud humana. De esta manera, se pueden evaluar posibles medidas que permitan retrasar o impedir la diseminación de bacterias resistentes y, por consiguiente, minimizar su riesgo potencial sobre la salud pública y animal (SENASA, 2015). Es importante destacar que, si bien la OMS formula sugerencias, cada país o región tiene regulaciones propias. En relación con el grupo AIC de “máxima prioridad” también usados en medicina veterinaria, la principal cefalosporina de tercera generación aprobada para ser utilizada en animales por el SENASA es ceftiofur y la indicación terapéutica principal es el tratamiento de enfermedades respiratorias. Respecto del uso de colistina (COL) y sus sales, a partir de febrero de 2019, el SENASA prohibió su elaboración, distribución, importación, uso y tenencia como productos veterinarios (SENASA, 2019). Previamente, se indicaba para el tratamiento de septicemias, colibacilosis, salmonelosis e infecciones urinarias. En cuanto a las quinolonas, específicamente fluoroquinolonas, las más utilizadas en medicina veterinaria son enrofloxacin y norfloxacin. Presentan una amplia gama de aplicaciones y el tipo de enfermedades tratadas las convierte en agentes sumamente relevantes para la medicina veterinaria. Tienen importancia crítica para el tratamiento de septicemias e infecciones respiratorias y digestivas.

El objetivo del presente trabajo fue establecer el comportamiento de 75 aislamientos de *Escherichia coli* resistentes a cefotaxima (CTX) y/o COL, obtenidos de materia fecal de cerdos de la República Argentina, frente a antimicrobianos clasificados por la OMS como de importancia crítica para la salud pública.

Materiales y métodos

El trabajo se enmarcó en un estudio de tipo observacional, descriptivo y transversal que se llevó a cabo en el Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata y cuyo objetivo principal fue realizar un monitoreo de resistencia antimicrobiana en ecosistemas de producción porcina de la República Argentina. Durante el año 2018, se procesaron 56 muestras de materia fecal (entre cuatro y seis por granja) recolectadas del piso de los corrales en los que se alojaban los cerdos, de 11 establecimientos con sistema de producción intensivo en confinamiento, localizados en las provincias de Buenos Aires (seis), Santa Fe (dos), Entre Ríos (uno) y San Luis (dos).

Para la recuperación de los aislamientos de *E. coli* resistentes, se sembró 1 gramo de cada una de las muestras, en 9 ml de agua peptonada bufferada (Laboratorio Britania, Buenos Aires, Argentina) y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Posteriormente, se sembraron 30 µl del cultivo en agar Mac Conkey (Laboratorio Britania) con el agregado de 4 µg/ml de cefotaxima (Laboratorios Fabra, Buenos Aires, Argentina) o de 2 µg/ml de sulfato de COL (Laboratorio Vetanco, Buenos Aires, Argentina) (Faconne *et al.* 2019). Luego de un período de incubación de 24 horas, se seleccionó una colonia sospechosa de ser *E. coli* por medio selectivo/muestra, y dos en caso de ser morfológicamente diferentes. La identificación fenotípica de los aislamientos se realizó mediante pruebas bioquímicas y fisiológicas tradicionales.

La sensibilidad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión según las indicaciones del CLSI M100 ED31, a excepción de la COL cuya resistencia se estableció como crecimiento, o no, en agar Müeller-Hinton con el agregado de 3 µg/ml de sulfato de COL (Laboratorio Vetanco) (Servicio de Antimicrobianos INEI-ANLIS, 2017). La elección de los ATM se basó en las listas de AIC de la OMS y de ATM de importancia veterinaria de la OIE. Se incluyeron los siguientes discos (Lab. Britania): amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) (20/10 µg), cefotaxima (CTX) (30 µg), ceftazidima (CAZ) (30 µg), cefepime (FEP) (30 µg), ceftoxitina (FOX) (30 µg), imipenem (IMI) (10 µg), ertapenem (ERT) (10 µg), ácido nalidíxico (NAL) (30 µg), ciprofloxacina (CIP) (5 µg), gentamicina (GEN) (10 µg), amikacina (AMI) (30 µg), fosfomicina (FOS) (200 µg), cloranfenicol (CLO) (30 µg), tetraciclina (TET) (30 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) (1,25/23,75 µg) y nitrofurantoína (NIT) (300 µg). Se determinó el comportamiento de los aislamientos de *E. coli* recuperados de Mac Conkey-COL frente a ampicilina (AMP) (10 µg).

Se definieron como multirresistentes los aislamientos de *E. coli* no-sensibles a ≥ 1 ATM de ≥ 3 de las siguientes categorías: penicilinas con inhibidores de β -lactamasas (amoxicilina-ácido clavulánico), cefamicina (ceftoxitina), quinolona (ácido nalidíxico), fluoroquinolona (ciprofloxacina), aminoglucósidos (gentamicina y amikacina), antagonista del folato (trimetoprima-sulfametoxazol), ácido fosfónico (fosfomicina), fenicol (cloranfenicol), tetraciclinas (tetraciclina), penicilinas (ampicilina) y nitrofuranos (nitrofurantoína) (Magiorakos *et al.* 2012).

Para caracterizar genotípicamente los aislamientos de *E. coli* resistentes a CTX y COL, se utilizó la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en busca de los genes bla_{CTX-M} , según el protocolo elaborado por el Servicio de Antimicrobianos del INEI-ANLIS Dr. Carlos Malbrán, sobre la base del trabajo publicado por Pagani *et al.* (2003), empleando los cebadores CTX-MU1 (5' -ATGTGCAGYACCAGTAARGT) y CTX-MU2 (5' -TGGGTRAARTARGTSACCAGA). Para detectar el gen *mcr-1* (gen transferible que confiere resistencia a COL) se utilizaron los cebadores CLR5-F (5'-CGGTCAGTCCGTTTGTTC-3') y CLR5-R (5'-CTTGGTCCGGTCTGTA GGG-3') con las condiciones de amplificación descritas por Liu *et al.* (2016). Complementariamente, se discriminaron los grupos $bla_{CTX-M-2}$, $bla_{CTX-M-1/15}$, $bla_{CTX-M-8/25}$ y $bla_{CTX-M-9/14}$ (Faconne *et al.*, 2020). Se buscaron los genes que codifican factores de virulencia asociados a *E.*

coli enterotoxigénica (ETEC) de origen porcino *estI*, *estII*, *eltA*, *eastA* y *stx_{2e}*, según lo descrito por Moredo *et al.* (2015).

Resultados

De las 56 muestras de materia fecal procesadas, se recuperaron 75 aislamientos de *E. coli* resistentes (R) a cefotaxima y/o COL: 31 R-CTX (41,3 %), 21 R-COL (28 %) y 23 R-CTX/COL (30,7 %). Se obtuvieron entre uno y tres aislamientos resistentes por cada una de las muestras. En la figura 1.A se consigna la cantidad de aislamientos de *E. coli* con fenotipo R-CTX, R-COL y R-CTX/COL, por granja estudiada. En la tabla 1 se presenta la distribución geográfica de las granjas porcinas, los perfiles de resistencia y los genotipos del total de los aislamientos.

La prueba de sensibilidad a los ATM mediante el método de difusión mostró que 72 (93 %) de los aislamientos de *E. coli* fueron resistentes a tetraciclina, 62 (82,7 %) a cloranfenicol, 52 (69,3 %) a ácido nalidíxico, 43 (57,3 %) a trimetoprima-sulfametoxazol, 29 (38,7 %) a cefepime, 28 (37,3 %) a ceftazidima y ciprofloxacina, 18 (24 %) a amoxicilina-ácido clavulánico, 16 (21,3 %) a cefotaxima, 8 (10,7 %) a gentamicina, 7 (9,3 %) a fosfomicina, 2 (2,7 %) a nitrofurantoína y 1 (1,3 %) a amikacina. No se obtuvieron aislamientos de *E. coli* resistentes a imipenem y ertapenem. En la figura 1.B se consigna la cantidad de aislamientos con fenotipo R-CTX, R-COL y R-CTX/COL frente al resto de los ATM.

Los aislamientos de *E. coli* se agruparon en 54 perfiles de resistencia antimicrobiana. Se categorizaron 73 aislamientos (97,3 %) como multirresistentes, de los cuales 37 (49,3 %) fueron resistentes a seis o siete grupos de ATM. La figura 2 muestra la distribución de los aislamientos de *E. coli* con fenotipos resistentes (R-CTX, R-COL y R-CTX/COL) de origen porcino, según la cantidad de categorías de antimicrobianos frente a los cuales mostraron resistencia. Del total de los aislamientos, 13 (17,3 %) mostraron resistencia a cuatro ATM de máxima prioridad (CTX, COL, NAL, CIP).

Figura 1

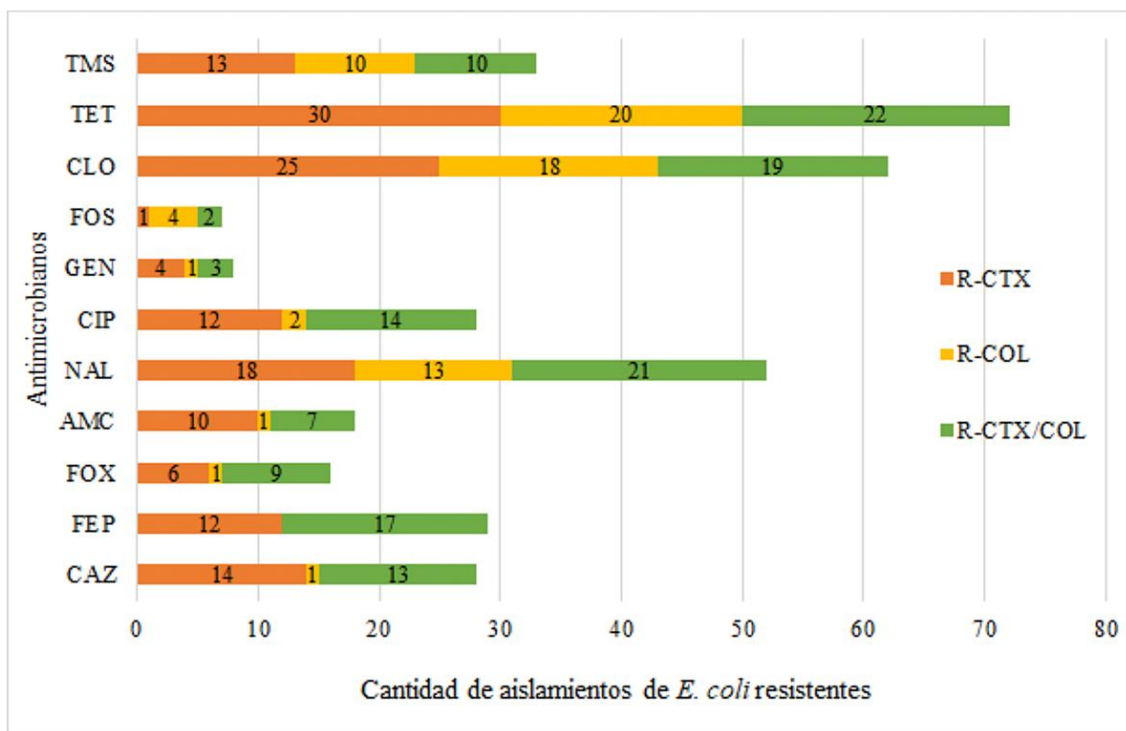
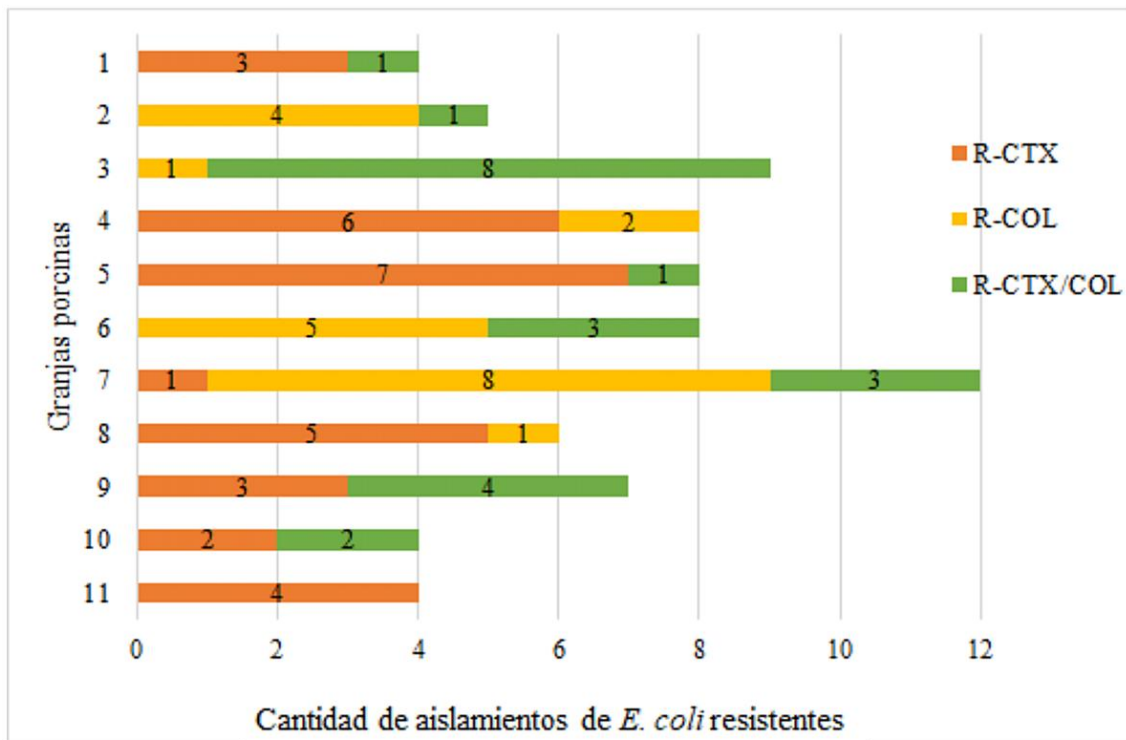


Fig. 1A

Aislamientos de *E. coli* de origen porcino resistente a antimicrobianos de importancia para la salud pública. A: Cantidad de aislamientos de *E. coli* con fenotipo resistente a cefotaxima (R-CTX), resistente a colistina (R-COL) y a ambas (R-CTX/COL) procedentes de cada una de las granjas porcinas. B: En la tabla de datos se indica la cantidad de aislamientos de *E. coli* con fenotipo R-CTX, R-COL y R-CTX/COL resistentes a CAZ: ceftazidima, FEP: cefepime, FOX: cefoxitina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, NAL: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, GEN: gentamicina, FOS: fosfomicina, CLO: cloranfenicol, TET: tetraciclina y TMS: trimetoprima-sulfametoxazol.

De los 54 aislamientos de *E. coli* resistentes a cefotaxima, R-CTX y R-CTX/COL, en 38 (70,4 %) se detectó el gen *bla*_{CTX-M}. En los restantes 16, se debe verificar el mecanismo de resistencia. Se caracterizaron como portadores de *bla*_{CTX-M-8/25} 24/38 aislamientos, 4/38 de *bla*_{CTX-M-1/15}, 4/38 de *bla*_{CTX-M-9/14} y 2/38 de *bla*_{CTX-M-2}; permanecen sin determinar los grupos CTX-M de cuatro aislamientos.

Los 44 aislamientos de *E. coli* resistentes a CTX, R-COL y R-CTX/COL, presentaron el gen *mcr-1*.

No se detectaron los genes que caracterizan ETEC en ninguno de los aislamientos de *E. coli*.

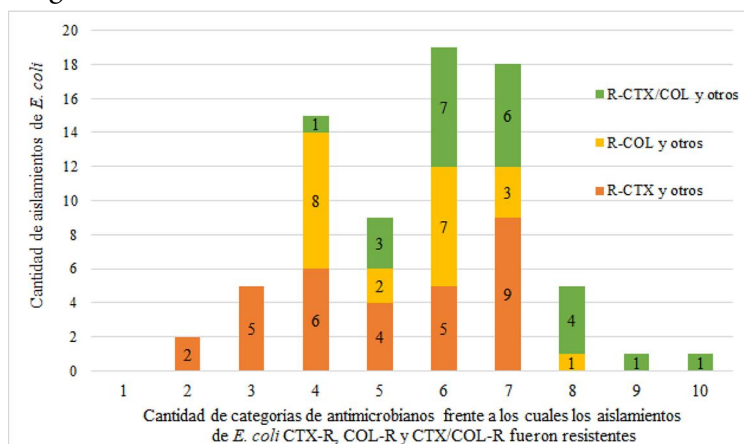
Tabla 1

Aislamientos de E coli de origen porcino distribución geográfica perfil de resistencia y genotipo

Granja	Localización	Muestra	Aislamiento	Perfil de resistencia	Genotipo
1	Santa Fé	1	EC-2018-82	AMC, CTX, CAZ, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-2}
		2	EC-2018-83	AMC, CTX, COL, GEN, NAL, CIP, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-2} ; <i>mcr-1</i>
		3	EC-2018-84	CTX, CAZ, NAL, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		4	EC-2018-152	CTX, CAZ, NAL, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
2	Buenos Aires	1	EC-2018-38	AMP, COL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		2	EC-2018-87	AMP, COL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		3	EC-2018-88	AMP, COL, NAL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		3	EC-2018-89	CTX, CAZ, COL, TMS, NAL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		4	EC-2018-90	AMP, COL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
3	Santa Fé	2	EC-2018-91	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, GEN, NAL, CIP, FOS, CLO, TET	ND; <i>mcr-1</i>
		9	EC-2018-92	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, NAL, CIP, CLO, TET	ND; <i>mcr-1</i>
		9	EC-2018-93	CTX, COL, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		11	EC-2018-94	CTX, COL, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		14	EC-2018-96	CTX, CAZ, COL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		14	EC-2018-98	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, NAL, CIP, CLO, TET	ND; <i>mcr-1</i>
		14	EC-2018-97	COL, NAL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		15	EC-2018-99	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, NAL, CIP	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
4	San Luis	12	EC-2018-95	CTX, COL, NAL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		1	EC-2018-102	CTX, GEN, NAL, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-9/14}
		1	EC-2018-103	CTX, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-9/14}
		2	EC-2018-104	CTX, GEN, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-9/14}
		3	EC-2018-105	AMC, CTX, GEN, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-9/14}
		3	EC-2018-106	AMP, AMC, COL, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		4	EC-2018-107	CTX, FOX, GEN, NAL, TET	ND
		4	EC-2018-108	AMP, COL, TMS, TET	<i>mcr-1</i>
5	San Luis	5	EC-2018-109	CTX, CLO, TET	ND
		1	EC-2018-110	CTX, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M(NND)}
		2	EC-2018-111	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, GEN, CLO, TET	ND
		2	EC-2018-112	CTX, CAZ, FEP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M(NND)}
		3	EC-2018-113	CTX, CAZ, FEP, GEN, CLO, TET	ND
		4	EC-2018-114	CTX, FOX, TMS, CLO, TET	ND
		4	EC-2018-115	CTX, TET	ND
		5	EC-2018-116	CTX, CAZ, FEP, COL, GEN, AKN, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M(NND)} ; <i>mcr-1</i>
6	Buenos Aires	1	EC-2018-117	CTX, TET	<i>bla</i> _{CTX-M(NND)}
		1	EC-2018-118	AMP, CAZ, COL, NAL, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		2	EC-2018-120	CTX, FEP, FOX, COL, NAL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		3	EC-2018-121	AMP, COL, NAL, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		4	EC-2018-122	AMP, COL, NAL, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		6	EC-2018-123	CTX, FEP, COL, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		6	EC-2018-124	AMP, FOX, COL, NAL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		7	EC-2018-125	CTX, FEP, COL, NAL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		7	EC-2018-126	AMP, COL, NAL, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		7	EC-2018-127	CTX, NAL, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		7	EC-2018-128	AMP, COL, GEN, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
		7	Buenos Aires	2	EC-2018-130
2	EC-2018-131			AMP, COL, NAL, NIT, CLO	<i>mcr-1</i>
4	EC-2018-132			AMP, COL, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
5	EC-2018-133			CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, NAL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
5	EC-2018-134			AMP, COL, NAL, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
5	EC-2018-129			AMP, COL, FOS, TET	<i>mcr-1</i>
6	EC-2018-138			COL, NAL, TMS, FOS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
6	EC-2018-139			AMP, COL, FOS, TET	<i>mcr-1</i>
7	EC-2018-140			CTX, FEP, COL, NAL, CIP, TMS, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
7	EC-2018-141			AMP, COL, NAL, TMS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
8	EC-2018-142			AMP, COL, NAL, TMS, FOS, CLO, TET	<i>mcr-1</i>
8	Buenos Aires			1	EC-2018-147
		2	EC-2018-148	CTX, FEP, NAL, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		3	EC-2018-149	AMC, CTX, CAZ, FOX, NAL, CIP, CLO, TET	ND
		4	EC-2018-150	AMC, CTX, CAZ, FOX, NAL, CIP, CLO, TET	ND
		5	EC-2018-151	CTX, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		6	EC-2018-161	CTX, FEP, NAL, CIP, TMS, FOS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
9	Buenos Aires	1	EC-2018-162	CTX, FEP, NAL, CIP, TMS, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		2	EC-2018-163	CTX, FEP, NAL, CIP, TMS, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		3	EC-2018-163	CTX, CAZ, FEP, COL, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		6	EC-2018-164	CTX, CAZ, FEP, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}
		8	EC-2018-165	CTX, FEP, COL, NAL, CIP, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		9	EC-2018-166	CTX, FEP, COL, NAL, CIP, TMS, FOS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
10	Entre Ríos	1	EC-2018-167	CTX, CAZ, FEP, COL, NAL, CIP, TMS, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-8/25} ; <i>mcr-1</i>
		1	EC-2018-153	CTX, CLO, TET	ND
		2	EC-2018-154	CTX, CLO, TET	ND
		3	EC-2018-158	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	ND; <i>mcr-1</i>
11	Buenos Aires	4	EC-2018-159	AMC, CTX, CAZ, FEP, FOX, COL, NAL, TMS, CLO, TET	ND; <i>mcr-1</i>
		1	EC-2018-155	AMC, CTX, CAZ, FEP, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-1/15}
		2	EC-2018-156	AMC, CTX, CAZ, FEP, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-1/15}
		3	EC-2018-157	AMC, CTX, CAZ, FEP, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-1/15}
4	EC-2018-160	AMC, CTX, CAZ, FEP, NAL, CIP, TMS, CLO, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-1/15}		

AMP: ampicilina. AMC: amoxicilina-ác. clavulánico. CTX: cefotaxima. CAZ: ceftazidima. FEP: cefepime. FOX: cefoxitina. NAL: ácido nalidíxico. CIP: ciprofloxacina. GEN: gentamicina. AMI: amikacina. TMS: trimetoprima-sulfametoxazol. FOS: fosfomicina. NIT: nitrofurantoina. CLO: cloranfenicol. TET: tetraciclina. ND: no determinado.

Figura 2
Distribución de los aislamientos de *E. coli* de origen porcino según la cantidad de categorías de antimicrobianos frente a los cuales fueron resistentes



Resistencia frente a CTX, COL o CTX/COL sumada a una o varias de las siguientes categorías de antimicrobianos propuestos por Magiorakos et al. (2012): penicilinas con inhibidores de β -lactamasas (amoxicilina-ácido clavulánico), cefamicina (cefoxitina), quinolona (ácido nalidíxico), fluoroquinolona (ciprofloxacina), aminoglucósidos (gentamicina y amikacina), antagonista del folato (trimetoprima-sulfametoxazol), ácido fosfónico (fosfomicina), fenicol (cloranfenicol), tetraciclinas (tetraciclina), penicilinas (ampicilina) y nitrofuranos (nitrofurantoína). Los números dentro de cada uno de los tres fenotipos resistentes de referencia (R-CTX, R-COL y R-CTX/COL) presentes en las columnas apiladas, corresponden a la cantidad de aislamientos de *E. coli*.

Discusión y conclusiones

En la República Argentina, los ATM utilizados en los sistemas de producción porcina para el tratamiento de infecciones por *E. coli* en particular y bacterias gramnegativas en general, incluyen cefalosporinas de tercera generación (ceftiofur), fluoroquinolonas (norfloxacina, ciprofloxacina, enrofloxacin), aminoglucósidos (neomicina, gentamicina), macrólidos (tilosina) y fosfomicina. Los mismos son clasificados por la OMS y la OIE como de importancia crítica, tanto para medicina humana como medicina veterinaria (OMS, 2018; OIE, 2021). En la actualidad, cada vez son más los veterinarios que hacen uso prudente y responsable de ellos, seleccionándolos sobre la base de resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

Los resultados que se informan coinciden con Faccone *et al.* (2019), quienes describieron, por primera vez en el país, la presencia de aislamientos de *E. coli* de origen porcino portadores de genes que codifican la producción de β -lactamasas de espectro extendido y/o del gen *mcr-1*. En este trabajo, el 41,3 % de los aislamientos de *E. coli* fueron R-CTX, el 28 % R-COL y el 30,7 % R-CTX/COL. En contraposición, Faccone *et al.* (2019) obtuvieron 64,7 % de R-CTX y 17,6 % de R-COL y R-CTX/COL. En ambos estudios, se observó un alto porcentaje de aislamientos resistentes a tetraciclina (82 % y 96 %), en nuestro caso, seguido por la resistencia a cloranfenicol (82,7 %). Los porcentajes de resistencia frente a AIC como ciprofloxacina y gentamicina fueron menores, 37,3 % y 10,7 % respectivamente, mientras que el porcentaje de resistencia a fosfomicina fue 9,3 % en nuestro trabajo y 6 % en el de Faccone *et al.* (2019). En la región, Benavides *et al.* (2021) publicaron un trabajo con características similares, aunque solo 15 muestras eran de origen porcino y fueron analizadas dentro del grupo “diferentes especies animales para consumo humano”. Los

resultados no coinciden con los nuestros respecto a los porcentajes de resistencia y de aislamientos multirresistentes. En este estudio, el 96 % de los aislamientos de *E. coli* fueron resistentes a tetraciclina, 82,7 % a cloranfenicol y 69,3 % a ácido nalidíxico, mientras que, en Chile, aproximadamente el 70 % fueron resistentes a ciprofloxacina y el 45 % a sulfametoxazol y tetraciclina.

El alto porcentaje de aislamientos de *E. coli* multirresistentes (97,3 %) es similar al informado por otros autores que estudiaron aislamientos de origen animal con sistemas de cría intensiva en confinamiento, tanto de aves como de cerdos (Benklaouz *et al.*, 2020; Shafiq *et al.*, 2019). Los aislamientos multirresistentes analizados no presentaron los genes de virulencia que caracterizan a los aislamientos ETEC de origen porcino. Esta información coincide con lo publicado por Pissetti *et al.* (2021) y Ramos *et al.* (2020) acerca del aumento de la frecuencia de aparición de aislamientos de *E. coli* comensales multirresistentes, especialmente a AIC, obtenidos a partir de animales para consumo humano. Del total de los aislamientos de *E. coli*, 24 mostraron resistencia a CTX y CIP. Bergšpica *et al.* (2020) justifican la presencia de ambas resistencias debido al uso intensivo de cefalosporinas de espectro extendido y fluoroquinolonas, tanto en medicina humana como veterinaria, que pueden coseleccionar cepas productoras de CTX-M, a menudo también resistentes a ellas.

Si bien aún faltan determinar los mecanismos de resistencia y caracterizar la naturaleza de los plásmidos portados por los aislamientos, coincidimos con Madec *et al.* (2017). Por esta razón, interpretamos que la probabilidad de hallar un aislamiento de *E. coli* R-CTX y a R-CTX, podría deberse a la gran utilización en animales de tetraciclinas, sulfonamidas y trimetoprima. Esto permitiría seleccionar *Enterobacterales* productores de AmpC, ya que muchos genes que codifican para β -lactamasas de espectro extendido/AmpC se encuentran principalmente en plásmidos que portan genes de resistencia a múltiples fármacos.

En coincidencia con Faccone *et al.* (2019), proponemos que la resistencia a cefalosporinas de tercera generación está principalmente asociada a CTX-M, particularmente a CTX-M-8/25, lo cual no ha sido frecuentemente documentado en animales para consumo humano. Los genes detectados con mayor frecuencia codifican enzimas de tipo CTX M (CTX M-1, -2, 9, -14, -15, -32 y -55), seguidos por SHV-12 y TEM-52 (Ramos *et al.*, 2020). Respecto de la circulación del gen *mcr-1*, ya fue informada por Faccone *et al.* (2019, 2020).

La información obtenida indica que los cerdos de granjas localizadas en la principal región productiva de la República Argentina portan *E. coli* con resistencia a múltiples ATM, incluyendo los de máxima prioridad para medicina humana. Otros estudios complementarios permitirán determinar los clones de *E. coli* productores de β -lactamasas de espectro extendido circulantes en granjas porcinas y su implicancia sobre la salud pública.

Declaración de conflicto de intereses

Todos los autores declaran que no existe conflicto de intereses, incluyendo entre estos últimos las relaciones financieras, personales o de otro tipo con otras

personas u organizaciones que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo.

Agradecimientos

Al Sr. Walter Nievas por su asistencia técnica. Al Laboratorio Vetanco SA por la gentileza de ceder la sal de colistina. Este trabajo fue financiado con recursos propios y con el subsidio otorgado por la UNLP en el marco del Programa de Proyectos de I + D 2019 (V265).

Bibliografía

- Benavides JA, Salgado-Caxito M, Opazo-Capurro A, González Muñoz P, Piñeiro A, Otto Medina M, Rivas L, Munita J, Millán J. 2021. ESBL-producing *Escherichia coli* carrying CTX-M genes circulating among livestock, gogs, and wild mammals in small-scale farms of central Chile. *Antibiotics*. 10(5): 510 <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050510>
- Benklaouz BM, Aggad H, Benameur Q. 2020. Resistance to multiple first-line antibiotics among *Escherichia coli* from poultry in Western Algeria. *Veterinary World*. 13(2):290-5. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.290-295>
- Bergšpica I, Kaprou G, Alexa EA, Prieto M, Alvarez-Ordóñez A. 2020. Extended spectrum-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in pigs and pork meat in the European Union. *Antibiotics* 9(10): 678 <https://doi.org/10.3390/antibiotic9100678>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI M100-ED31:2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Edition.
- Faccone D, Moredo FA, Giacoboni GI, Alborno E, Alarcón LV, Nievas VF, Corso A. 2019. Multidrug-resistant *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* and *bla*_{CTX-M} genes isolated from swine in Argentina. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 18:160-2. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.03.011>
- Faccone D, Rapoport M, Alborno E, Celaya F, De Mendieta J, De Belder D, Lucero C, Gómez S, Danze D, Pasteran F, Corso A. 2020. Plasmidic resistance to colistin mediated by *mcr-1* gene in *Escherichia coli* clinical isolates in Argentina: A retrospective study, 2012–2018. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 44:e55. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.55>
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang H, Liu JH, Shen J. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 16(2):161-8. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00424-7)
- Madec JY, Haenni M, Nordmann P, Poirel L. 2017. Extended-spectrum β -lactamase/ AmpC- and carbapenemase producing Enterobacteriaceae in animals: a threat for humans? *Clinical Microbiology and Infection* 23(11):826-33. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.01.013>
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert

- proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 18(3):268-81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570>
- Moredo FA, Piñeyro PE, Márquez GC, Sanz M, Colello R, Etcheverría A, Padola NL, Quiroga MA, Perfumo CJ, Galli L, Leotta GA. 2015. Enterotoxigenic *Escherichia coli* subclinical infection in pigs: bacteriological and genotypic characterization and antimicrobial resistance profiles. *Foodborne Pathogens and Diseases*. 12(8):704-11. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1959>
- Organización Mundial de la Salud. 2017. Directrices de la OMS sobre el uso de antimicrobianos de importancia médica en animales destinados a la producción de alimentos. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/11/WHO-NMH-FOS-FZD-17.4-spa.pdf> [Consultado 30/07/2021].
- Organización Mundial de la Salud. 2018. 6.a Revisión de la Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325037/WHO-NMH-FOS-FZD-19.1-spa.pdf?ua=1> [Consultado 30/07/2021].
- Organización Mundial de Sanidad Animal. 2021. Lista de agentes antimicrobianos importantes para la medicina veterinaria. Disponible en: <https://www.oie.int/ap/uploads/2021/06/e-oie-lista-antimicrobianos-junio2021.pdf>
- Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, D'Andrea M, Giacobone E, Amicosante G, Romero E, Rossolini G. 2003. Multiple CTX-M-Type extended-spectrum β -lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in Northern Italy. *Journal Clinical Microbiology*. 41(9):4264-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4264-4269.2003>
- Pissetti C, Kich JD, Allen HK, Navarrete C, de Freitas Costa E, Morés N, Cardoso M. 2021. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from pigs subjected to different antimicrobial administration protocols. *Research in Veterinary Science*. 137:174-85. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.05.001>
- Ramos S, Silva V, Dapkevicius MLE, Caniça M, Tejedor-Junco MT, Igrejas G, Poeta P. 2020. *Escherichia coli* as commensal and pathogenic bacteria among food-producing animals: health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. *Animals*. 10(12):2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>
- Servicio de Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas INEI, ANLIS "Carlos Malbrán". 2017. Método de screening "COLISTIN AGAR-SPOT". <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Agar-spot-COL-2017-version2-Agosto2017.pdf>
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). Resolución SENASA 591/2015. Disponible en: http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/r_senasa_591-2015.pdf
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). Resolución 22/2019. Disponible en: https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primer_a/200151/20190115
- Shafiq M, Huang J, Rahman SU, Shah JM, Chen L, Gao Y, Wang M, Wang L. 2019. High incidence of multidrug-resistant *Escherichia coli* coharboring *mcr-1* and *bla*_{CTX-M-15} recovered from pigs. *Infection and Drug Resistance*. 12:2135-49. <https://doi.org/10.2147/IDR.S209473>