Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria
Unidad de Posgrado

Identificación de genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (blaCTX-M, blaTEM y blaSHV) en cepas de *Escherichia coli* aisladas en heces bovinas procedentes de dos mataderos de Lima Metropolitana-Perú

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Salud Animal

AUTOR

Lorena Milagros VILLAFANA GOMEZ

ASESOR

Mg. Andrea CARHUALLANQUI PÉREZ

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Villafana L. Identificación de genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (blaCTX-M, blaTEM y blaSHV) en cepas de *Escherichia coli* aisladas en heces bovinas procedentes de dos mataderos de Lima Metropolitana-Perú [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Lorena Milagros Villafana Gomez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46103595
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-9599-9739
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Andrea Carhuallanqui Pérez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47231862
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3739-8353
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Sonia Yenny Calle Espinoza
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10321145
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Olger Pedro Ramos Coaguila
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	29564601
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	María Elena Salazar Salvatierra
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08675623
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.3.2. Inocuidad de los alimentos de origen animal
Grupo de investigación	Salud Pública y Salud Ambiental - INOCUVET
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de San Marcos. PCONFIGI. Resolución N° 004305-2024R/UNMSM. A24080401 (Código de proyecto).
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Avenida: Circunvalación 2800 Latitud: -12.081461896047118 Longitud: 76.9877184315136
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Mayo 2023- Febrero 2025
URL de disciplinas OCDE	Salud pública, Salud ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05 Biología celular, Microbiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01 Bioquímica, Biología molecular https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS VETERINARIAS CON MENCIÓN EN SALUD ANIMAL

En la Sala de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 11:30 horas del día jueves 16 de octubre del 2025, el Jurado Examinador de Tesis de Grado de Magíster, presidido por la Mg. Sonia Yenny Calle Espinoza y conformado por los siguientes miembros docentes: Mg. Andrea Carhuallanqui Pérez (asesora), Mg. Olger Pedro Ramos Coaguila y Dra. María Elena Salazar Salvatierra, se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis titulada:

"Identificación de genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{TEM}$ y *bla*$_{SHV}$) en cepas de *Escherichia coli* aisladas en heces bovinas procedentes de dos mataderos de Lima Metropolitana-Perú", presentado por la Bachiller en Medicina Veterinaria:

LORENA MILAGROS VILLAFANA GOMEZ

Quien sustentó la Tesis para obtener el Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Salud Animal y absolvió satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de:

MUY BUENO, (18) DIECIOCHO

A continuación, el Jurado por intermedio de su Presidente recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del Grado Académico de Magíster en Ciencias Veterinarias con mención en Salud Animal, a la Bachiller en Medicina Veterinaria Lorena Milagros Villafana Gomez.

Siendo las 13:00 horas del día jueves 16 de octubre de 2025, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

Mg. Sonia Yenny Calle Espinoza (P.P.D.E.)
Presidente

Mg. Andrea Carhuallanqui Pérez (P.A.T.C)
Miembro Asesor

Mg. Olger Pedro Ramos Coaguila (P.A.D.E.)
Miembro

Dra. María Elena Salazar Salvatierra (P.P.T.C)
Miembro

Dr. César Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)
Director de la Unidad de Posgrado

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Andrea Carhuallanqui Pérez en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen N°018-UPG-FMV-2025 de la tesis, cuyo título es "**Identificación de genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{TEM}$ y *bla*$_{SHV}$) en cepas de *Escherichia coli* aisladas en heces bovinas procedentes de dos mataderos de Lima Metropolitana-Perú.**", presentado por la bachiller Lorena Milagros Villafana Gomez para optar el grado de Magister en Ciencias Veterinarias con mención en Medicina y Cirugía Animal.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 10% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Lima, 27 de octubre de 2025

UNMSM
Firmado digitalmente por CARHUALLANQUI PEREZ Andrea FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 28.10.2025 10:45:41 -05:00

Firma del Asesor:

Nombres y Apellidos del asesor: Andrea Carhuallanqui Pérez

DNI: 47231862

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por regalarme vida, salud y una familia que me motiva y ayuda a salir adelante. Y gracias a ellos haber podido terminar satisfactoriamente este trabajo, logrando un objetivo más en mi carrera profesional.

A mi pequeño hijo Maximiliano Salcedo Villafana, quien cada día me llena de mucho amor.

AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermanas, por haberme dado la motivación y el tiempo necesario para poder cumplir este objetivo. Agradeciendo por su resiliencia para acompañarme en el camino.

A mi maestra la Dra. Daphne Ramos Delgado, quien motivó mis estudios de posgrado y cuyos consejos y guía siempre llenos de sabiduría me incentivan a ser una mejor profesional cada día.

Al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental donde se desarrolló este proyecto de investigación.

INDICE

DEDICATORIA……. ii

AGRADECIMIENTOS……...……... iii

RESUMEN……. ix

ABSTRACT……..... x

LISTA DE ABREVIATURAS..... xi

LISTA DE CUADROS..... xii

LISTA DE FIGURAS..... xiii

LISTA DE ANEXOS..... xiv

I. INTRODUCCION……. 1

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA ……... 3

2.1. *ESCHERICHIA COLI*……...……. 3

2.1.1. Familia Enterobacteriaceae……. 3

2.1.2. Características generales……..……..... 3

2.1.3. Morfología de *E. coli*……..……... 4

2.1.4. Estructura antigénica..... 6

2.1.5. Patotipos..... 6

2.1.5.1. *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)..... 7

2.1.5.2. *E. coli* enteropatógena (EPEC)..... 7

2.1.5.3. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)..... 8

2.1.5.4. *E. coli* enteroagregativa (EAEC)……. 8

2.1.5.5. *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)……. 9

2.1.5.6. *E. coli* difusamente adherente (DAEC)……..…..…. 9

2.1.6. Transmisión de *E. coli* por los alimentos……...…. 11

2.2. ANTIMICROBIANOS BETALACTÁMICOS…...…….…. 13

2.2.1. Mecanismos de acción…… 13

2.2.2. Estructura química…….…….…….... 15

2.2.3. Clasificación……...…… 16

2.2.3.1. Penicilinas……...……...……..… 16

2.2.3.2. Cefalosporinas……...……..... 16

2.2.3.3. Carbapenémicos……...……...……...…… 17

2.2.3.4. Monobactámicos……...…….. 17

2.2.3.5. Inhibidores de betalactamasas…….…...…. 17

2.3. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA……... 19

2.3.1. Situación actual de la resistencia a los antimicrobiano……... 19

2.3.2. Tipos de resistencia antimicrobianos…….. 20

2.3.3. Mecanismos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos……..... 20

2.3.3.1. Bombas de eflujo……...…….. 21

2.3.3.2. Inactivación enzimática……...…… 21

2.3.3.3. Alteración del sitio de acción……...……... 21

2.3.3.4. Disminución de la permeabilidad de la membrana externa…… 22

2.3.4. Mecanismo de transferencia horizontal……..…… 24

2.3.4.1 Transformación…….……...…… 25

2.3.4.2. Transducción……...…… 25

2.3.4.3. Conjugación…… 25

2.3.4.4. Agentes de transferencia de genes……..…… 26

2.3.5. Elementos genéticos móviles……..…… 26

2.3.5.1. Plásmidos……..... 26

2.3.5.2. Transposones……...……...……...……. 27

2.3.5.3. Integrones y cassettes genéticos……. 28

2.4. BETALACTAMASAS…...……...…… 28

2.4.1. Mecanismos de acción……...…… 28

2.4.2. Clasificación de betalactamasas……..... 30

2.5. BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO(BLEE)……... 33

2.5.1. Introducción e historia…….…….…… 33

2.5.2. Tipos de enzimas BLEE del estudio…….…… 34

2.5.2.1. TEM……..... 34

2.5.2.2. SHV……..... 34

2.5.2.3. CTX……..... 34

2.5.3. Genes de resistencia de BLEE…….……...… 35

2.5.4. Resistencia a otros antimicrobianos no betalactámicos…….…..…… 36

2.5.4.1. Quinolonas……..... 36

2.5.4.2. Aminoglucosidos……..... 36

2.5.4.3. Tetraciclinas……..... 37

2.5.4.4. Anfenicoles……..... 38

2.5.5. Epidemiologia de los gens de resistencia …….…..…… 39

2.6 SITUACIÓN ACTUAL EN LA GANADERIA PERUANA…… 41

2.6.1. Producción bovina y consumo per cápita a nivel nacional……. 41

2.6.2. Contexto nacional de los mataderos…….. 41

2.6.3. Importancia de los mataderos en la transmisión de microorganismos patógenos……..…… 41

2.7. IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA……. 41

2.7.1. Efecto de *E. coli* productoras de BLEE en humanos…….. 43

2.7.2.Reportes de *E. coli* productoras de BLEE y sus genes codificantes en animales de consumo a nivel nacional……. 44

2.7.2.1. Aves…… 44

2.7.2.2. Porcinos…….……....……...…….. 44

2.7.2.2. Bovinos…….……....……...…….. 45

II. MATERIALES Y METODOS…….…. 46

3.1. Lugar de ejecución y periodo de duración……...…….... 46

3.2. Diseño experimental…….…….. 47

3.2.1. Tamaño de muestra……..…….. 47

3.2.2. Tipo de estudio y recolección de muestras…….…… 47

3.4. Metodología…….. 48

3.4.1. Aislamiento e identificación de *E. coli*…….. 48

3.4.2. Identificación fenotípica de *E. coli* productoras de BLEE……..... 51

3.4.2.1. Método de tamizaje de BLEE…… 52

3.4.2.2. Prueba confirmatoria de BLEE……....……...…….. 52

3.4.3 Identificación molecular de genes codificantes de BLEE……..... 53

3.4.3.1. Extracción de ADN…… 53

3.4.3.2. Amplificación de ADN……..……..……...…….. 53

3.4.3.3. Electroforesis……. 56

3.4.4. Prueba de susceptibilidad a otros antimicrobianos …… 56

3.5. Análisis de datos……..…….. 57

IV. RESULTADOS……... 58

4.1. Identificación fenotípica de EC-BLEE…….. 58

4.2. Identificación de genes codificantes de BLEE …….. 59

4.3. Prueba de susceptibilidad a otros antimicrobianos en EC-BLEE……... 64

4.4. Análisis estadístico…….. 66

V. DISCUSIÓN……..……... 67

VI. CONCLUSIÓN……..…… 82

VII. RECOMENDACIONES…… 83

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……...….. 84

IX. ANEXOS..... 112

RESUMEN

El uso indiscriminado de los antimicrobianos betalactámicos en el ganado bovino ha generado que enterobacterias gramnegativas como *Escherichia coli* desarrollen mecanismos de resistencia antimicrobiana especializados tales como la inactivación enzimática produciendo enzimas betalactamasas, entre ellas, las betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Las BLEE son enzimas codificadas por genes (*bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$ *y bla*$_{\text{SHV}}$) localizados en elementos genéticos móviles, como los plásmidos, que favorecen la propagación de la resistencia antimicrobiana. El objetivo del estudio fue identificar genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (*bla*$_{\text{CTX M}}$, *bla*$_{\text{SVH}}$ *y bla*$_{\text{TEM}}$) en cepas de *E. coli* aisladas en heces bovinas procedentes de dos mataderos de Lima Metropolitana-Perú. Se obtuvieron 260 muestras de heces bovinas de dos mataderos localizados en Lima Este (M1; n=134) y Lima Centro (M2; n=126). Para la identificación fenotípica de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (EC-BLEE) se utilizó el método de difusión en disco (Kirby - Bauer) y los resultados se interpretaron según las directrices del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2024). Los genes *bla*$_{\text{CTX-M}}$ fueron identificaron por PCR convencional simple y los genes *bla*$_{\text{TEM}}$ *y bla*$_{\text{SHV}}$ mediante PCR multiplex. Luego, se realizó el perfil de susceptibilidad antimicrobiana a las EC-BLEE por el método de Kirby Bauer frente a 12 antibióticos usados en medicina humana y animal. El estudio determinó que el 23.5% (61/260) de las muestras fecales analizadas fueron identificadas como EC-BLEE, y de ellas el 73.8% (45/61) presentaron el gen *bla*$_{\text{CTX-M1,}}$ 19.7% (12/61) el gen *bla*$_{\text{CTX-M2}}$, 9.8% (6/61) el gen *bla*$_{\text{CTX-M9}}$ y 6.6% (4/61) el gen *bla*$_{\text{TEM}}$. Asimismo, el 41% (25/61) de las EC-BLEE fueron multirresistente (MDR). Nuestros resultados evidencian que los bovinos clínicamente sanos destinados al beneficio para su posterior consumo humano son portadores de EC-BLEE MDR representando un riesgo para la salud pública en el Perú.

Palabras claves: EC-BLEE, resistencia antimicrobiana, bovinos, heces.

ABSTRACT

The indiscriminate use of betalactam antimicrobials in cattle has led to enterobacteria such as *Escherichia coli* developing specialized resistance mechanisms such as the production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL). ESBLs are enzymes encoded by genes (*bla*$_{\text{CTX M}}$*, bla*$_{\text{TEM}}$*, and bla*$_{\text{SHV}}$) located in mobile genetic elements, such as plasmids, which promote the spread of antimicrobial resistance. The objective of our study was to identify genes encoding extended-spectrum beta-lactamases (*bla*$_{\text{CTX M}}$*, bla*$_{\text{SVH}}$*, and bla*$_{\text{TEM}}$) in strains of *E. coli* isolated from bovine feces from slaughterhouses in Metropolitan Lima, Peru. A total of 260 bovine fecal samples were obtained from two slaughterhouses located in East Lima (M1; n=134) and Central Lima (M2; n=126). To identify the phenotypic characteristic of *E. coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (EC-BLEE), the disk diffusion method (Kirby-Bauer) was used, and the results were interpreted according to the guidelines of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024). The *bla*$_{\text{CTX-M}}$ genes were identified by conventional PCR and the *bla*$_{\text{TEM}}$ *and bla*$_{\text{SHV}}$ genes by multiplex PCR. Antimicrobial susceptibility profiling to EC-BLEE was then performed using the Kirby Bauer method against 12 antibiotics used in human and animal medicine. The study determined that 23.5% (61/260) of the fecal samples analyzed were identified as EC-BLEE, and of these, 73.8% (45/61) had the *bla*$_{\text{CTX-M1 gene,}}$ 19.7% (12/61) had the *bla*$_{\text{CTX-M2}}$ gene, 9.8% (6/61) had the *bla*$_{\text{CTX-M9}}$ gene, and 6.6% (4/61) had the *bla*$_{\text{TEM}}$ gene. Likewise, 41% (25/61) of the EC-BLEE were multidrug resistant (MDR). Our results show that clinically healthy cattle intended for slaughter for human consumption are carriers of multidrug-resistant EC-BLEE MDR, posing a risk to public health in Peru.

Keywords: ESBL-EC, antimicrobial resistance, cattle, feces.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Acidodexoxirribonucleico
ARG	Transferencia de genes de resistencia a antimicrobianos
ATM	Adenosín trifosfato
ATP	Aztreonam
BLEE	Betalactamasa de espectro extendido
CAZ	Ceftazidima
CH	Colitis hemorrágica
CLSI	Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio
CRO	Ceftriaxona
CTX	Cefotaxima
DAEC	*E. coli* difusamente adherente
AIEC	*E. coli* invasora adherente
EAEC	*E. coli* enteroagregativa
EC-BLEE	Escherichia coli productoras de BLEE
EIEC	*E. coli* enteroinvasiva
EMB	Agar eosina azul de metileno
EPEC	*E. coli* enteropatógena
EHEC	*E. coli* enterohemorrágica
ETEC	*E. coli* enterotoxigénica
GTA	Agentes de transferencia de genes
Hab	Habitantes
HGT	Transferencia horizontal de genes
ITU	Infecciones del tracto urinario
Kg	Kilogramos
LIA	Agar lisina hierro
LSP	Lipopolisacárido termoestable
M1	Matadero 1
M2	Matadero 2
MDR	Multidrogorresistente
MINAGRI	Ministerio de Agricultura
OMS	Organización Mundial de la salud
PBP	Proteínas fijadoras de penicilinas
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PFGE	Electroforesis en gel de campo pulsado
PX	Cefpodoxima
RAM	Resistencia antimicrobiana
SHU	Síndrome urémico hemolítico
SIM	Agar sulfuro-indol-movilidad
TSA	Agar tripticasa de soya
TSI	Agar triple hierro azúcar
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos

LISTA DE CUADROS

	Descripción	Pág.
Cuadro 1.	Principales patotipos intestinales de *E. coli* en humanos	10
Cuadro 2.	Clasificacion de los antimicrobianos betalactámicos	18
Cuadro 3.	Mecanismos de resistencia frente a los betalactámicos	23
Cuadro 4	Actividad de betalactamasas frente a diferentes antimicrobianos	32
Cuadro 5.	Tamaño de muestra calculado mediante la fórmula para estimación de proporciones en poblaciones infinitas	47
Cuadro 6.	Características fenotípicas y fundamentos de las pruebas bioquímicas del estudio	51
Cuadro 7.	Pares de primers empleados para la detección de genes *bla*$_{\text{CTX-M}}$ por PCR	54
Cuadro 8.	Perfil térmico de amplificación (30 ciclos) - PCR simple	54
Cuadro 9.	Pares de primers empleados para la detección de genes *bla*$_{\text{SHV}}$ y *bla*$_{\text{TEM}}$ por PCR	55
Cuadro 10.	Perfil térmico de amplificación (32 ciclos) - PCR multiplex	55
Cuadro 11.	Punto de corte (mm) de sensibilidad y resistencia de los antimicrobianos evaluados, según CLSI	57
Cuadro 12.	Prevalencia de genes codificantes de BLEE (*bla*$_{\text{CTX-M,}}$ *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV}}$) en cepas de EC-BLEE en heces bovinas	59
Cuadro 13	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana en aislados de EC-BLEE frente al panel de 9 antimicrobianos no betalactámicos y 6 antimicrobianos betalactámicos	65

LISTA DE FIGURAS

	Descripción	Pág.
Figura 1.	Estructura interna de *Escherichia coli*	4
Figura 2.	Composición bioquímica de las paredes celulares bacterianas a) gram positivas y b) gram negativas	5
Figura 3.	Esquema patogénico de las *E. coli* intestinales	10
Figura 4.	Ciclo de transmisión de *E. coli* por alimentos contaminados	12
Figura 5.	Mecanismo de acción de los betalactámicos	14
Figura 6.	Estructura química de los betalactámicos	15
Figura 7.	Mecanismos de resistencia bacteriana	22
Figura 8.	Mecanismos de transferencia horizontal de genes	24
Figura 9.	Estructura jerárquica de los elementos genéticos móviles	27
Figura 10.	Acción de la serina betalactamasa	29
Figura 11.	Características moleculares y funcionales de las betalactamasas	31
Figura 12.	Estudios con reportes de EC-BLEE en animales	38
Figura 13.	Procedimiento para el aislamiento de *E. coli* desde muestras fecales	49
Figura 14.	Pruebas bioquímicas para la identificación fenotípica de *E. coli*	50
Figura 15.	Identificación fenotípica de EC-BLEE por la prueba confirmatoria	52
Figura 16.	Método de difusión en Agar Müeller Hinton	58
Figura 17.	Detección molecular del gen blaCTX-M-1 (45/61) en el 73.8% de los aislados EC-BLEE (415 bp)	60
Figura 18.	Detección molecular del gen blaCTX-M-2 (12/61) en el 19.7% de los aislados EC-BLEE (552 bp)	61
Figura 19.	Detección molecular del gen $bla_{CTX\text{-}M\text{-}9}$ (6/61) en el 9.8% de los aislados EC-BLEE (205 bp)	62
Figura 20.	Detección molecular de gen bla_{TEM} (4/61) en el 6.6% (415 bp) de los aislados EC-BLEE (516bp). El gen bla_{SHV} (392pb) no fue identificado	63
Figura 21.	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana en M293	64

LISTA DE ANEXOS

	Descripción	Pág.
Anexo 1.	Vista interna de la sala de lavado de vísceras de uno de los mataderos- Zona de recepción de vísceras.	112
Anexo 2.	Toma de muestras fecales bovinas, directamente del colon distal	113
Anexo 3.	Aislamiento de *E. coli* en medios selectivos (Agar MacConkey y agar EMB)	113
Anexo 4.	Metodología para la detección fenotípica de EC-BLEE, por el método en difusión en disco (Kirby-Bauer)	114
Anexo 5.	Medición del diámetro de halo de inhibición(mm), según lo establecido en el CLSI (2024).	115
Anexo 6.	Datos de identificación y procedencias de las muestras fecales positivas a EC-BLEE procedentes de ambos mataderos.	116
Anexo 7.	Resultados de las pruebas fenotípicas y de los genes codificantes aislados de EC-BLEE	118
Anexo 8.	Resultados de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de EC-BLEE	120
Anexo 9.	Protocolo de purificación de ADN de bacterias Gram negativas	122
Anexo 10.	Protocolo para la lectura de los genes *bla* luego de la electroforesis	123

INTRODUCCION

Escherichia coli es un microorganismo comensal del tracto intestinal que puede llegar a ser patógeno y causar infecciones intestinales en humanos y animales (Kaper *et al.,* 2004; Allocati *et al.,* 2013). La mayoría de estos patógenos son capaces de sobrevivir y adaptarse a entornos externos como suelo, agua, algas entre otros (Briñas *et al*., 2005; Newell *et al.,* 2010), y propagarse entre animales y humanos mediante el contacto directo o indirecto a través del consumo de alimentos contaminados (Ewers *et al*., 2012).

La familia de los betalactámicos son una de las principales opciones terapéuticas para tratar las infecciones causadas por enterobacterias gramnegativas en medicina humana y veterinaria, como *Escherichia coli* (Coque *et al*., 2008). Sin embargo, en los últimos años se ha reportado la presencia de cepas de *E. coli* resistentes a antimicrobianos betalactámicos en humanos y animales (Sudarwanto *et al.,* 2016; Awork *et al.,* 2022, Panamá y Gallegos*,* 2021). *E. coli* desarrolló como mecanismo de resistencia la inactivación enzimática, la cual produce enzimas betalactamasas, capaces de inactivar a los antimicrobianos betalactámicos mediante la hidrolisis el anillo betalactámico (Suárez y Gudiol, 2009); además, se ha reportado que tienen la capacidad de producir betalactamasas de espectro extendido (BLEE) capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, y monobactámicos (Ghafourian *et al.,* 2015). La diseminación de la resistencia antimicrobiana es un desafío para los tratamientos terapéuticos, siendo un tema de preocupación para la medicina humana y veterinaria, por el aumento de la morbilidad y la mortalidad en la población, además, de

elevar los costos de tratamientos tanto en humanos como en animales (Meunier *et al*., 2006; Geser *et al*., 2012).

Las enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) incluyen varios tipos, siendo las betalactamasas de Temoniera (TEM), las betalactamasas de reactivo de sulfhídrico (SHV) y las betalactamasas de cefotaxima-M (CTX-M) las más frecuentes en los animales; hasta la fecha se han identificado cerca de 140, 60 y 80 tipos de TEM, SHV, y CTX-M respectivamente (Husna *et al.,* 2023). Diversos estudios han considerado que algunas enzimas BLEE especificas son exclusivas o se suelen presentar con mayor prevalencia de un determinado país o región (Dantas Palmeira, 2020; Bastidas-Caldes *et al.,* 2022; Mandajurano *et al.,* 2024). Estas enzimas son producidas a partir de los genes que las codifican como *bla*$_{\text{TEM,}}$ *bla*$_{\text{SVH}}$ y *bla*$_{\text{CTX-M}}$, los cuales se localizan en plásmidos y pueden ser transmitidos por transferencia horizontal facilitando la diseminación de la resistencia entre diferentes bacterias, incluso de diferentes especies, lo que representa un problema en el tratamiento de infecciones (Geser *et al*., 2012; Ur Rahman *et al.,* 2018).

Estudios reportados por Haenni *et al.,* (2014), en Francia, reportaron prevalencias del 73.2%, 2.1% y 24.6% en los genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$, *bla*$_{\text{CTX-2}}$ y *bla*$_{\text{CTX-9,}}$ respectivamente. Geser *et al.,* (2011), en Suiza, reportaron una prevalencia de 81.8% , 18.2% y 27.3% en los genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$, *bla*$_{\text{CTX-9}}$ y *bla*$_{\text{TEM}}$; ambos autores asocian la diseminación de los genes codificantes con la transferencia horizontal mediada por plásmidos entre bacterias de la misma especie o de especies diferentes A su vez, estos plásmidos pueden albergar determinantes de resistencia a diferentes familias de antimicrobianos lo que explica la multirresistencia observada en las bacterias productoras de BLEE (Brolund *et al.,* 2014).

La aparición de *E. coli* productora de BLEE en los bovinos clínicamente sanos destinados al consumo humano es un problema de salud pública creciente en todo el mundo, no solo por la posible transmisión a los alimentos de origen animal que van a ser consumidos por el humano, sino por las personas que se dedican a la crianza animal para su subsistencia (Lowder *et al.,* 2016). Por ello, el objetivo del presente estudio fue identificar genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (*bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{SVH}}$ y *bla*$_{\text{TEM}}$) en cepas de *Escherichia coli* aisladas en heces bovinas procedentes de dos mataderos de Lima Metropolitana–Perú.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. *ESCHERICHIA COLI*

2.1.1. Familia Enterobacteriaceae

La familia Enterobacteriaceae es un grupo de bacterias gramnegativas importantes y distribuidas globalmente desde el punto de vista clínico (Reséndiz-Nava y Nava-Morales, 2020). Entre sus principales miembros se encuentran las especies *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae, Citrobacter freundii* entre otros (Schierack *et al.,* 2007). Estos géneros se caracterizan por ser ubicuos, los cuales están distribuidos en el entorno ambiental incluyendo los alimentos; así como en la microbiota intestinal habitual de diversos mamíferos, incluido el ser humano (Murray *et al.,* 2002).

2.1.2. Características generales

Escherichia coli (E. coli), es el habitante comensal no patógeno predominante en la microflora intestinal normal de humanos y otros mamíferos de sangre caliente, se ubica en la capa mucosa del colon (Allocati *et al.*, 2013; Soto *et al.,* 2016). En condiciones normales, las bacterias *E. coli* coexisten en equilibrio con su huésped en asociación simbiótica sin causar enfermedad salvo en huéspedes inmunodeprimidos o en aquellos que tienen sus barreras gastrointestinales alteradas (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004; Ramos *et al*., 2020). Se ha evidenciado que estas bacterias suelen colonizar el tracto gastrointestinal de los humanos horas después del nacimiento estableciendo una posible relación simbiótica en el futuro (Kaper *et al*., 2004).

Dado que *E. coli* se libera al medio ambiente a través de las deposiciones fecales de humanos y animales, esta bacteria se emplea como indicador de contaminación fecal en agua y alimentos (Ishii y Sadowsky, 2008; Basavaraju y Gunashree, 2022). Asimismo *E. coli* es uno de los microrganismos con mayor aplicación en el ámbito industrial y en el ámbito médico; así, como un organismo modelo en las aplicaciones de la tecnología de ADN recombinante (Yoon *et al.,* 2009).

2.1.3. Morfología de *E. coli*

E. coli es una bacteria gramnegativa con forma de bastón con las siguientes dimensiones 0.3 a 1 µm de ancho y 1 a 3 µm de largo y un diámetro de 0.5 µm. Según sus requerimientos de oxígeno puede desarrollarse tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas (anaerobios facultativos) (Basavaraju y Gunashree, 2022). Esta bacteria se caracteriza por poseer flagelos peritricos, de carácter antigénico (antígeno H, flagelar), que le permite moverse y tiene apéndices finos superficiales denominados fimbrias, que le ayudan a la adhesión a las células del huésped y el intercambio genético por transferencia horizontal conjugativa (Murray *et al*., 2002; Riley *et al.,* 2018).

El citoplasma de la bacteria presenta orgánulos dispersos en el citoplasma, por lo que no posee un núcleo definido. Su material genético está conformado por un único cromosoma circular, acompañado de múltiples plásmidos de diferentes tamaños distribuidos en el interior del citoplasma. Además, no cuenta con retículo endoplasmático, lo que implica que los ribosomas no están asociados a membranas (Figura 1) (Abreu, 2013; Moxley, 2022).

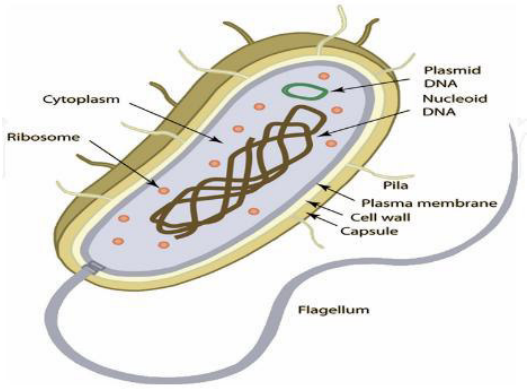


Figura 1. Estructura interna de *Escherichia coli* (Basavaraju y Gunashree, 2022)

E. coli posee una pared celular compleja compuesta por tres elementos principales: la membrana interna o citoplasmática formada por una bicapa de fosfolípidos que actúan como una barrera impermeable a las moléculas polares y controla el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. Entre esta y la membrana externa se encuentra el espacio periplásmico, donde se localiza una delgada capa de peptidoglucano o mureína (2 a 7 nm), que proporciona rigidez estructural y mantiene la estabilidad osmótica del microorganismo ayudando al anclaje de los otros componentes de la envoltura celular (Yu *et al.,* 2021). La capa externa, es una bicapa lipídica asimétrica donde: los fosfolípidos se localizan predominantemente en la hoja interna mientras que la hoja externa se ubican los lipopolisacáridos (LPS). Además, esta membrana presenta lipoproteínas fijadas al peptidoglucano, proteínas integrales propias de la membrana y proteínas porinas multiméricas, que permiten el paso de moléculas hidrofílicas y diversas sustancias, como los antimicrobianos betalactámicos (Figura 2) (Abreu, 2013; Cuervo-Parra *et al.,* 2024).

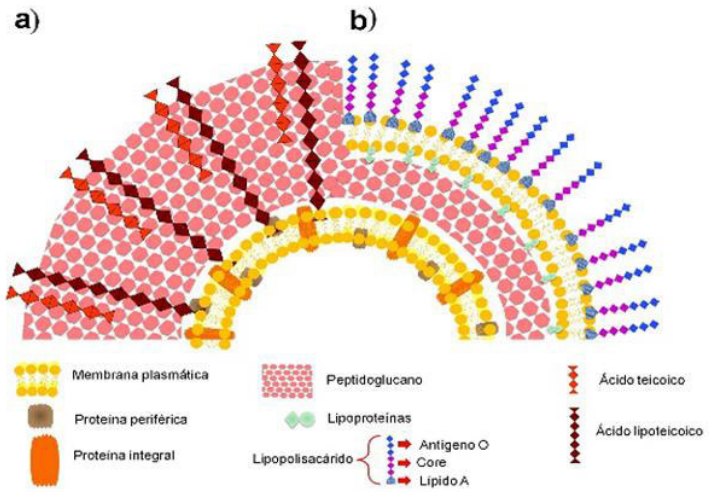


Figura 2. Composición bioquímica de las paredes celulares bacterianas. a) Gram positivas y b) Gram negativas (Cuervo-Parra *et al.,* 2024)

Otros elementos importantes de la bacteria son los plásmidos (elementos de ADN extracromosómicos) y transposones (secuencias de ADN especializado) que intervienen en la transferencia de genes de resistencia de una célula a otra. Sumado a ello la presencia de integrones, que proporcionan un lugar de inserción conveniente a los genes de resistencia antimicrobiana lo que favorecería la diseminación de genes de resistencia (Leverstein-Van *et al.*, 2003).

2.1.4. Estructura antigénica

El lipopolisacárido termoestable (LPS) es el principal antígeno de la pared celular y está conformado por tres grupos de antígenos. Los antígenos somáticos (O), que son cadenas de lipopolisacáridos y permiten clasificar a las bacterias en diferentes serogrupos. A su vez los antígenos flagelares (H), que son proteínas presentes en los flagelos, mientras que los antígenos capsulares (K), son característicos de las bacterias encapsuladas que actúan como una importante barrera defensiva al reducir la unión de los anticuerpos a la superficie bacteriana lo que impide la fagocitosis (DebRoy *et al.,* 2011). La identificación conjunta de los antígenos somáticos y flagelares (O:H) permiten determinar el serotipo, el cual está relacionado con las manifestaciones clínicas (Murray *et al*., 2002; Rodríguez-Ángeles, 2002). Anteriormente las cepas patógenas de *E. coli* se clasificaban en base a la identificación serológica de antígenos O (lipopolisacárido, LPS) y H (flagelar). Actualmente, los patotipos se clasifican en base en el tipo de factor de virulencia y los síntomas clínicos del huésped (Allocati *et al.*, 2013).

2.1.5. Patotipos

Algunas cepas comensales de *E. coli* han adquirido factores de virulencia específicos que le permiten adaptarse a diversos nichos y provocar una amplia variedad de enfermedades tanto intestinales como extraintestinales ya sea en humanos o animales, que abarca desde una gastroenteritis leve y autolimitada hasta una insuficiencia renal que puede terminar en choque séptico (Ramos *et al*., 2020; Mueller y Tanteir, 2023). La capacidad de *E. coli* para evadir las defensas del huésped y desarrollar resistencia a los antimicrobianos de uso común está asociada a su virulencia (Leitão, 2020). Estos factores de virulencia suelen estar codificados en elementos genéticos móviles como plásmidos, bacteriófagos, transposones e islas de patogenicidad, los cuales pueden transferirse entre diferentes bacterias dando lugar a nuevas combinaciones genéticas (Pakbin *et al.,* 2021). Solo aquellas combinaciones más exitosas de factores de virulencia han logrado persistir en el tiempo y establecerse como patotipos (Cuadro 1) (Figura 3) (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004).

Entre los patógenos intestinales identificados, se reconocen siete patotipos: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* difusamente adherente (DAEC) y *E. coli* invasora adherente (AIEC). Los primeros tres patotipos, afectan a los humanos, pero también pueden ocasionar enfermedades en animales por medio de los mecanismos de virulencia similares a los observados en las cepas humanas (Nataro y Kaper, 1998; Rodríguez Ángeles, 2002; Kaper *et al*., 2004; Farfán-García *et al.,* 2016).

2.1.5.1 *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

La enfermedad fue reconocida por primera vez como causante de enfermedades diarreicas en lechones y es una infección mortal en animales recién nacidos (Kaper *et al*., 2004). Estos patógenos colonizan la superficie de la mucosa del intestino delgado y elaboran las enterotoxinas ST (toxinas termoestables) y LT (toxinas termolábiles). Los genes que codifican la LT residen en plásmidos que también pueden contener genes que codifican la ST y/o los antígenos del factor de colonización (CFA) (Ríos-Muñiz *et al.,* 2019). Este patotipo en humanos está asociado a dos síndromes clínicos: diarrea del lactante en los niños y a la diarrea del viajero, siendo el principal signo clínico la diarrea acuosa que puede ser leve o llegar a ser fatal (Nataro y Kaper, 1998; Qadri *et al.,* 2005).

2.1.5.2 *E. coli* enteropatógena (EPEC)

La enfermedad desarrollada por este patotipo presenta se caracteriza por el borramiento de las microvellosidades y la adherencia entre la bacteria y la membrana celular epitelial (Farfán-García *et al.,* 2016). La adherencia del EPEC a las células epiteliales están medidas por una proteína de la membrana externa llamada intimina, y el gen que lo codifica es *eae.* Se ha demostrado que los genes de EPEC: *eae, espB* y *sep* se encuentran dentro de una región cromosómica de la cepa EPEC denominada LEE (locus de borrado de enterocitos), el cual no se encuentra presente en las *E. coli* comensales. Otro factor mediador de la adherencia son las fimbrias que al agruparse forman haces, denominándoseles “pilis formadores de haces” (BFP). La pérdida de microvellosidades absorbentes puede provocar las denominadas diarreas por malabsorción afectando a niños

menores de 2 años principalmente y que se caracteriza por ser una diarrea acuosa, profusa, con vómitos y fiebre (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004).

2.1.5.3 *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)

Este patógeno que se transmite por alimentos, principalmente por la ingestión de carne mal cocida que produce una colitis hemorrágica (CH), caracterizada por un dolor abdominal intenso, con calambres, seguida de una diarrea con sangre (Kaper *et al*., 2004). Los individuos con esta enfermedad presentan los serotipos O157:H7 y se ha asociado a los casos de síndrome urémico hemolítico (SHU) (definido por la triada de insuficiencia renal aguda, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática). Estudios posteriores demostraron que la toxina similar a Shiga (*Stx*1 y *Stx*2), aisladas previamente de enfermedades diarreicas y la citotoxina Vero eran las mismas toxinas y que la cepa O157:H7 producían estas toxinas. Se concluye que la citotoxina Vero/toxina similar a la Shiga es el factor de virulencia común entre el CH y SHU (Konowalchuk *et al.,* 1977). La síntesis de proteínas en las células del huésped causa daño endotelial, al ser citotóxicas pueden afectar los vasos sanguíneos de los riñones. La *E. coli* productora de *Stx* puede estar presente en la microbiota fecal de múltiples especies animales incluyendo ganado bovino, ovino, caprino, felinos, caninos, entre otros. Sin embargo, la especie animal más importante en términos de infección humana es el ganado bovino (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004; Vega *et al*., 2020).

2.1.5.4 *E. coli* enteroagregativa (EAEC)

La adherencia agregativa producida por los patógenos a nivel intestinal se distingue de otros patotipos por una autoaglutinación prominente de las células bacterianas entre sí (Estrada y Navarro, 2012). Estas cepas no secretan enterotoxinas ST o LT y se adhieren a las células HEp-2 con un patrón de adherencia agregativa (AA). En la histopatología se caracteriza por una abundante secreción de moco que se adhiere al epitelio del intestino delgado. Además, se ha identificado una estructura fimbrial flexible denominada fimbrias de adherencia agregativa 1 (AAF/1) las cuales median la adherencia a HEp-2 (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004).

2.1.5.5 *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

Este patotipo está relacionado desde el punto de vista genético y patogénico con *Shigella* spp (Pettengill *et al.,* 2016). Ambos microorganismos invaden el epitelio colónico y también pueden producir una o más enterotoxinas secretoras que desempeñan un papel en la patogénesis de la diarrea. Su patogénesis comprende la penetración del patotipo a las células epiteliales, lisis de las vacuolas endocíticas, multiplicación intracelular y extensión a las células epiteliales adyacentes; generando úlceras en los casos más graves. El plásmido donde se ubican los genes necesarios para la invisibilidad del EIEC se ha denominado *pInv*. Las proteínas secretadas para producir la patogenicidad se denominan Ipa, de los cuales *IpaB*, *IpaC* e *IpaD* son efectoras del fenotipo de invasión (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004).

2.1.5.6 *E. coli* difusamente adherente (DAEC)

El término "*E. coli* difusamente adherente" se utilizó inicialmente para referirse a cualquier cepa de *E. coli* adherente a HEp-2 que no forma microcolonias similares a las de EPEC. Actualmente, la EAEC y la DAEC se reconocen como categorías independientes al EPEC (Nataro y Kaper, 1998; Kaper *et al*., 2004). Se conoce poco de las características patogénicas de la DAEC. Se sugiere que este patotipo puede ser un importante patógeno productor de diarrea en países desarrollados (Poitrineau *et al.,* 2001; Hudault *et al* 2004).

Cuadro1. Principales patotipos intestinales de *E. coli* en humanos

Patotipos (acrónimo)	Enfermedades	Síntomas	Factores de virulencia	Ref.
Enterotoxigénica (ETEC)	Diarrea del viaje Diarrea del lactante	Diarrea acuosa y vómitos	Toxinas termolábiles y estables en la envoltura, CFAs	[18,186]
Enteropatógena (EPEC)	Diarrea en niños	Diarrea acuosa y vómitos	BFP, Intimina, LEE	[119]
Enterohemorrágica (EHEC)	Colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico	Diarrea con sangre	Toxinas Shiga, Intimina, BFP	[119,42]
Enteroagregativa (EAEC)	Diarrea en niños	Diarrea con moco y vómitos	AAF, citotoxinas	[241,165]
Enteroinvasiva (EIEC)	Similar a shigelosis	Diarrea acuosa; disentería	Toxinas Shiga, hemolisina, invasión celular, Ipa	[119,165]
De adherencia difusa (DAEC)	Diarrea aguda en niños	Diarrea acuosa, infecciones urinarias recurrentes	Daa, AIDA	[211]

*CFA: antígeno de factor de colonización; BFP: pili formadores de haces; LEE: lugar de borramiento de enterocitos; AAF: fimbria de adherencia agregativa; Ipa: antígeno del plásmido de invasión; Daa: adhesina difusa; AIDA: adhesina implicada en la adherencia difusa

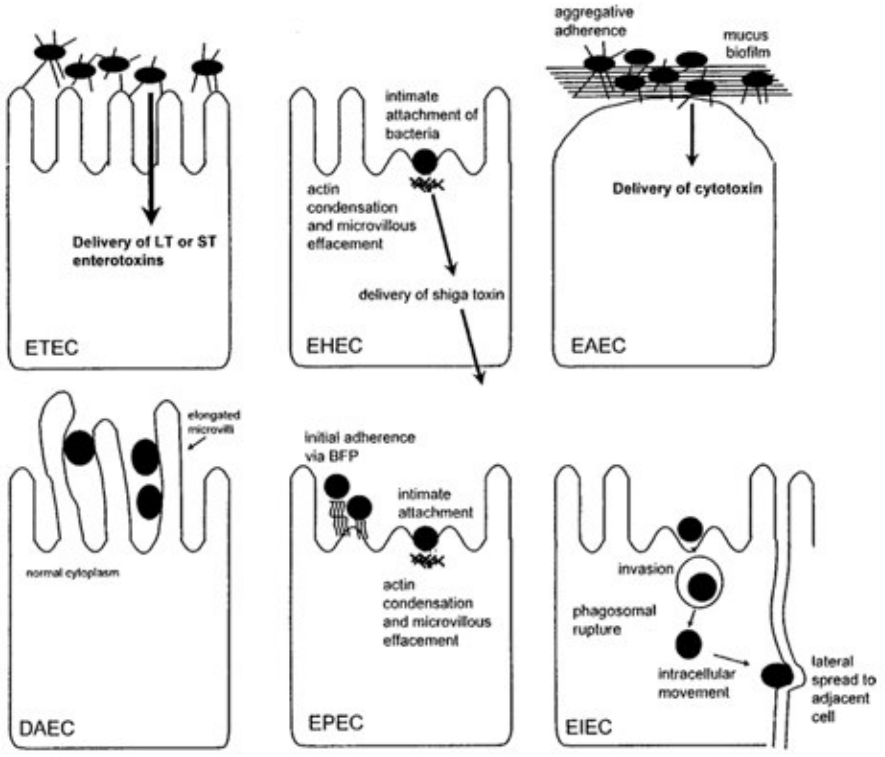


Figura 3. Esquema patogénico de las *E. coli* intestinales (Nataro y Kaper, 1998)

2.1.6. Transmisión de *E. coli* por los alimentos

En la microbiota intestinal de los animales productores de alimentos se encuentra *E. coli* como una bacteria comensal habitual (Ramos *et al*., 2020). Esto concuerda con lo mencionado por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2024b), quienes mencionan que los alimentos que con mayor frecuencia se asocian a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) provienen de la carne y otros productos producidos por las especies de abasto.

Es importante destacar que la contaminación de los alimentos de origen animal podría originarse en cualquier etapa de la cadena alimentaria o deberse a factores ambientales, como la contaminación del agua o del suelo (Alhadlaq *et al*., 2024). En el caso de los productos cárnicos, es importante enfatizar la importancia del proceso de beneficio ya que constituye el primer eslabón a supervisar para asegurar la inocuidad alimentaria (Bergaglio y Bergaglio, 2020). Sumando a ello, diversos estudios evidencian la presencia de *E. coli* patógena en el contenido fecal de los animales clínicamente sanos destinados al beneficio (Sudarwanto *et al.*, 2016; Sanou *et al.*, 2022; Awork *et al*., 2022). Por lo que, una inadecuada evisceración, la mala higiene de equipos, utensilios y de los manipuladores de alimentos, podría propiciar la contaminación de las canales (Passos *et al.*, 2010; Novoa y Zapata, 2024).

Para prevenir la transmisión de *E. coli*, se recomienda implementar protocolos de higiene para quienes manipulan alimentos, establecer políticas de salud para el personal y aplicar diferentes métodos de sanitización para los productos elaborados con insumos animales (Adhikari *et al.*, 2020; Kirchner *et al.*, 2023). *E. coli* al ser ubicua puede estar presente en el ambiente, por ello, su presencia sería un indicar de contaminación fecal como consecuencia de malas prácticas de higiene. Mediante análisis microbiológicos y moleculares se puede determinar tanto el origen como el destino de dicha contaminación (presencia de genes de resistencia, patotipos y plásmidos que contienen). La presencia de esta bacteria en el agua destinada al consumo humano se relaciona con un incremento del riesgo de exposición a patógenos entéricos y la aparición de enfermedades diarreicas (Larrea- Murrel *et al.,* 2013; Huayanay-Quevedo *et al.,* 2022)

En la Figura 4 se menciona como ocurre la transmisión de *E. coli* patógena por la vía fecal-oral (Kaper *et al*., 2004). Entre los factores más comunes para la transmisión de estas bacterias se incluyen: la manipulación inadecuada de alimentos (Valdiviezo *et al.,* 2006; Trujillo, 2012; Navas y Púa, 2014), la contaminación generada en la producción agrícola por el uso de estiércol como fertilizante, el riego con aguas residuales (Venegas *et al*., 2014; Martínez-Orgániz *et al*., 2022) y el consumo de agua contaminada con materia fecal (Olivas *et al*., 2013; Ahumada-Santos *et al*., 2014; Maza *et al*., 2025). Además, las moscas pueden actuar como vectores (Béjar *et al.*, 2006; Alarcón, 2023), al igual que el contacto entre personas y animales de granja (Moredo *et al.*, 2013; Baque *et al.*, 2021; Hernández Fillor *et al*., 2023).

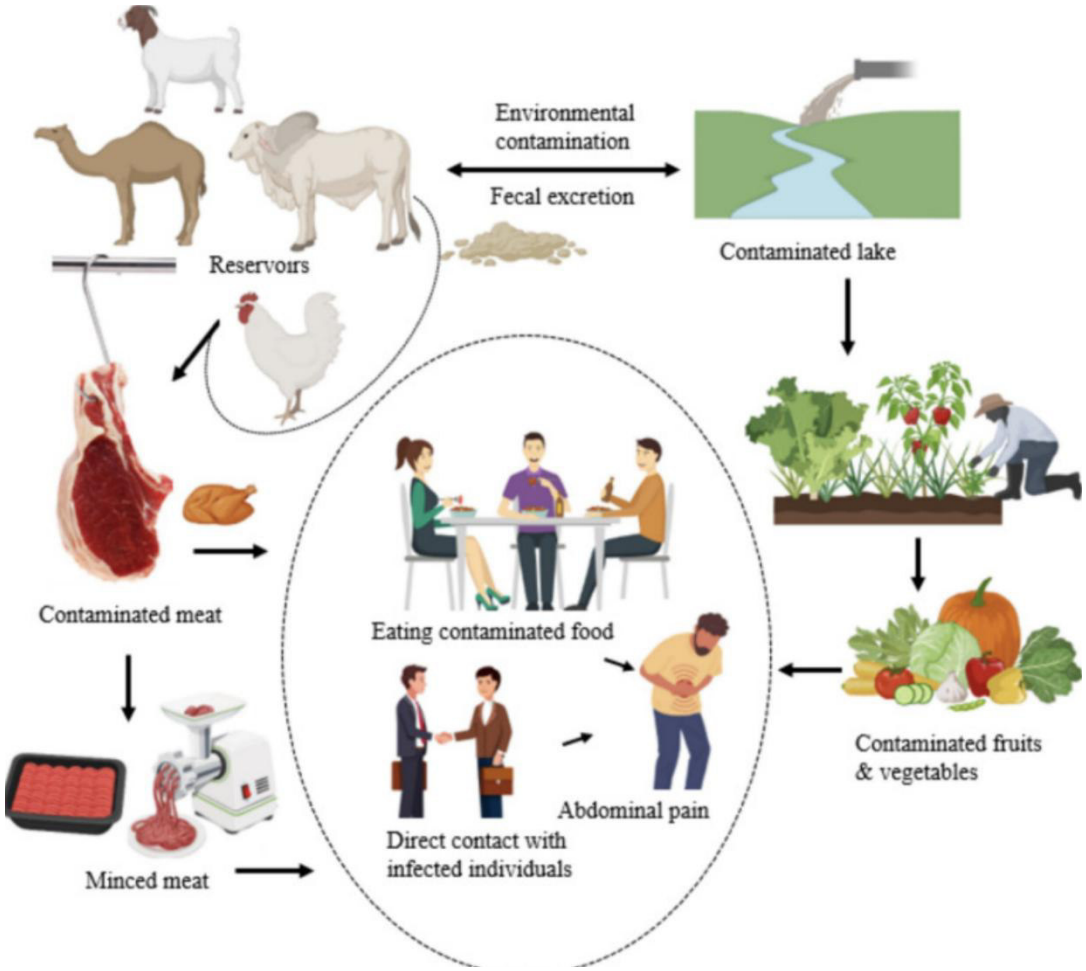


Figura 4. Ciclo de transmisión de *E. coli* por alimentos contaminados (Alhadlaq *et al*., 2024)

2.2 ANTIMICROBIANOS BETALACTÁMICOS

Los antimicrobianos betalactámicos pertenecen a una amplia familia que se caracteriza por contener un anillo betalactámico en su estructura química. El descubrimiento de la penicilina G por Fleming en 1929, significó el punto de partida para el desarrollo de los antimicrobianos betalactámicos, marcando una nueva era en la terapéutica antimicrobiana. Estos antimicrobianos hasta la actualidad constituyen uno de los grupos más utilizados en la práctica médica por su eficacia y amplio espectro de acción (Lima *et al.*, 2020). Su uso generalizado se debe a que son de fácil acceso, económicos, poco tóxicos y altamente eficaces (Sumano, 2006).

A nivel mundial, el consumo y comercialización de betalactámicos representa el 65% del total de los agentes antimicrobianos empleados, considerándose como uno de los grupos más prescritos para el tratamiento de infecciones bacterianas (Thakuria y Lahon, 2013). Sin embargo, a pesar de su frecuente uso en medicina humana y veterinaria, estos fármacos están categorizados como" antimicrobianos de importancia crítica" por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y como" antimicrobianos veterinarios de importancia crítica" bajo las Directrices de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), lo que destaca la necesidad de emplear estos agentes antimicrobianos con responsabilidad en el tratamiento de enfermedades (OMS, 2019; OIE, 2021).

2.2.1. Mecanismo de acción

Las bacterias presentan una pared bacteriana que cumple una función estructural. La formación de la pared bacteriana inicia con la síntesis de los precursores N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM), los que conforman la porción glucosada del peptidoglucano. Posteriormente, se da la formación de la cadena peptídica compuesta por cuatro a cinco aminoácidos (L-alanina, D-glutamato, L-lisina, D-alanina, D-alanina) la cual se forma y se ubica dentro del NAM. Luego, a partir de molécula lipídica bactoprenol se da el ensamblaje de ambos precursores NAG y NAM y los transporta hacia el espacio periplásmico. Allí tiene lugar la transglicosilación, proceso en el que la enzima glucosiltransferasa cataliza la unión de los disacáridos NAG y NAM, extendiendo así la cadena glucídica del peptidoglucano. Por último, se produce la

transpeptidación mediada por la enzima transpeptidasa, también denominada “Proteína de unión a la penicilina” (PBP) en el cual se forman enlaces cruzados entre las cadenas peptídicas. Esta enzima une la cadena peptídica a partir del tercer aminoácido (L-lisina) junto al segundo aminoácido (D-alanina) de la siguiente cadena peptídica, para lo cual libera el primer aminoácido (D-alanina) (Lima *et al.,* 2020; Cuervo-Parra *et al.*, 2024).

El mecanismo de acción de los antimicrobianos betalactámicos se basa en el bloqueo de la síntesis de la pared bacteriana, específicamente al alterar la síntesis del peptidoglucano en la etapa final de su ensamblaje (transpeptidación) (Prescott, 2013; Gómez *et al.,* 2015). Para ello, los betalactámicos se unen específicamente al sitio activo de la transpeptidasa (PBP), imposibilitando su función catalítica en la unión y entrecruzamiento de las cadenas peptídicas del peptidoglucano, lo que inhibe la etapa final del ensamblaje de la pared celular conduciendo a la autolisis bacteriana y finalmente a la muerte celular (Figura 5) (Suárez y Gudiol, 2009; Prescott, 2013).

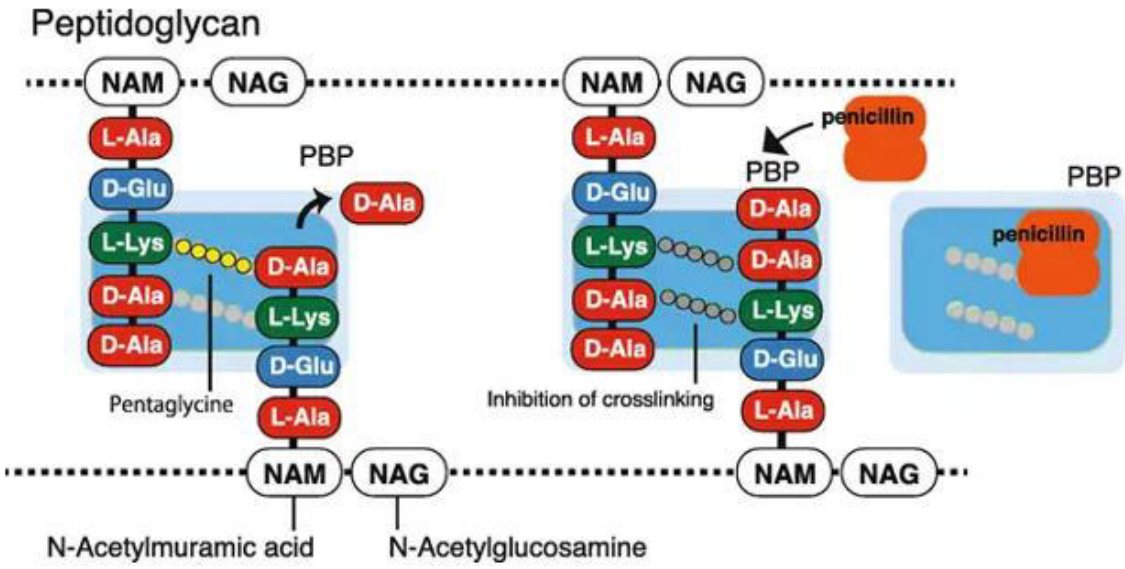


Figura 5. Mecanismo de acción de los betalactámicos (Cuervo-Parra *et al.*, 2024).

2.2.2. Estructura química

Los antimicrobianos betalactámicos poseen como núcleo estructural el anillo betalactámico, el cual se compone de un anillo heterocíclico compuesto por tres átomos de carbonos y un átomo de nitrógeno, al cual se le une directamente un anillo adicional en su estructura química, con excepción de los monobactámicos (Kim *et al.*, 2023).

La incorporación de diferentes anillos estructurales al anillo betalactámico da origen a cuatro grandes grupos de antimicrobianos betalactámicos, entre los cuales se encuentran las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos. Debe considerarse en esta familia de antimicrobianos a los inhibidores de las betalactamasas, las cuales, a pesar de manifestar una actividad antibacteriana limitada conservan el anillo betalactámico y desempeñan un papel terapéutico importante al potenciar la eficacia de los antibióticos betalactámicos (Cruz y Diaz, 2010). Por lo tanto, la naturaleza de los radicales es lo que permite la diferenciación entre los grupos de esta familia. Por consiguiente, las cadenas laterales complementarias guardan relación con las propiedades: actividad antimicrobiana, farmacocinética y toxicidad (Figura 6) (Gómez *et al.*, 2015).

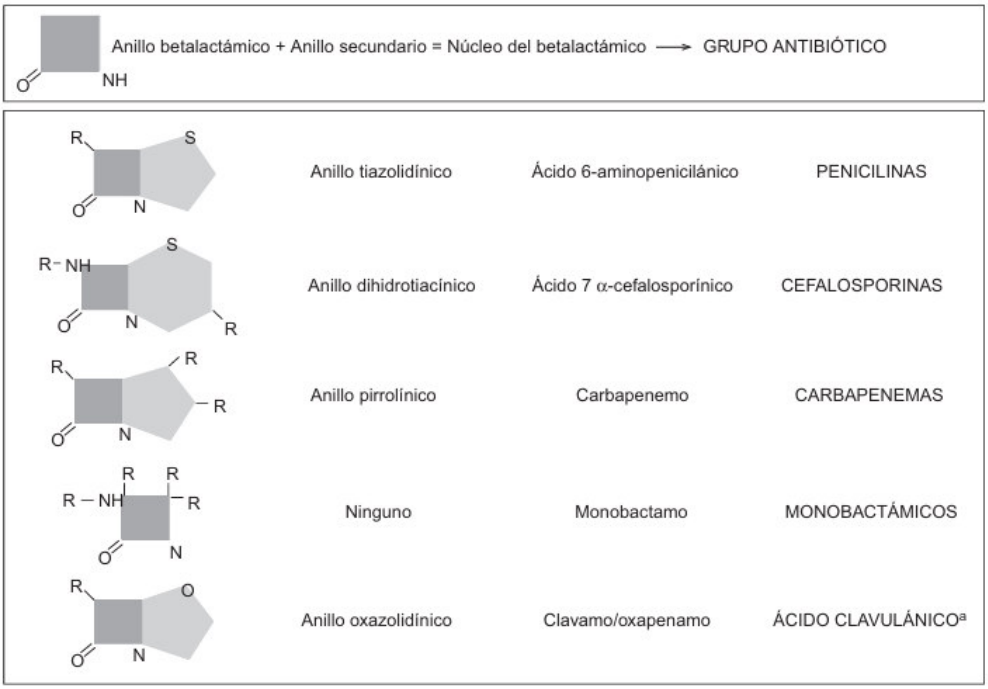


Figura 6. Estructura química de los betalactámicos (Suárez y Gudiol, 2009)

2.2.2. Clasificación

2.2.3.1. Penicilinas:

Según su actividad antimicrobiana se puede dividir en las siguientes clases: Penicilinas naturales, como la Penicilina G (bencilpenicilina), representante originario del grupo, las penicilinas sintéticas como la ampicilina y amoxicilina y las penicilinas resistentes a penicilinasas como la meticilina (Fernandes *et al.,* 2013). Este grupo de antimicrobianos es efectivo frente a bacilos grampositivos; sin embargo, presentan un espectro reducido a las betalactamasas de los bacilos gramnegativos salvo se asocien a inhibidores de betalactamasas (Cuadro 2) (Gómez *et al.*, 2015; Hamon *et al.*, 2021).

2.2.3.2. Cefalosporinas:

Es el grupo con la mayor cantidad de antimicrobianos desarrollados y disponibles en el mercado. Se clasifican en cinco generaciones según su espectro y el aumento de su actividad intrínseca contra bacterias gramnegativas. Dentro de las cefalosporinas de 1º generación, destacan la cefazolina, cefadroxilo y cefalexina; en las cefalosporinas de 2º generación, la cefuroxima, cefonicida, cefoxitina; en las cefalosporinas de 3º generación, la cefotaxima, ceftriaxona, cefixima o ceftibuteno, cefpodoxima, cefditoren y ceftazidima; en las cefalosporinas de 4º generación, cefepima y las nuevas cefalosporinas de 5º generación, la ceftarolina (Gómez *et al*., 2015).

Este grupo presenta una mayor estabilidad frente a las betalactamasas producidas por bacilos gramnegativos, lo que les otorga una actividad intrínseca superior a las de las penicilinas, actividad que mejora desde la primera hasta la tercera generación. Sin embargo, también se presenta una pérdida de efectividad a cocos grampositivos entre generaciones, con excepción de la última generación, la cual es una alternativa eficaz frente a infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y estafilococo coagulasa negativa resistente (Hamon *et al*., 2021).

2.2.3.3. Carbapenémicos:

Representan los antimicrobianos con el espectro más amplio, además de una mayor actividad y resistencia a las betalactamasas de espectro extendido (BLEE). El imipenem, meropenem, doripenem y ertapenem conforman este grupo. Los tres primeros se caracterizan por ser resistentes a la hidrólisis de la mayoría de las betalactamasas; mientras el ertapenem es el principal antimicrobiano para infecciones producidas por enterobacterias productoras de BLEE (Gómez *et al*., 2015; Hamon *et al*., 2021).

2.2.3.4. Monobactámicos:

El aztreonam constituye el único representante de este grupo. Se caracteriza por tener una estructura monocíclica (Finberg y Guharoy, 2011). Estos antimicrobianos tienen un espectro de acción limitada ya que sólo son efectivos contra enterobacterias productoras de BLEE y *Pseudomona aeruginosa* (Suárez y Gudiol, 2009; Hamon *et al*., 2021).

2.2.3.5. Inhibidores de betalactamasas:

Poseen una actividad antimicrobiana intrínseca muy limitada a pesar de contener el anillo betalactámico característico de los antibióticos betalactámicos. No obstante, su similitud estructural le permite unirse a la enzima betalactamasa inactivando las serinas betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar e inactivar el anillo betalactámico de bacterias gramnegativas. Destacan en este grupo el ácido clavulánico, sulfabactam, tazobactam y los más recientes avibactam y vaborbactam, que son activos contra carbapenemasas (Gómez *et al*., 2015; Arruda *et al.,* 2019; Hamon *et al*., 2021).

Cuadro 2. Clasificacion de los antimicrobianos betalactámicos

Clase	Grupo	Betalactámico
Penicilinas	Penicilinas naturales	Penicilina G (Bencilpenicilina) Penicilina V
	Aminopenicilinas	Ampicilina, Amoxicilina
	Ureidopenicilinas	Azlocilina, Mezlocilina, Piperacilina
	Carboxipenicilinas	Ticarcilina, Carbenicilina
	Penicilinas resistentes a penicilinas	Meticilina, Nafcilina, Isoxazolpenicilinas (Cloxacilina, Oxacilina, Dicloxacilina)
Cefalosporinas	Cefalosporinas 1G	Cefazolina, Cefalotina, Cefradina, Cefalexina, , Cefadroxilo
	Cefalosporinas 2G	Cefamandol, Cefuroxima, Cefaclor
	Cefalosporinas 3G	Cefixima, Cefpodoxima, Ceftibuten, Cefdinir, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefoperazona, Ceftizoxima
	Cefalosporinas 4G	Cefepime, Cefpirome
Cefamicinas	Cefalosporinas 2G	Cefoxitina
Monobactámicos		Aztreonam
Carbapenémicos		Imipenem, Meropenem, Doripenem
Inhibidores de las betalactamasas	Ácido Clavulámico	Amoxicilina- Ácido Clavulámico
	Sulbactam	Ampicilina-Sulbactam
	Tazobactam	Piperacilina-Tazobactam

Fuente: Abreu, 2013

2.3 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

2.3.1. Situación actual de la resistencia a los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) se entiende como la capacidad innata o adquirida por los microorganismos, para adaptarse y evadir el efecto bactericida o bacteriostático de los antimicrobianos. Esto lo realizan luego de adquirir nuevos mecanismos de resistencia a la acción de uno o más antimicrobianos, disminuyendo así su eficacia (Giono-Cerezo *et al*., 2020).

La RAM se considera una de las principales amenazas para la salud pública mundial, con impacto para la salud humana, animal y ambiental (MINSA, 2024), Incluso, la OMS reconoce a la resistencia antimicrobiana como una de las tres principales amenazas para la salud publica en el siglo XXI (Munita y Arias, 2016). La rápida propagación de bacterias multirresistentes y panresistentes en humanos y animales dificulta el tratamiento de infecciones complejas. Esta situación contribuye a la expansión de enfermedades más graves y aumenta el riesgo de mortalidad. Por ello, el desarrollo de nuevos agentes antibacterianos ayudará a enfrentar a esta problemática (OMS, 2024a).

Los principales factores que favorecen la aparición de resistencia a los antimicrobianos son: el uso inadecuado y excesivo de antimicrobianos; la carencia de acceso a agua potable, deficiencias en saneamiento e higiene; la implementación inadecuada de medidas de prevención de infecciones en los centros hospitalarios y explotaciones agropecuarias; el limitado acceso a medicamentos, vacunas y medios de diagnóstico asequibles y de calidad; la falta de información y concientización sobre el problema; así como, el incumplimiento de las legislaciones vigentes (OMS, 2021). Estudios reportados como el de Caneshi *et al.* (2023) indican el uso de antimicrobianos en dosis subterapéuticos en la producción animal Frente a ello y para contrarrestar esta situación, la Asamblea Mundial de la Salud en el año 2015 adoptó un “Plan de Acción mundial para luchar contra la resistencia a los antimicrobianos” (OMS, 2016).

La Comisión Nacional Multisectorial está conformada por el Ministerio de Salud(MINSA), Ministerio de Defensa(MINDEF), Ministerio del interior(MININTER),

Ministerio del Ambiente(MINAM), Ministerio de Relaciones Exteriores, Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego(MIDAGRI), Ministerio de la Producción (PRODUCE), Colegio Médico del Perú, Colegio Médico Veterinario del Perú, Colegio de Biólogos del Perú, Colegio Químico Farmacéutico del Perú, Colegio Odontológico del Perú, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, entre otros. Esta comisión elaboró el "Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2019-2021", el cual representa la estrategia nacional ante la amenaza de la resistencia a los antimicrobianos y el creciente uso de los antimicrobianos (MINSA, 2024).

2.3.2. Tipos de resistencia antimicrobiana según su origen:

2.3.2.1. Resistencia natural o intrínseca:

Se trata de un tipo de resistencia natural presente en bacterias que no han sido expuestas previamente a antimicrobianos. Esta resistencia se origina por mutaciones espontáneas en el ADN (codificadas por el cromosoma bacteriano de las bacterias), que benefician al aumentar la sobrevivencia de las bacterias de la misma especie (Rodríguez-Rojas *et al.*, 2013; Camacho, 2023).

2.3.2.2. Resistencia adquirida

Se trata de un tipo de resistencia desarrollada por algunas bacterias como resultado de la exposición previa a antimicrobianos. Esta resistencia se obtiene por mutaciones genéticas o adquisición de genes por medio de los mecanismos de transferencia genética horizontal (codificados por plásmidos), donde los genes de resistencia pasan de una bacteria resistente a otra bacteria no resistente, por lo que dicha resistencia puede transferirse entre bacterias de la misma o diferente especie (Holmes *et al.,* 2016).

2.3.3. Mecanismo de resistencia bacteriana a los antimicrobianos

Las bacterias son capaces de utilizar uno o múltiples mecanismos de resistencia al mismo tiempo, en contra de uno o varios agentes antimicrobianos, cuatro estrategias utilizadas por las bacterias; son las principales; para evitar la acción de los

antimicrobianos, estas se encuentran detalladas en la Figura 7. Asimismo, en el cuadro 3 se puedo observar los mecanismos de resistencia que usan las bacterias frente a los betalactámicos.

2.3.3.1. Bombas de eflujo

Las bombas de eflujo son sistemas de transporte activo localizadas en la membrana celular de las bacterias. Su función es expulsar las sustancias tóxicas, incluidos los antimicrobianos. Para ello, las bombas de eflujo reconocen y capturan el antimicrobiano en el citoplasma, luego usando energía (ATP) lo expulsa al espacio periplásmico o directamente fuera de la célula, esto causa que se limite la concentración intracelular del antimicrobiano, no permitiendo que alcance la concentración adecuada a nivel intracelular (Christaki *et al.,* 2020). Este mecanismo confiere resistencia frente a tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, macrólidos (Munita y Arias, 2016). Si bien las bombas de eflujo muestran especificidad hacia determinados antimicrobianos, se ha determinado que existen sistemas de eflujo capaces de expulsar diversas sustancias no relacionadas entre sí, lo que contribuye al desarrollo de la multirresistencia a diversos antimicrobianos.(Nikaido y Pagès, 2012). La resistencia se produce por la disminución de la concentración intracelular del fármaco, lo que restringe o impide su llegada al sitio diana (Guardabassi y Courvalin, 2006).

2.3.3.2. Inactivación enzimática

En este mecanismo las bacterias producen enzimas que inactivan o modifican químicamente el antimicrobiano impidiendo que este actúe sobre su blanco y pierda su acción bactericida Este mecanismo, confiere resistencia frente a betalactámicos, aminoglucósidos, fenicoles, macrólidos y lincosamidas (Guardabassi y Courvalin, 2006). Como ejemplo tenemos la producción de betalactamasas como: TEM, SHV, CTX-M, KPC, NDM frente a los betalactámicos (Forbes, 2009; Carrillo, 2024).

2.3.3.3. Alteración del sitio de acción o modificación del blanco

La alteración del sitio de acción es un mecanismo de resistencia mediante el cual la bacteria altera la estructura del blanco molecular del antimicrobiano (como ribosomas,

enzimas o proteínas de la membrana) ya sea por mutaciones espontáneas o luego de adquirir un gen que modifica ese blanco, de modo que el antimicrobiano ya no puede unirse eficazmente a la bacteria y no puede ejercer su acción terapéutica. Este mecanismo confiere resistencia frente a betalactámicos, aminoglucósidos, macrólidos y quinolonas (Forbes, 2009; Carrillo, 2024). Un ejemplo de este fenómeno es la modificación de la estructura o afinidad de PBP, mecanismo de resistencia de los antimicrobianos betalactámicos, un aumento de PBP con baja afinidad hacia el antimicrobiano o la disminución de aquellas PBP con afinidad habitual repercute en que este antimicrobiano pueda unirse a sus sitio de acción (Zapun *et al.,* 2008; Sethuvel *et al.,* 2023)

2.3.3.4. Disminución de la permeabilidad de la membrana externa

Las bacterias pueden generar cambios en la membrana lipídica, aunque esta permeabilidad se ve alterada principalmente cuando hay pérdida o modificaciones a nivel de las porinas; estos son canales que se encuentran en la membrana externa de las bacterias gramnegativas y trabajan como filtros en una membrana permeable, pudiendo ser específicos o inespecíficos. Estos cambios estructurales pueden llevar a la membrana externa a no permitir el paso de estos agentes antimicrobianos al espacio periplásmico. Este mecanismo confiere resistente frente a betalactámicos, fluoroquinolonas, tetraciclinas y cloranfenicol (Forbes, 2009; Carrillo, 2024).

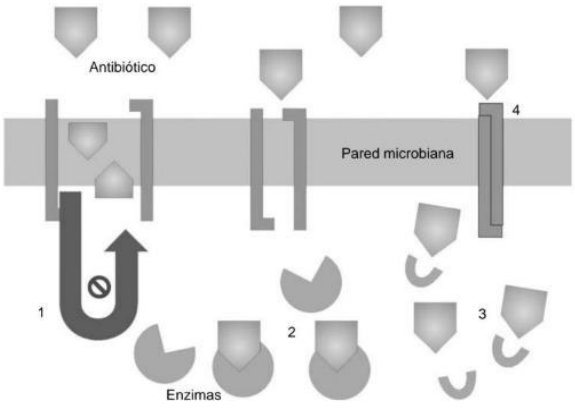


Figura 7. Mecanismos de resistencia bacteriana: 1. bombas de eflujo, 2. inactivación enzimática, 3. alteración del sitio de acción, 4. disminución de la permeabilidad de la membrana (Carrillo, 2024)

Cuadro 3. Mecanismos de resistencia frente a los betalactámicos

Clase de antimicrobiano	Medio de resistencia	Mecanismo específico
Betalactámicos **penicilina, ampicilina, piperacilina, cefazolina, cefotetán, ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima, aztreonam, imipenem)**	Inactivación enzimática	Las enzimas betalactamasas destruyen el anillo betalactámico, de manera que el antibiótico no puede unirse a las proteínas de unión a la penicilina (PBP) e interferir en la síntesis de la pared celular
	Sitio de acción alterado	Cambios mutacionales en las PBP originales o adquisición de PBP diferentes que no se unen a los betalactámicos con afinidad suficiente como para inhibir la síntesis de la pared celular
	Captación disminuida	Cambios del número o las características de los canales de porinas (a través de los cuales los betalactámicos atraviesan la membrana externa para alcanzar las PBP de las bacterias gramnegativas), de forma que la captación de betalactámicos disminuye sustancialmente

Fuente: Forbes, 2009

2.3.4. Mecanismos de transferencia horizontal

La transferencia horizontal de genes (HGT) es un proceso mediante el cual los organismos intercambian material genético lo que favorece la adaptación y supervivencia de las bacterias (Lindsay, 2014; Bureaste, 2015). La transferencia de genes de resistencia a antimicrobianos (ARG) entre bacterias, cumple un papel clave en el desarrollo de resistencia a distintos antimicrobianos (MDR) (Sun, 2018). Este mecanismo desempeña un papel fundamental en la adaptación y supervivencia de las bacterias (Lindsay, 2014). La HTG se produce mediante los siguientes mecanismos: transformación, transducción, conjugación y agentes de transferencia de genes (Figura 8).

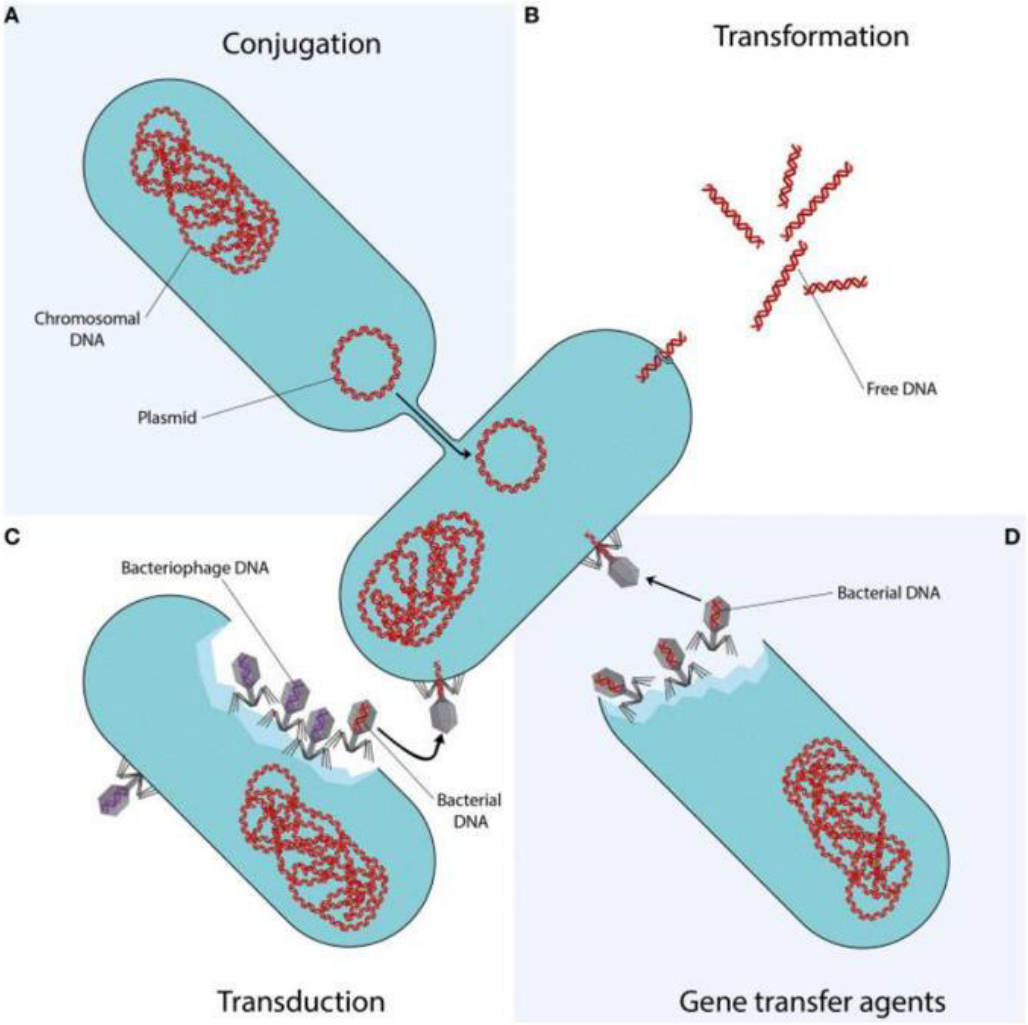


Figura 8. Mecanismos de transferencia horizontal de genes (von Wintersdorff *et al.*, 2016).

2.3.4.1. Transformación

La transformación ocurre cuando bacterias receptoras tienen la capacidad de captar, integrar y expresar fragmentos libres de ADN extracelular presentes en su entorno, liberados por otras bacterias donadoras al exterior (von Wintersdorff *et al.*, 2016). Para que este proceso tenga lugar, debe cumplirse algunas condiciones: la presencia de ADN en el medio extracelular, que las bacterias receptoras se encuentren en un estado de competencia; y que el ADN incorporado logre estabilizarse (Thomas y Nielsen, 2005).

2.3.4.2. Transducción

La transducción es un proceso en el cual los bacteriófagos (virus que infectan bacterias) transfieren ADN bacteriano de una bacteria donadora, previamente infectada a una bacteria receptora favoreciendo así su propagación (Modi *et al*., 2013). El material genético transferible puede incluir fragmentos del ADN cromosómico, plásmidos, transposones e islas genómicas. Los bacteriófagos poseen un amplio rango de hospedadores y actúan como importantes reservorios de ARG (Bureaste, 2015; von Wintersdorff *et al.*, 2016).

2.3.4.3. Conjugación

La conjugación es un mecanismo de transferencia genética en el que una bacteria donadora transmite ADN a una célula receptora a través de contacto celular directo utilizando estructuras como los pili de la superficie celular o adhesinas. Este proceso es mediado por una maquinaria conjugativa codificada por genes presentes en plásmidos. Este mecanismo permite la propagación de los genes y que estos pueden diseminarse entre diferentes cepas, especies e incluso géneros bacterianos (Bureaste, 2015; von Wintersdorff *et al.*, 2016).

2.3.4.4. Agentes de transferencia de genes

Los agentes de transferencia de genes (GTA) son partículas con características similares a los bacteriófagos, que encapsulan fragmentos aleatorios del genoma de la bacteria donadora. Estas partículas pueden liberarse tras la lisis celular y transferirse a una bacteria receptora. A diferencia de otros mecanismos de transferencia genética, los GTA presentan ciertas ventajas, como la capacidad de movilizar diversos segmentos genéticos sin requerir integración específica o contacto directo entre células (Stanton, 2007; von Wintersdorff *et al.*, 2016).

2.3.5. Elementos genéticos móviles

El genoma bacteriano está compuesto por el ADN cromosómico y diversos elementos genéticos móviles como: los plásmidos y los transposones. Los genes de resistencia a los antimicrobianos pueden transmitirse a otras bacterias a través de estos elementos genéticos móviles; así como, mediante las secuencias de inserción, integrones y otras estructuras complejas como: islas genómicas, elementos integrativos conjugativos (ICE) y los elementos movilizables (IME). Estos elementos genéticos móviles pueden transferirse de manera horizontal o vertical (Périchon y Courvalin, 2015; Munita y Arias, 2016).

Los genes de resistencia a los antimicrobianos brindan ventajas adaptativas a las bacterias, lo que explicaría la elevada frecuencia de encontrarlos asociados a elementos genéticos móviles que son transferibles. Cualquier gen puede formar parte de una estructura móvil siempre que proporcione una ventaja selectiva al huésped y que exista una presión selectiva adecuada, incluso un mismo plásmido puede contener múltiples genes de resistencia (Périchon y Courvalin, 2015) (Figura 9).

2.3.5.1. Plásmidos

Los plásmidos son moléculas de ADN circulares y bicatenarios que existen como moléculas extracromosómicos autorreplicantes, que son transmitidas independientemente del ADN cromosómico (Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano (NIH),

2025). Estas moléculas tienen la capacidad de autotransmitirse de una célula a otra y movilizar parte del cromosoma a través de un proceso denominado recombinación de alta frecuencia (Hfr). Los plásmidos bacterianos suelen contener genes que codifican enzimas que benefician a la célula huésped, la incorporación de nuevos genes a través de plásmidos facilitada por elementos genéticos móviles, como transposones o secuencias de inserción, junto con su habilidad de replicarse en distintos tipos de hospedadores, ha hecho de los plásmidos vehículos ideales para la diseminación de la RAM (Rozwandowicz *et al*., 2018).

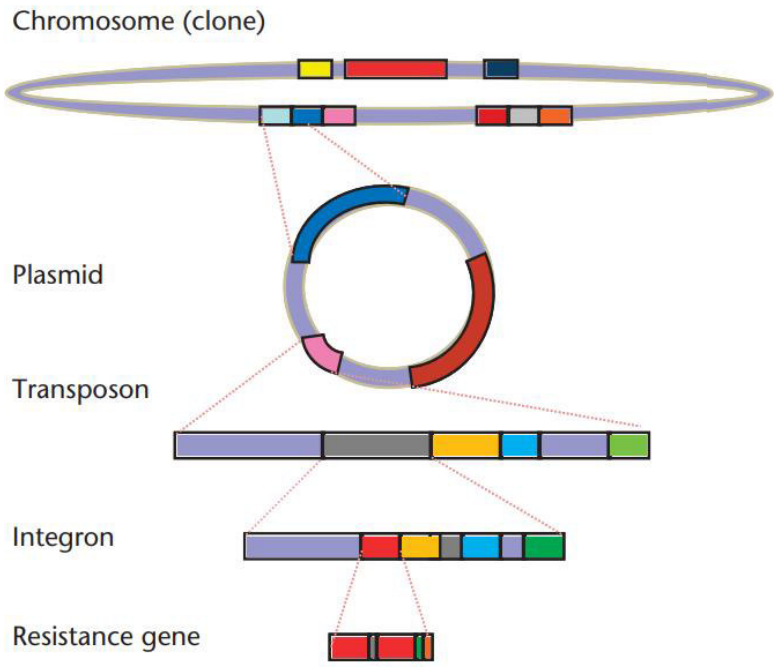


Figura 9. Estructura jerárquica de los elementos genéticos móviles (Martínez y Baquero, 2009)

2.3.5.2. Transposones

Los transposones son fragmentos de ADN específicos capaces de desplazarse de un replicón a otro sin perder su estructura original. Los transposones codifican una transposasa que permite la inserción y escisión en un sitio-específico, permitiendo que el transposón se "desprenda" y se reinserte en un nuevo lugar del genoma. Estos pueden transferirse de manera activa, como en el caso de transposones conjugativos, o de manera pasiva cuando son transportados por un plásmido transferible. Los integrones, son parte de transposones y los transposones son frecuentemente transportados en los plásmidos(Périchon y Courvalin, 2015).

2.3.5.3. Integrones y cassettes genéticos

Los integrones no se consideran elementos genéticos móviles como tal; sin embargo, los genes ubicados en los cassettes que forman parte de dichos sistemas, si poseen la capacidad de movilizarse. Los integrones, se definen como elementos dinámicos que albergan determinantes genéticos asociados a un mecanismo de recombinación sitio-específica, el cual permite reconocer, capturar y expresar genes ubicados en el cassettes (Collis y Hall, 1995).

Los integrones se caracterizan por tener en su estructura el gen *(Inti),* que codifica una integrasa responsable de catalizar la inserción/escisión específica de genes ubicados en los cassettes, junto con su promotor *(Pint).* Además, incluyen un sitio de recombinación denominado(*attI)* y uno o dos promotores adicionales Pc y P2 que permiten la expresión de los genes integrados (Ortega Paredes y Zurita, 2013).

Los cassettes genéticos son elementos móviles de ADN circular, que contienen un marco de lectura abierto y un sitio de recombinación (*attC).* La integrasa codificada por el gen *intI* reconoce el sitio (*attC)* en el cassettes genético y cataliza su recombinación en el sitio *attI* del integrón. Como resultado, el cassettes recientemente incorporado se posiciona próximo al gen *intI*. Los genes insertados en la región variable del integrón se expresan gracias a los promotores ubicados en el gen (*intI)* o el sitio *(attI)* (Collis y Hall, 1992; Ortega Paredes y Zurita, 2013).

2.4. BETALACTAMASAS

2.4.1. Mecanismo de acción

La producción de betalactamasas representa el principal mecanismo de resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos betalactámicos, con excepción de las cefamicinas y carbapenémicos (García *et al.*, 2010). El mecanismo de acción de estas enzimas betalactamasas consiste en incidir el enlace amida en el anillo betalactámico. Para ello, se forma un complejo no covalente entre la enzima y el antimicrobiano, conocido como complejo no covalente de Michaelis, luego el anillo betalactámico es atacado por el

hidroxilo libre de la cadena lateral de un residuo de serina presente en el sitio activo de la enzima, dando lugar a un éster acílico covalente. Este compuesto es hidrolizado liberando la enzima en su forma activa y el antimicrobiano inactivado. Este proceso es característico de las betalactamasas de las clases moleculares A, C y D, mientras que las de la clase B emplean un ion de zinc para atacar el anillo betalactámico (Figura 10) (Livermore, 1995). Como resultado de la hidrólisis del anillo betalactámico el antimicrobiano pierde afinidad por su sitio blanco, las proteínas de unión a la penicilina (PBP), haciendo inofensivo el papel terapéutico de los betalactámicos frente a las bacterias. Por lo tanto, la bacteria continúa formando su pared celular normalmente y adquiere resistencia al antimicrobiano (Capó, 2004; Pérez *et al.*, 2007; Echeverri *et al*., 2009).

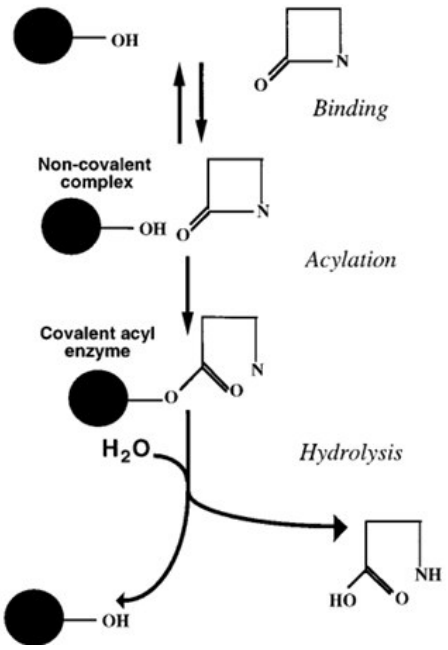


Figura 10. Acción de la serina betalactamasa (Livermore, 1995)

2.4.2. Clasificación de betalactamasas

Las betalactamasas se clasifican en dos grandes esquemas (Figura 11):

Clasificación molecular de Ambler (1980): Esta clasificación se fundamenta en su estructura molecular y en la secuencia de aminoácidos que la componen, dividiéndolas en cuatro clases moleculares. Las enzimas pertenecientes a las clases A, C y D poseen un residuo de serina en su sitio activo, el cual participa en la hidrólisis de los antimicrobianos betalactámicos, mientras, las enzimas de la clase B utilizan un ion de zinc en su sitio activo para realizar la hidrólisis (Livermore, 1995; Bush y Jacoby, 2010).

Clasificación funcional de Bush, Jacoby y Medeiros (2010): Esta clasificación, considerada la de mayor eficacia, se basa en los sustratos que las enzimas son capaces de hidrolizar y en sus patrones de inhibición frente a compuestos como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam(Livermore, 1955; Bush y Jacoby, 2010). El Cuadro 5 muestra las cuatro clasificaciones actuales de las betalactamasas.

En el cuadro 4 se observa la actividad de estos grupos de betalactamasas frente a diferentes antimicrobianos. Según Brenner y Stevens (2023), las betalactamasas del grupo funcional 1 (Clase C molecular) corresponden a enzimas con capacidad de hidrolizar cefalosporinas. En cambio, las del grupo funcional 2 (Clases moleculares A y D) comprenden enzimas que pueden hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Estas enzimas suelen ser codificadas por genes *bla*TEM y *bla*SHV, y las enzimas de clase A son susceptibles a los inhibidores de betalactamasas; acido clavulánico, sulbactam o tazobactam (Capó, 2004). En cuanto a las betalactamasas del grupo funcional 3 (Clase molecular B) corresponden a metaloenzimas dependientes de zinc, capaces de inactivar la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos (pero no el aztreonam). Finalmente, las betalactamasas del grupo 4 comprenden enzimas con actividad frente a penicilinas que no son inhibidas por el ácido clavulánico (Craig, 2023).

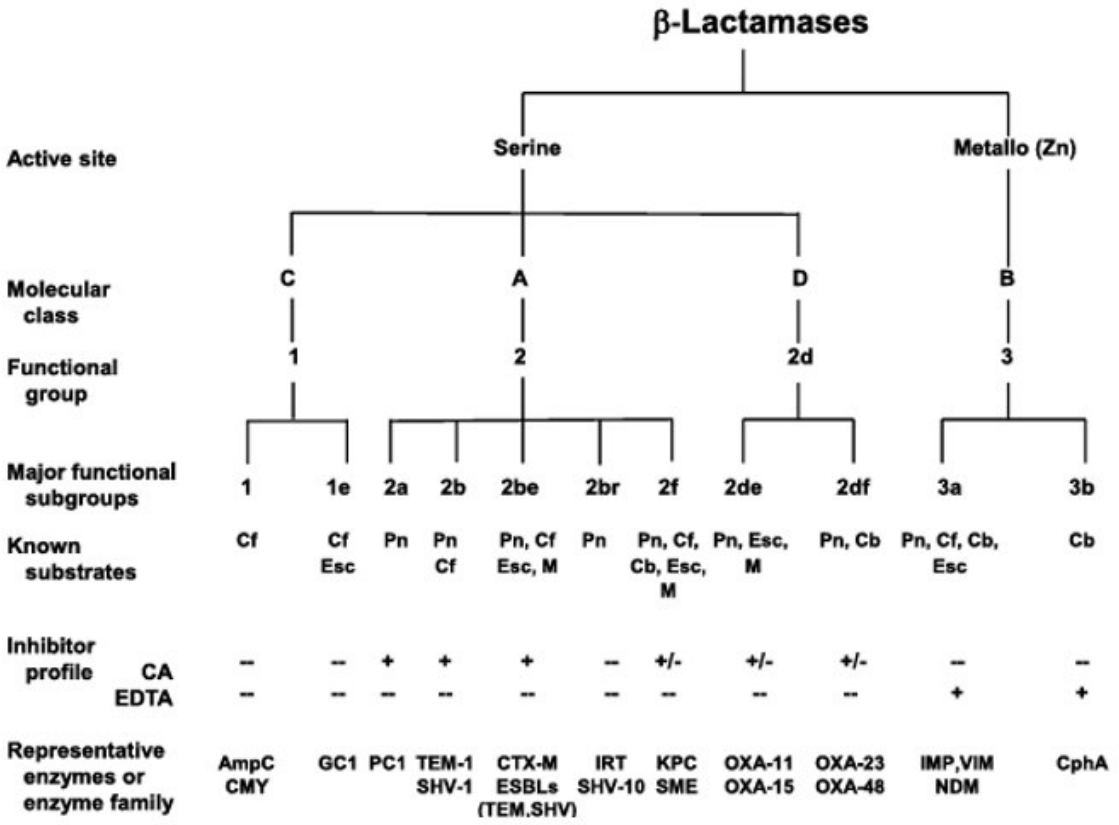


Figura 11. Características moleculares y funcionales de los grupos de betalactamasas (Cb, carbapenémicos; Cf, cefalosporinas comercializadas inicialmente; CA, ácido clavulánico; EDTA, acido etilendiaminotetraacético, Esc, cefalosporina de espectro extendido; M, monobactámicos; Pn, penicilinas (Bush, 2013).

Cuadro 4. Actividad de betalactamasas frente a diferentes antimicrobianos (Livermore, 1995)

Clase estructural (Amber)	Grupo funcional (Bush)	Actividad[a]							Inhibición por clavulánico
		Penicilinas			Cefalosporinas		Monobact.	Carbapenem.	
Serina betalactamasas		Penicilina	Carbenicilina	Oxacilina	Cefaloridina	Cefotaxima	Aztreonam	Imipenem	
A	2a	+++	+	-	+-	-	-	-	++
	2b	+++	+	+	++	-	-	-	++
	2be	+++	+	+	++	++	++	-	++
	2br	+++	+	+	+	-	-	-	-
	2c	++	+++	+	+	-	-	-	+
	2e	++	++	-	++	++	++	-	++
	2f	++	+	?	+	+	++	++	+
C	1	++	+-	Inhibidor	+++	+	Inhibidor	-	-
D	2d	++	+	+++	+	-	-	-	+-
Indeterminado	4[b]	++	++	++	V	V	-	-	-
Zinc betalactamasas									
B	3	++	++	++	++	++	-	++	-

[a] +++, sustrato preferido; ++, buen sustrato; +, hidrolizado; +-, apenas hidrolizado; -, estable; V, variable dentro del grupo; ?, incierto.
[b] Ninguna de las enzimas del grupo 4 de Bush ha sido secuenciado, se asume que son tipo serina porque carecen de actividad carbapenemasa

2.5. BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

2.5.1. Introducción e historia

En la década de 1980 se introdujeron en la terapia médica las oximinocefalosporinas, como la cefotaxima y ceftazidima, cefalosporinas que al presentar menor susceptibilidad a las betalactamasas fueron usadas para el tratamiento de bacterias gramnegativas que eran resistentes a los betalactámicos establecidos y que producían betalactamasas de clase A, C y D; sin embargo, su uso indiscriminado generó la aparición de enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) principalmente de la clase A y también clase D (Bradford, 2001). Las BLEE de la clase A (Según el esquema funcional de Bush) conforman un grupo molecular diverso, con betalactamasas con una identidad que oscila entre 20% al 99% , por ende, poseen la capacidad de hidrolizar un amplio rango de betalactámicos que incluyen penicilinas, oximinocefalosporinas (cefalosporinas de tercera y cuarta generación) y monobactámicos (Capó, 2004).Sin embargo, las bacterias productoras de BLEE presentan sensibilidad a cefamicinas y carbapenémicos (Paterson y Bonomo, 2005). Además, su actividad puede ser inhibida por compuestos como el ácido clavulánico, tazobactam o sulbactam, esta característica particular constituye una herramienta fenotípica que se utiliza para la identificación de bacterias productoras de BLEE (Pérez *et al*., 2007).

Las enzimas BLEE, SHV-2 y TEM-3, fueron descritas por primera vez en 1985 (Kliebe *et al.*, 1985). Estas enzimas se diferenciaban de las primeras penicilinasas TEM-1/2 y SHV-1, mediadas por plásmidos, por presentar mutaciones naturales que incrementan su espectro de acción (Kliebe *et al.*, 1985; Sougakoff *et al.,* 1988). Actualmente las enzimas TEM y SHV incluyen más de 130 miembros distribuidas a nivel mundial y la mayoría de ellas actúan como ceftazidimasas, pero solo algunas como cefotaximasas (Capó, 2004).

Posteriormente se describieron enzimas BLEE de la clase A, no derivadas de las enzimas TEM y SHV, del tipo ceftazidimasas como PER, VEB, TLA-1 y GES/IBC y del tipo cefotaximasas como SFO-1, BES-1 y CTX-M (Bernard *et al.,* 1992; Capó, 2004), y OXA-BLEE como betalactamasa de clase D (Paterson y Bonomo, 2005)

2.5.2. Tipos de enzimas BLEE del estudio

2.5.2.1. TEM

TEM son las enzimas betalactamasas detectadas con mayor frecuencia en bacterias gram negativas, TEM-1 fueron las primeras betalactamasas identificadas con capacidad de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas tempranas; y es responsable de cerca del 90% de la resistencia a la ampicilina en bacterias *E. coli* (Livermore 1995). Posteriormente, sustituciones de aminoácidos de la betalactamasa original causaron la generación de derivados como TEM-2, TEM-3 y así sucesivamente (Barthélémy *et al.,* 1985). Hasta la fecha se han reportado más de 90 derivados adicionales de la TEM (Bradford, 2001). Las enzimas TEM-3 fue reportada por primera vez en 1989, como la primera betalactamasa tipo TEM en presentar el fenotipo BLEE (Sougakoff *et al.,* 1988). Las distintas sustituciones de aminoácidos dan lugar a alteraciones en los fenotipos BLEE, entre ellas la capacidad de hidrolizar oximinocefalosporinas como ceftazidima y cefotaxima (Bradford, 2001).

2.5.2.2. SHV

SHV-1 es una enzima betalactamasas frecuentemente encontrada en *Klebsiella pneumoniae,* y es responsable de cerca del 20% de la resistencia a la ampicilina mediadas por plásmidos (Tzouvelekis y Bonomo, 1999). En contraste con las betalactamasas tipo TEM existen pocos derivados de SHV-1, y las sustituciones responsables de generar las variantes ocurren en menor número de posiciones dentro del gen estructural (Bradford, 2001). Las variantes de SHV con fenotipo BLEE se caracterizan por la sustitución de glicina por serina en la posición 238; el residuo de serina en esa posición potencia la hidrolisis de ceftazidima, mientras, que el residuo de lisina en el mismo sitio favorece la hidrolisis de cefotaxima (Huletsky *et al.,* 1993).

2.5.2.3. CTX-M

Las betalactamasas del tipo CTX-M, mediada por plásmidos, constituyen actualmente las enzimas más prevalentes (Capó, 2004; Pérez *et al.*, 2007), se han diseminado en entornos clínicos humanos, en la comunidad y en animales de todo el

mundo (Seiffert *et al.*, 2013). Fueron identificadas por primera vez a fines de la década de los 80 por Matsumoto *et al.*(1988) y Bauernfeind *et al.*(1992) quienes informaron sobre enzimas BLEE, no TEM ni SHV, en cepas de *E. coli* que eran resistentes a cefotaxima, pero susceptibles a inhibidores; y la denominaron CTX-M *"por su capacidad hidrolítica contra la cefotaxima*". A partir de 1995, su diseminación entre bacterias ha aumentado de manera notable a nivel mundial (Bonnet *et al.,* 2001; Radice *et al.,* 2002). Se ha determinado que no están relacionadas con las enzimas TEM y SHV, ya que solo muestran 40% de identidad con ellas, sin embargo, se ha determinado que enterobacterias ambientales del género *Kluyvera* spp. presentaron betalactamasas KLUG-1, KLUC-1 y KLUA-1, mediados por cromosomas, que comparten entre el 86% al 99% de semejanza entre sus secuencias de aminoácidos con los subgrupos CTX-M1/2 (Tzouvelekis *et al.,* 2000; Decousser *et al.,* 2001; Poirel *et al.,* 2002).

Filogenéticamente, se describen cinco grupos de las enzimas CTX-M (mediadas por plásmidos) que se caracterizan por presentar > 94% de semejanza de aminoácidos entre los miembros de cada grupo: (i) el **grupo CTX-M1** conformado por CTX-M1, CTX-M3, CTX-M10, CTX-M12, CTX-M15, FEC-1, CTX-M22, CTX-M23, CTX-M28; (ii) el **grupo CTX-M2** conformado por CTX-M2, CTX-M4, CTX-M4L, CTX-M5, CTX-M6, CTX-M7, CTX-M20, Toho-1; (iii) el **grupo CTX-M8**; (iv) el **grupo CTX-M9** conformado por CTX-M9, CTX-M13, CTX-M14, CTX-M16, CTX-M17, CTX-M19, CTX-M21, CTX-M27, Toho-2, CTX-M24; y (v) el **grupo CTX-M25** conformado por CTX-M25 y CTX-M26. Las enzimas KLUA y KLUG-1 se agrupan en CTX-M-2 y CTX-M-8, respectivamente, y la semejanza entre sus aminoácidos sugiere que estas podrían ser las progenitoras de los grupos CTX-M-2 y CTX-M-8 (Poirel *et al.,* 2002;Capó, 2004). El grupo CTX-M1 es el más prevalente a nivel mundial, siendo la variante CTX-M15 la de mayor detección. En el continente europeo las enzimas CTX-M14/15 son las que más predominan en la población humana, mientras, en animales la variante más común es el CTX-M1 (Ewers *et al.,* 2012)

2.5.3. Genes de resistencia de BLEE

Los genes que codifican CTX-M se han identificado frecuentemente en plásmidos, asimismo, el gen *bla*$_{\text{TEM-1}}$ suelen coexistir en el mismo plásmido; y se ha descrito su

posible asociación con los genes *bla*$_{TEM-2}$, *bla*$_{OXA-1}$ y *bla*$_{SHV}$ (Sabaté *et al.,* 2000). Además, dichos plásmidos pueden contener genes que confieren resistencia a otros grupos de antimicrobianos como fluoroquinolonas, aminoglucósidos, cloranfenicol, sulfonamida, trimetoprima y tetraciclina (Capó, 2004).

Se han identificado que genes *bla*$_{CTX-M}$ idénticos se agrupan de manera específica según su localización geográfica y periodo temporal. Un estudio realizado por Yagi *et al.* (1997) en Japón, reportaron inserciones cromosómicas de genes *bla*$_{CTX-M}$ en cepas clínicas de *E. coli* lo que sugiere la movilización de los genes *bla*$_{CTX-M}$, lo que posibilita su transferencia tanto entre plásmidos como desde plásmidos hacia el cromosoma. La rápida diseminación de este gen se debe a la acción de unidades de movilización genética, como las secuencias de inserción (IS *Ecp1* o IS *CR1*) y a su posterior integración en estructuras jerárquicas vinculadas a elementos genéticos móviles , entre los que se incluyen integrones y transposones (Cantón *et al.,* 2012). Asimismo, se han identificado secuencias de inserción(IS *Ecp1* similares a IS*Ecp1*) en la región adyacente al inicio de los ORFs (marcos de lectura abiertos) que codifican las enzimas CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-3, CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-15, CTX-M-17, CTX-M-19, CTX-M-20 y CTX-M-21 (Capó, 2004).

2.5.4. Resistencia a otros antimicrobianos no betalactámicos más representativos

2.5.4.1. Quinolonas y fluoroquinolonas:

Esta familia al ser de origen sintético, se consideraba que el único mecanismo de resistencia seria mediante mutaciones en los genes que codifican a las proteínas blanco - las topoisomerasas tipo II, o en los genes que regulan los transportadores de membrana, que expulsan compuestos tóxicos del citoplasma (Chávez -Jacobo *et al.,* 2015). No obstante, en años recientes se ha evidenciado que los sistemas de resistencia codificados por plásmidos constituyen una fuente relevante capaces de neutralizar el efecto de las quinolonas. Los estudios sobre los genes y proteínas vinculados a esta resistencia indican que su aparición antecede el uso clínico de los antimicrobianos (Hernández *et al.,* 2011). Por lo tanto, los mecanismos de resistencia a quinolonas se agrupan en dos categorías: (i) los determinados por genes cromosómicos, que incluyen alteraciones en los sitios de

unión del antimicrobiano y sistemas de expulsión activa; y (ii) los codificados por genes plasmídicos, que abarcan las proteínas *Qnr*, la enzima aminoglucósido acetiltransferasa modificada y los sistemas de expulsión tipo membranal (Aldred *et al.,* 2014).

La resistencia a esta familia suele asociarse a la presencia de genes codificantes de BLEE. Los genes qnr y aac(6')-lb-cr están vinculados a la resistencia a fluoroquinolonas, se han detectado con frecuencia junto a genes de resistencia de betalactámicos, especialmente genes *bla*$_{\text{CTX-14}}$ y *bla*$_{\text{CTX-15}}$ (Robicsek *et al.,* 2006; Ruiz *et al.,* 2012).

2.5.4.2. Aminoglucósidos:

Los principales mecanismos de resistencia a los aminoglucosidos incluyen: (i) Alteración del sitio blanco, ocasionada por mutaciones en los genes que codifican las proteínas ribosomales o el ARN 16S (Kotra *et al.,* 2000); (ii) disminución de la acumulación intracelular del antimicrobiano, producto de la impermeabilidad de la membrana externa causada por cambios en las proteínas de membrana externa debido a modificaciones en las proteínas de dicha membrana o desacoplamiento entre la síntesis de ATP y el transporte de electrones (Mingeot-Leclercq *et al.,* 1999; Kotra *et al.,* 2000); (iii) Inactivación enzimática del antimicrobiano, mediada por enzimas modificantes de aminoglucósidos (EMA)y (iv) enzimas modificantes de aminoglucósidos codificadas por elementos extracromosomales como plásmidos o transposones (Shaw *et al.,* 1993). Esto último concuerda con Lambert *et al.* (1988) quienes reportan que los genes que confieren resistencia a amikacina y kanamicina se encuentran localizados en un plásmido, lo que sugiere que este plásmido porta los genes que codifican las enzimas modificantes de aminoglucósido (EMA), en particular la combinación AAC(6')-I + APH(3') (Mella *et al.,* 2004).

Las cepas productoras de BLEE muestran resistencia frente a la mayoría de los aminoglucósidos, siendo la amikacina el antimicrobiano con mayor actividad dentro de este grupo (Morejón 2013).

2.5.4.3. Tetraciclinas:

Los principales mecanismos de resistencia a las tetraciclinas comprenden (i) la protección ribosomal, que ocurre cuando una proteína citoplasmática se une al ribosoma e impide que la tetraciclina se una a su sitio de acción y (ii) la expulsión activa del antimicrobiano mediante bombas de eflujo (Roberts , 1996; Martí *et al.,* 2006).

Los genes *tet* codifican una proteína de membrana citoplasmática (Tet) que funciona como un transportador activo; intercambiando un protón por el complejo tetraciclina-catión. Este proceso de resistencia está regulado por dos genes: uno que codifica la bomba de eflujo y otro que codifica una proteína represora; la expresión de ambos depende de la presencia o ausencia de tetraciclina (Martí *et al.,* 2006). Estos genes *tet* favorecen la diseminación de elementos genéticos móviles entre bacterias (Karami *et al*., 2006; Koo y Woo, 2011)

Los genes predominantes que confieren resistencia a este antimicrobiano a través de la actividad de la bomba de eflujo son *tet(A)* , *tet(B)* , *tet (C)* , tet(D) , *tet(E)* y *tet(G)* (Chopra y Roberts, 2001). Entre ellos, *tetA* y *tetB* son los determinantes de resistencia más ampliamente distribuidos en Enterobacteriaceae (Roberts , 1996

2.5.4.4. Fenicoles

Los mecanismos de resistencia a los fenicoles comprenden (i) la inactivación enzimática mediante acetilación, catalizada por acetiltransferasas o fosfotransferasas específicas para cloranfenicol (Schwarz *et al.,* 2004), (ii) la mutación o modificación del sitio blanco (Montero *et al.,* 2007), (iii) la disminución de la permeabilidad de la membrana externa (Burns *et al.,* 1989); y (iv) la acción de bombas de eflujo, las cuales funcionan como transportadores multidroga, reduciendo la concentración intracelular efectiva del fármaco (Daniels y Ramos, 2009). El gen *cmlA1,*que codifica una proteína transportadora de tipo eflujo activo, está asociada a la resistencia a cloranfenicol, mientras el gen *floR* confiere resistencia tanto al florfenicol como al cloranfenicol (White *et al.,* 2000). El uso de este antimicrobiano en animales destinados al consumo humano fue prohibido debido a los efectos adversos observados en el hombre, entre ellos anemia aplásica y síndrome gris en recién nacidos, además de ser relacionados con infecciones por Salmonella resistentes al cloranfenicol con presentación de diarreas (Briceño- Fereira *et al.,* 2010).

2.5.5. Epidemiologia de los genes codificantes de BLEE en animales

- Según el tipo de animal de estudio

Diversos estudios han considerado que algunas enzimas BLEE especificas son exclusivas o se suelen presentar con mayor prevalencia de un determinado país o región (Dantas Palmeira, 2020; Bastidas-Caldes *et al.,* 2022; Mandajurano *et al.,* 2024). Un estudio realizado en Sudamérica por Bastidas-Caldes *et al.*(2022) sobre la prevalencia de EC-BLEE en diversos tipos de animales como aves , animales de compañía, ganado y animales salvajes. El estudio concluyo que fueron las aves, la especie con mayores estudios sobre la resistencia a EC-BLEE (51%; 18/35), seguida de los animales domésticos (23%; 8/35), los animales de granja (20%; 7/35) y animales salvajes (6%; 2/35). La subcategorización del ganado reveló que el ganado bovino representaba el 46% (5/11) y el ganado porcino el 36%(4/11) de los casos estudiados (Figura 12).

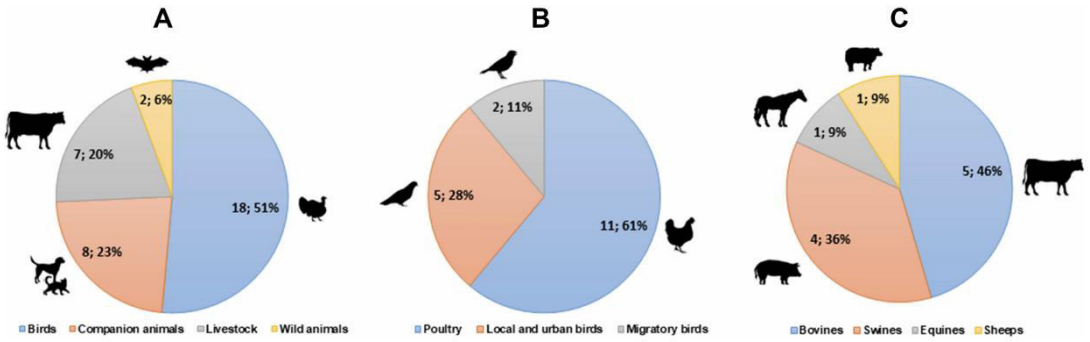


Figura 12. Estudios con reportes de EC-BLEE en animales (Bastidas-Caldes *et al.*,2022)

- Según la distribución geográfica

Un metaanálisis realizado por Mandujano-Hernández *et al.,* (2024) señalaron que ciertos genes, aislados de heces de ganado bovino, están distribuidos según factores históricos, ambientales o geográficos. En el continente asiático se ha determinado que existe un predominio de los genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$, *bla*$_{\text{CTX-2}}$, *bla*$_{\text{CTX-9}}$ y *bla*$_{\text{CTX-15}}$. Estudios realizados por Song *et al.,* (2020) reportaron prevalencias del 50%, 50% y 25% en genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$, *bla*$_{\text{CTX-9}}$ y *bla*$_{\text{CTX-15}}$, en Corea del Sur, respectivamente. Shiraki *et al.,* (2004) y Hiroi *et al.,* (2011), en Japón, determinaron prevalencia del 100% a gen *bla*$_{\text{CTX-2}}$ y Sudarwanto *et al.,* (2016), en Indonesia, reportaron prevalencias de genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$ y

bla$_{CTX-9}$ en el 52.6% (10/19) y 47.3% (9/19) respectivamente. Umair *et al.,* (2019) y Shafiq *et al.,* (2022) determinaron altas prevalencias de 18% (9/50) y del gen *bla*$_{CTX-15}$ en Pakistán.

En el continente africano predomina el gen *bla*$_{CTX-15}$ en el ganado bovino, como lo menciona Awork *et al.,* (2022), quienes determinaron una prevalencia del 93.2% (41/44) del gen *bla*$_{CTX-15}$ en muestras de heces de bovinos procedentes de Nigeria. Asimismo, Olorunleke *et al.,* (2022), también en Nigeria, determinaron una prevalencia del 87.9% del gen *bla*$_{CTX-15}$ en muestras de fecales de bovinos y humanos. Fashae *et al.,* (2021), en Nigeria, reportaron prevalencias del 83.3% y 11.8% del gen *bla*$_{CTX-15}$ y *bla*$_{CTX-9}$ respectivamente. Sanou *et al.,* (2022), en Burkina Faso, reportaron prevalencias del gen *bla*$_{CTX-15}$ en el 30.7% (27/88) y del gen *bla*$_{TEM}$ en el 3.4% (3/88) y Braun *et al.,* (2016), en Egipto, reportaron prevalencias de 92.1% (105/114), 7.9% (90/114) y 0.9% (1/114) para los genes *bla*$_{CTX-15,}$ *bla*$_{TEM}$ y *bla*$_{CTX-9\ /SHV}$ en vacas lecheras, respectivamente.

En Europa predomina el gen *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-9,}$ *bla*$_{CTX-15}$ y *bla*$_{TEM}$ en ganado bovino. Estudios como el de Haenni *et al.,* (2014), en Francia, reportaron prevalencias del 73.2% (104/142), 2.1% (3/142) y 24.6% (35/142) en los genes *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-2}$ y *bla*$_{CTX-9,}$ respectivamente. Geser *et al.,* (2011), en Suiza, reportaron una prevalencia de 81.8% (9/11), 18.2% (2/11), 27.3% (3/11) en los genes *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-9}$ y *bla*$_{TEM,}$ respectivamente, mientras al año siguiente Geser *et al.,* (2012) reportaron una prevalencia del 58.8% (10/17), 23.5% (4/10) y 29.4% (5/10) en los genes *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-15}$ y *bla*$_{TEM,}$ respectivamente de los aislados de EC-BLEE. Ramos *et al.,* (2013), en Portugal, determinaron prevalencias del 80% (4/5) y 60% (3/5) en los genes *bla*$_{CTX-1}$ y *bla*$_{TEM,}$ respectivamente; Valat *et al.,* (2012), en Francia, determinaron prevalencias del 65.7% (134/204), 4% (8/204), 26.9% (55/204) para los genes *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-2}$ y *bla*$_{CTX-9}$ respectivamente, y Hartmann *et al.,* (2012), en Francia, determinaron el 61.5% (8/13) del gen *bla*$_{CTX-1.}$

En América, los genes *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-9\ y}$ *bla*$_{CTX-15}$ son predominantes y en menores proporciones los genes *bla*$_{TEM}$ y *bla*$_{SHV,}$ un estudio realizado por Carey *et al.,* (2022) en estados Unidos reportaron genes *bla*$_{CTX-1}$ (70,4%) *y bla*$_{CTX-9}$ (29,6%) en muestras de EC-BLEE de terneros lactantes. Martínez- Vásquez *et al.,* (2021), en México, encontraron

prevalencias de 16.5% (18/109) y 0.9% (1/109) en los genes *bla*$_{TEM}$ y *bla*$_{SHV}$ en muestras de heces de bovinos en mataderos; Benavides *et al.,* (2021) en Chile determinaron la prevalencia de los genes *bla*$_{CTX-1}$, *bla*$_{CTX-2}$, *bla*$_{TEM}$ y *bla*$_{SHV}$ en heces de ganado bovino en Chile en el 93%, 36%, 14% y 7%, respectivamente

2.6. SITUACIÓN ACTUAL EN LA GANADERÍA PERUANA

2.6.1. Producción bovina y consumo per cápita a nivel nacional

Según el Anuario de Producción Ganadera y Avícola del Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MINAGRI), en el año 2023 se registró a nivel nacional una población bovina de 5´866,168 unidades, de los cuales 1´003,406 unidades fueron destinadas al beneficio. El mismo año, solo en Lima Metropolitana se beneficiaron 315,644 unidades de bovinos, con una producción cárnica de 79,501 toneladas y un rendimiento anual de 251.9 kg/unidad. Asimismo, se calculó un consumo per cápita de carne bovina de 7.5 kg/Hab/año, siendo solo superado por la carne de pollo (68.2 kg/Hab/año) y carne porcina (9.7 kg/Hab/año).

2.6.2. Contexto nacional de los mataderos

De acuerdo con el registro del Sistema Integrado de Gestión de Insumos Agropecuarios del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), el Perú cuenta con 119 mataderos con autorización sanitaria de funcionamiento amparada bajo la normativa sanitaria (Decreto Supremo Nº015-2012-AG). Sin embargo, aún se cuentan con 15 mataderos funcionando sin autorización. Dichos establecimientos autorizados se encuentran distribuidos en los siguientes departamentos: Amazonas (4), Ancash (2), Apurímac (3), Arequipa (14), Ayacucho (8), Cajamarca (1), Cusco (3), Huánuco (3), Ica (3), Junín (14), La Libertad (7), Lambayeque (10), Lima Metropolitana (12), Loreto (1), Madre de Dios (2), Moquegua (4), Pasco (2), Piura (4), Puno (7), San Martín (8), Tacna (4), Ucayali (2) y VRAE (1) (SIGIA, 2025).

Estos mataderos benefician diversos ganados como porcinos, ovinos, bovinos, caprinos, camélidos y/o équidos, y se clasifican en 3 categorías de acuerdo al nivel técnico sanitario aplicado en el proceso de beneficio, el número de beneficios y la disponibilidad

de instalaciones, equipamiento y materiales. La categoría 1, incluyen mataderos pequeños con capacidad de beneficiar un máximo de 10 bovinos por jornada diaria; la categoría 2, incluye mataderos con mayor número de beneficios cuyos productos son destinados al consumo nacional y la categoría 3, también incluyen mataderos con mayor número de beneficio, pero cuyos productos pueden destinarse a la exportación. Lima Metropolitana cuenta con un total de 15 mataderos, de los cuales 3 están aún a la espera de la autorización sanitaria. Asimismo, el 75% de estos mataderos son clasificados como categoría 3 (Según el Reglamento Sanitario del Faenado de Animales de Abasto, DS Nº015-2012-AG).

2.6.3. Importancia de los mataderos en la transmisión de microorganismos patógenos

Las canales y vísceras obtenidas luego del beneficio se consideran "estériles" solo sí, durante la cadena alimentaria que incluye el beneficio, almacenamiento, transporte y distribución, se han manejado con adecuadas prácticas de higiene por parte de los manipuladores involucrados (Signorini, 2008). A nivel de mataderos, la contaminación exógena de canales y vísceras proviene del contacto con la piel, patas, contenido intestinal y sangre de animales portadores de patógenos; o por instalaciones, equipamiento, manos y ropa de los operarios que hayan tenido contacto con cepas patógenas. Sumado a ello, la falta de instalaciones y equipos modernos en los mataderos, las deficientes condiciones sanitarias en el área de beneficio, los malos hábitos sanitarios de los operarios, así como la deficiente higiene de los servicios sanitarios destinados a los operarios constituyen factores de riesgo que han favorecido la transmisión de agentes patógenos que son una amenaza para la salud pública (Ibáñez y Candela, 2022).

Los mataderos también ocasionan un impacto ambiental negativo por las aguas residuales producto de sus labores productivas las cuales están asociadas a un mal manejo o disposición de subproductos como sangre, contenido ruminal, estiércol, grasa, pelos entre otros; lo que genera un medio propicio para el desarrollo de microorganismos patógenos. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura [FAO], un matadero bovino utiliza un promedio de 1700 litros de agua por

res procesada, por ende el problema se da cuando estos grandes volúmenes de aguas residuales no son tratadas y en su lugar son vertidas directamente a drenajes públicos o cuerpos de agua cercanos contaminando las fuentes de agua utilizadas para el riego o consumo; o pueden infiltrarse y acumularse en los suelos siendo otro foco de contaminación (Guerrero y Monsalve, 2006).

2.7. IMPACTO SOBRE LA SALUD PÚBLICA

2.7.1. Efecto de *E. coli* productoras de BLEE en humanos

En general, los humanos y animales que presentan infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE tienden a tener mayor riesgo de fracaso terapéutico con antimicrobianos betalactámico de espectro extendido que aquellos infectados por patógenos no BLEE (Bradford, 2001). Se ha considerado que algunas enzimas BLEE especificas son exclusivas o se suelen presentar con mayor prevalencia de un determinado país o región (Dantas Palmeira, 2020; Mandajurano *et al.,* 2024).

En los últimos años, su presencia ha representado un problema generalizado en pacientes hospitalizados a nivel mundial presentando como principal sintomatología las infecciones del tracto urinario (ITU), variando según el país y el entorno hospitalario al cual están expuestos. Este problema, generalmente, tiene su origen en las unidades de cuidades intensivos y posteriormente se extiende al resto del hospital; y se ha visto favorecido por la movilización de pacientes entre diversos centros hospitalarios e incluso entre las diversas áreas de un mismo centro hospitalario (Schaufler *et al.,* 2016;Van Almsick et al., 2022; Ghenea *et al.,* 2022). Varios investigadores han recurrido a técnicas moleculares como la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) para analizar la epidemiologia de las cepas involucradas en los brotes de infecciones por bacterias productores de BLEE (Shin *et al.,* 2014; Raeispour y Ranjbar, 2018; Vakili *et al.,* 2025). Como medidas de control se consideran la implementación de programa de control de infecciones, limitar el uso de oximinocefalosporinas y una rotación constante de los antimicrobianos en los tratamientos de infecciones graves. Entre los antimicrobianos alternativos utilizados con éxito destacan imipenem y piperacilina-tazobactam (Bradford, 2001).

Diversos estudios han identificado que EC-BLEE pueden llegar a la comunidad por el contacto con animales portadores de estas bacterias afectando principalmente a los granjeros, trabajadores de mataderos y sus familias. Un estudio realizado por Marshall y Levy (2011) determinaron que los trabajadores y los animales de las granjas donde se utilizan antimicrobianos como promotores de crecimiento poseían más bacterias resistentes en la flora intestinal en comparación con las personas y animales de las granjas que no utilizaban promotores. Asimismo, existen estudios sobre la detección de EC-BLEE en muestras de heces de trabajadores de mataderos (Godonou *et al.,* 2019; Awork *et al.,* 2020; Olorunleke *et al.,* 2022; Awork *et al.,* 2022).

2.7.2. Reportes de *E. coli* productoras de BLEE y sus genes codificantes en animales de consumo a nivel nacional

2.7.2.1 Aves:

Diversos estudios a nivel nacional han evaluado la prevalencia de EC-BLEE en aves de corral destinadas al consumo humano. Ceino *et al.*(2019) reportaron una prevalencia del 38.4% (71/185), en muestras procedentes de hisopado de órganos de pollos y gallinas remitidos para necropsia De manera similar, Huamán-Chacón *et al.* (2019) reportaron una prevalencia del 85.5%(163/200) en hisopados cloacales obtenidos de aves vivas provenientes de dos centros de acopio. Por otro lado, estudios realizados en canales de aves obtenidas en mercados de Lima Metropolitana, como los de Cortez *et al.* (2022) y Ruiz- Roldan *et al.* (2018) reportaron prevalencias de 23.5% (8/34) y 59.4% (19/32), respectivamente.

En cuanto a los estudios que identificaron genes codificantes a la resistencia a BLEE, Cortez *et al.* (2022) reportaron que el 23.5% (8/34) de los aislamientos de EC-BLEE portaban el gen $bla_{\text{CTX-M1}}$ y el 20.1% (7/34) el gen bla_{TEM}.

2.7.2.2. Porcinos

Un estudio realizado por Carhuallanqui *et al*. (2025) reportó una prevalencia del 1.4% (2/145) de EC-BLEE en muestras fecales de porcinos provenientes de un matadero. Mediante secuenciación genética, los autores identificaron la presencia del gen $bla_{\text{TEM-176}}$ en ambos aislados de EC-BLEE.

2.7.2.3. Bovinos

Estudios como los de Ruiz- Roldan *et al.* (2018) y Cortez y Shiva (2019), evaluaron carne y recorte de bovinos expendidos en mercados y supermercados a niveles de Lima Metropolitana, destinados al consumo humano. En ambos casos, si bien se detectaron otras enterobacterias productoras de BLEE, no se identificaron aislamientos de *E. coli* productoras de BLEE.

Por su parte Benavides *et al.* (2018) detectaron genes codificantes de BLEE en el 10% (2/20) de los aislamientos de E. coli analizados procedentes de hisopos fecales frescos del ganado bovino de granjas ubicadas en los distritos de Mala, Barranca, Huacho y Chancay

Asimismo, un estudio realizado por Carhuallanqui *et al*. (2025) reportó una prevalencia del 0.8% (1/127) de EC-BLEE en muestras fecales de bovinos procedentes de un matadero. Sin embargo, mediante secuenciación genética, los autores no identificaron la presencia del gen $bla_{\text{TEM-176}}$ en los aislados de EC-BLEE.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN Y PERIODO DE DURACIÓN

La recolección de las muestras se realizó en dos mataderos de Lima Metropolitana ubicados en la región Lima Este y Lima Centro, entre los meses de mayo del 2023 a abril del 2024. Estos mataderos se seleccionaron por ser los que concentran el mayor volumen de ganado bovino beneficiado a nivel de Lima Metropolitana, con un promedio de 350 bovinos por día que incluye toros de engorde y vacas de descarte.

La identificación fenotípica de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (EC-BLEE) se realizó en el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM), entre mayo del 2023 y diciembre del 2024. Asimismo, el análisis molecular para la identificación de genes codificantes de BLEE se realizó en el Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM entre los meses de enero y marzo del 2025.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.2.1. Tamaño de muestra

El tamaño de muestra se determinó a través de la fórmula para la estimación de proporciones en poblaciones infinitas utilizando un nivel de confianza del 90%, un margen de error permisible de 7% y una proporción estimada de 35.1% (Sanou *et al.*, 2022). El tamaño muestral calculado fue de 126 muestras de heces bovinas por cada matadero (Cuadro 5).

Cuadro 5. Tamaño de muestra calculado mediante la fórmula para estimación de proporciones en poblaciones infinitas

Nivel de confianza %	**90%**
Tamaño de la población	Desconocido
Prevalencia esperada%	35.1%
Error aceptado%	7%
Tamaño de muestra*	**126**

* El tamaño de muestra calculado fue de 126 heces bovinas procedentes de cada matadero

3.2.2. Tipo de estudio y recolección de muestras

En el presente estudio de tipo transversal, se evaluaron 260 bovinos clínicamente sanos provenientes de dos mataderos situados en Lima Este (M1: n=134) y Lima Centro (M2: n=126). La recolección de las muestras fue autorizada por la administración de cada matadero, garantizándose la confidencialidad de la información obtenida.

Se recolectaron 100g de heces, por cada animal, en el área de lavado de vísceras antes que estas sean procesadas. La muestra fue tomada a nivel del ciego distal, específicamente a 60 cm del esfínter anal. Para ello, se realizó un corte aséptico utilizando un cuchillo estéril en cada muestras, y se tomó la muestra con una bolsa estéril (Barlow *et al.*, 2022). Semanalmente, se colectaron veinte muestras hasta obtener un mínimo de

126 muestras de heces por cada matadero. Las muestras fueron transportadas a temperatura de refrigeración (4ºC), estas fueron colocadas dentro de una caja de tecnopor que contenía geles refrigerantes y mantenidas a esa temperatura hasta su procesamiento.

Para este estudio solo se incluyó animales cuyos dictámenes fueron "aptos para el beneficio" y "aptos para el consumo humano" durante la inspección antemortem y postmortem, respectivamente. Se excluyeron todos los que no cumplían con estos dictámenes.

3.4. METODOLOGIA

3.4.1. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* (EC)

El procedimiento microbiológico se realizó siguiendo el protocolo para el aislamiento de *E. coli* desde muestras fecales descrito por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2023), con algunas modificaciones (Figura 13). Para el aislamiento de *E. coli* (EC) se suspendieron 10 gramos de muestra de heces en 90 mL de caldo de enriquecimiento (agua de peptona tamponada - Merck, Alemania), se homogenizó en un Stomacher 400 Circulator (Seward, UK) a 230 rpm durante 2 minutos y se incubó a 37ºC durante 24 h. Luego, usando un bucle que contenía 10 µl de caldo preenriquecimiento se sembró por agotamiento sobre el medio selectivo, agar MacConkey (Merck, Alemania), y se incubó a 37°C durante 24 h. A continuación, tres colonias sospechosas de EC, que presentaban una coloración rosadas brillantes, fueron sembradas en agar eosina azul de metileno (EMB) (Merck, Alemania) a 37ºC durante 24h. Asimismo, las colonias sospechosas de EC en este medio selectivo, que presentaban una coloración negruzcas con un brillo verde metálico, se sembraron en un medio no selectivo, agar tripticasa de soya (TSA) (Merck, Alemania) y fueron incubados a 37ºC durante 24 h para el aislamiento de colonias puras. Posteriormente, se realizaron pruebas bioquímicas convencionales en todos los aislados de EC. Finalmente, se seleccionó la colonia más representativa de *E. coli* de cada muestra (heces bovinas) para la identificacion fenotípica y genotípica de EC-BLEE (Forbes *et al*., 2009).



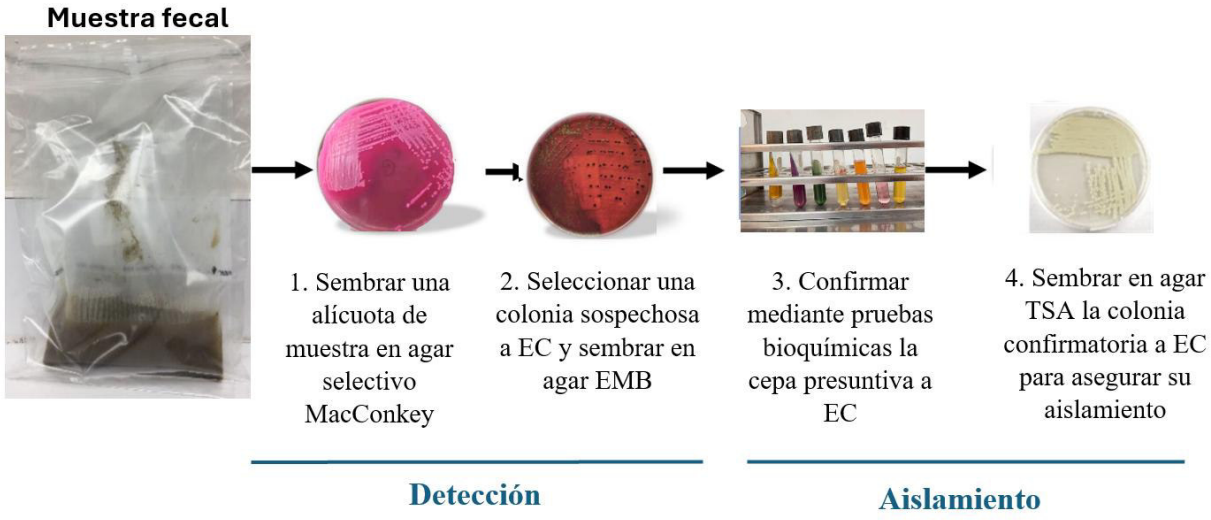


Figura 13. Procedimiento para el aislamiento de *E. coli* desde muestras fecales (OMSA, 2022; USDA, 2023)

Se utilizaron las pruebas bioquímicas estándares para caracterizar a *Escherichia coli* (Bou, 2011; OMSA, 2022). El método consiste en seleccionar una colonia sospechosa de EC y sembrarla en los siguientes medios: agar triple azúcar hierro (TSI-Merck-Alemania), agar lisina hierro (LIA-Merck-Alemania), agar citrato de Simmons (Merck-Alemania), agar medio SIM (Sulfuro-Indol-movilidad) (Merck-Alemania), caldo rojo de metilo (RM-Merck-Alemania), Vogues-Proskauer (VP-Merck-Alemania) y urea (Merck-Alemania), los cuales fueron leídos luego de 18 a 48 horas de incubación a 37 ± 2ºC (Cuadro 6) (Figura 14).

Algunas pruebas bioquímicas requieren la adición de reactivos para su posterior lectura. Para la prueba de indol, se adiciona tres gotas de reactivo de Kovacs (Liofilchem®-Italia) sobre el agar medio SIM; para leer los resultados del caldo rojo de metilo (RM) se adiciona cuatro gotas de reactivo rojo de metilo. Asimismo, para leer los resultados del caldo Voges-Proskauer (VP) se adiciona seis gotas de α-naftol (Liofilchem®-Italia) y tres gotas de hidróxido de potasio KOH (Liofilchem®-Italia). Las lecturas son instantáneas, salvo en la prueba VP en el cual, la lectura se realiza luego de 15 minutos de aplicación de los reactivos.

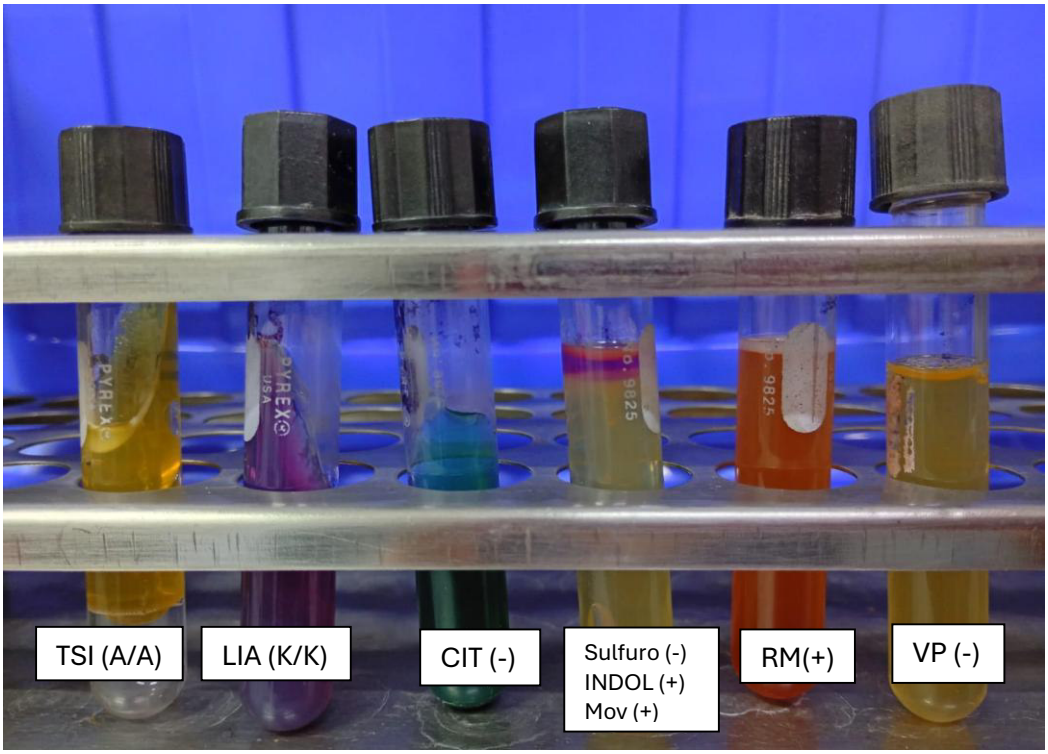


Figura 14. Pruebas bioquímicas para la identificación fenotípica de EC.

Cuadro 6. Características fenotípicas y fundamentos de las pruebas bioquímicas del estudio (OMSA, 2022).

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS	INTERPRETACIÓN
TSI	K/K (pico ácido/fondo ácido) Producción de gas (+) H_2S (-)	Fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa
LIA	A/A (coloración morada en pico/fondo) H_2S (-)	Descarboxilación de lisina
CITRATO	Coloración verde en pico/profundidad (-)	No utiliza citrato como fuente de carbono
MOVILIDAD	Turbidez alrededor de la línea de sembrado (+)	Se dispersa desde el punto de inoculación
INDOL	Reactivo de Kovacs – presencia del anillo fucsia en superficie (+)	Produce indol a partir del triptófano
ROJO DE METILO	Coloración roja (+)	Las bacterias producen ácidos orgánicos estables que disminuyen el pH
VOGUES PROSKAUER	No forma halo rojo en la superficie (-)	No se produce acetoin, no usa la vía butilenglicólica

3.4.2. Identificación fenotípica de *E. coli* productora de BLEE (EC-BLEE)

Las cepas EC-BLEE se confirmaron fenotípicamente por el método de difusión en disco, y comprendió dos etapas: un tamizaje y un test confirmatorio. Como primer paso se estandarizó el inóculo bacteriano seleccionando una colonia pura y se suspendió en solución salina estéril hasta alcanzar una turbidez de 0.5 en la escala McFarland (su equivalente a 1.5 x 10^8 UFC/ml), calculado con el equipo McFarland Densitometer (DEN-1B) (BioSan - Letonia). Luego, se introdujo un hisopo estéril en la suspensión bacteriana estandarizada y se extendió uniformemente sobre toda la superficie de una placa con agar Mueller-Hinton (Liofilchem®-Italia). Finalmente, se colocaron los discos de antibióticos de forma equidistante sobre la superficie del agar sembrado y las placas se incubaron a 37°C por 16 a 18 horas (Lezameta *et al.,* 2010; Poulou *et al.,* 2014). Para la lectura del resultado se midió el diámetro del halo de inhibición y se interpretaron los resultados comparando con lo descrito por el Instituto de Normas Clínicas y Laboratorio (CLSI,

2024) (Cuadro 9). Se utilizaron cepas de *E. coli* ATCC25922 y *K. pneumoniae* ATCC700603 como controles negativos y positivos, respectivamente.

3.4.2.1. Método de tamizaje de BLEE, según CLSI (2024):

Se utilizaron los discos de antibióticos cefpodoxima (PX 10µg), cefotaxima (CTX 30 µg), ceftazidima (CAZ 30 µg), ceftriaxona (CRO 30 µg) y aztreonam (ATM 30 µg). Para la interpretación de resultados, se utilizó como criterio de sospecha encontrar los siguientes diámetros de halos de inhibición en al menos uno de los antimicrobianos: PX ≤ 17mm, CTX ≤ 27mm, CAZ ≤ 22mm, CRO ≤ 25mm y ATM ≤ 27mm. Solo las cepas consideradas sospechosas fueron sometidas a las pruebas confirmatorias (Lezameta *et al.,* 2010).

3.4.2.2. Prueba confirmatoria de BLEE según CLSI (2024):

Se utilizaron los discos de antibióticos ceftazidima (CAZ- 30 µg), ceftazidima - ácido clavulánico (CAL o CAZ-CLA) (30/10 µg), cefotaxima (CTX- 30 µg) y cefotaxima - ácido clavulánico (CTL o CTX-CLA) (30/10 µg). Se consideraron aislados confirmados a EC-BLEE aquellos que presentaron una diferencia mayor o igual a 5 mm entre los diámetros de los halos de inhibición de los discos que contenían únicamente cefalosporinas con respecto a los discos que contenían cefalosporina con el inhibidor (ácido clavulánico) (Poulou *et al.,* 2014) (Figura 15).

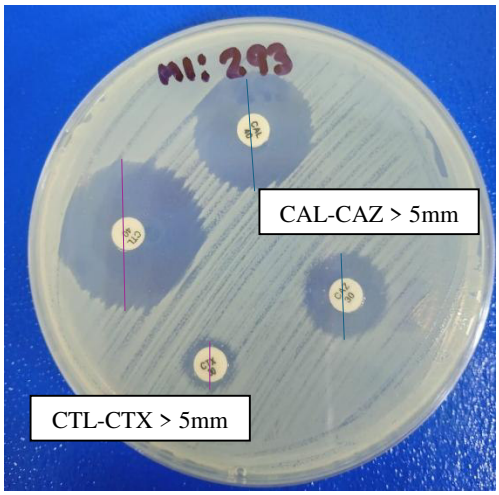


Figura 15. Identificación fenotípica de EC-BLEE por la prueba confirmatoria

3.4.3. Identificación de genes codificantes de BLEE

La identificacion de genes codificantes de BLEE se realizó en el Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM. Los genes fueron identificados mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) convencional y simple para los genes *bla*$_{\text{CTX-M1}}$, *bla*$_{\text{CTX-M2}}$ y *bla*$_{\text{CTX-M9}}$, y multiplex para los genes *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV}}$. Se utilizaron las cepas caracterizadas genéticamente con el gen *bla*$_{\text{CTX-M1}}$ (EC-145M1), *bla*$_{\text{CTX-M2}}$ (EC- 42M2), *bla*$_{\text{CTX-M9}}$ (EC- 542M9), *bla*$_{\text{TEM}}$ (EC-145TEM) y *bla*$_{\text{SHV}}$ (EC-851SHV) como controles positivos procedentes del Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la FMV-UNMSM y se usó como control negativo a *E. coli* ATCC 25922.

3.4.3.1. Extracción de ADN

El ADN de los aislados de EC-BLEE fueron extraídos y purificados utilizando el kit de purificación del ADN genómico GeneJET™ (Thermo Scientific™-USA) y siguiendo el protocolo del fabricante (Anexo 8).

3.4.3.2 Amplificación de ADN

PCR simple

Se utilizó el reactivo comercial DreamTaq Green PCR Máster Mix (2X) (Thermo Scientific™-Alemania) para la amplificación de ADN. Se trabajó con 25 µl como volumen final de la reacción que incluyó: 12.5 µl de DreamTaq Green buffer a una concentración 2X (el cual contiene 0.4mM de dATP, dCTP, dGTP y dTTP; y 4 mM de $MgCl_2$), 0.625 µl de cada uno de los primers (forward -reverse) específicos para cada gen *bla*$_{\text{CTX-M}}$ a una concentración 0.25 µM, 9.25µl de agua libre de nucleasas y 2µl de ADN de la muestra (Cortez *et al.,* 2022).

Los primers utilizados en la reacción fueron específicos para cada gen *bla*$_{\text{CTX-M}}$ como lo descrito por Woodford *et al.*, (2006) (Cuadro 7). Asimismo, se empleó el termociclador GeneAMP PCR SYSTEM 9700 (AB Applied Biosystem-USA) para la amplificación de ADN mediante el PCR, utilizando un perfil térmico por ciclo de amplificación como se indica en el cuadro 8.

Cuadro 7. Pares de primers empleados para la detección de genes *bla*$_{CTX-M}$ por PCR

GEN	Primers	Secuencia (5´-3´direction)	Tamaño amplicón (bp)
bla CTX-M1	CTX M1 - F	5′-AAAAATCACTGCGCCAGTTC-3′	415
	CTX M1 - R	5′-AGCTTATTCATCGCCACGTT-3′	
bla CTX-M2	CTX M2 - F	5′-CGACGCTACCCCTGCTATT-3′	552
	CTX M2 - R	5′-CCAGCGTCAGATTTTTCAGG-3′	
bla CTX-M9	CTX M9 - F	5′-CAAAGAGAGTGCAACGGATG-3′	205
	CTX M9 - R	5′-ATTGGAAAGCGT TCATCACC-3′	

Fuente: Woodford *et al.*, (2006)

Cuadro 8. Perfil térmico de amplificación (30 ciclos) - PCR simple

PERFIL TÉRMICO	TEMPERATURA	TIEMPO
Desnaturalización inicial	95°C	3 minutos
Desnaturalización	95°C	30 segundos
Hibridación	52°C	40 segundos
Extensión	72°C	60 segundos
Extensión final	72° C	10 minutos

Fuente: Woodford *et al.*, (2006); Cortez *et al.,* (2022)

PCR múltiple

Para la amplificación de ADN por PCR se utilizó el reactivo comercial DreamTaq Green PCR Máster Mix (2X) (Thermo Scientific™-Alemania). Se trabajó con 25 µl como volumen final de la reacción que incluyó: 12.5 µl de DreamTaq Green buffer a una concentración 2X (el cual contiene 0.4mM de dATP, dCTP, dGTP y dTTP; y 4 mM de $MgCl_2$), 0.75 µl de cada uno de los primers (forward -reverse) específicos para el gen *bla*$_{SHV}$ a una concentración 0.30 µM, 1 µl de cada uno de los primers (forward -reverse) específico para el gen *bla*$_{TEM}$ a una concentración 0.40 µM, 7µl de agua libre de nucleasas y 2µl de ADN molde (Wang *et al.* 2022).

Los primers utilizados en la reacción fueron específicos para cada gen *bla*$_{SHV}$ y *bla*$_{TEM}$ como lo descrito por Colom *et al.*, (2003) (Cuadro 9). Asimismo, se empleó el termociclador GeneAMP PCR SYSTEM 9700 (AB Applied Biosystem-USA) para la amplificación de ADN mediante el PCR, utilizando un perfil térmico por ciclo de amplificación como se indica en el Cuadro 10.

Cuadro 9. Pares de primers empleados para la detección de genes *bla*$_{SHV}$ y *bla*$_{TEM}$ por PCR

GEN	Primers	Secuencia (5´-3´direction)	Tamaño amplicón (bp)
bla SHV	SHV - F	5′-AGGATTGACTGCCCTTTTTG-3′	392
	SHV - R	5′-ATTTGCTGATTTCGCTCG-3′	
bla TEM	TEM - C	5′-ATCAGCAATAAACCAGC-3′	516
	TEM - H	5′-CCCCGAAGAACGTTTTC-3′	

Fuente: Colom *et al.*, (2003).

Cuadro 10. Perfil térmico de amplificación (32 ciclos) - PCR multiplex

PERFIL TÉRMICO	TEMPERATURA	TIEMPO
Desnaturalización inicial	95°C	3 minutos
Desnaturalización	95°C	30 segundos
Hibridación	53°C	30 segundos
Extensión	72°C	60 segundos
Extensión final	72° C	10 minutos

Fuente: Colom *et al.*, (2003); Cortez *et al.,* (2022)

3.4.3.3. Electroforesis

Los productos de la PCR obtenidos se visualizaron mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 2% (ultrapure agarosa™) teñido con bromuro de etidio con buffer TBE (Tris-Base 10 mM, EDTA, ácido bórico) a 1X de concentración y se utilizó un marcador genético de peso molecular de 100pb ADN Ladder (Abclonal, USA). Luego se realizó la corrida electroforética a 90V durante 90 minutos en cámara de electroforesis horizontal. Finalmente, se visualizó los geles de cada ensayo en un transiluminador (Clear View, Cleaver Scientific Ltd.) (Moreno y Agudelo-Flórez, 2010).

3.4.4. Prueba de susceptibilidad a otros antimicrobianos en EC-BLEE

Se empleó el método difusión de disco Kirby-Bauer para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados EC-BLEE, los resultados fueron evaluados según las directrices establecidas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2024). Se estableció que el aislado bacteriano es sensible o resistente al antimicrobiano evaluado de acuerdo con el tamaño del diámetro del halo de inhibición (mm). En el Cuadro 11, se muestran los límites establecidos de las zonas de diámetro para enterobacterias por el CLSI (2024).

Se evaluaron un panel de 12 agentes antimicrobianos de uso común en medicina humana y veterinaria clasificados como de importancia critica o alta por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2021). Tres de ellos eran de origen betalactámico y comprendían a la ampicilina (10µg), amoxicilina (10µg), cefalexina(10µg); mientras, los demás eran antimicrobianos no betalactámicos como ciprofloxacina (10µg), cloranfenicol (30µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10µg), ácido nalidíxico (30µg), neomicina (30µg), nitrofurantoína (300µg), sulfametoxazol-trimetoprima (1.25/23.75µg), tetraciclina (30µg). Los aislados de EC-BLEE que presentaron resistencia a tres o más clases de antimicrobianos se consideraron multirresistentes (MDR) (Magiorakos *et al.,* 2012).

Cuadro 11. Punto de corte (mm) de sensibilidad y resistencia de los antimicrobianos evaluados, según CLSI

Clase de fármaco	Agente antimicrobiano	Contenido del disco	Puntos de corte (diámetro en mm)		
			S	**I**	**R**
Betalactámicos	Amoxicilina (AML)	10 µg	**≥17**	**14-16**	**≤13**
(Penicilinas y cefalosporinas)	Ampicilina (AMP)	10 µg	**≥17**	**14-16**	**≤13**
	Cefalosporina (CL)	30 µg	**≥18**	**15-17**	**≤14**
Quinolonas y fluoroquinolonas	Ciprofloxacino (CIP)	5 µg	**≥26**	**22-25**	**≤21**
	Ácido nalidíxico (NA)	30 µg	**≥19**	**14-18**	**≤13**
	Enrofloxacina (ENR)	5 µg	**≥26**	**22-25**	**≤21**
Aminoglucósidos	Gentamicina (CN)	10 µg	**≥18**	**15-17**	**≤14**
	Neomicina (N)	30 µg	**≥20**	**17-19**	**≤16**
Fenicoles	Cloranfenicol (C)	30 µg	**≥18**	**14-17**	**≤12**
Nitrofuranos	Nitrofurantoína (F)	300 µg	**≥17**	**15-16**	**≤14**
Antagonistas de las vías de folato	Sufametoxazol-trimetropina (STX)	1.25/23.75 µg	**≥16**	**11-15**	**≤10**
Tetraciclinas	Tetraciclina (TE)	30 µg	**≥15**	**12-14**	**≤11**

* R: resistente; I: intermedio; S: sensible

Fuente: Awork et al., (2021); CLSI (2024)

3.4.5. Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó utilizando el software STATA 14. Se calcularon las frecuencias para describir la prevalencia de EC-BLEE, prevalencia de genes de resistencia y susceptibilidad antimicrobiana frente a diversos antimicrobianos. La asociación entre el matadero de origen y otras variables categóricas (antimicrobiano, genes, MDR) se evaluó mediante la prueba de chi cuadrado ($\chi 2$). Luego se realizó modelos de regresión logística para estimar la razón de probabilidad (Odds ratio, OR), considerándose estadísticamente significativo un $p < 0.05$.

IV. RESULTADOS

4.1. Identificación fenotípica de EC-BLEE

Se determinó una prevalencia del 68.1% (177/260) de *E. coli* en muestras de heces de bovinos recolectadas en ambos mataderos, de ellos, el 73.1% (98/134) correspondían a M1 y el 62.7% (79/126) a M2. Asimismo, se determinó la prevalencia de EC-BLEE en el 23.5% (61/260) de las muestras fecales, obteniéndose una prevalencia de 26.1% (35/134) en M1 y de 20.6% (26/126) en M2 (Figura 16).

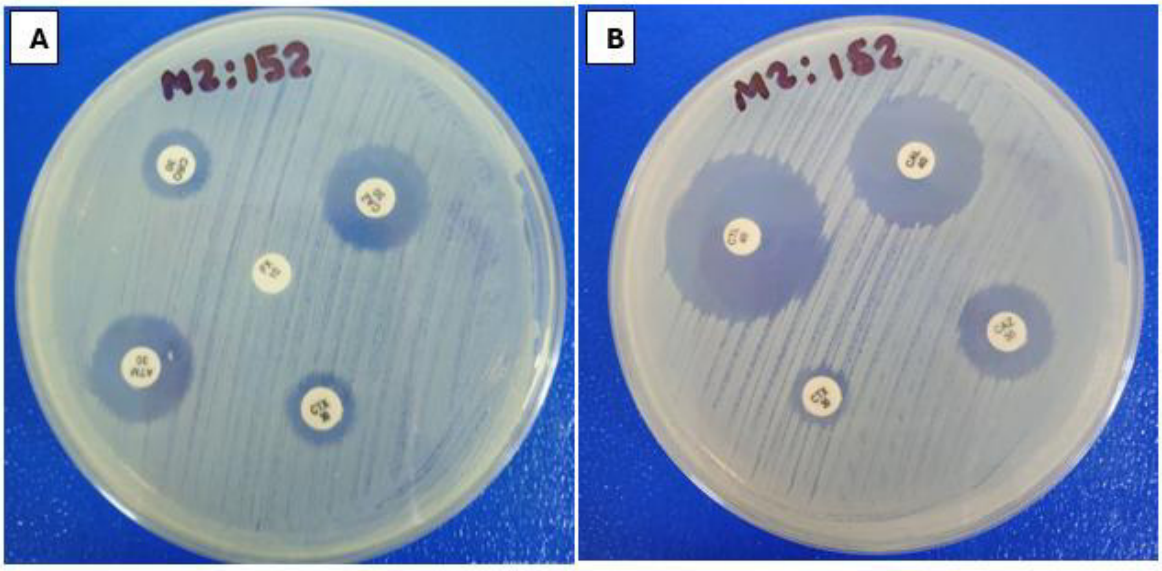


Figura 16. Método de difusión en agar Müeller – Hinton en la muestra 152 (M2). **A**. Método de tamizaje BLEE, presentó los siguientes diámetros de halo: ATM =19mm, PX= 7mm, CRO= 13mm, CTX=12mm, CAZ=20mm y **B.** Prueba confirmatoria de BLEE, presentó los siguientes diámetros de halo: CTL=30mm, CTX=12mm, CAL=25mm y CAZ=20mm.

4.2. Identificación de genes codificantes de BLEE

En las muestras de heces fenotípicamente positivas, se identificó que el gen codificante de EC-BLEE con mayor prevalencia fue el gen *bla*$_{\text{CTX-M}}$ (81.97%; 50/61). Los genes *bla*$_{\text{CTX-M1}}$, *bla*$_{\text{CTX-M2}}$, *bla*$_{\text{CTX-M9}}$ y *bla*$_{\text{TEM}}$ fueron identificados a razón de 73.8% (45/61), 19.7% (12/61), 9.8% (6/61) y 6.6% (4/61), respectivamente. Asimismo, todos los aislados que presentaron el gen *bla*$_{\text{TEM}}$ coexistieron a la par con el gen *bla*$_{\text{CTX-M1}}$. No se identificó el gen *bla*$_{\text{SHV}}$ en las cepas evaluadas (Cuadro 12).

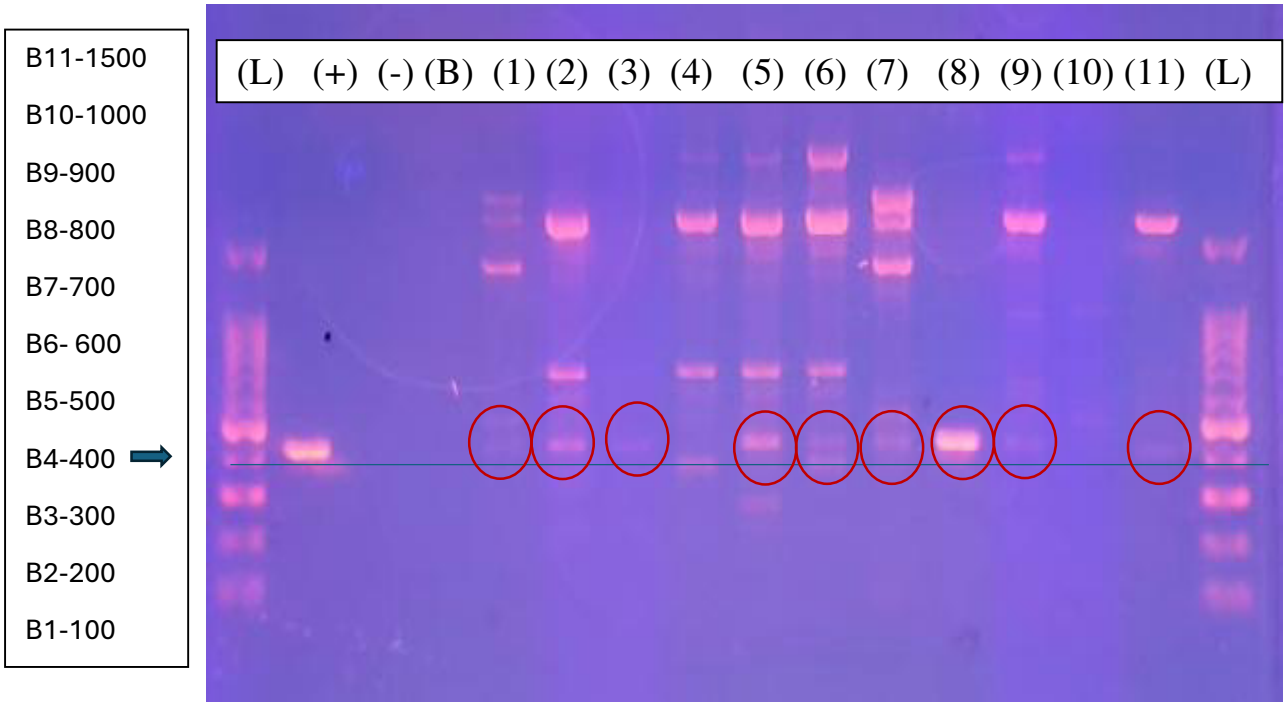
En la figura (17), (18), (19) y (20), se observan la detección molecular de los genes *bla*$_{\text{CTX-M}}$ *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV}}$, obtenida mediante electroforesis en gel de agarosa, posterior teñido y observación bajo transiluminador UV.

Cuadro 12. Prevalencia de genes codificantes de BLEE (*bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV}}$) en cepas de EC-BLEE en heces bovinas

	***bla*$_{\text{CTX-M1}}$**	***bla*$_{\text{CTX-M2}}$**	***bla*$_{\text{CTX-M9}}$**	***bla*$_{\text{TEM}}$**	***bla*$_{\text{SHV}}$**
M1	62.9% (22/35)	20.0% (7/35)	14.3% (5/35)	5.7% (2/35)	0% (0/35)
M2	88.5% (23/26)	19.2% (5/26)	3.8% (1/26)	7.7% (2/26)	0% (0/26)
TOTAL	**73.8% (45/61)**	**19.7% (12/61)**	**9.8% (6/61)**	**6.6% (4/61)**	**0% (0/61)**

* M1: Matadero 1; M2: Matadero 2

Figura 17. Detección molecular del gen $bla_{CTX\text{-}M\text{-}1}$ (45/61) en el 73.8% de los aislados EC-BLEE (415 bp)



Fecha: 02 de enero del 2025, 12:05pm

(L): leader 100bp DNA Ladder(Abclonal-USA)

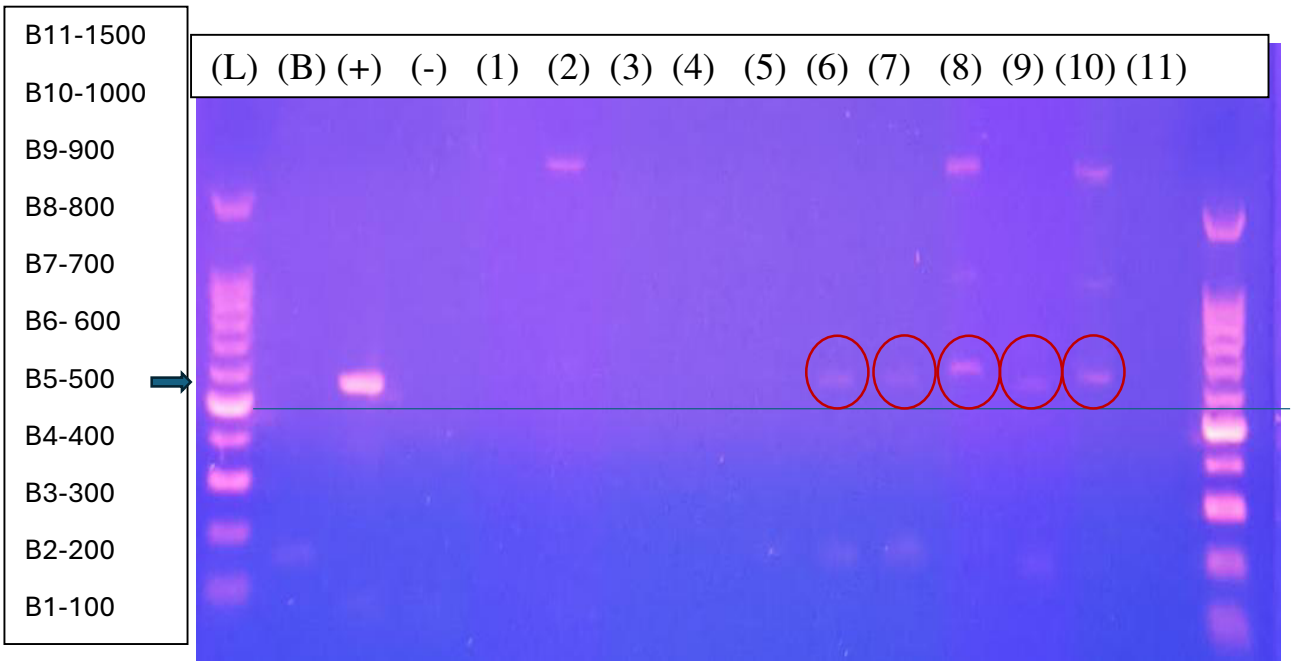
(+): cepa positiva al gen $bla_{CTX\text{-}M1}$

(-): cepa positiva al gen $bla_{CTX\text{-}M1}$

(B): Muestra blanco

(1): M201, (2): M202, (3): 205, (5):M253, (6): M257, (7):M261, (8): M277, (9):M278, (11): M297.

Figura 18. Detección molecular del gen $bla_{CTX\text{-}M\text{-}2}$ (12/61) en el 19.7% de los aislados EC-BLEE (552 bp)



Fecha: 16 de enero del 2025, 10:56am

(L): leader 100bp DNA Ladder(Abclonal-USA)

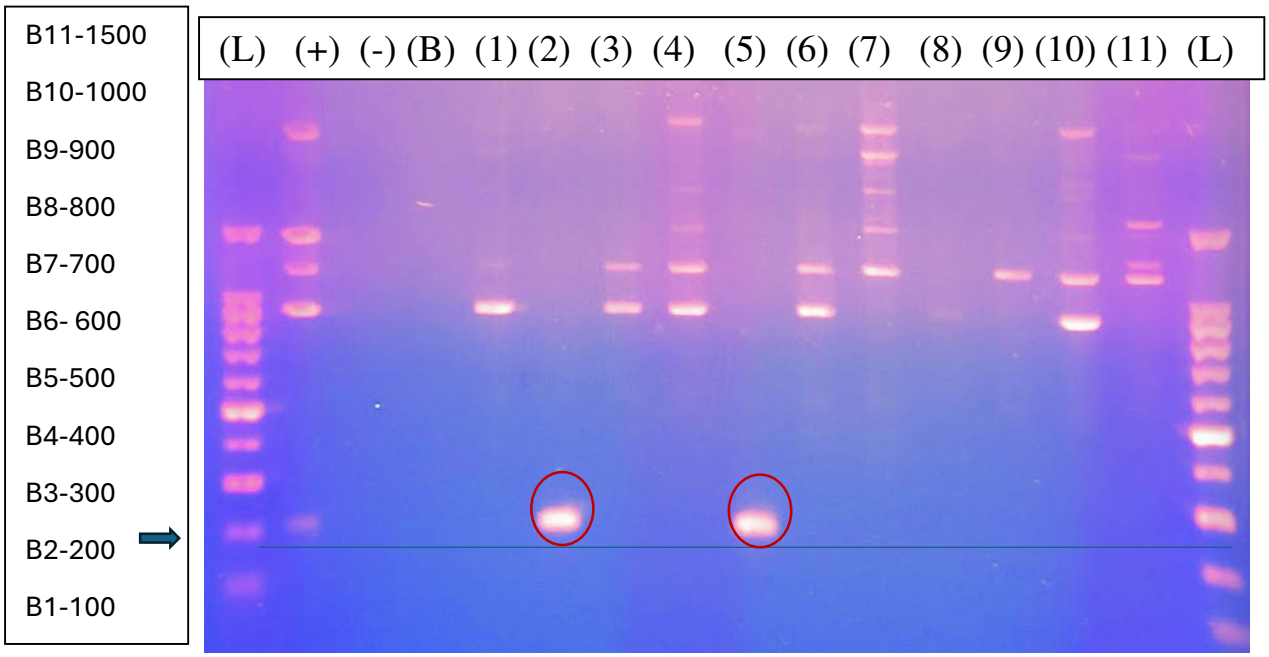
(+): cepa positiva al gen $bla_{CTX\text{-}M2}$

(-): cepa positiva al gen $bla_{CTX\text{-}M2}$

(B): Muestra blanco

(6): M277, (7):M289, (8): M319, (9):M325 (10): M328

Figura 19. Detección molecular del gen $bla_{CTX\text{-}M\text{-}9}$ (6/61) en el 9.8% de los aislados EC-BLEE (205 bp)



Fecha: 16 de enero del 2025, 1:15pm

(L): leader 100bp DNA Ladder(Abclonal-USA)

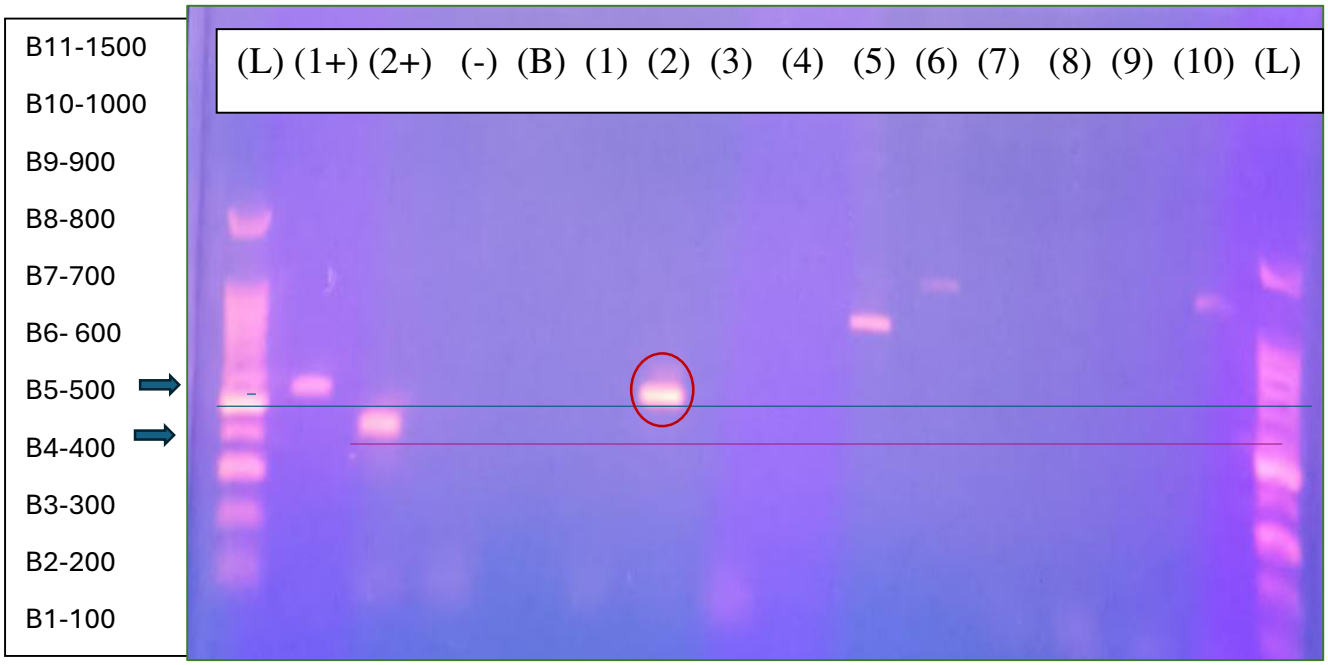
(+): cepa positiva al gen $bla_{CTX\text{-}M9}$

(-): cepa positiva al gen $bla_{CTX\text{-}M9}$

(B): Muestra blanco

(2): M212, (5):M213

Figura 20. Detección molecular de gen bla_{TEM} (4/61) en el 6.6% (415 bp) de los aislados EC-BLEE (516bp). El gen bla_{SHV} (392pb) no fue identificado.



Fecha: 11 de marzo del 2025, 1:15pm

(L): leader 100bp DNA Ladder(Abclonal-USA)

(1+): cepa positiva al gen bla_{TEM}

(2+): cepa positiva al gen bla_{SHV}

(2): M259 positivo a gen bla_{TEM}

4.3. Prueba de susceptibilidad a otros antimicrobianos en EC-BLEE

El 83.61% (51/61) de los aislados EC-BLEE presentaron resistencia al menos un antimicrobiano no betalactámico, siendo M2 el matadero con mayor cantidad de aislados de EC-BLEE resistentes a otros antimicrobianos (88.5%; 23/26) frente a M1 (80%; 28/35). El total de los aislados EC-BLEE presentaron resistencia a los siguientes antimicrobianos no betalactámicos: tetraciclina (55.7%), enrofloxacina (52.5%), amoxicilina (39.3%) y neomicina (37.7%). Sin embargo, se observó bajas frecuencias de resistencia a sulfatrimetropim (11.5%), nitrofurantoina (8.2%) y gentamicina (6.6%) (Cuadro 13). Asimismo, el 41% (25/61) de los aislados EC-BLEE fueron MDR (resistentes a las familias Tetraciclinas, Fenicoles, Aminoglucósidos, Antagonistas de las vías de Folato Quinolonas y/o Betalactámicos). Del total de EC-BLEE MDR, el 36% (9/25) fue detectado en M1, mientras el 64% (16/25) se detectó en M2 (Figura 21).

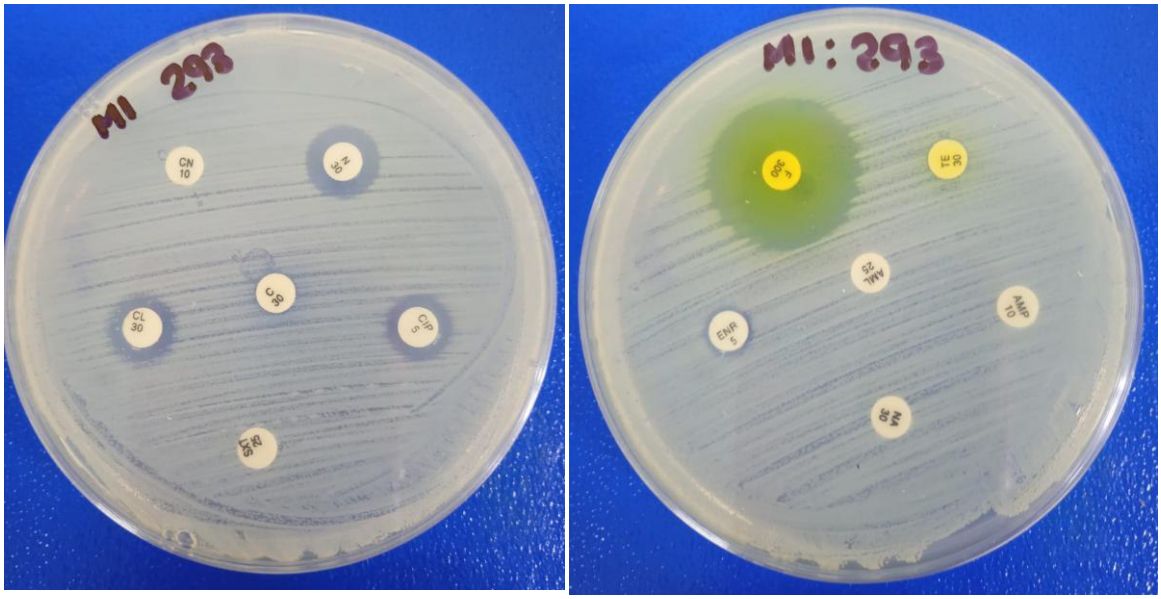


Figura 21. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana en la muestra M293(M1). Resistente a todos antimicrobianos evaluados pero sensible solo a nitrofurantoina (F), presentando un halo de inhibición mayor a 14mm

Cuadro 13. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana en aislados de EC-BLEE frente al panel de 9 antimicrobianos no betalactámicos y 6 antimicrobianos betalactámicos

Clase de antimicrobianos	Antimicrobianos	Punto de corte (mm)	M1 (n=35; %)	M2 (n=26; %)	Total (n=61; %)
Tetraciclinas	Tetraciclina (30 µg)	≤11	14 (40.0%)	20 (76.9%)	34 (55.7%)
Betalactámicos (Penicilinas)	Ampicilina (10 µg)	≤13	8 (22.9%)	12 (46.2%)	20 (32.8%)
	Amoxicilina (10 µg)	≤13	11 (31.4%)	13 (50.0%)	24 (39.3%)
Nitrofuranos	Nitrofurantoína (300 µg)	≤14	2 (5.7%)	3 (11.5%)	5 (8.2%)
Fenicoles	Cloranfenicol (30 µg)	≤12	2 (5.7%)	8 (30.8%)	10 (16.4%)
Antagonistas de las vías de folato	Sulfametoxazol-trimetoprima (1.25/23.75 µg)	≤10	1 (2.9%)	6 (23.1%)	7 (11.5%)
Quinolonas y fluoroquinolonas	Ciprofloxacino (5 µg)	≤21	9 (25.7%)	11 (42.3%)	20 (32.8%)
	Enrofloxacina (5 µg)	≤21	18 (51.4%)	14 (53.8%)	32 (52.5%)
	Ácido nalidíxico (30 µg)	≤13	9 (25.7%)	12 (46.2%)	21 (34.4%)
Betalactámicos (cefalosporinas)	Cefalexina (30 µg)	≤14	10 (28.6%)	12 (46.2%)	22 (36.1%)
	Cefotaxima (30 µg)	≤27	30 (85.7%)	26 /100%)	56 (91.8%)
	Ceftazidima (30 µg)	≤22	6 (17.1%)	5 (19.2%)	11(18.0%)
	Ceftriaxona (30 µg)	≤25	11 (31.4%)	4 (15.4%)	15 (24.6%)
Aminoglucósidos	Gentamicina (10 µg)	≤12	1 (2.9%)	3 (11.5%)	4 (6.6%)
	Neomicina (30 µg)	≤16	12 (34.3%)	11 (42.3%)	23 (37.7%)
Resistencia a 3 o, mas clases de antimicrobianos	MDR	n/a	**9(25.7%)**	**16(61.5%)**	**25(41%)**

*No se consideró el antimicrobiano Aztreonam

4.4. Análisis estadístico

En el análisis multivariado el matadero de origen se asocia con la mayor prevalencia del gen *bla*$_{\text{CTX-M1}}$ (OR: 4.5; IC95%: 1.1-18.1), lo que sugiere que la Odds (razón de probabilidad) de portar el gen *bla*$_{\text{CTX-M1}}$ es 4.5 veces mayor en los aislados fenotípicos de EC-BLEE provenientes del M2 en comparación con los del M1.

En comparación con el M1, los aislados de EC-BLEE provenientes del M2 presentaron 4.1 veces mayores probabilidades de ser resistentes a tetraciclinas (OR: 4.1; IC95%: 1.6-15.6), 7.3 veces mayores probabilidades de ser resistentes a cloranfenicol (OR: 7.3; IC95%: 1.4-38.2) y 10.2 veces mayores probabilidades de ser resistentes a sulfametoxazol-trimetoprima (OR: 10.2; IC95%:1.1 - 90.9). Estos resultados indican que el matadero de origen se asocia de manera significativa con la presencia de resistencia a dichos antimicrobianos. Asimismo, también se encontró que el M2 presentaron 4.6 veces mayores probabilidades de presentar EC-BLEE MDR en comparación con los aislados de M1 (OR:4.6; IC 95%: 1.5-13.8), lo que indica una asociación significativa entre el matadero de origen y la presencia de EC-BLEE MDR.

V. DISCUSIÓN

En el Perú, existen estudios sobre prevalencia de *Escherichia coli* resistente a betalactamasas de espectro extendido (EC-BLEE) en hisopados cloacales de aves destinadas al consumo humano expendidos en mercados (Ceino *et al.,* 2019; Huamán-Chacón y Gonzales-Escalante, 2019; Cortez *et al.,* 2022) y en carne de origen bovino expendidos en mercados (Ruiz-Roldán *et al.,* 2018; Cortez y Shiva, 2019). No obstante, aún son escasos los estudios sobre la prevalencia de EC-BLEE en heces de bovinos destinado al consumo humano. El presente estudio constituye uno de los primeros reportes que aísla cepas EC-BLEE en heces de ganado bovino clínicamente sanos y procedentes de mataderos, e identifica sus genes codificantes de betalactamasas de espectro extendido (*bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV}}$).

El presente estudio reportó una prevalencia del 23.5% (61/260) de EC-BLEE en muestras de heces bovinas recolectadas en el área de eviscerado, provenientes de dos mataderos. Esta prevalencia es semejante al estudio realizado por Haenni *et al.* (2014) en Francia, quienes reportaron un 29.5% (143/484) de EC-BLEE en muestras de heces de bovinos en mataderos y atribuyeron estos resultados al uso indiscriminado de antimicrobianos en el ganado bovino durante el periodo de engorde en los últimos años. Asimismo, Sanou *et al.* (2022) analizaron muestras de heces bovinas en mataderos en Burkina Faso y reportaron una prevalencia mayor a la del presente estudio (35.1%; 88/251). Sanou *et al*. (2022) atribuyeron sus resultados a la presencia de cepas EC-BLEE en el medio ambiente, las cuales pueden ser adquiridas durante el pastoreo, eso explicaría porque animales no expuestos previamente a betalactámicos adquieren resistencia frente a ellos. En consecuencia, cepas de EC-BLEE pueden ser excretadas al ambiente por

animales portadores e interaccionar con las bacterias comensales del entorno adquiriendo diversos determinantes de resistencia por mecanismos de transferencia horizontal, que luego se puede transferir a los bovinos sanos expuestos, otros animales e incluso al humano (Gao *et al.,* 2015; Amador *et al.,* 2019).

La prevalencia encontrada también se podría atribuir al uso indiscriminado de antimicrobianos en animales para consumo humano en el Perú, como lo reportan diversos estudios realizados en el país (Ruiz-Roldán *et al.,* 2018; Aguilar- Martínez *et al.,* 2022; Castillo *et al.,* 2022; Carhuallanqui *et al.,* 2025). Además, la presencia de cepas EC-BLEE en el medio ambiente es un factor determinante para que los animales de consumo humano puedan adquirir cepas EC-BLEE (Larson *et al.,* 2019; Huamán *et al.,* 2024). En el Perú, Huamán *et al.* (2024) evaluaron agua de riego del río Rímac y reportaron la presencia de EC-BLEE MDR y lo asociaron a las descargas de aguas residuales proveniente de descargas domésticas o industriales, así como desechos fecales de animales domésticos o silvestres obtenidos del medio ambiente. En consecuencia, la contaminación ambiental también pudo influir en los resultados.

A nivel mundial, se han reportado diferentes prevalencias de EC- BLEE en heces de ganado bovino procedentes de mataderos. El 17.2% (11/64), 13.7% (17/124), 12.5% (2/16), 4.8% (13/271), 9.3% (5/54), 8.4% (48/571), 0.2% (1/654), 8.6% (19/220), 14.5% (18/124), 12.8% (32/250) y el 16.2% (44/272) fueron reportados en Suiza, Japón, Francia, Portugal, Alemania, Corea, Indonesia, México y Nigeria, respectivamente (Geser *et al*., 2011-2012; Hiroi *et al.,* 2012; Hartmann *et al.,* 2012; Ramos *et al.,* 2013; Reist *et al.,* 2013; Tamang *et al.,* 2013; Sudarwanto *et al.,* 2016; Martínez-Vásquez *et al.,* 2021; Fashae *et al.,* 2021 y Aworh *et al.,* 2022).

Fashae *et al.*(2021), Aworh *et al.*(2022) y Martínez-Vásquez *et al.*(2021) asociaron sus resultados al incorrecto e indiscriminado uso de antimicrobianos; esto debido a que en varios países en desarrollo se incumplen las regulaciones que limitan el uso de antimicrobianos tanto en medicina veterinaria como en humana, usándolos no solo para funciones terapéuticas frente a enfermedades sino también como profiláctico e incluso

como promotores de crecimiento (Husna *et al.,* 2023). En nuestro país, la Resolución Directoral N°0072-2013-MINAGRI-SENASA-DIAIA prohíbe el uso de antimicrobianos (cloranfenicol, nitrofuranos, olaquindox, dimetridazol, ipronidazol, metronidazol y ronidazol) en los animales para consumo humano. Asimismo, en el 2019, se prohibió la importación, comercialización y fabricación de productos veterinarios que contengan colistina como principio activo (Resolución Directoral N° 0091-2019-Minagri-Senasa-DIAIA). Sin embargo, no existe la prohibición del uso de betalactámicos, como las cefalosporinas de tercera generación, en animales para consumo humano. La aplicación de la legislación, anteriormente mencionada, presenta limitaciones ya que los antimicrobianos se continúan usando sin restricción y se comercializan sin un control adecuado siendo fácilmente adquiridos por veterinarios, técnicos veterinarios y ganaderos como lo evidencia los estudios de Redding *et al.*(2013, 2014).

Geser *et al.*(2011) reportaron una prevalencia de EC-BLEE de 17.2% (11/64) en hisopados fecales de bovinos en un matadero de Suiza. Un año después, Geser *et al.*(2012) realizaron una evaluación similar, pero por grupos etarios reportando una prevalencia de 1.7% (1/61) y 25.4% (15/63) de EC-BLEE en muestras de heces de bovinos adultos y terneros respectivamente. Además, Reist *et al.*(2013) reportaron prevalencias más altas en terneros menores de 180 días (6.8%; 39/571) y en bovinos procedentes de granjas lecheras o mixtas (7.4%; 42/571) y Calvopiña *et al.*(2024), en Ecuador, reportaron el 51.1% (93/182) de EC-BLEE en muestras de heces del ganado lechero. Estos estudios asociaron la prevalencia encontrada con la administración indiscriminada de antimicrobianos betalactámicos, como las cefalosporinas de amplio espectro. Chávez *et al.*(2025) y García-Alarcón *et al.*(2025), indican que la alta prevalencia de EC-BLEE en granjas lecheras se debe a que estos animales suelen presentar con mayor frecuencia enfermedades como mastitis y cuadros entéricos, por ende, es mayor el uso de antimicrobianos en su vida productiva y tienden a tener más riesgo de ser portadores de bacterias resistentes, las cuales pueden ser transmitidas a través de la leche al ternero durante el periodo de lactancia. Esto concuerda con nuestros resultados que determinaron una prevalencia mayor a EC-BLEE en M1 (26.1% 35/134) donde se benefició toros de engorde (11.9%) y vacas de descarte (14.2%); mientras, M2 (20.6%; 26/126) benefició solo toros de engorde.

El presente estudio, los animales procedentes de M1 (localizado en Lima Este) incluyeron toros de engorde y vacas de descarte, de los cuales el 11.9% (16/134) y 14.2% (19/134) de las cepas de EC-BLEE fueron aislados de toros de engorde y vacas respectivamente. Los animales que presentaban aislados de EC-BLEE provenían de los departamentos de Lambayeque (4), Cajamarca (4), Ayacucho (2), La Libertad (2), Pasco (2), Arequipa (2), Lima (1), Puno (1) y centros de engorde ubicados en Lurín (17). Se sabe que el M1 recepciona mayormente animales procedentes de centro de engorde de Lurín (17), sin conocerse su real origen, donde se reciben y mantienen a los animales durante 90 días aproximadamente antes de ser enviados al matadero, siendo un lugar de alto riesgo de contaminación de los animales con bacterias patógenas, además de ser un área con alta movilización de animales; por lo que es de esperarse que en este matadero se presente una mayor prevalencia de EC-BLEE. Por el contrario, los animales procedentes de M2 (localizado en Lima Centro) incluyeron solo toros de engorde, de los cuales el 11.9% (26/126) presentan cepas de EC-BLEE y los animales que presentaban aislados de EC-BLEE provenían de los departamentos de Puno (11), Trujillo (5), Huaral (5), Lima (2), Lurín (2) y Huancayo (1), donde todos los bovinos procedían de centros de engorde donde han permanecido los 90 días estabulados.

La presencia de EC-BLEE aislados de bovinos clínicamente sanos en los M1 y M2 podrían traer consecuencias graves para la salud pública, debido a la diseminación de EC-BLEE en las instalaciones de los mataderos, animales, trabajadores y medio ambiente (Sudarwanto *et al.,* 2016). Además, la ineficiencia de la bioseguridad en mataderos, como la falta de protocolos de limpieza y desinfección en superficies, equipos y utensilios; el incorrecto lavado manos del personal y el inadecuado manejo de residuos orgánicos y aguas residuales durante el beneficio puede ayudar a la diseminación de EC-BLEE.

Se observaron malas prácticas, durante la obtención de muestras, en ambos mataderos (M1 y M2). Se evidenció que la mayoría de los operarios no usaban el equipo de protección personal completo (guantes, mascarilla, gorro y mandil). Asimismo, usaban una vestimenta sucia que no era de uso exclusivo del trabajo y el calzado de trabajo evidenciaba una falta de limpieza y mantenimiento diario. Además, se observó alimentos

y bebidas dentro de la sala de eviscerado, los cuales eran consumidos por los trabajadores durante la jornada laboral.

Los operarios no seguían un protocolo de sanitización durante el beneficio o eran deficientes; ellos utilizaban hipoclorito de sodio para la desinfección de equipos y superficies durante la jornada; sin embargo, era aplicado sin una limpieza previa de residuos orgánicos adheridos en los equipos y superficies que tenían contacto con canales y vísceras. Valencia y Acero (2013), reportaron que el hipoclorito de sodio reduce su efectividad al contacto con materia orgánica, Además, no respetaban el tiempo necesario para que el desinfectante ejerza su acción bactericida, enjuagando inmediatamente después de la aplicación del desinfectante.

Las malas prácticas anteriormente mencionadas son factores de riesgo que exponen a los trabajadores de mataderos a adquirir y genes de resistencia codificantes de BLEE. Por ello, la presencia de EC-BLEE en las heces de los bovinos que entran al beneficio representa un riesgo potencial para los trabajadores de los mataderos, su entorno familiar y la comunidad (Godonou *et al.,* 2019; Awork *et al.,* 2020; Awork *et al.,* 2022; Olorunleke *et al.,* 2022). Asimismo, las malas prácticas durante el beneficio pueden contaminar las canales con heces con EC-BLEE y la canal contaminada puede contaminar otros productos (cortes de carne, embutidos, productos cárnicos, etc.) poniendo en riesgo al consumidor final (Ruiz-Roldán *et al.,* 2018; Cortez y Shiva, 2019).

Existe estudios realizados en granjas de ganado bovino de engorde que han reportado EC-BLEE. Liu *et al.*(2022) reportaron el 70.7% (58/82) de EC-BLEE en muestras fecales ubicada en China; asimismo, Frieser *et al.*(2013) y Dahms *et al.*(2015), determinaron el 54.5% (6/11) y 60% (6/10) de EC-BLEE respectivamente, en granjas bovinas en Alemania. Agga y Galloway *et al.*(2023) determinaron el 52.1% (73/140) de EC-BLEE en una granja bovina en Estados Unidos. Los estudios anteriores relacionaron la presencia de EC-BLEE en muestras de heces bovinas a la contaminación ambiental, diseminación de la resistencia entre los animales que conviven en el mismo entorno y la contaminación a otros medios, como el calzado de los trabajadores que tienen contacto con los animales, el aire, vectores como insectos, roedores, animales domésticos o silvestres cercanos y el transporte que ingresa a las granjas (Müller *et al.,* 2016; Benavides

et al., 2022). Los bovinos portadores de EC-BLEE del presente estudio también pudieron adquirir la bacteria en granja por medio de la contaminación ambiental, los operarios, vectores u otros animales. En el Perú, se ha reportado que vectores, como la mosca, pueden ser portadora y diseminadora de bacterias resistente a antimicrobianos en entornos clínicos, rurales y agrícolas (Béjar *et al.,* 2006; Alarcón-Calle *et al.,* 2024; Carhuallanqui *et al.,* 2025).

Schmid *et al.* (2013), reportaron prevalencias mayores de EC-BLEE en heces de bovinos procedentes granjas mixtas (39.6%; 106/268) en comparación con granjas de ganado de engorde (18.9%; 17/90) y encontraron altas prevalencias en terneros menores a 6 meses. Esto concuerda con nuestro estudio, donde se evidenció mayor prevalencia en M1 (26.1%) que en M2 (20.6%). Asimismo, Schmid *et al*.(2013) atribuyó sus resultados a la alta movilización de animales entre granjas, el uso de leche de descarte para alimentar a los terneros y el uso de cefalosporina de amplio espectro en los últimos 12 meses. Por ello, los animales portadores de EC-BLEE de nuestro estudio pudieron también adquirir EC-BLEE cuando fueron terneros.

Diferentes estudios y nuestro estudio determinaron que el gen $bla_{\text{CTX-M}}$ (81.97%; 50/61) presentó mayor prevalencia en comparación con otros genes codificantes de BLEE (Ramos *et al.,* 2013; Valentín *et al.,* 2014; Sudarwanto e*t al.,* 2016; Giufré *et al.,* 2022; Awork *et al.,* 2022; Carey *et al.,* 2022). Además, el presente estudio identificó la prevalencia de los genes $bla_{\text{CTX-M1}}$, $bla_{\text{CTX-M2}}$, $bla_{\text{CTX-M9}}$ y bla_{TEM} en el 73.8% (45/61), 19.7% (12/61), 9.8% (6/61) y 6.6% (4/61) respectivamente, de los aislados identificados fenotípicamente como EC-BLEE. Nuestro estudio reportó resultados similares a Michael *et al.*(2017) quienes reportaron una prevalencia del gen $bla_{\text{CTX-M1}}$ de 69.9%, gen bla_{TEM} de 1.9% y gen bla_{SHV} de 1.4% en heces bovinas procedentes de Alemania. Diversos autores también reportaron que el gen $bla_{\text{CTX-M1}}$ constituye uno de los tipos BLEE más frecuentes en aislamientos de *E. coli* provenientes de ganado bovino y de otras especies animales (Dantas Palmeira *et al.,* 2020; Ewers *et al.*, 2021).

Un metaanálisis realizado por Mandujano-Hernández *et al.,* (2024) señalaron que ciertos genes codificantes a BLEE aislados de heces bovinas, están distribuidos según factores históricos, ambientales o geográficos. En el continente asiático se ha determinado que existe un predominio de genes de los grupos *bla*$_{\text{CTX-1}}$ (*bla*$_{\text{CTX-14,}}$ *bla*$_{\text{CTX-15}}$ y *bla*$_{\text{CTX-55}}$), *bla*$_{\text{CTX-2}}$ y *bla*$_{\text{CTX-9}}$. Estudios realizados por Song *et al.* (2020) reportaron, en Corea del Sur, prevalencias del 59.7% (46/77) y 40.3% (31/77) para los grupos *bla*$_{\text{CTX-1}}$ y *bla*$_{\text{CTX-9}}$, respectivamente. Song *et al*. (2020) asociaron la presencia y diseminación de genes a la transmisión intraespecífica e interespecífica de genes mediante plásmidos conjugativos o por mutación puntual, lo que produce un aminoácido diferente y origina una variante en el gen. Sudarwanto *et al.* (2016) reportaron, en Indonesia, prevalencias de 52.6% (10/19) y 47.3% (9/19) para genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$ y *bla*$_{\text{CTX-9,}}$ respectivamente. Asimismo, asociaron la alta prevalencia de genes codificantes de BLEE a la resistencia frente otros antimicrobianos como fluoroquinolonas, aminoglucósidos y trimetoprima (Brolund *et al.,* 2014); porque durante la transferencia horizontal los genes localizados dentro de elementos genéticos móviles se asocian a otros genes de resistencia generando una coseleccion de los genes codificantes de BLEE. En nuestro estudio se evidenció que cepas de EC-BLEE presentaron resistencia a fluoroquinolonas (54.1%; 33/61), aminoglucósidos (37.7%; 23/61) y sulfatrimetropim (11.5%; 7/61), condiciendo con lo reportado por Sudarwanto *et al.* (2016) y Brolund *et al.* (2014).

Shiraki *et al.*(2004) en Japón, determinaron una prevalencia de 18.8% (6/32) para el gen *bla*$_{\text{CTX-2}}$ y asociaron sus resultados al uso de ceftiofur, única cefalosporina permitida en animales de consumo humano en Estados Unidos. Además, el análisis genómico no mostró evidencia de expansión clonal por lo que confirmaron una diseminación mediada por plásmidos entre las cepas de *E. coli* por el consumo continuo de ceftiofur. Estos resultados son similares a nuestro estudio que presentó una prevalencia de 19.7% para el gen *bla*$_{\text{CTX-2.}}$ En nuestro país también es frecuente el uso de ceftiofur para el tratamiento de mastitis, neumonías y diarreas en el ganado bovino, el cual es comercializado sin ninguna restricción, y se ha evidenciado niveles de resistencia muy altos en los animales (Cubillas *et al.,* 2021).

En el continente africano predomina el grupo *bla*$_{\text{CTX-1}}$ (gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$), estudios en Nigeria como lo de Awork *et al.* (2022), determinaron una prevalencia del 93.2% (41/44) del gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$ en muestras de heces de bovinos. Asimismo, Olorunleke *et al.* (2022), determinaron una prevalencia del 96.2% del gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$ en muestras de fecales de bovinos. Fashae *et al.* (2021), en Nigeria, reportaron prevalencias del 98.1%, 83% y 1.9% del gen *bla*$_{\text{CTX-15,}}$ gen *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{CTX-9}}$ respectivamente. Asimismo, Sanou *et al.* (2022) en Burkina Faso, reportaron prevalencias del gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$ en el 30.7% (27/88) y del gen *bla*$_{\text{TEM}}$ en el 3.4% (3/88). Diversos estudios como Mshana *et al.*(2009), Day *et al.*(2016) y Ouedraogo *et al.*(2017) reportaron la prevalencia del gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$ asociados a infecciones humanas en entornos hospitalarios, por ello su presencia en animales como los bovinos destinados al consumo humano es de importancia clínica.

Esta mayor prevalencia del gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$ en animales se explica por la alta eficiencia de transferencia horizontal de genes que favorece la capacidad de diseminación del gen entre humanos, animales y ambiente combinado con genes de resistencia a quinolonas y aminoglucósidos (Seni *et al.,* 2016; Minja *et al.,* 2021). Fashae *et al.*(2021) y Awork *et al.*(2022) confirmaron, por secuenciamiento genético, que los genomas que presentaban genes *bla*$_{\text{CTX-15}}$ también presentaban genes de resistencia a quinolonas, aminoglucósidos, sulfonamidas y tetraciclina (*qnrS1, StrB, sulf Ay tetA*). A ello se suma, la identificacion del mismo linaje clonal bacteriano de *E. coli* ST10, ST226, ST2178 y ST3080 en heces bovinas de diferentes estudios de Nigeria, lo que nos indicaría la posible transmisión clonal y transferencia conjugativa de determinantes de resistencia entre animales por ambientes compartidos agua o alimentos. Estudios en nuestro país también reportaron el clon ST10 como un linaje vinculado a infecciones humanas e identificados en ganado y primates no humanos (PNH) (Murray *et al.,* 2021; Bazalar-Gonzales *et al.,* 2024), incluso, este último autor reporto *E. coli* ST10 productores de la enzima CTXM-15 en primates no humanos en la amazonia peruana.

En el continente europeo predomina el grupo *bla*$_{\text{CTX-1}}$ (incluido el gen *bla*$_{\text{CTX-15}}$), *bla*$_{\text{CTX-9}}$ y *bla*$_{\text{TEM}}$ en ganado bovino. Estudios como el de Haenni *et al.* (2014), en Francia, reportaron prevalencias del 73.2% (104/142), 2.1% (3/142) y 24.6% (35/142) en los grupos de genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$, *bla*$_{\text{CTX-2}}$ y *bla*$_{\text{CTX-9,}}$ respectivamente. Este estudio reportó que

los clones subdominantes (oportunista) de *E. coli* productoras de BLEE diferían de los clones dominantes (comensales) de *E. coli* no BLEE, pero desconocen la presión selectiva que podría causar la expansión del clon subdominante productoras de BLEE o la diseminación del plásmido BLEE al clon dominante. Por su parte, Geser *et al.*(2011), en Suiza, reportaron una prevalencia de 81.8% (9/11), 18.2% (2/11) y 27.3% (3/11) en los grupos de genes $bla_{\text{CTX-1}}$, $bla_{\text{CTX-9}}$ y bla_{TEM}, respectivamente; evidenciaron que no existe la presencia de clones productores de BLEE dentro de las *E. coli* aisladas en los animales, y la diseminación de resistencia es atribuida a la transferencia horizontal de plásmidos, representando este tipo de transmisión un mayor riesgo en la salud publica global por la extensión de la resistencia a diferentes clones y especies bacterianas volviéndose "pandémica" en la microbiota. Esto concuerda con Ramos *et al.*(2013), en Portugal, quienes determinaron la presencia de integrones Clase 2 relacionados, al compartir algunos genes en común, la detección de estos integrones se asocian a mecanismos horizontal de resistencia, ya que estos elementos suelen encontrarse en transposones y plásmidos facilitando la diseminación de cassettes génicos entre diferentes cepas y especies bacterianas.

Otro estudio realizado por Hartmann *et al.*(2012), en Francia, reportaron genes $bla_{\text{TEM-71}}$ detectados por primera vez en animales, los cuales estaban genotípicamente relacionados a pesar de originarse en diferentes granjas, lo que supone que los aislamientos clonales están ampliamente distribuidos o podrían estar circulando por transferencia horizontal entre animales o la posible existencia de un reservorio común en la región. Esto concuerda con lo reportado en el país por Benavides *et al.*(2022), quienes determinaron la prevalencia de *E. coli* productoras de BLEE en murciélagos (de las zonas de Barranca, Huacho, Lurín, Mala y Santa Cruz de Las Flores) los cuales portaban múltiples genes de resistencia a antimicrobianos, plásmidos y factores de virulencia; y la mayoría de estos determinantes también se detectaron en cepas de E. *coli* productoras de BLEE aisladas en el ganado, esto plantea la posibilidad de intercambio de material genético y/o bacterias entre ganado y murciélagos, actuando estos últimos como reservorios de bacterias multirresistentes facilitando su transmisión hacia el ganado.

En nuestro estudio no se realizó secuenciamiento genómico, por lo que no es posible precisar si la diseminación de la resistencia observada se debe a la expansión clonal o a la transferencia horizontal de genes. Sin embargo, los hallazgos obtenidos proporcionan información de importancia sobre la alta prevalencia de EC-BLEE en el ganado bovino lo cual constituye una base importante parar estudios de vigilancia molecular y análisis genómicos más detallados.

En América, los genes *bla*$_{\text{CTX-1}}$, *bla*$_{\text{CTX-9 y}}$ *bla*$_{\text{CTX-15}}$ son predominantes y en menores proporciones los genes *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV,}}$ un estudio realizado por Benavides *et al.* (2021) en Chile determinaron la prevalencia de los genes *bla*$_{\text{CTX-1,}}$ *bla*$_{\text{CTX-2,}}$ *bla*$_{\text{TEM}}$ y *bla*$_{\text{SHV}}$ en heces de ganado bovino en Chile en el 93%, 36%, 14% y 7%, respectivamente. Este estudio determino la presencia de EC-BLEE en el ganado, los perros y animales silvestres los cuales al igual que Hartmann *et al.*(2012), reportan a los animales como posible reservorios de EC-BLEE. Bazalar-Gonzales *et al.*(2024) determinaron en la amazonia peruana la prevalencia de EC-BLEE del grupo *bla*$_{\text{CTX-1}}$ (gen *bla*$_{\text{CTX-15,}}$ *bla*$_{\text{CTX-55,}}$ *bla*$_{\text{CTX-65,}}$) en un 7.07% (7/99) en primates no humanos (PNH), destacando también su importancia como reservorios en la diseminación por plásmidos de estas bacterias. Otro estudio realizado por Benavides *et al.*(2022) en Lima reportaron prevalencia de EC-BLEE en hisopados rectales de murciélagos detectando una prevalencia baja (10% en 2015, 4% en 2017 y 2018) en comparación con una prevalencia alta (48%) en el ganado destinado al consumo humano. Este estudio no solo determina al murciélago como un posible reservorio diseminador de EC-BLEE, sino revela que con los años la prevalencia en el murciélago ha disminuido. Esta reducción podría explicarse por la decreciente exposición de estos animales a los antimicrobianos, no obstante, como señala Dionisio *et al.* (2005) que, aunque se detenga o se reduzca el uso generalizado de antimicrobianos, los plásmidos conjugativos pueden persistir en las poblaciones bacterianas e incluso transferirse a nuevas cepas.

Nuestro estudio determinó que el gen *bla*$_{\text{CTX-M1}}$ es 4.5 veces mayor en los aislados fenotípicos de EC-BLEE provenientes del M2 en comparación con los del M1. Esto podría tener relación con el entorno al cual están expuestos estos animales. La mayoría de ellos provienen principalmente de Puno (42.3%). Un estudio realizado por Marcos-

Carbajal *et al.* (2020), evaluaron la prevalencia de EC-BLEE en pacientes de Lima, Puno (Juliaca) e Iquitos y evidenciaron mayor prevalencia (28.6%), en Puno, en pacientes con infecciones urinarias. La mayoría de este ganado es de crianza extensiva, por ello, malas prácticas higiénica de la población, podría generar una colonización de los ecosistemas naturales por bacterias EC-BLEE, y de encontrarse presencia de elementos genéticos móviles, como plásmidos, podrían transferirse horizontalmente dentro de estos ambientes constituyendo una amenaza para la salud humana (Li *et al.,* 2024).

En el presente estudio no se detectó la presencia del gen bla_{SHV} en los aislados de EC-BLEE, este el resultado se debe a que la distribución geográfica de los genes varía entre regiones y este gen se ha reportado con mayor prevalencia en el continente asiático. Sin embargo, a nivel nacional existen estudios que reportan la presencia del gen bla_{SHV} en pacientes humanos con infecciones de tracto urinario de origen intrahospitalarios, con prevalencia que oscilan entre 2.9% a 44% (Arce- Gil *et al.,* 2014; Marcos-Carbajal *et al.*, 2020). La identificacion de este gen en humanos podría estar relacionada con la dinámica local de diseminación de genes de resistencia, influenciada por los factores como la movilidad humana entre regiones, lo que podría favorecer su eventual introducción y propagación.

El 34.4% (21/61) de los aislados de EC-BLEE de nuestro estudio fueron MDR, similar a los reportado por Fashae *et al.* (2021). Se evidenció asociación entre el matadero de origen con la presencia de multirresistencia, por tanto, se encontró que el M2 presentaron 4.6 veces mayor probabilidad de presentar EC-BLEE MDR en comparación con los aislados de M1 (OR:4.6; IC 95%: 1.5-13). Reist *et al.* (2011) reportaron que la resistencia a genes del grupo $bla_{\text{CTX-1}}$ se asocian con resistencia a tetraciclina (73.9%; 34/46), sulfatrimetropim (60.9%; 28/46), gentamicina (54.3%; 25/46), cloranfenicol (43.5%; 20/46) y ciprofloxacino (43.5%; 20/46). Asimismo, Geser *et al.* (2011) determinaron resistencia a tetraciclina (63.6%; 7/11), sulfatrimetropim (63.6%; 7/11), gentamicina (54.5%; 6/11), cloranfenicol (54.5%; 6/11) y ciprofloxacino (36.4%; 4/11). Geser *et al.* (2012) determinaron resistencia a tetraciclina (75%; 12/16), sulfatrimetropim (75%; 12/16), gentamicina (56.3%; 9/16), cloranfenicol (56.3%; 9/16), ciprofloxacino

(37.5%; 6/16) y ácido nalidíxico (37.5%; 6/16); y Calvopiña *et al.* (2022) determinaron en bovinos de producción lechera resistencia a tetraciclina (80.6%; 75/93), sulfatrimetropim (69.9%; 65/93), gentamicina (47.3%; 44/93), cloranfenicol (43%; 40/93) y ciprofloxacino (91.4%; 85/93). En muestro estudio, los aislados de EC-BLEE resistentes a genes del grupo bla_{CTX-1} presentaron resistencia a tetraciclina (66.7%; 30/45), ácido nalidíxico (37.8%; 17/45), ciprofloxacino (33.3%; 15/45), cloranfenicol (22.2%; 10/45), sulfatrimetropim (15.6% 7/45) y gentamicina (8.8%; 4/45).

Los aislados de EC-BLEE provenientes del M2 presentaron 4.1 veces mayores probabilidades de ser resistentes a tetraciclinas que el M1 (OR: 4.1; IC95%: 1.6-15.6). En todos los estudios incluido el nuestro, la tetraciclina fue el antimicrobiano con mayor resistencia al ser ampliamente utilizadas en la producción animal como promotores de crecimiento debido a su bajo costo (Carloni *et al.,* 2011). Esto concuerda con Mulchandani *et al.* (2023) quienes reportaron a la tetraciclina como el antimicrobiano más utilizado en los animales productores de alimentos y del cual estiman que su uso aumentará incluso un 9% más para el año 2030. Genotípicamente, Koo *et al.* (2011) y Shin *et al.* (2015) reportaron que el gen de resistencia a la tetraciclina más frecuente fue *tet(A),* seguido por *tet(B)* y *tet(C),* además, los ensayos de conjugación evidenciaron que el 82.9% de los aislados eran capaces de transferir genes de resistencia a la tetraciclina hacia un receptor mediante el replicón *IncFIB*. Estos hallazgos sugieren que la alta prevalencia de *E. coli* resistentes a la tetraciclina en bovinos podría estar asociada a la capacidad de transferencia horizontal de dichos genes entre poblaciones de *E. coli* que han sobrevivido a la presión selectiva del uso de antimicrobianos.

Los animales provenientes de M2 son exclusivamente toros de engorde, por lo cual es probable que el productor haya usado indiscriminadamente tetraciclinas u otros antimicrobianos como promotores de crecimiento para mejorar el rendimiento productivo. Esta práctica, aparentemente beneficiosa a corto plazo, genera una presión selectiva sobre la microbiota intestinal favoreciendo la persistencia y diseminación de cepas de EC-BLEE multirresistentes.

Este estudio también evidenció que los aislados de EC-BLEE provenientes del M2 presentaron 7.3 veces mayores probabilidades de ser resistentes a cloranfenicol (OR:7.3; IC95%: 1.4-38.2) que M1. Lo que nos indicaría que los ganaderos de ganado de carne siguen utilizando el cloranfenicol pese a su restricción en el 2013, como lo señalo Correa-Núñez *et al.*(2021). El cloranfenicol es un antimicrobiano usado por su menor costo y mayor eficacia para tratar enfermedades como gastroenteritis bacteriana (Xie *et al.,* 2017). Sin embargo, la importancia de este antimicrobiano radica en la prohibición de su uso en animales productores de alimentos en diversos países y entre ellos el nuestro, tal y como lo señala la Resolución Directoral N°0072-2013-MINAGRI-SENASA-DIAIA. Asimismo, Dionisio *et al.* (2005) mencionaron que, aunque se reduzca el uso de ciertos antimicrobianos en los animales, la presencia de la resistencia antimicrobiana aun persistirá por los plásmidos conjugativos; existiendo aun en las poblaciones bacterianas, lo que podría explicar su presencia pese a que ya no se utiliza este antimicrobiano.

Los niveles de resistencia de sulfametoxazol-trimetoprima, en nuestro estudio, fueron bajos. San Martin *et al.* (2005) determinaron que esta situación podría modificarse en caso de incrementarse su uso indiscriminado. Nuestro estudio determinó que los aislados de EC-BLEE provenientes del M2 presentaron 10.2 veces mayores probabilidades de ser resistentes a sulfametoxazol-trimetoprima (OR: 10.2; IC95%:1.1 - 90.9), lo que nos indicaría que los productores de ganado bovino de carne están usando indiscriminadamente los antimicrobianos frente a diversas patologías, muchas veces sin un diagnóstico microbiológico previo, ni la orientación de un médico veterinario, incrementando la presión selectiva sobre la microbiota y representa un riesgo potencial para la salud humana (Redding *et al.,* 2014).

Conforme a las evidencias mencionadas, los bovinos procedentes de mataderos se consideran reservorios potenciales de EC-BLEE que pueden ser transmitidas al humano por contacto directo, siendo un riesgo para las personas que trabajan en proximidad a dichos animales durante el beneficio (Pormohammad *et al.,* 2019; Aworh *et al.,* 2019-2022). Este problema también afecta a los productores de ganado bovino de engorde, al estar en contacto directo con estos animales. Asimismo, las EC-BLEE pueden llegar al hombre a través de la cadena alimentaria, siendo la carne el medio de diseminación de

estas bacterias entre los consumidores (Geser *et al.,* 2012; Tadesse *et al.,* 2018; Ramos *et al.,* 2020). En nuestro estudio se pudo observar que los mataderos no cumplían con las buenas prácticas de manufactura, ni tampoco el correcto saneamiento personal ni de los equipos y utensilios con los cuales trabajan durante el faenamiento ya que se pudo observar que durante las operaciones presentaban el uniforme sucio o no utilizaban el uniforme completo; incluso algunos no utilizaban la indumentaria de protección como cofia, guantes y mascarillas. Todo ello representaría un riesgo para la salud en el humano al ser el matadero un foco de diseminación de estas bacterias patógenas resistentes hacia la comunidad.

Los resultados de nuestro estudio evidencian una posible contaminación de la canal y productos cárnicos, con estas bacterias patógenas resistentes. Por ello, debe cumplirse medidas estrictas de higiene durante el sacrificio en los mataderos para impedir la diseminación de EC-BLEE a la cadena cárnica y al humano, evitando que las EC-BLEE puedan colonizar al hombre sano y poner en peligro el éxito de las terapias antimicrobianas frente a futuras infecciones. El fracaso de los tratamientos conllevaría a un mayor costo de vidas humanas y de recursos al aumentar la morbilidad, mortalidad y prolongar las estadías hospitalarias. Resulta comprensible que Naghavi *et al.*(2024) estimen para el año 2050 que las muertes asociadas a la resistencia antimicrobiana asciendan a 10 millones de personas al año. Frente a ello, se recomienda que se establezca un sistema de monitoreo para analizar las frecuencias de BLEE y así prevenir una disminución en la eficacia de antimicrobianos de importancia clínica utilizadas en el tratamiento de infecciones.

Muchos estudios coinciden en que la diseminación de la resistencia antimicrobiana se debe al uso indiscriminado de antimicrobianos tanto en medicina veterinaria y humana, ello ha generado la aparición de bacterias resistentes como EC-BLEE, los cuales adquirieron mejores mecanismos de resistencia producto de la presión selectiva ejercida por las cefalosporinas de tercera generación. A pesar de que la OMS (2019) clasificó a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación dentro de los antimicrobianos de *importancia crítica*, y por ende deberían tener un uso controlado, los ganaderos y médicos veterinarios/humanos siguen utilizándolos indiscriminadamente debido a la limitada

vigilancia en la aplicación de las regulaciones establecidas. Es preocupante que se hayan detectado la presencia de EC-BLEE en granjas en las cuales no se habían utilizado antes este antimicrobiano en sus animales, el éxito de esta diseminación de resistencia se debe a los elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos, transposones e integrones, los cuales actúan como vehículos para la transferencia de genes de resistencia a antimicrobianos entre diferentes bacterias. Los EGM no solo facilitan la propagación de determinantes frente a un antimicrobiano especifico, sino con frecuencia transporta múltiples genes que confieren resistencia simultánea a diversos antimicrobianos como cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclina y sulfonamidas; por lo que la presencia conjunta de estos determinantes en un mismo plásmido favorece la coseleccion y la persistencia de cepas multirresistentes incrementando el riesgo de transmisión de mecanismos de resistencia a entornos ambientales y a la cadena alimentaria (Schmid *et at.,* 2013; Dahms *et al.,* 2015).

VI. CONCLUSIONES

- La prevalencia de EC-BLEE en heces bovinas procedentes de mataderos de Lima Metropolitana-Perú fue del 23.5% (61/260) .

- Se identificó que el 81.9% de los aislados de EC-BLEE en heces bovinas presentaban al menos un gen codificante de *bla*$_{\text{CTX-M1}}$, *bla*$_{\text{CTX-M2}}$, *bla*$_{\text{CTX-M9}}$ y *bla*$_{\text{TEM}}$.

- El gen *bla*$_{\text{CTX-M1}}$, fue el gen codificante con mayor prevalencia (73.8%).

- El gen *bla*$_{\text{SHV}}$ no se ha detectado en nuestro estudio.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar un secuenciamiento genómico, que incluya genes de resistencia a otros antimicrobianos, identificacion de plásmidos y factores de virulencia asociados para precisar si la diseminación de la resistencia observada se debe a la expansión clonal o a la transferencia horizontal de genes.

- Determinar la resistencia a antimicrobianos de amplio espectro, como el ertapenem y otros carbapenémicos para establecer el nivel de amenaza que representarían los aislados de EC-BLEE.

- Realizar estudios con enfoque *One Health* que integre la colaboración en los sectores humano, animal y ambiental para abordar de manera conjunta la resistencia a EC-BLEE.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **[CLSI] Instituto de Normas Clínicas y Laboratorio. 2024.** CLSI M100^{TM} Performance Standars for antimicrobial Suceptibility Testing. 34° ed. 44(5): 24p.
2. **[MINAGRI] Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego.2023. Anuario estadístico de Producción Ganadera y Avícola.** [Internet],[23 de marzo 2025]. Disponible en: https://siea.midagri.gob.pe/portal/phocadownload/datos_estadisticas/anuarios/pecuaria/pecuaria_2023.pdf
3. **[MINSA] Ministerio de Salud. 2019.** Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos 2019 - 2021. [Internet],[8 de mayo 2025]. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/2342368-plan-multisectorial-para-enfrentar-la-resistencia-a-los-antimicrobianos-2019-2021.
4. **[MINSA] Ministerio de Salud. 2024.** Resistencia a los antimicrobianos (RAM) [Internet],[26 de mayo 2025]. Disponible en: https://www.gob.pe/48547-resistencia-a-los-antimicrobianos-ram.
5. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2021.** Lista de agentes antimicrobianos importantes para la Medicina Veterinaria. [Internet],[25 de marzo 2025]. Disponible en: https://www.woah.org/app/uploads/2021/06/e-oie-lista-antimicrobianos-junio2021.pdf

6. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2016.** Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. [Internet],[5 de mayo 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241509763.
7. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2019.** Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana (lista OMS de AIC). [Internet],[25 de marzo 2025]. Disponible en: https://iris.who.int/handle/10665/325037.
8. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2021.** Resistencia a los antimicrobianos. [Internet],[18 de mayo 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance.
9. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2024a.** Agentes antibacterianos en el desarrollo clínico y preclínico: una visión general y un análisis. [Internet],[30 de mayo 2025]. Disponible en: https://www.who.int/publications/i/item/9789240094000.
10. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2024b.** Inocuidad de los alimentos. [Internet], [16 de abril 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/details/food-safety_source.
11. **[OMSA] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2022.** Estrategias para la identificacion de *E. coli*. Argentina: OMSA. Chinen I. INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán.
12. **[SIGIA] Sistema Integrado de Gestión de insumos Agropecuarios. 2025.** Estado situacional de los Mataderos con respecto a la Autorización sanitaria (Decreto Supremo N° 015-2012-AG) [Internet],[2 de mayo 2025]. Disponible en https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/ino_consultasmatadero.html.
13. **[USDA] Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. 2023.** MLG 31 - Isolating Bacteria from Food Animals for Antimicrobial Resistance Surveillance. Washington DC: UDA. Food Safety and Inspection Service. 11p.
14. **Abreu R. 2013**. Prevalencia de Enterobacterias productoras de ß-lactamasas de espectro extendido (BLEE), en exudados rectales de pollos de engorde en granjas avícolas en la isla de Tenerife, España. Tesis de Doctorado en Ciencias y tecnologías. Tenerife: Univ. de la Laguna. 24p.

15. **Adhikari U, Esfahanian E, Mitchell J, Charbonneau D, Song X, Lu Y. 2020.** Quantitation of Risk Reduction of *E. coli* Transmission After Using Antimicrobial Hand Soap. Pathogens. 9(10):778. doi: 10.3390/pathogens9100778.
16. **Aguilar-Martínez S, Suclupe-Campos D, Guevara- Vasquez , Failoc-Rojas V, Aguilar-Gamboa F. 2022.** Factors associated with rectal colonization by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in outpatients in a hospital in northern Peru. Rev. Cuerpo Med. HNAAAA. 15(1):46-52. doi:10.35434/rcmhnaaa.2022.151.965.
17. **Ahumada-Santos YP, Báez-Flores ME, Díaz-Camacho SP, Uribe-Beltrán MDJ, López-Angulo G, Vega-Aviña R, Chávez-Duran F, Montes- Ávila J, Carranza-Diaz O, Moder M, Kuschk P, Delgado-Vargas, F. 2014**. Spatiotemporal distribution of the bacterial contamination of agricultural and domestic wastewater discharged to a drainage ditch (Sinaloa, México). Ciencias marinas, 40(4), 277-289.
18. **Al-Abri SS, Beeching NJ, Nye FJ. 2005**. Traveller's diarrhoea. Lancet Infect. Dis. 5(6): 349–360. doi: 10.1016/S1473-3099(05)70139-0.
19. **Alarcón MA. 2023.** Evaluación de mosca doméstica (*Musca domestica*, Linnaeus 1758) como vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú. Tesis de Licenciado en biología. Lima: Univ. Nac. Federico Villareal. 64p.
20. **Alarcón-Calle MA, Osorio-Guevara VL, Salas-Asencios R, Yareta J, Marcos-Carbajal P, Rodrigo-Rojas M E. 2024.** Carbapenems and colistin resistance genes isolated in *Musca domestica* from a garbage dump near a hospital in Lima. Revista peruana de medicina experimental y salud publica 41(2), 164–170. https://doi.org/10.17843/rpmesp.2024.412.13257.
21. **Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. 2014.** Mechanism of quinolone action and resistance. Biochemistry. 53(10):1565-74. doi: 10.1021/bi5000564.
22. **Alhadlaq MA, Aljurayyad OI, Almansour A, Al-Akeel SI, Alzahrani KO, Alsalman SA, Yahya R, Al-Hindi RR, Hakami MA, Alshahrani SD, Alhumeed NA, Al Moneea AM, Al-Seghayer MS, AlHarbi AL, Al-Reshoodi FM, Alajel S. 2024.** Overview of pathogenic *Escherichia coli*, with a focus on Shiga toxin-

producing serotypes, global outbreaks (1982-2024) and food safety criteria. Gut Pathog. 16(1):57. doi: 10.1186/s13099-024-00641-9.

23. **Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. 2013**. *Escherichia coli* in Europe: an overview. Int J Environ Res Public Health 10(12): 6235–6254. doi: 10.3390/ijerph10126235.
24. **Amador P, Fernandes R, Prudêncio C, Duarte I. 2019.** Prevalence of Antibiotic Resistance Genes in Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae* on Portuguese Livestock Manure. Antibiotics (Basel) 8(1):23. doi: 10.3390/antibiotics8010023.
25. **Arce-Gil Z, Llontop-Núñez J, Alarcón-Benavides E, López -López E. 2014**. Detección de los genes SHV, TEM Y CTX-M en cepas de Escherichia coli β-lactamasas de espectro extendido procedentes de un Hospital de Chiclayo- Perú. Rev. Cuerpo méd. HNAAA 7(3): 27-30.
26. **Arruda C, Siqueira V, Souza F, Silva J, Santos K, Cipriano D, Dias L, Faro F. 2019.** Revisão Bibliográfica De Antibióticos Beta-Lactâmicos. Revista Saúde Em Foco, 11: 982–995.
27. **Aworh MK, Ekeng E, Nilsson P, Egyir B, Owusu-Nyantakyi C, Hendriksen RS. 2022.** Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Among Humans, Beef Cattle, and Abattoir Environments in Nigeria. Front Cell Infect Microbiol. 12 (869314):1-11doi: 10.3389/fcimb.2022.869314.
28. **Aworh MK, Kwaga J, Okolocha E, Mba N, Thakur S. 2019**. Prevalence and risk factors for multi-drug resistant *Escherichia coli* among poultry workers in the Federal Capital Territory, Abuja, Nigeria. PLoS One. 14(11):e0225379. doi: 10.1371/journal.pone.0225379.
29. **Aworh MK, Kwaga JKP, Hendriksen RS, Okolocha EC, Thakur S. 2020**. Genetic relatedness of multidrug resistant *Escherichia coli* isolated from humans, chickens and poultry environments. Antimicrob Resist Infect Control. 10(1):58. doi: 10.1186/s13756-021-00930-x.
30. **Baque J, Alava M, Ponce K, Cedeño N. 2021.** Resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* aislada de materia fecal de avicultores, asociado al uso de antibióticos en la crianza de pollos, Calceta-Bolívar. Dominio de las Ciencias 7(2):1343-1370. doi: 10.23857/dc.v7i2.1885.

31. **Baquero F. Martínez JL, Cantón R. 2008.** Antibióticos y resistencia a los antibióticos en ambientes acuáticos. Current Opinion in Biotechnology, 19(3):260-265. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
32. **Barlow R, McMillan K, Mellor G, Duffy L, Jordan D, Abraham R, O'Dea M, Sahibzada S, Abraham S. 2022.** Phenotypic and Genotypic Assessment of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* from Australian Cattle Populations at Slaughter. J Food Prot. 85(4):563-570. doi: 10.4315/JFP-21-430.
33. **Basavaraju M, Gunashree BS. 2022.** *Escherichia coli:* An Overview of main Characteristics. Intechopen: 1-21. doi: 10.5772/intechopen.105508.
34. **Bastidas-Caldes C, Romero-Alvarez D, Valdez-Vélez V, Morales RD, Montalvo-Hernández A, Gomes-Dias C, Calvopiña M. 2022.** Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *Escherichia coli* in South America: A Systematic Review with a One Health Perspective. Infect Drug Resist 15:5759-5779. doi: 10.2147/IDR. S371845.
35. **Bauernfeind A, Casellas JM, Goldberg M, Holley M, Jungwirth R, Mangold P, Röhnisch T, Schweighart S, Wilhelm R.1992.** A new plasmidic cefotaximase from patients infected with Salmonella typhimurium. Infection. 20(3):158-63. doi: 10.1007/BF01704610.
36. **Bazalar-Gonzales J, Silvestre-espejo T, Rodríguez C, Carhuaricra D, Ignacion Y, Luna L, Rosadio R, Maturrano L.2024**. Genomic insights into ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from no -human primates in the peruvian Amazon. Front. Vet. Sci. 10: 1340428. Doi: 10.3389/fvets.2023.1340428.
37. **Béjar V, Chumpitaz J, Pareja E, Valencia E, Huamán A, Sevilla C, Tapia M, Saez G. 2006.** *Musca domestica* como vector mecánico de bacterias enteropatógenas en mercados y basurales de Lima y Callao. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 23(1): 39-43.
38. **Benavides J, Godreuil S, Opazo-Capurro A, Mahamat OO, Falcon N, Oravcova K, Streicker DG, Shiva C. 2022.** Mantenimiento a largo plazo de *Escherichia coli* multirresistente transportada por murciélagos vampiros y compartida con el ganado en Perú. Ciencia Total Environ. 810:152045. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.152045.
39. **Benavides J, Salgado-Caxito M, Opazo-Capurro A, González P, Piñeiro A, Otto Medina M, Rivas L, Munita J, Millán J. 2021**. *Escherichia coli* productora

de BLEE portadora de genes CTX-M que circulan entre ganado, perros y mamíferos silvestres en granjas de pequeña escala de Chile Central. Antibióticos 10(5), 510. doi:10.3390/antibiotics1005051.

40. **Bergaglio JP, Bergaglio OE. 2020**. Contaminación de alimentos por *Escherichia coli* y la inocuidad alimentaria como eje fundamental. INNOVA UNTREF. Revista Argentina de Ciencia y Tecnología. ISSN 2618-1894.
41. **Bernard H, Tancrede C, Livrelli V, Morand A, Barthelemy M, Labia R. 1992**. A novel plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase not derived from TEM- or SHV-type enzymes. J Antimicrob Chemother. 29(5):590-2. doi: 10.1093/jac/29.5.590.
42. **Bilinski P, Kapka-Skrzypczak L, Posobkiewicz M, Bondaryk M, Holownia P, Wojtyla A. 2012**. Public health hazards in Poland posed by foodstuffs contaminated with *E. coli* O104:H4 bacterium from the recent European outbreak. Ann. Agric. Environ. Med. 19(1):3–10.
43. **Bonnet R. 2004.** Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 48(1):1-14. doi: 10.1128/AAC.48.1.1-14.2004.
44. **Bou G, Fernández-Olmos A, García C, Sáez-Nieto JA, Valdezate S. 2011.** Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Enferm Infecc Microbiol Clin. 29(8):601-608. doi: 10.1016/j.eimc.2011.03.012.
45. **Bradford PA. 2001.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 14(4):933-51, table of contents. doi: 10.1128/CMR.14.4.933-951.2001.
46. **Braun SD, Ahmed M, El-Adawy H, Hotzel H., Engelmann I, Weiß D, Monecke S, Ehricht R. 2016.** Surveillance of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in dairy cattle farms in the nile Delta, Egypt. Front. Microbiol. 7: 1020. doi: 10.3389/fmicb.2016.01020.
47. **Briceño-Fereira E, Ascanio E, Riera-Betancourt J, Arrieta-Mendoza D, Flores-Chona S, Maniglia-Mérida G. 2010**. Evidencia de residuos de cloranfenicol en muestras de riñón de cerdos de la región Central de Venezuela. Rev. Cient (Maracaibo) 20(3): 254-258.

48. **Briñas L, Moreno MA, Teshager T, Sáenz Y, Porrero MC, Domínguez L, Torres C. 2005.** Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. .Antimicrob Agents Chemother. 49(3): 1262-1264. doi: 10.1128/AAC.49.3.1262-1264.2005
49. **Brolund A, Edquist PJ, Mäkitalo B, Olsson-Liljequist B, Söderblom T, Wisell KT, Giske CG. 2014**. Epidemiology of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli in Sweden 2007-2011. Clin Microbiol Infect. 20(6):O344-52. doi: 10.1111/1469-0691.12413.
50. **Burns JL, Hedin LA, Lien DM. 1989**. Chloramphenicol resistance in Pseudomonas cepacia because of decreased permeability. Antimicrob Agents Chemother. 33(2):136-41. doi: 10.1128/AAC.33.2.136.
51. **Bush K, Jacoby GA. 2010.** Updated functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 54(3):969-76. doi: 10.1128/AAC.01009-09.
52. **Bush K. 2013.** Proliferation and significance of clinically relevant β-lactamases. Ann N Y Acad Sci.1277:84-90. doi: 10.1111/nyas.12023.
53. **Calvopiña P, de Janon D, Medina JL, Vargas-Estrella J, Ron-Garrido L, Proaño-Pérez , Vinueza-Burgos.** 2024. Presencia y resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* BLEE en muestras fecales de bovino productores de leche al norte de Ecuador. Siembra. 11(2): e6542. doi: 10.29166/siembra.v11i2.6542
54. **Camacho L. 2023.** Resistencia bacteriana, una crisis actual. Rev. Esp. Salud Pública, 97(e202302013): 1-10.
55. **Cantón R, González-Alba JM, Galán J. 2012.** CTX-M enzymes: origin and diffusion. Front. Microbiol 3(110):1-19. doi: 10.3389/fmicb.2012.00110.
56. **Carattoli A. 2009.** Resistance Plasmid Families in *Enterobacteriaceae*. Antimicrobial agents and chemotherapy 53(6): 2227–2238. doi:10.1128/AAC.01707-08.
57. **Carey AM, Capik S, Giebel S, Nickodem C, Piñeiro JM, Scott H, Vinasco J, Norman KN. 2022.** Prevalence and Profiles of Antibiotic Resistance Genes mph(A) and qnrB in Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* Isolated from Dairy Calf Feces. Microorganisms 10(2): 411. doi: 10.3390/microorganisms10020411.

58. **Carhuallanqui A, Villafana L, Gonzalez-Veliz R, Cobo-Díaz JF, Álvarez-Ordoñez A, Ramos-Delgado DD. 2025.** Colistin-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Houseflies and Feces of Cattle and Pigs at a Slaughterhouse in Lima, Peru. Antibiotics (Basel). 14(8):818. doi: 10.3390/antibiotics14080818.
59. **Carloni G, Pereyra A, Denamiel G, Gentilini E. 2011.** Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from animals. InVet. 13(2): 47-51.
60. **Castillo AK, Espinoza K, Chaves AF, Guibert F, Ruiz J, Pons MJ. 2022.** Antibiotic susceptibility among non-clinical *Escherichia coli* as a marker of antibiotic pressure in Perú (2009-2019): one health approach. Heliyon. 8(9):e10573. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10573.
61. **Ceino F, Koga I, Peña N. 2019.** Detección fenotípica y genotípica de *Escherichia coli* productoras de β-lactamasas espectro extendido aisladas de aves de abasto en Perú. Biotempor(Lima) 16(2):181-186.
62. **Chávez- Jacobo V, Ramírez -Díaz M, Silva-Sánchez J, Cervantes C. 2015.** Resistencia Bacteriana a Quinolonas: Determinantes Codificados en Plásmidos. Rev. educ. bioquím. 34(1):4-9.
63. **Chávez K, Condolo L, Vinueza P, Tiama N. 2025.** Patrones de resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas de mastitis subclínicas. Rev. investig. vet. Perú 36(1): e30199. doi:10.15381/rivep.v36i1.30199.
64. **Chopra I, Roberts M. 2001.** Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiology and molecular biology reviews : MMBR. 65(2): 232–260. doi:10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001.
65. **Christaki E, Marcou M, Tofarides A. 2020.** Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. J Mol Evol. 88(1):26-40. doi: 10.1007/s00239-019-09914-3.
66. **Colom K, Pérez J, Alonso R, Fernández-Aranguiz A, Larió E, Cisterna R. 2003.** Simple and reliable multiplex PCR assay for detection of *bla*TEM, *bla*SHV y *bla*OXA-1 genes in Enterobacteriaceae. FEMS Microbiol Lett 223:147-151. doi: 10.1016/S0378- 1097-(03)00306-9.
67. **Coque TM, Baquero F, Cantón R. 2008.** Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. Eurosurveillance 13(47):1-11.

68. **Correa-Núñez G, Rojas J, Morgan E, Chate E. 2021.** Nitrofuranos y cloranfenicol, sustancias prohibidas para su uso en animales, presentes en alimentos agropecuarios primarios en el Perú (2011 - 2018). Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar 5(2):2067-2080. doi: 10.37811/clrcm.v5i2.418.
69. **Cortez V, González R, Ramos D. 2022.** Detección de enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en carne de pollo de mercados de abasto de un distrito de Lima, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú. 33(3): e22899. doi:10.15381/rivep.v33i3.22899.
70. **Cortez V, Shiva C. 2019.** Detección de enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en carne molida de supermercados de un distrito de Lima, Perú. Salud y tecnología Veterinaria 7(1):1-7. doi: 10.20453/stv.v7i1.3561.
71. **Craig W. 2023.** Farmacología Básica. 6ta Edición. Barcelona. Editorial Elsevier. 447p.
72. **Cruz E, Díaz G. 2010.** Modelación molecular de antibióticos betalactámicos MediSur 8(1):13-19.
73. **Cubillas E, León D, Falcón N. 2021.** Cultural aspects in the management of bovine diseases in an Amazonian district of Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 32(2): e20085. doi:10.15381/rivep.v32i2.20085.
74. **Cuervo-Parra JA, Aparicio-Burgos JE, Pérez-España V, Morales -Ovando MA, Peralta-Gil M, Romero-Cortes T. 2024.** Bioquímica de pared celular de Gram positivas y Gram negativas. Publicación Semestral Pädi 12(3):1-8. doi: 10.29057/icbi.v12i23.11450.
75. **Dahms C, Hübner NO, Kossow A, Mellmann A, Dittmann K, Kramer A. 2015.** Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. PLoS ONE 10(11): e0143326. doi:10.1371/journal.pone.0143326.
76. **Daniels C, Ramos JL. 2009**. Adaptive drug resistance mediated by root-nodulation-cell division efflux pumps. Clin Microbiol Infect. Suppl 1:32-6. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02693.x.

77. **Dantas Palmeira J, Ferreira H. 2020**. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in cattle production– a threat around the world. Heliyon. 6:e03206.

78. **Day MJ, Rodríguez I, van Essen-Zandbergen A, Dierikx C, Kadlec K, Schink AK, Wu G, Chattaway MA, DoNascimento V, Wain J, Helmuth R, Guerra B, Schwarz S, Threlfall J, Woodward MJ, Coldham N, Mevius D, Woodford N.2016.** Diversity of STs, plasmids and ESBL genes among *Escherichia coli* from humans, animals and food in Germany, the Netherlands and the UK. J Antimicrob Chemother. 71(5):1178-82. doi: 10.1093/jac/dkv485.

79. **DebRoy C, Roberts E, Fratamico PM. 2011**. Detection of O antigens in Escherichia coli. Anim Health Res Rev. 12(2):169-85. doi: 10.1017/S1466252311000193

80. **Decousser JW, Poirel L, Nordmann P. Characterization of a chromosomally encoded extended-spectrum class 2001.** A beta-lactamase from Kluyvera cryocrescens. Antimicrob Agents Chemother. 45(12):3595-8. doi: 10.1128/AAC.45.12.3595-3598.2001.

81. **Dionisio F, Conceicao I, Marques A, Fernandes L, Gordo I. 2005.** La evolución de un plásmido conjugativo y su capacidad para aumentar la aptitud bacteriana. . (1):250-252. Doi: 10.1098/rsbl.2004.0275.

82. **Estrada-Garcia T, Navarro-Garcia F.2012.** Enteroaggregative *Escherichia coli* pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. FEMS Immunol Med Microbiol. 66(3):281-98. doi: 10.1111/j.1574-695X.2012.01008.x.

83. **Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler L. 2012.** Extended-spectrum beta-lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: A global perspective. Clin. Microbiol. Infect. 18:646–655.

84. **Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. 2012.** Extended-spectrum β-lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. Clin Microbiol Infect. 18(7): 646–655. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03850. x.

85. **Ewers C, de Jong A, Prenger-Berninghoff E, El Garch F, Leidner U, Tiwari S, Semmler T. 2021.** Genomic Diversity and Virulence Potential of ESBL- and

AmpC-β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains From Healthy Food Animals Across Europe. Frontiers in microbiology 12: 626774. doi:10.3389/fmicb.2021.626774

86. **Farfán-García AE, Ariza-Rojas SC, Vargas-Cárdenas FA, Vargas-Remolina LV.2016.** Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena [Virulence mechanisms of enteropathogenic *Escherichia coli*]. Rev Chilena Infectol. 33(4):438-450. doi: 10.4067/S0716-10182016000400009.

87. **Fashae K, Engelmann I, Monecke S, Braun SD, Ehricht R. 2021.** Molecular characterisation of extended-spectrum ß-lactamase producing *Escherichia coli* in wild birds and cattle, Ibadan, Nigeria. BMC Vet Res. 17(1):33. doi: 10.1186/s12917-020-02734-4.

88. **Fernandes R, Amador P, Prudêncio C. 2013.** β-Lactams: Chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. Reviews and Research in Medical Microbiology, 24(1): 7–17. Doi: 10.1097/MRM.0b013e3283587727

89. **Forbes BA. 2009**. Diagnostico Microbiológico. 12° ed. Argentina: Médica Panamericana. 93p.

90. **Friese A, Schulz J, Laube H, von Salviati C, Hartung J, Roesler U. 2013**. Faecal occurrence and emissions of live stock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus (laMRSA) and ESBL/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 126:117–180.

91. **Galimand M, Sabtcheva S, Courvalin P, Lambert T.2005.** Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. Antimicrob. Agents Chemother. 49(7):2949-53. doi: 10.1128/AAC.49.7.2949-2953.2005.

92. **Gao L, Tan Y, Zhang X, Hu J, Miao Z, Wei L, Chai T. 2015.** Emissions of *Escherichia coli* Carrying Extended-Spectrum β-Lactamase Resistance from Pig Farms to the Surrounding Environment. Int J Environ Res Public Health 12(4):4203-13. doi: 10.3390/ijerph120404203.

93. **García C, de la Gándara M, García F. 2010.** Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*.

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 28(1): 12–18. doi:10.1016/s0213-005x(10)70003-3.

94. **García-Alarcón Z, Alderete-Gutiérrez J, Ramírez-Trejo C, Leal-Rodríguez J, Olave-Leyva J, Martínez-Juárez V. 2025**. Resistencia a antimicrobianos en bovinos leche y bovinos carne y su posible impacto en la salud pública a nivel mundial. Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP. 11(21):21-29.
95. **Geser N, Stephan R, Hächler H. 2012.** Occurrence and characteristics of extended-spectrum β-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in food producing animals, minced meat and raw milk. BMC Vet Res. 8(21):1-9. doi: 10.1186/1746-6148-8-21.
96. **Geser N, Stephan R, Kuhnert P, Zbinden R, Kaeppeli U, Cernela N, Haechler H. 2011.** Fecal carriage of extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in swine and cattle at slaughter in Switzerland. J Food Prot. 74(3):446-9. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-10-372.
97. **Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. 2015**. Extended spectrum beta-lactamases: definition, classification and epidemiology. Curr Issues Mol Biol. 17(1), 11-21.
98. **Giono-Cerezo S, Santos-Preciado J, Morfín-Otero M, Torres-López F, Alcántar-Curiel M. 2020.** Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. Gaceta médica de México 156(2): 172-180. doi:10.24875/gmm.20005624.
99. **Giufrè M, Mazzolini E, Cerquetti M, Brusaferro S. 2021.** Extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli from extraintestinal infections in humans and from food-producing animals in Italy: a 'One Health' study. Int J Antimicrob Agents. 58(5):106433. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106433.
100. **Godonou A, Gbeasor-Komlanvi F, Tsogbale N. Lack F, Dossim S, Batawui K, Ameyapoh Y, Ekouevi K, Dagnra A, Salou M. 2020.** High carrying rate of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae by slaughterhouse workers in Lomé, Togo in 2019. Microbiol Res J Int. 30(11):30-41. doi: 10.9734/MRJI/2020/v30i1130281.
101. **Gómez J, García-Vásquez E, Hernández-Torres A. 2015.** Los betalactámicos en la práctica clínica. Rev Esp Quimioter 28(1): 1-9.A

102. **Guardabassi L, Courvalin P. 2006.** Modes of Antimicrobial Action and Mechanisms of Bacterial Resistance. En: Aarestrup F. Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. 1st ed. USA: ASM Press.

103. **Guerrero J, Monsalve J. 2006.** El compostaje como una estrategia de producción más limpia en los centros de beneficio animal del departamento de Risaralda. Scientia et Technica, vol. XII.32:469-474.

104. **Haenni M, Châtre P, Métayer V, Bour M, Signol E, Madec JY, Gay E. 2014.** Comparative prevalence and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in dominant versus subdominant enteric flora in veal calves at slaughterhouse, France. Vet Microbiol. 171(3-4):321-7. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.02.023.

105. **Hamon A, Bastides F, Lefort A. 2021**. Betalactámicos. EMC - Tratado de Medicina 25(2): 1-7. Doi:10.1016/S1636-5410(21)45119-6.

106. **Hartmann A, Locatelli A, Amoureux L,m Depret G, Jolivet C, Gueneau E, Neuwirth C. 2012.** Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy region). Front Microbiol. 3(83): 1-7. doi: 10.3389/fmicb.2012.00083

107. **Hernández A, Sánchez MB, Martínez JL. 2011.** Quinolone resistance: much more than predicted. Front Microbiol. 2(22):1-6.. doi: 10.3389/fmicb.2011.00022

108. **Hernández RE, Báez M, Espinosa I, Perreten V., Alfonso P, Obregón D. 2023.** *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas de tercera generación de aves y cerdos, reservorio para la diseminación de genes de multirresistencia. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba 13(2):1-9.

109. **Hiroi M, Yamazaki F, Harada T, Takahashi N, Iida N, Noda Y, Yagi M, Nishio T, Kanda T, Kawamori F, Sugiyama K, Masuda T, Hara-Kudo Y, Ohashi N. 2012.** Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in food-producing animals. J Vet Med Sci. 74(2):189-95. doi: 10.1292/jvms.11-0372.

110. **Huamán -Chacón L, Gonzales Escalante E. 2019.** *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en pollos para consumo humano. Rev Peru Med Exp Salud Publica 36(2). doi 10.17843/rpmesp.2019.362.2959.

111. **Huamán M, Salvador-Luján G, Morales L, Alba Luna J, Velasquez L, Pacheco JD, Pons MJ. 2024.** Resistance to cephalosporins and quinolones in *Escherichia*

coli isolated from irrigation water from the Rímac river in east Lima, Peru. Rev Peru Med Exp Salud Publica 41(2):114-120. doi: 10.17843/rpmesp.2024.412.13246.

112. **Huayanay-Quevedo C, Aldoradin V, Guerra A. 2022.** Presencia de *Escherichia coli* en la playa Pucusana, Lima, y su potencial efecto en la salud pública. Acta Médica Peruana 39(1):31-39. doi:10.35663/amp.2022.391.2305.

113. **Hudault S, Spiller OB, Morgan BP, Servin AL.2004.** Human diffusely adhering *Escherichia coli* expressing Afa/Dr adhesins that use human CD55 (decay-accelerating factor) as a receptor does not bind the rodent and pig analogues of CD55. Infect Immun. 72(8):4859-63. doi: 10.1128/IAI.72.8.4859-4863.2004.

114. **Husna A, Rahman M, Badruzzaman A, Sikder M, Islam M, Rahman M, Alam J, Ashour H. 2023.** Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. Biomedicines 11(11): 2937. doi:10.3390/biomedicines11112937

115. **Husna A, Rahman MM, Badruzzaman ATM, Sikder MH, Islam MR, Rahman MT, Alam J, Ashour HM. 2023.** Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. Biomedicines 11(11):2937. doi: 10.3390/biomedicines11112937.

116. **Ibañez C, Candela A. 2022.** Importancia de las prácticas de higiene y manipulación en matadero de porcino para la salud pública. Nereis 14: 143-156.

117. **Ishii S y Sadowsky MJ. 2008**. *Escherichia coli* in the environment: Implications for Water Quality and Human Health. Microbes Environ. 23(2):101-108. doi: 10.1264/jsme2.23.101.

118. **Jang J, Hur HG, Sadowsky MJ, Byappanahalli MN, Yan T, Ishii S. 2017.** Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. J Appl Microbiol. 123(3):570-581. doi: 10.1111/jam.13468.

119. **Kaper J, Nataro J, Mobley H. 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2(2): 123-140. doi:10.1038/nrmicro818.

120. **Karami N, Nowrouzian F, Adlerberth I, Wold AE. 2006**. Tetracycline resistance in Escherichia coli and persistence in the infantile colonic microbiota. Antimicrob Agents Chemother.50(1):156-61. doi: 10.1128/AAC.50.1.156-161.2006

121. **Kim D, Kim S, Kwon Y, Kim Y, Park H, Kwak K, Lee H, Lee JH, Jang KM, Kim D, Lee SH, Kang LW. 2023.** Structural Insights for β-Lactam Antibiotics. Biomol Ther (Seoul) 31(2):141-147. doi: 10.4062/biomolther.2023.008.

122. **Kirchner M, Goulter RM, Bernstein C, Lavallee A, Schaffner D, Chapman B, Jaykus LA. 2023.** The role of hands in cross-contamination of kitchen surfaces during meal preparation. Am J Infect Control. 51(11S):A44-A57. doi: 10.1016/j.ajic.2023.04.162.

123. **Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. 1985**. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother. 28(2):302-7. doi: 10.1128/AAC.28.2.302.

124. **Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S.1977.** Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli.* Infect Immun. 18(3):775-9. doi: 10.1128/iai.18.3.775-779.1977.

125. **Koo HJ, Woo GJ. 2011.** Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. Int J Food Microbiol. 145(2-3):407-13. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.003.

126. **Koo HJ, Woo GJ. 2011**. Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in Escherichia coli isolated from meat and meat products. Int J Food Microbiol. 145(2-3):407-13. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.003

127. **Kotra LP, Haddad J, Mobashery S. 2000.** Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. Antimicrob Agents Chemother. 44(12):3249-56. doi: 10.1128/AAC.44.12.3249-3256.2000.

128. **Lambert T, Gerbaud G, Courvalin P. 1988.** Transferable amikacina resistance in Acinetobacter spp. due a new type of 3'-aminoglycoside phosphotransferase. Antimicrob Agents Chemother 32: 15-9

129. **Larrea-Murrell J, Rojas-Badía M, Romeu-Álvarez B, Rojas-Hernández N, Heydrich-Pérez M. 2013**. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. Revista CENIC. Ciencias Biológicas 44(3):24-34.

130. **Larson A, Hartinger SM, Riveros M, Salmon-Mulanovich G, Hattendorf J, Verastegui H, Huaylinos ML, Mäusezahl D. 2019.** Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in Drinking Water Samples from Rural Andean Households in Cajamarca, Perú. Am J Trop Med Hyg. 100(6):1363-1368. doi: 10.4269/ajtmh.18-0776.

131. **Leitão JH. 2020.** Microbial Virulence Factors. Int J Mol Sci. 21(15):5320. doi: 10.3390/ijms21155320.

132. **Leverstein-Van Hall MA, Blok HE, Donders AR, Paauw A, Fluit AC, Verhoef J. 2003.** Multidrug resistance among Enterobacteriaceae is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin. J Infect Dis. 187(2):251-9. doi: 10.1086/345880.

133. **Lezameta L, Gonzales-Escalante E, Tamariz J. 2010.** Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido. Rev. perú. med. exp. salud publica 27(3):345-351.

134. **Lima L, Silva B, Barbosa G, Barreiro E. 2020.** β-lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. European Journal of Medicinal Chemistry, 208: 1-68.doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112829.

135. **Lima LM, Silva BNMD, Barbosa G, Barreiro EJ. 2020.** β-lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. Eur J Med Chem. 208:112829. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112829.

136. **Liu Z, Wang K, Zhang Y, Xia L, Zhao L, Guo C, Liu X, Qin L, Hao Z. 2022.** High Prevalence and Diversity Characteristics of *bla*$_{NDM}$, *mcr*, and *bla*$_{ESBLs}$ Harboring Multidrug-Resistant *Escherichia coli* From Chicken, Pig, and Cattle in China Microbiol. 11:755545. doi: 10.3389/fcimb.2021.755545.

137. **Livermore DM. 1995.** Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 8(4):557-84. doi: 10.1128/CMR.8.4.557.

138. **Lowder S, Skoet J, Raney T. 2016.** The Number, Size, and Distribution of Farms, Smallholder Farms, and Family Farms Worldwide. World Development. 14p. doi: 10.1016/j.worlddev.2015.10.041.

139. **Ma F, Xu S, Tang Z, Li Z, Zhang L. 2021**. Use of antimicrobials in food animals and impact of transmission of antimicrobial resistance on humans. Biosafety and Health, 3(1): 32-38. doi: 10.1016/j.bsheal.2020.09.004.

140. **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. Clin Microbiol Infect.18(3):268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x..

141. **Mandujano-Hernández A, Martínez-Vázquez AV, Paz-González AD, Herrera-Mayorga V, Sánchez-Sánchez M, Lara-Ramírez EE, Vázquez K, de Jesús de Luna-Santillana E, Bocanegra-García V, Rivera G. 2024.** The Global Rise of ESBL-Producing *Escherichia coli* in the Livestock Sector: A Five-Year Overview. Animals. 14 (17): 2490. doi:10.3390/ani14172490.

142. **Marcos-Carbajal P, Galarza-Pérez M, Huancahuire-Vega S, Otiniano-Trujillo M, Soto-Pastrana J.2020**. Comparison of *Escherichia coli* antibiotic-resistance profiles and incidence of betalactamase phenotypes in three private health facilities in Perú. Biomédica. 40(1):139-147. doi: 10.7705/biomedica.4772.

143. **Marshall BM, Levy SB. 2011**. Animales de consumo y antimicrobianos: impactos en la salud humana. Clin Microbiol Rev. 24(4):718-33. doi: 10.1128/CMR.00002-11.

144. **Martínez-Orgániz Á, Garza-Ramos U, Sampedro-Rosas ML, González-González J, Nava-Faustino G. Toribio-Jiménez J. 2020.** Patotipos y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en agua residual. Revista internacional de contaminación ambiental 36(4): 957-966. doi: 10.20937/RICA.53711.

145. **Martínez-Vázquez AV, Vázquez-Villanueva J, Leyva-Zapata LM, Barrios-García H, Rivera G, Bocanegra-García V. 2021.** Multidrug Resistance of *Escherichia coli* Strains Isolated From Bovine Feces and Carcasses in Northeast Mexico. Front Vet Sci. 8(643802):1-6. doi: 10.3389/fvets.2021.643802.

146. **Maza N, Calderón C, Aguilar J, Luna J. 2025.** Detección de *Escherichia coli* como indicador de contaminación en agua de cisternas de uso domiciliario. Revista Vive 8(23):406-420. doi: 10.33996/revistavive.v8i23.386.

147. **Mella S, Sepúlveda M, González G, Bello H, Domínguez M, Zemelman R, Ramírez C. 2004.** Aminoglucósidos-aminociclitoles: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. Rev. chil. infectol. 21 (4):330-338. doi: 10.4067/S0716-10182004000400007.

148. **Meunier D, Jouy E, Lazizzera C, Kobisch M, Madec JY. 2006**. CTX-M-1- and CTX-M-15-type β-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. Int J Antimicrob Agents. 28(5): 402-407. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.08.016.

149. **Michael GB, Kaspar H, Siqueira AK, de Freitas Costa E, Corbellini LG, Kadlec K, Schwarz S. 2017.** Extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing

Escherichia coli isolates collected from diseased food-producing animals in the GERM-Vet monitoring program 2008-2014. Veterinary Microbiology, 200:142-150. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.08.023.

150. **Mingeot-Leclercq M, Glupczynski Y, Tulkens PM. 1999.** Aminoglycosides: Activity and resistance. Antimicrob Agents Chemother 43: 727-37.

151. **Minja CA, Shirima G, Mshana, SE. 2021.** Conjugative Plasmids Disseminating CTX-M-15 among Human, Animals and the Environment in Mwanza Tanzania: A Need to Intensify One Health Approach. Antibiotics, 10(7): 836. doi:10.3390/antibiotics10070836.

152. **Montero CI, Johnson MR, Chou CJ, Conners SB, Geouge SG, Tachdjian S, Nichols JD, Kelly RM. 2007.** Responses of wild-type and resistant strains of the hyperthermophilic bacterium Thermotoga maritima to chloramphenicol challenge. Appl Environ Microbiol. 73(15):5058-65. doi: 10.1128/AEM.00453-07.

153. **Moredo FA, Colello R, Sanz M, Cappuccio JA, Carriquiriborde M, Etcheverría A, Perfumo CJ, Padola NL, Leotta GA. 2013**. *Escherichia coli* con resistencia a múltiples antimicrobianos en granjas de producción porcina de la República Argentina. Analecta Veterinaria 33(2): 9-13.

154. **Morejón M, 2013**. Betalactamasas de espectro extendido. Rev. Cubana med. 52(4):272-280.

155. **Moreno N, Agudelo-Flórez P. 2020.** Aplicación de ensayos de PCR convencionales y multiplex para la identificación de aislamientos de *Leptospira* spp. en Colombia. Rev Perú Med Exp Salud Pública 27(4): 548-56. doi: 10.17843/rpmesp.2010.274.1526.

156. **Moxley R, 2022.** Enterobacteriaceae: *Escherichia coli*. En: McVey S, Kennedy M, Chengappa M, Wilkes R, eds. Veterinary Microbiology. 4th ed. USA: John Wiley & Sons. p 56-74.

157. **Mshana SE, Kamugisha E, Mirambo M, Chakraborty T, Lyamuya EF. 2009.** Prevalence of multiresistant gram-negative organisms in a tertiary hospital in Mwanza, Tanzania. BMC Res Notes. 2:49. doi: 10.1186/1756-0500-2-49.

158. **Mueller M, Tainter CR. 2023.** *Escherichia coli* Infection. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls. [Internet],[28 de julio 2025]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/.

159. **Mulchandani R, Wang Y, Gilbert M, Van Boeck T. 2023.** Global trends in antimicrobial use in food producing animals: 2020 to 2030. PLOS Global Public Health. 3(2): e0001305. doi:10.1371/journal.pgph.0001305 F

160. **Müller A, Stephan R, Nüesch-Inderbinen M. 2016.**Distribution of virulence factors in ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from the environment, livestock, food and humans. Sci Total Environ. 541:667-672. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.09.135.

161. **Munita J, Arias C. 2016**. Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiology spectrum.4(2):10-1128. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.

162. **Murray M, Salvatierra G, Dávila-Barclay A, Ayzanoa B, Castillo-Vilcahuaman C, Huang M, Pajuelo MJ, Lescano AG, Cabrera L, Calderón M, Berg DE, Gilman RH, Tsukayama P. 2021.** Market Chickens as a Source of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in a Peri-Urban Community in Lima, Perú. Front Microbiol. 12:635871. doi: 10.3389/fmicb.2021.635871.

163. **Murray P. 2002.** Microbiología médica.4° ed. Barcelona: Elsevier Science.77p.

164. **Naghavi M, Murray CJL, Ikuta KS, Mestrovic T, Swetschinski L, Sartorius B. 2022.** Global burden of antimicrobial resistance: essential pieces of a global puzzle Lancet. 399(10344):2349-2350. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00947-3.

165. **Nataro JP, Kaper JB.1998.** Diarrheagenic *Escherichia coli.* Clin Microbiol Rev. 11(2): 403. doi: 10.1128/CMR.11.1.142.

166. **Navas N, Púa A. 2014.** Calidad higiénica y determinación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en carne de cerdo en expendios de Barranquilla. alimentech Ciencia y Tecnología Alimentaria 12(1):15-22. doi: 10.24054/16927125.v1.n1.2014.909.

167. **Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, Opsteegh M, Langelaar M, Threfall J, Scheutz F, van der Giessen J, Kruse H. 2010.** Food-borne diseases – the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. Int J Food Microbiol. 139(1): S3–S15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021.

168. **Nguyen do P, Nguyen TA, Le TH, Tran NM, Ngo TP, Dang VC, Kawai T, Kanki M, Kawahara R, Jinnai M, Yonogi S, Hirai Y, Yamamoto Y, Kumeda Y. 2016.** Dissemination of Extended-Spectrum β-Lactamase- and AmpC β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* within the Food Distribution System of Ho

Chi Minh City, Vietnam. Biomed Res Int. 2016:8182096. doi: 10.1155/2016/8182096.

169. **Nikaido H. 2003.** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev. 67(4):593-656. doi: 10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003.

170. **Novoa H, Zapata DC. 2024.** Análisis del riesgo biológico por la *Escherichia coli* a causa de la Mala manipulación de los productos cárnicos en las carnicerías En las principales plazas de mercado de la ciudad de Villavicencio. Tesis de grado en Ingeniería Ambiental. Villavicencio: Univ. Santo Domingo

171. **Olivas E, Flores JP, Di Giovanni GD, Corral B, Osuna P. 2013.** Contaminación fecal en agua potable del Valle de Juárez. Terra Latinoamericana 31(2): 135-143.

172. **Olorunleke SO, Kirchner M, Duggett N, AbuOun M, Okorie-Kanu OJ, Stevens K, Card RM, Chah KF, Nwanta JA, Brunton LA, Anjum MF. 2022.** Molecular characterization of extended spectrum cephalosporin resistant *Escherichia coli* isolated from livestock and in-contact humans in Southeast Nigeria. Front Microbiol. 13:937968. doi: 10.3389/fmicb.2022.937968.

173. **Ouédraogo AS, Sanou S, Kissou A, Poda A, Aberkane S, Bouzinbi N, Nacro B, Ouédraogo R, Van De Perre P, Carriere C, Decré D, Jean-Pierre H, Godreuil S. 2017.** Fecal Carriage of Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Hospitalized Patients and Healthy Community Volunteers in Burkina Faso. Microb Drug Resist. 23(1):63-70. doi: 10.1089/mdr.2015.0356**.**

174. ***Pakbin B, Brück W, Rossen J. 2021.*** Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. International Journal of Molecular Sciences, 22(18): 1-18.

175. **Panamá T, Gallegos JD. 2021.** Resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* aislada de urocultivos. Vive Rev. 4(12):87-99. doi: 10.33996/revistavive.v4i12.110.

176. **Passos E, Mello A, de Sousa C, da Silva C, Alonso A, Gonzalez E, Tavares M. 2010.** Provável surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa no litoral da região sudeste do Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz 69(1):136-40.

177. **Paterson DL, Bonomo RA. 2005.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 18(4):657-86. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005.

178. **Perichón B, Courvalin P. 2015.** Antibiotic resistance. Reference module in Biomedical Science. doi: 101.1016/B978-0-12-801238-3.02385-0.

179. **Pettengill EA, Pettengill JB, Binet R. Phylogenetic 2018.** Analyses of Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli for the Identification of Molecular Epidemiological Markers: Whole-Genome Comparative Analysis Does Not Support Distinct Genera Designation. Front Microbiol. 2016 Jan 19;6:1573. doi: 10.3389/fmicb.2015.01573. Erratum in: Front Microbiol. 2018 Jan 09;8:2598. doi: 10.3389/fmicb.2017.02598.

180. **Pires AJ, Pereira G, Fangueiro D, Bexiga R, Oliveira M. 2024**. When the solution becomes the problem: a review on antimicrobial resistance in dairy cattle. Future microbiol.19(10), 903–929. doi: 10.2217/fmb-2023-0232.

181. **Poirel L, Kämpfer P, Nordmann P. 2002.** Chromosome-encoded Ambler class A beta-lactamase of *Kluyvera georgiana*, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 46(12):4038-40. doi: 10.1128/AAC.46.12.4038-4040.2002.

182. **Poitrineau P, Forestier C, Meyer M, Jallat C, Rich C, Malpuech G, De Champs C. 1995.** Retrospective case-control study of diffusely adhering *Escherichia coli* and clinical features in children with diarrhea. Clin Microbiol. 33: 1961-2.

183. **Pormohammad A, Nasiri MJ, Azimi T. 2019.** Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. Infect Drug Resist. 12:1181-1197. doi: 10.2147/IDR.S201324

184. **Poulou A, Grivakou E, Vrioni G, Koumaki V, Pittaras T, Pournaras S, Tsakris A. 2014.** Modified CLSI extended-spectrum β-lactamase (ESBL) confirmatory test for phenotypic detection of ESBLs among Enterobacteriaceae producing various β-lactamases. J Clin Microbiol. 52(5):1483-9. doi: 10.1128/JCM.03361-13.

185. **Prescott J. 2013.** Beta-lactam Antibiotics: Penam Penicillins. En: Giguère S, Prescott J, Dowling P, eds. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 5th ed. Reino Unido: Wiley Blackwell. p 135-152.

186. **Qadri F, Svennerholm AM, Faruque AS, Sack RB. 2005.** Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical

features, treatment, and prevention. Clin Microbiol Rev.18(3):465-83. doi: 10.1128/CMR.18.3.465-483.2005.

187. **Radice M, Power P, Di Conza J, Gutkind G.2022.** Early dissemination of CTX-M-derived enzymes in South America. Antimicrob Agents Chemother. 46(2):602-4. doi: 10.1128/AAC.46.2.602-604.2002.

188. **Raeispour M, Ranjbar R. 2018.** Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic *Escherichia coli* strains Antimicrob Resist Infect Control 7:118. doi: 10.1186/s13756-018-0411-4.

189. **Ramos S, Igrejas G, Silva N, Jones-Dias D, Capelo-Martínez JL, Canica M, Poeta P. 2013.** First report of CTX-M producing *Escherichia coli*, including the new ST2526, isolated from beef cattle and sheep in Porrtugal. Food Control 31:208-210. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.10.011.

190. **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 (Basel). 10(12):2239. doi: 10.3390/ani10122239.

191. **Redding LE, Barg FK, Smith G, Galligan DT, Levy MZ, Hennessy S. 2013.** The role of veterinarians and feed-store vendors in the prescription and use of antibiotics on small dairy farms in rural Perú. J Dairy Sci. 96(11):7349-7354. doi: 10.3168/jds.2013-7045.

192. **Redding LE, Cubas-Delgado F, Sammel MD, Smith G, Galligan DT, Levy MZ, Hennessy S. 2014.** The use of antibiotics on small dairy farms in rural Perú. Prev Vet Med. 113(1):88-95. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.10.012.

193. **Reist M, Geser N, Hächler H, Schärrer S, Stephan R. 2013.** ESBL-producing Enterobacteriaceae: occurrence, risk factors for fecal carriage and strain traits in the Swiss slaughter cattle population younger than 2 years sampled at abattoir level. PLoS One. 8(8): e71725. doi: 10.1371/journal.pone.0071725.

194. **Reséndiz-Nava C, Nava-Morales G. 2020.** Actualización taxonómica de la familia Enterobacteriaceae y su impacto en estudios moleculares. VII Simposio Nacional de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina. México. RCFB.

195. **Riley E, Das D, Lauga E. 2018**. Swimming of peritrichous bacteria is enabled by an elastohydrodynamic instability. Scientific Reports, 8(1): 1–7.

196. **Ríos-Muñiz D, Cerna-Cortés JF, Morán-García N, Meza-Segura M, Estrada-García T. 2019.** *Escherichia coli* enterotoxigénica y enteroagregativa: prevalencia, patogénesis y modelos múridos. Gac Med Mex. 155(4):410-416. doi: 10.24875/GMM.19004716.

197. **Roberts MC. 1996.** Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. FEMS Microbiol Rev. 19(1):1-24. doi: 10.1111/j.1574-6976.1996.tb00251.x. PMID: 8916553.

198. **Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. 2006.** The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. Lancet Infect Dis. 6(10):629-40. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70599-0.

199. **Rodríguez-Ángeles G. 2002.** Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli.* Salud Pública Mex. 44(5): 464-475.

200. **Rodríguez-Rojas A, Rodríguez-Beltrán J, Couce A, Blázquez J. 2013.** Antibiotics and antibiotic resistance: a bitter fight against evolution. Int J Med Microbiol. 303(6-7):293-7. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.02.004.

201. **Rozwandowicz M, Brouwer MSM, Fischer J, Wagenaar JA, Gonzalez-Zorn B, Guerra B, Mevius DJ, Hordijk J. 2018.** Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 73(5):1121-1137. doi: 10.1093/jac/dkx488. PMID: 29370371.

202. **Ruiz J, Pons MJ, Gomes C. 2012.** Transferable mechanisms of quinolone resistance. Int J Antimicrob Agents. 40(3):196-203. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.02.011.

203. **Ruiz-Roldán L, Martínez-Puchol S, Gomes C, Palma N, Riveros M, Ocampo K, Durand D, Ochoa T, Ruiz J, Pons M. 2018.** Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. Rev Perú med exp salud pública 35(3): 425-432. doi:10.17843/rpmesp.2018.353.3737.

204. **San Martín B, Bravo V, Borie C. 2005.** Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando *E. coli* como bacteria indicadora. Arch. Med. 37(2):117-123.

205. **Sanou S, Salam A, Lounnas M, Zougmore A, Pooda A, Zoungrana J, Anicet G, Traore-Quedraogo, Ouchar O, Jean-Pierre H, Godreuil S. 2022**

Epidemiology and molecular characterization of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β-Lactamase in intensive and extensive breeding animals in Burkina Faso. PAMJ One Health. 8(4): 1-12. doi: 10.11604/pamj-oh.2022.8.4.33553.

206. **Schierack P, Walk N, Reiter K, Weyrauch KD, Wieler LH. 2007.** Composition of intestinal Enterobacteriaceae populations of healthy domestic pigs. Microbiology Society.153(11):3830-3837. doi: 10.1099/mic.0.2007/010173-0

207. **Schmid A, Hörmansdorfer S, Messelhäusser U, Käsbohrer A, Sauter-Louis C, Mansfeld R. 2013.** Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* on Bavarian dairy and beef cattle farms. Appl Environ Microbiol. 79(9):3027-32. doi: 10.1128/AEM.00204-13.

208. **Schultsz C, Geerlings S. 2012.** Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: changing landscape and implications for therapy. Drugs. 72(1):1-16. doi: 10.2165/11597960-000000000-00000.

209. **Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckaert A. 2004**. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. FEMS Microbiol Rev. 28(5):519-42. doi: 10.1016/j.femsre.2004.04.00.

210. **Seni, J. Falgenhauer L, Simeo N, Mirambo M, Imirzalioglu C, Matee M, Rweyemamu M, Chakraborty T, Mshana SE. 2016.** Multiple ESBL-Producing *Escherichia coli* Sequence Types Carrying Quinolone and Aminoglycoside Resistance Genes Circulating in Companion and Domestic Farm Animals in Mwanza, Tanzania, Harbor Commonly Occurring Plasmids. Front. Microbiol. 7 :142. doi: 10.3389/fmicb.2016.00142

211. **Servin AL. 2005.** Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 18(2): 264–292. doi: 10.1128/CMR.18.2.264-292.2005.

212. **Sethuvel DPM, Bakthavatchalam YD, Karthik M, Irulappan M, Shrivastava R, Periasamy H, Veeraraghavan B. 2023.** β-Lactam Resistance in ESKAPE Pathogens Mediated Through Modifications in Penicillin-Binding Proteins: An Overview. Infect Dis Ther. 12(3):829-841. doi: 10.1007/s40121-023-00771-8.

213. **Shafiq M, Rahman SU, Bilal H, Ullah A, Noman SM, Zeng M, Yuan Y, Xie Q, Li X, Jiao X.** Incidence and molecular characterization of ESBL-producing and

colistin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from healthy food-producing animals in Pakistan. J Appl Microbiol. 133(3):1169-1182. doi: 10.1111/jam.15469**.**

214. **Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. 1993.** Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev. 57: 138-63.

215. **Shin SW, Shin MK, Jung M, Belaynehe KM, Yoo HS. 2015.** Prevalence of Antimicrobial Resistance and Transfer of Tetracycline Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolates from Beef Cattle. Appl Environ Microbiol. 81(16):5560-6. doi: 10.1128/AEM.01511-15.

216. **Shiraki Y, Shibata N, Doi Y, Arakawa Y. 2004**. *Escherichia coli* produciendo CTX-M-2 betalactamasa en el ganado, Japón. Emerg Infect Dis. 10(1):69-75. doi: 10.3201/eid1001.030219.

217. **Signorini M**. **2008.** Rastros municipales y su impacto en la salud publica. Nacameh 2(1): 1-24.

218. **Song J, Oh SS, Kim J, Park S, Shin J. 2020.** Clinically Relevant Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates From Food Animals in South Korea. Front Microbiol. 11:604. doi: 10.3389/fmicb.2020.00604.

219. **Soto Z, Pérez L, Estrada D. 2016.** Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada em Colombia. Salud Uninorte 32(1): 105-122.

220. **Sougakoff W, Goussard S, Courvalin P. 1988.** The β-lactamasa TEM3 which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM2 penicillinase by two amino acid. FEMS Microbiol. Lett. 56(3): 343-348. doi: 10.1111/j.1574-6968.1988.tb03204.x.

221. **Stanton TB. 2007.** Prophage-like gene transfer agents-novel mechanisms of gene exchange for Methanococcus, Desulfovibrio, Brachyspira, and Rhodobacter species. Anaerobe. 13(2):43-9. doi: 10.1016/j.anaerobe.2007.03.004.

222. **Suarez C, Gudiol F. 2009.** Antibióticos betalactámicos. Enferm infecc Microb Clin. 27(2):116-129. doi: 10.1016/j.eimc.2008.12.001.

223. **Sudarwanto M, Lukman D, Latif H, Pisestyani H, Sukmawinata E, Akineden Ö, Usleber E. 2016.** CTX-M producing *Escherichia coli* isolated from cattle feces

in Bogor slaughterhouse, Indonesia. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 6(7): 605-608. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.05.001.

224. **Sumano H. 2006.** Farmacología Veterinaria. 3era Edición. México. Editorial Mc. Graw Hill. 1066p.

225. **Tadesse DA, Li C, Mukherjee S, Hsu CH, Bodeis Jones S, Gaines SA, Kabera C, Loneragan GH, Torrence M, Harhay DM, McDermott PF, Zhao S. 2018.** Whole-Genome Sequence Analysis of CTX-M Containing *Escherichia coli* Isolates from Retail Meats and Cattle in the United States. Microb Drug Resist.24(7):939-948. doi: 10.1089/mdr.2018.0206.

226. **Tamang MD, Nam HM, Kim SR, Chae MH, Jang GC, Jung SC, Lim SK. 2013.** Prevalence and molecular characterization of CTX-M β-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from healthy swine and cattle. Foodborne Pathog Dis. 10(1):13-20. doi: 10.1089/fpd.2012.1245.

227. **Thakuria B, Lahon K. 2013.** The Beta Lactam Antibiotics as an Empirical Therapy in a Developing Country: An Update on Their Current Status and Recommendations to Counter the Resistance against Them. J Clin Diagn Res. 7(6):1207-14. doi: 10.7860/JCDR/2013/5239.3052.

228. **Thomas CM, Nielsen KM.2005**. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. Nat Rev Microbiol. 3(9):711-21. doi: 10.1038/nrmicro1234.

229. **Trujillo A. 2012.** Evaluación de los riesgos del consumo de alimentos cuando se incumplen las Buenas Prácticas de Higiene y Manipulación. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición 22(2):257-269.

230. **Umair M, Mohsin M, Ali Q, Qamar MU, Raza S, Ali A, Guenther S, Schierack P.2019.** Prevalence and Genetic Relatedness of Extended Spectrum-β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Among Humans, Cattle, and Poultry in Pakistán. Microb. Drug Resist. 25(9): 1374–1381. doi:10.1089/mdr.2018.0450.

231. **Ur Rahman S, Ali T, Ali I, Khan NA, Han B, Gao J. 2018.** The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases. Biomed Res Int. 2018:9519718. doi: 10.1155/2018/9519718.

232. **Vakili M, Goli H, Javidnia J, Alipour T, Eslami M. 2025.** Genetic diversity and antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates causing septicemia: A

phylogenetic typing and PFGE analysis. Diagn Microbiol Infect Dis. 111(1):116586. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2024.116586.

233. **Valat , Auvray F, Forest K, Metayer V, Gay E, de Garam C, Madec J. 2012.** Phylogenetic grouping and Virulence Potential of Extended-Spectrum-Beta Lactamase-producing *Escherichia coli* strains in cattle. Applied and Environmental Microbiology. 78(13): 4677-4682. Doi: 10.1128/AEM.00351-12.

234. **Valdiviezo N, Villalobos L, Martínez R. 2006.** Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumana-Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 26(2): 95-100.

235. **Valencia V, Acero V. 2013.** Comparación de ácido láctico, ácido peroxiacético e hipoclorito de sodio en la desinfección de canales bovinas en un frigorífico de Bogotá, Colombia. Rev. Med. V. (26): 13-23. doi: 10.19052/mv.2632.

236. **Valentín L, Sharp H, Hille K, Seibtc U, Fischer J, Pfeifer Y, Brenner G, Nickelf S, Schmiedel J, Falgenhauer L, Friese A, Bauerfeind R, Roesler U, Imirzalioglu C, Chakraborty R, Valenza G, Werner G, Schwarz S, Guerra B, Appel B, Kreienbrock L, Käsbohrer A. 2014.** Subgrouping of ESBL-producing *Escherichia coli* from animal and human sources: An approach to quantify the distribution of ESBL types between different reservoirs. International Journal of Medical Microbiology 304(7): 805-816. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.07.015.

237. **Vega V, Talavera M, Barba J, Zepeda A, Reyes N.** 2020. Rev. Mex Cienc Pecu. 11(4): 991-1003. doi: 10.22319/rmcp.v11i4.5073.

238. **Venegas C, Mercado M, Campos C. 2014.** Evaluación de la calidad microbiológica del agua para consumo y del agua residual en una población de Bogotá(Colombia). Revista Biosalud 13(2): 24-35.

239. **von Wintersdorff CJ, Penders J, van Niekerk JM, Mills ND, Majumder S, van Alphen LB, Savelkoul PH, Wolffs PF. 2016.** Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. Front Microbiol. 7:173. doi: 10.3389/fmicb.2016.00173.

240. **Wang Z, Lu Q, Mao X, Li L, Dou J, He Q, Shao H, Luo Q. 2022.** Prevalence of Extended-Spectrum β-Lactamase-Resistant Genes in *Escherichia coli* Isolates from Central China during 2016–2019. Animals 12(22): 3191. doi:10.3390/ani12223191.

241. **Weintraub A. 2007**. Enteroaggregative *Escherichia coli:* Epidemiology, virulence and detection. J. Med. Microbiol. 56(Pt 1): 4–8. doi: 10.1099/jmm.0.46930-0.

242. **White DG, Hudson C, Maurer JJ, Ayers S, Zhao S, Lee MD, Bolton L, Foley T, Sherwood J. 2000.** Characterization of chloramphenicol and florfenicol resistance in Escherichia coli associated with bovine diarrhea. J Clin Microbiol. 38(12):4593-8. doi: 10.1128/JCM.38.12.4593-4598.2000.

243. **Woodford N, Fagan EJ, Ellington MJ. 2006**. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum (beta)-lactamases. J Antimicrob Chemother 57: 154-5. doi: 10.1093/jac/dki412.

244. **Xie Y, Hu Q, Zhao M, Cheng Y, Guo Y, Quian H, Yao W. 2017.** Simultaneous Determination of Erythromycin, Tetracycline, and Chloramphenicol Residue in Raw Milk by Molecularly Imprinted Polymer Mixed with Solid-Phase Extraction. Food Anal. Methods 11 (2): 374-381. doi:10.1007/s12161-017-1008-x.

245. **Yoon SH, Jeong H, Kwon SK, Kim JF. 2009.** Genomics, Biological Features, and Biotechnological Applications of *Escherichia coli* B: Is B for better?; En Lee SY, eds. Sysrems Biology and Biotechnology of *Escherichia coli*. 1° Ed. Germany: Springer p1-17.

246. **Yu D, Banting G, Neumann NF. 2021.** A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus Escherichia and the type species *Escherichia coli.* Can J Microbiol. 67(8):553-571. doi: 10.1139/cjm-2020-0508.

247. **Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. 2008.** Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance. FEMS Microbiol Rev. 32(2):361-85. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00095.x.

248. **Zarubica T, Baker MR, Wright HT, Rife JP. 2011.** The aminoglycoside resistance methyltransferases from the ArmA/Rmt family operate late in the 30S ribosomal biogenesis pathway. RNA. 17(2):346-55. doi: 10.1261/rna.2314311

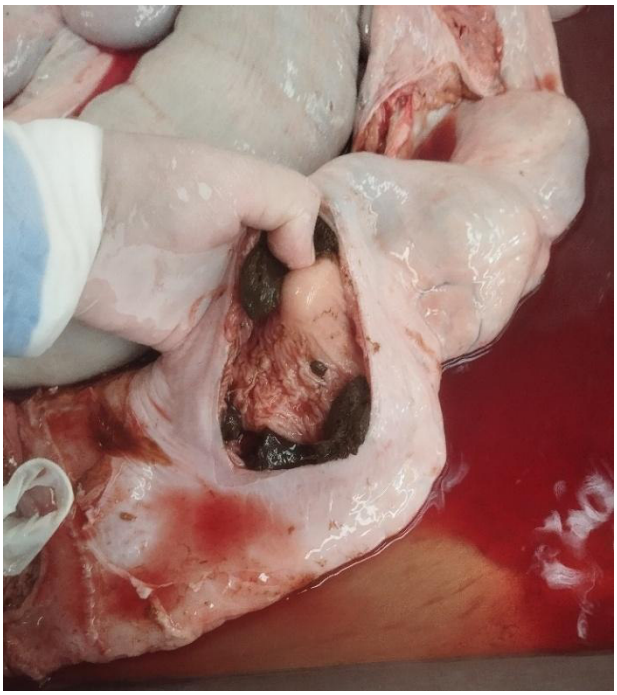
IX. ANEXOS

Anexo 1. Vista interna de la sala de lavado de vísceras de uno de los mataderos- Zona de recepción de vísceras



Anexo 2. Toma de muestras fecales bovinas, directamente del colon distal



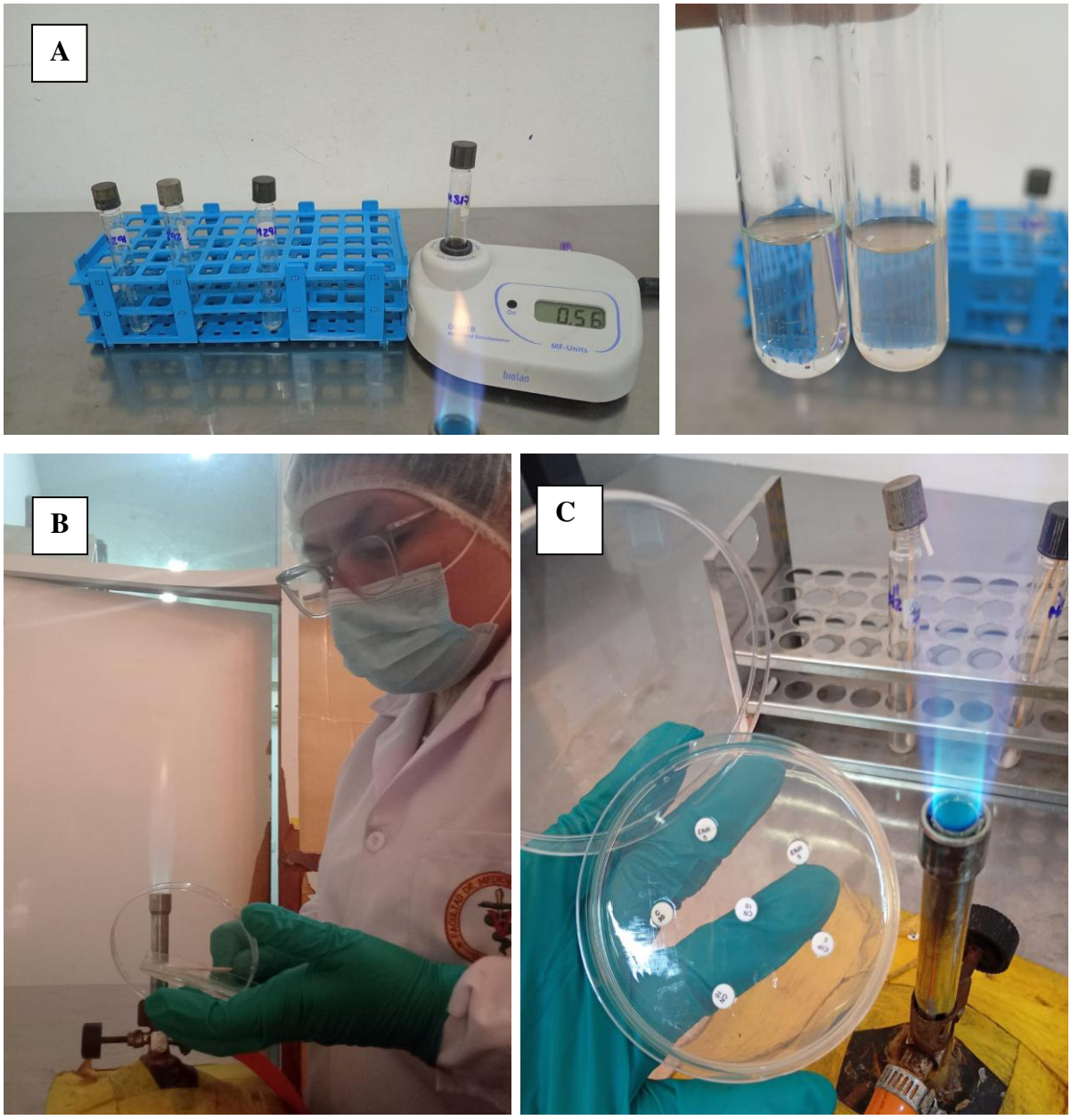


Anexo 3. Aislamiento de *E. coli* en medios selectivos (Agar MacConkey y agar EMB)





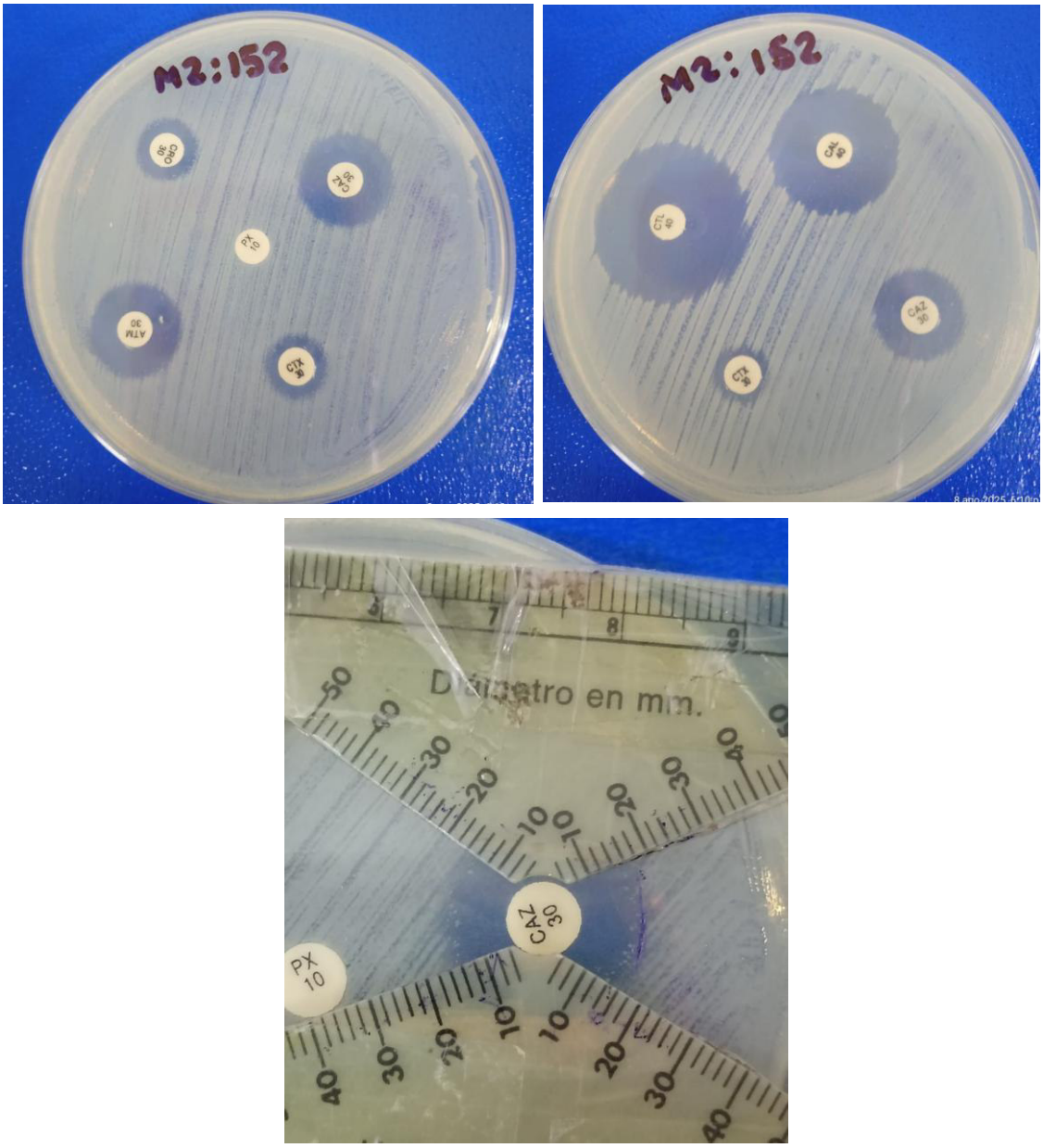
Anexo 4. Metodología para la detección fenotípica de EC-BLEE, por el método en difusión en disco (Kirby-Bauer)



A. Se estandarizó el inóculo bacteriano hasta alcanzar una turbidez de 0.5 en la escala McFarland. B. Se introdujo un hisopo estéril en la suspensión bacteriana estandarizada y se extendió uniformemente sobre toda la superficie de una placa con agar Mueller-Hinton. C. Se colocaron los discos de antibióticos de forma equidistante en la placa, luego se incubaron a 37°C por 16 a 18 horas.

Anexo 5. Medición del diámetro de halo de inhibición(mm), según lo establecido en el CLSI (2024)

B



Anexo 6. Datos de identificación y procedencias de las muestras fecales positivas a EC-BLEE procedentes de ambos mataderos

n	CODIGO DE MUESTRA	MATADERO	FECHA DE MUESTREO	N° VISCERA	SEXO	EDAD	PROCEDENCIA
1	201	**M1**	16/01/2024	14	H	vaca criolla	La libertad
2	202	**M1**	16/01/2024	16	H	vaca criolla	La libertad
3	205	**M1**	16/01/2024	25	H	chiruza	Lurín
4	211	**M1**	16/01/2024	41	H	chiruza	Lurín
5	212	**M1**	16/01/2024	44	H	chiruza	Lurín
6	213	**M1**	16/01/2024	46	H	chiruza	Lurín
7	231	**M1**	23/01/2024	66	H	cebú	Pasco
8	235	**M1**	23/01/2024	75	H	cebú	Pasco
9	239	**M1**	25/01/2024	69	H	chiruza	Lurín
10	242	**M1**	25/01/2024	83	H	chiruza	Lurín
11	253	**M1**	25/01/2024	112	M	viajero	Cajamarca
12	256	**M1**	1/02/2024	18	H	vaca criolla	Arequipa
13	259	**M1**	1/02/2024	25	H	chiruza	Lima
14	261	**M1**	1/02/2024	29	H	chiruza	Lurín
15	265	**M1**	1/02/2024	37	H	chiruza	Lurín
16	269	**M1**	1/02/2024	49	H	chiruza	Lurín
17	273	**M1**	1/02/2024	58	M	engorde	Lurín
18	275	**M1**	1/02/2024	62	M	engorde	Lurín
19	276	**M1**	1/02/2024	64	M	engorde	Lurín
20	277	**M1**	1/02/2024	66	M	engorde	Lurín
21	278	**M1**	1/02/2024	69	M	engorde	Lurín
22	279	**M1**	1/02/2024	73	M	engorde	Lurín
23	284	**M1**	8/02/2024	73	H	chiruza	Lurín
24	288	**M1**	8/02/2024	79	M	viajero	Lambayeque
25	289	**M1**	8/02/2024	81	M	viajero	Lambayeque
26	291	**M1**	8/02/2024	84	M	viajero	Lambayeque
27	293	**M1**	8/02/2024	88	M	viajero	Lambayeque
28	297	**M1**	8/02/2024	100	H	engorde	Lurín
29	317	**M1**	15/02/2024	46	M	viajero	Puno
30	319	**M1**	15/02/2024	49	H	vaca criolla	Arequipa
31	323	**M1**	15/02/2024	54	M	viajero	Cajamarca
32	325	**M1**	15/02/2024	58	M	viajero	Cajamarca
33	326	**M1**	15/02/2024	63	M	viajero	Cajamarca
34	328	**M1**	15/02/2024	75	H	chiruza	Ayacucho

35	331	**M1**	15/02/2024	78	H	Chiruza	Ayacucho

n	CODIGO DE MUESTRA	MATADERO	FECHA DE MUESTREO	N° VISCERA	SEXO	EDAD	PROCEDENCIA
36	39	**M2**	3/05/2023	148	M	engorde	Trujillo
37	52	**M2**	3/05/2023	280	M	engorde	Trujillo
38	54	**M2**	3/05/2023	288	M	engorde	Trujillo
39	56	**M2**	10/05/2023	180	M	engorde	Lurín
40	58	**M2**	10/05/2023	192	M	engorde	Puno
41	60	**M2**	10/05/2023	170	M	engorde	Puno
42	61	**M2**	10/05/2023	216	M	engorde	Puno
43	75	**M2**	10/05/2023	318	M	engorde	Trujillo
44	82	**M2**	17/05/2023	300	M	engorde	Trujillo
45	86	**M2**	17/05/2023	340	M	engorde	Puno
46	89	**M2**	17/05/2023	358	M	engorde	Puno
47	90	**M2**	17/05/2023	364	M	engorde	Lurín
48	96	**M2**	31/05/2023	300	M	engorde	Puno
49	99	**M2**	31/05/2023	330	M	engorde	Huancayo
50	109	**M2**	31/05/2023	406	M	engorde	Huaral
51	112	**M2**	31/05/2023	424	M	engorde	Huaral
52	116	**M2**	31/05/2023	448	M	engorde	Huaral
53	117	**M2**	31/05/2023	456	M	engorde	Puno
54	121	**M2**	31/05/2023	480	M	engorde	Lima
55	122	**M2**	31/05/2023	486	M	engorde	Lima
56	126	**M2**	31/05/2023	500	M	engorde	Huaral
57	137	**M2**	7/06/2023	400	M	engorde	Huaral
58	141	**M2**	7/06/2023	422	M	engorde	Puno
59	145	**M2**	21/06/2023	262	M	engorde	Puno
60	152	**M2**	21/06/2023	318	M	engorde	Puno
61	154	**M2**	21/06/2023	330	M	engorde	Puno

Anexo 7. Resultados de las pruebas fenotípicas y de los genes codificantes aislados de EC-BLEE

n	CODIGO DE MUESTRA	TAMIZAJE PARA DETECCION DE BLEE					CONFIRMACION DE BLEE		DETECCION DE GENES CODIFICANTES			
		CTX	CAZ	ATM	CRO	PX	CTL	CAL	CTXM1	CTXM2	CTXM9	TEM
1	201	28	25	30	25	24	34	26	1	0	1	0
2	202	27	25	28	27	24	33	25	1	0	0	0
3	205	27	25	27	29	28	34	26	1	0	0	0
4	211	27	25	28	30	28	33	28	1	0	0	0
5	212	27	26	29	31	25	34	30	0	0	1	0
6	213	26	17	25	23	22	31	20	0	0	1	0
7	231	27	25	30	27	20	32	25	1	0	0	0
8	235	27	29	31	28	24	32	28	0	0	1	0
9	239	28	20	27	31	22	34	25	1	0	0	0
10	242	27	28	30	29	18	34	27	1	0	0	0
11	253	26	26	29	27	20	31	22	1	1	0	1
12	256	27	27	29	28	24	34	27	0	0	1	0
13	259	25	22	25	22	18	31	26	1	1	0	1
14	261	26	22	29	30	24	31	25	1	0	0	0
15	265	18	0	25	31	18	23	0	0	0	0	0
16	269	31	22	30	32	24	35	30	0	0	0	0
17	273	27	25	31	27	22	34	26	1	0	0	0
18	275	26	25	30	26	24	29	30	1	0	0	0
19	276	27	25	34	29	24	35	0	0	0	0	0
20	277	26	0	27	31	25	32	25	1	1	0	0
21	278	30	24	30	25	25	35	29	1	0	0	0
22	279	27	23	32	32	25	32	27	1	0	0	0
23	284	27	25	32	32	25	35	28	1	0	0	0
24	288	27	25	33	31	24	33	30	0	0	0	0
25	289	35	22	31	27	20	38	30	1	1	0	0
26	291	24	22	27	25	18	31	25	0	0	0	0
27	293	27	32	34	32	24	37	32	1	0	0	0
28	297	26	27	30	29	24	31	24	1	0	0	0
29	317	27	22	30	30	20	35	30	0	0	0	0
30	319	27	25	25	25	18	33	27	1	1	0	0

31	323	27	24	30	28	22	32	28	0	0	0	0
32	325	27	22	32	30	18	32	27	1	1	0	0
33	326	24	25	29	27	24	35	25	0	0	0	0
34	328	27	22	31	28	20	31	28	1	1	0	0
35	331	27	28	34	27	28	32	26	0	0	0	0
36	39	26	26	30	26	26	32	26	1	0	0	0
37	52	27	29	29	27	24	32	29	1	1	0	0
38	54	27	25	34	28	28	32	25	1	1	0	0
39	56	26	26	32	26	28	34	26	1	0	0	0
40	58	27	27	30	28	28	34	28	1	1	0	0
41	60	27	28	31	28	28	33	22	1	0	0	0
42	61	27	26	28	26	24	31	21	1	0	0	0
43	75	26	26	29	26	28	32	25	1	0	0	0
44	82	27	28	29	27	28	35	28	1	0	0	0
45	86	26	26	30	27	24	32	27	1	0	0	0
46	89	26	27	30	27	24	32	26	0	0	0	0
47	90	25	26	27	26	24	31	26	1	0	0	0
48	96	27	29	32	27	28	34	30	1	0	0	0
49	99	25	25	26	25	24	30	25	1	0	0	0
50	109	27	26	29	26	24	32	26	0	0	0	0
51	112	26	26	28	26	26	32	26	1	0	0	0
52	116	27	28	34	27	28	35	28	1	1	0	0
53	117	27	26	30	27	24	32	27	1	0	0	0
54	121	27	29	31	28	24	34	28	1	0	0	0
55	122	26	27	30	26	24	31	28	1	0	0	0
56	126	32	22	29	31	22	35	28	1	0	0	0
57	137	7	7	10	10	10	12	12	1	0	0	0
58	141	27	29	34	28	24	34	28	0	0	1	0
59	145	10	12	13	12	16	30	30	1	0	0	1
60	152	12	15	14	14	15	30	19	1	0	0	0
61	154	10	7	12	12	14	31	21	1	1	0	1

***Detección de genes: (0) no se detectó, (1) se detectó**

Anexo 8. Resultados de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de EC-BLEE

		TE	AMP	AML	C	F	STX	ENR	NA	CIP	CL	N	CN	MDR
		≤11	≤13	≤13	≤12	≤14	≤10	≤21	≤13	≤21	≤14	≤16	≤14	
1	201	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NO
2	202	R	I	R	S	I	S	R	I	I	S	R	S	NO
3	205	R	R	R	S	S	I	R	I	R	S	S	S	**SI**
4	211	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S	NO
5	212	I	I	I	S	I	S	I	S	S	I	I	S	NO
6	213	I	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	NO
7	231	S	S	I	S	S	S	R	R	R	S	I	S	NO
8	235	R	I	I	S	I	S	R	R	R	R	R	S	**SI**
9	239	R	R	I	R	I	S	R	R	I	R	I	S	**SI**
10	242	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NO
11	253	S	I	R	S	I	S	I	S	S	I	R	I	NO
12	256	S	S	I	S	S	S	R	R	S	S	I	S	NO
13	259	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NO
14	261	R	R	R	I	I	S	R	I	R	R	R	I	**SI**
15	265	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	**SI**
16	269	I	R	R	S	S	I	R	R	R	I	S	S	**SI**
17	273	S	I	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	NO
18	275	I	R	I	S	I	S	I	S	I	R	I	S	NO
19	276	S	I	I	S	S	S	S	S	I	I	R	S	NO
20	277	I	I	R	S	S	S	R	S	I	I	I	S	NO
21	278	R	S	S	S	S	S	R	I	I	S	I	S	NO
22	279	R	I	I	S	S	S	R	R	I	R	R	S	NO
23	284	R	S	S	S	R	S	R	R	I	R	R	I	NO
24	288	S	S	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	NO
25	289	R	R	R	I	I	S	S	I	I	R	R	S	**SI**
26	291	S	R	S	S	I	S	I	S	R	R	R	S	**SI**
27	293	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	**SI**
28	297	I	S	I	S	I	S	S	S	I	S	R	S	NO
29	317	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	NO

30	319	S	I	R	S	S	S	I	S	S	S	I	S	NO
31	323	R	S	I	S	S	S	R	I	S	S	I	S	NO
32	325	R	S	I	S	S	S	R	I	S	S	I	S	NO
33	326	R	S	S	S	S	S	I	I	I	I	I	S	NO
34	328	R	S	I	S	S	S	I	I	I	S	S	S	NO
35	331	S	S	I	S	S	S	R	I	R	S	S	S	NO
36	39	R	S	R	R	I	I	R	R	I	R	I	S	**SI**
37	52	R	I	S	S	S	S	I	S	S	R	R	S	NO
38	54	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	**SI**
39	56	R	R	I	R	I	S	R	I	I	R	I	S	**SI**
40	58	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S	NO
41	60	R	R	R	S	I	S	R	R	R	R	R	S	**SI**
42	61	I	R	R	R	I	I	S	S	R	S	I	S	**SI**
43	75	R	I	R	S	S	I	S	S	S	I	I	S	NO
44	82	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NO
45	86	R	I	I	S	R	I	R	R	I	S	S	S	NO
46	89	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NO
47	90	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	**SI**
48	96	R	R	I	R	R	S	R	R	R	R	R	S	**SI**
49	99	S	I	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	NO
50	109	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	I	S	NO
51	112	R	S	I	R	S	S	R	R	R	I	I	S	**SI**
52	116	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S	I	S	**SI**
53	117	R	R	R	S	I	S	R	R	R	R	R	I	**SI**
54	121	R	S	I	S	S	S	I	I	S	S	S	S	NO
55	122	R	S	I	S	S	S	R	I	I	I	S	S	NO
56	126	R	R	I	S	I	R	I	I	I	I	R	I	**SI**
57	137	R	R	R	S	I	S	R	R	R	R	R	I	**SI**
58	141	R	R	I	S	S	S	S	S	S	R	I	S	**SI**
59	145	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	**SI**
60	152	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	**SI**
61	154	R	R	R	S	S	R	I	S	S	S	R	S	**SI**

*TE: tetraciclina, AMP: ampicilina, AML: amoxicilina, C: cloranfenicol, F: nitrofurantoina, STX: sulfatrimetropim, ENR: enrofloxacina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacino, CL: cefalexina, N: neomicinia, CN: gentamicina. R: resistente ; S: sensible

Anexo 9. Protocolo de purificación de ADN de bacterias Gram negativas

PASOS	PROCEDIMIENTOS
1	Recoja hasta 2 × 10^9 células bacterianas en un tubo de microcentrífuga de 1.5 o 2 ml mediante centrifugación a 5000 × g durante 10 minutos. Descarte el sobrenadante.
2	Resuspenda el pellet en 180 µL de solución de digestión. Agregue 20 µL de solución de proteinasa K y luego mezcle bien mediante agitación en vórtex o pipeteo para obtener una suspensión uniforme.
3	Incube la muestra a 56 °C durante 30 minutos. Agite en vórtex ocasionalmente o use un baño de agua con agitación, una plataforma oscilante o un termomezclador hasta que las células estén completamente lisadas (30 min).
4	Agregue 20 µL de solución de ARNasa A. Mezcle mediante agitación en vórtex y luego incube la mezcla a temperatura ambiente durante 10 minutos.
5	Agregue 200 µL de solución de lisis a la muestra. Mezcle bien agitando con un vórtex durante unos 15 segundos hasta obtener una mezcla homogénea.
6	Agregue 400 µL de etanol al 50% y luego mezcle mediante pipeteo o agitando con un vórtex
7	Transfiera el lisado preparado a una columna de purificación de ADN genómico GeneJET™ insertada en un tubo de recolección. Centrifugue la columna a 6000 × g durante 1 minuto. Deseche el tubo de recolección que contiene la solución de flujo continuo. Coloque la columna de purificación de ADN genómico GeneJET™ en un nuevo tubo de recolección de 2 mL.
8	Agregue 500 µL de tampón de lavado I (con etanol agregado). Centrifugue a 8000 × g durante 1 minuto. Deseche el flujo continuo y luego coloque la columna de purificación nuevamente en el tubo de recolección.
9	Agregue 500 µL de tampón de lavado II (con etanol agregado) a la columna de purificación de ADN genómico GeneJET™. Centrifugue a ≥12 000 × g durante 3 minutos (Opcional) Si se observa solución residual en la columna de purificación, vacíe el tubo de recolección y luego centrifugue la columna nuevamente a ≥12 000 × g durante 1 minuto. Deseche el tubo de recolección que contiene la solución de flujo continuo y luego transfiera la columna de purificación de ADN genómico GeneJET™ a un tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 mL.
10	Agregue 200 µL de tampón de elución al centro de la membrana de la columna de purificación de ADN genómico GeneJET™ para eluir el ADN genómico. Incube a temperatura ambiente durante 2 minutos y luego centrifugue a 8000 × g durante 1 minuto.
11	Deseche la columna de purificación. Nota: Utilice el ADN purificado inmediatamente en aplicaciones posteriores o almacénelo a -20 °C.

Anexo 10. Protocolo para la lectura de los genes *bla* luego de la electroforesis

PASOS	PROCEDIMIENTOS
1	Se prepara el gel agarosa al 2% (1.65 gramos de agarosa para cada lectura de electroforesis, en 82.5 ml de buffer TBE 1X). Se homogeniza la mezcla en un matraz de vidrio y se disuelve con calor (microondas 2 min).
2	Se retiró el matraz del microondas y se esperó a que se enfríe la solución. Luego, se agregaron 4 ul de bromuro de etidio y se agitó el matraz suavemente.
3	La nueva solución se agregó a la bandeja de electroforesis con los peines respectivos en la parte superior e inferior.
4	Esperar 10 minutos hasta que enfríe completamente el gel y adicionar el buffer TBE 1X en la bandeja hasta que cubra el gel
5	Se adicionaron 5 µl de Ladder 500 bp en la primera rendija y 8 µl de producto de PCR de cada muestra en los demás pocillos
6	Se conecta la bandeja de electroforesis a la fuente de poder en 90 v durante 90 minutos
7	Se utilizó un transiluminador de luz UV para revelar el gel. Las bandas diagnósticas tenían la medida de cada control positivo para cada electroforesis ($bla_{CTX\text{-}M\text{-}1}$ 415 bp; $bla_{CTX\text{-}M\text{-}2}$ 552 bp; $bla_{CTX\text{-}M\text{-}9}$ 205 bp; bla_{TEM} 416 bp y bla_{SHV} 392 bp)