

## Resistencia antibiótica más allá de los patógenos: un estudio en bacterias ambientales

Antibiotic resistance beyond pathogens: antibiotic a study in environmental

Vázquez García Paulina I.<sup>1</sup>, Valtierra Arzola Hugo<sup>2</sup>, Villalpado Flores Luz A.<sup>3</sup>, Jaime Hernández Aylín E.<sup>4</sup>, Angel Sahagún Cesar A.<sup>5</sup>, Tafoya García Jose L.<sup>5</sup> Pérez-Guiot Alfredo<sup>3</sup>, Hernández-Marín José A.<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, DICIVA, CIS, Universidad de Guanajuato. <sup>4</sup> Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, DICIVA, CIS, Universidad de Guanajuato. <sup>5,6</sup> Departamento de Veterinaria y Zootecnia, DICIVA, CIS, Universidad de Guanajuato

[csahagun@ugto.mx](mailto:csahagun@ugto.mx) <sup>5</sup>

### Resumen

Se realizó este experimento en el Laboratorio de Producción y Salud Animal (LPSA), evaluó la resistencia antibiótica de 10 cepas de bacterias obtenidas de suelos pecuarios y agrícolas, estos suelos tienen comúnmente microcontaminantes como antibióticos. Se realizó un cultivo con la técnica de dispersión por disco en agar Mueller Hinton, se utilizó en antibiograma PT\_35 Multibac I.D. para bacterias agar Gram - con 12 diferentes antibióticos, se colocaron en el cultivo y fueron incubados por 24 horas. Los resultados se evaluaron en Sensible, Resistente e Intermedio, estos fueron variados, las cepas usadas fueron resistentes al menos a 4 antibióticos, en todas se observó resistencia a la Ampicilina.

**Palabras clave:** Resistencia, antibióticos, suelo.

### Introducción

Los antibióticos son un tipo de medicamento que resulta muy conveniente, actúa directamente sobre las bacterias inhibiendo su crecimiento, se desempeña sobre los seres procariotas y es escasa o nula su acción en las células eucariotas (Pastor-Sánchez, 2006). A la medicina veterinaria y en general a las profesiones enfocadas a la salud pública, a través del tiempo se les ha otorgado la responsabilidad de manejar antibióticos, estos llegando a ser usados de manera desmedida, si bien ahora es algo que se está intentando regular, en la cultura popular ya está normalizado su uso indiscriminado; esto ha causado un problema de manera global ya que se ha visto incremento en la resistencia bacteriana a los antibióticos (Gérvas, 2000). Al momento de que estos fármacos sean excretados, de la manera óptima podrían llegar a una estación de depuración de aguas residuales, pero estas eliminan materia orgánica, no microcontaminantes, es por eso por lo que es tan fácil encontrar bacterias con resistencia en ríos, lagos, playas y suelos (Alzola-Andrés *et al.*, 2023).

En 1993 en España se registró un consumo antibiótico de 19 dosis diarias por cada 1000 habitantes; en una investigación que analizó los periodos de 1993-1996, 2000 y 2002 (Solé-López *et al.*; 2004). En los noventa, se observó en diversos países europeos la diseminación de cepas de *Enterococcus*, con alta resistencia a la vancomicina, en cepas de alimentos, aguas residuales, heces de humanos y animales sanos (Michael-Pugh, 2002). Lo anterior supone un problema en la clínica humana, ya que la vancomicina constituye a veces la única alternativa terapéutica en el tratamiento de infecciones graves por *Enterococcus* multirresistentes (Fariña y Torres, 2007). Inicialmente en la producción pecuaria se pensó en la posibilidad de que el uso de avoparcina como promotor del crecimiento animal, pudo haber contribuido a que las cepas de *Enterococcus* fueran resistentes a la vancomicina en animales. A partir de esto la Unión Europea prohibió el uso de avoparcina como promotor del crecimiento animal (Torres y Zarazaga, 2002).

*Photorhabdus* y *Xenorhabdus* comienzan el ciclo de vida en el tracto digestivo del nematodo entomopatógeno, de los que son simbioses, los individuos juveniles acumulan selectivamente la bacteria en su interior, hasta que la liberan por regurgitación dentro de algún insecto (ciche *et al.*, 2003). De esta manera, la bacteria se transmite entre las larvas de diferentes especies de insectos que generalmente se encuentran en el suelo, estos son su hospedador final, mueren rápidamente tras ser infectadas debido a las toxinas bacterianas. Los nematodos parten de la carcasa del insecto, volviendo a comenzar el ciclo de transmisión (Münch *et al.*, 2008).

Al estar en suelos contaminados por antibióticos algunas bacterias crean resistencia por su prolongado contacto con ellos, las bacterias en estudio se han recolectado de suelo pecuarios o agrícolas, suelos donde comúnmente hay presencia de antibióticos, ya que las actividades realizadas en ellos los requieren (Gentile *et al.*, 2024). Es importante abordar estos temas ya que representa una amenaza grave para la salud pública mundial. Las bacterias que antes se controlaban fácilmente con antibióticos ahora prolongan en su estadía en el cuerpo, Las personas con infecciones resistentes tardan en sanar, esto prolonga el uso de los antibióticos, llegando a incrementar el costo del tratamiento y a reforzar su resistencia (Moncayo-Medina, 2014). Al analizar la resistencia de las bacterias *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, sabremos que antibióticos contaminan nuestros suelos, sean pecuarios o agrícolas.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Laboratorio de Producción y Salud Animal (LPSA), de la División Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato.

Las cepas de bacterias *Photorhabdus* fueron proporcionadas por el (LPSA), las cuales inicialmente fueron colectadas y aisladas de suelos agrícolas y pecuarios del estado de Guanajuato. Inicialmente las bacterias fueron recuperadas y cultivadas en agar Mueller-Hinton (Pujol *et al.*, 2008).

Se comenzó preparando 400 ml de agar Mueller Hinton, se diluyeron 15.2 g de agar en un matraz con 400 ml de agua potable, cuando este se diluyó completamente se metió un ciclo a la autoclave, al enfriarse el matraz y su contenido se pasó a una campana de flujo laminar con un mechero de Bunsen encendido para posteriormente vaciarlo en cajas de Petri, aproximadamente 5 mm de la caja, después de 25 minutos se emplearon y refrigeraron hasta su uso. Para realizar los antibiogramas, se utilizaron 10 cepas, 5 con origen agrícolas MA1, MA15, MA3, MA6, MA7 y 5 con origen pecuario MP1, MP2, MP3, MP4, MP5. Se cultivó cada cepa en caldo Mueller Hinton y se incubaron a 25°C durante 24 horas. El procedimiento para el antibiograma consistió en colocar 35 µL del Caldo Muller Hinton con la cepa sobre el agar Muller Hinton y con ayuda de un dispersor celular y un asa triangular estéril se inoculó toda la superficie de la caja de petri, asegurando una distribución homogénea de la muestra, al finalizar de dispersar la muestra se colocó sobre el agar el antibiograma PT-35 Multibac I.D. para bacterias Gram - que incluyó los antibióticos: Amikacina (AK), Ampicilina (AM), Carbenicilina (CB), Cefalotina (CF), Cefotaxima (CFX), Ciprofloxacino (CPF), Cloranfenicol (CL), Gentamicina (GE), Netilmicina (NET), Nitrofurantoina (NF), Norfloxacino (NOF), Sulfametoxazol/Trimetoprim (SXT), se incubaron a 25°C durante 24 horas. Del mismo modo se dejó un agar y un cultivo bacteriano como testigo negativo y positivo. Pasadas las 24 horas de incubación se determinó cuantitativamente la sensibilidad de las cepas a cada antibiótico mediante la medición del diámetro de los halos de inhibición que se formaron alrededor de los discos, se utilizó para esto un vernier digital. Con base a las medidas obtenidas para cada antibiótico se clasificaron las cepas como sensibles, intermedias o resistentes (Cantón, 2010).

## Resultados

Los resultados obtenidos en la investigación evidencian que las cepas presentan niveles significativos de resistencia, estos sugieren un uso intensivo de antimicrobianos como lo son los antibióticos. Las cepas usadas fueron resistentes al menos a 4 antibióticos. En todas las cepas se observó resistencia a la Ampicilina.

Las cepas agrícolas fueron resistentes a la AM, CB, CF y NF; no mostraron total sensibilidad a ningún antibiótico. Las pecuarias fueron resistentes a la AM y NET; fueron totalmente sensibles a el SXT.

**Tabla 1.** Resultados de susceptibilidad de cepas bacterianas aisladas de suelos agrícolas a los antibióticos comúnmente utilizados en la producción pecuaria y agrícola.

| ANTIBIÓTICO /<br>CEPA | PECUARIAS |     |     |     |     | AGRÍCOLAS |      |     |     |     |
|-----------------------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----------|------|-----|-----|-----|
|                       | MP1       | MP2 | MP3 | MP4 | MP5 | MA1       | MA15 | MA3 | MA6 | MA7 |
| NF                    | I         | S   | R   | R   | R   | R         | R    | R   | R   | R   |
| SXT                   | S         | S   | S   | S   | S   | S         | S    | S   | I   | S   |
| CL                    | I         | I   | I   | I   | I   | I         | S    | R   | I   | S   |
| NOF                   | I         | I   | R   | R   | I   | I         | I    | R   | S   | S   |
| CPF                   | I         | R   | I   | R   | I   | I         | S    | I   | S   | S   |
| NET                   | R         | R   | R   | R   | R   | S         | I    | S   | S   | S   |
| CFX                   | I         | I   | R   | I   | S   | S         | I    | I   | I   | I   |
| CF                    | R         | R   | I   | R   | R   | R         | R    | R   | R   | R   |
| GE                    | R         | I   | R   | R   | I   | I         | R    | R   | S   | S   |
| CB                    | R         | R   | R   | I   | R   | R         | R    | R   | R   | R   |
| AK                    | R         | S   | R   | I   | S   | I         | S    | R   | S   | S   |
| AM                    | R         | R   | R   | R   | R   | R         | R    | R   | R   | R   |

S: Sensible, R: Resistente, I: Intermedia

Amikacina (AK), Ampicilina (AM), Carbenicilina (CB), Cefalotina (CF), Cefotaxima (CFX), Ciprofloxacino (CPF), Cloranfenicol (CL), Gentamicina (GE), Netilmicina (NET), Nitrofurantoína (NF), Norfloxacino (NOF), Sulfametoxazol/Trimetoprim (SXT).

El antibiótico que presentó mayor sensibilidad en las cepas fue el Sulfametoxazol/Trimetoprim, siendo Intermedio solo en MA6.

## Conclusión

Con los resultados obtenidos podemos concluir que las cepas si fueron afectadas por su exposición continua a residuos antimicrobianos, mostraron distintos grados de resistencia a los antibióticos evaluados. Esta investigación subraya la necesidad de mejorar el manejo y distribución de antibióticos en las practicas agropecuarias.

## Bibliografía/Referencias

- Alozola-Andrés, M., Domingo-Echaburu, S., Nogales-García, M., Palacios-Zabalza, I., Urrutia-Losada, A., Arteche-Elguizabal, L., Lopez de torre-Querejazu, I., Quintana-Basterra, A., Orive, G., Lertxundi, U. 2023. El impacto ambiental de los medicamentos: una mirada desde la farmacia hospitalaria. *Farmacia Hospitalaria*. 48, 13-20.
- Cantón, R, 2010. Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica, *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 28,375-385.
- Ciche, Todd A., Ensing, Jerald C. 2003. For the Insect Pathogen *Photorhabdus luminescens*, Which End of a Nematode Is Out? *Applied and Environmental Microbiology* .69, 1890-1897.
- Fariña, M., Torrez, c. 2007. Enterococo ¿Un patógeno emergente en nuestros hospitales? *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 25, 500-502.
- Gentile, A., Di-Stasio, L., Olivia, G., Vigliotta, G., Ciatelli, A., Guarino, F., Guidi-Nissim, W., Labra, M., Castiglione, S. 2024. Antibiotic resistance in urban soils: Dynamics and mitigation strategies. *Environmental Research*. 263, 120-125.
- Gérvás, J., 2000. La resistencia a los antibióticos, un problema de salud pública. *Cesca*. 25, 1-6.
- Michael-Pugh, D. 2002. Prohibiciones cautelares de la UE sobre los antibióticos aditivos en la alimentación animal. *Cartas de toxicología*. 128, 35-44.
- Moncayo-Medina, A. 2014. La resistencia a los antibióticos y la falta de interés de la industria farmacéutica. *Infecto, Asociación Colombiana de Infectología*. 18, 35-36.
- Münch, Anna., Stingl, L., Jung, K., Heermaan, R. 2008. *Photorhabdus luminescens* genes induced upon insect infection. 9, 229.
- Pastor-Sánchez, R., 2006. Alteraciones del nicho ecológico: resistencias bacterianas a los antibióticos. *Ecosalud y participación social*. 4, 1-7.
- Pujol, I., Javier-Pastor, F., Dos Santos-Lazéra, M., Guarro, J. 2008. Evaluación del método de difusión en agar Neo-Sensitabs para la determinación de la sensibilidad a los antifúngicos de *Cryptococcus gatti*, utilizando tres medios de cultivo diferentes. *Revista Iberoamericana de Micología*. 25, 215-220.
- Solé-López, J., Rodríguez-Palomar, V., Vidosa, G., Juncadella-García, E. 2004. Consumo de antibióticos y su posible relación con la resistencia bacteriana en la región sanitaria Costa de Ponent: análisis evolutivo durante los períodos inicial y final de la última década. *Atención primaria*. 34, 128-133.
- Torres, C., Zarazaga, M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. ¿Vamos por el buen camino? *Departamento de Agricultura y Alimentación*. 16, 109-12.