



Escherichia coli y *Salmonella* spp. portadoras de *mcr-1* en planta de beneficio porcino, Medellín (Colombia)

Carlos A. Palacio-Arias¹ ; Astrid V. Cienfuegos-Gallet² 
Jorge A Fernández-Silva¹ ; Laura Vásquez-Jaramillo^{1*} 

¹Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Medicina Veterinaria, grupo de investigación Centauro, Ciudadela Robledo, Medellín, Colombia.

²Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología, Grupo de Microbiología Molecular, Medellín, Colombia.

*Correspondencia: laura.vasquezj@udea.edu.co

Recibido: Marzo 2023; Aceptado: Julio 2023; Publicado: Agosto 2023.

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la resistencia adquirida a colistina mediada por el gen *mcr-1* en aislados de *E. coli* y *Salmonella* spp., de muestras de materia fecal de porcinos con destino a consumo humano en planta de beneficio animal de Medellín, Colombia. **Materiales y métodos.** Se realizó un estudio descriptivo, tomando 190 muestras de materia fecal de porcinos durante marzo del 2020. Para la tamización de enterobacterias resistentes a colistina se utilizó agar cromogénico y MacConkey suplementado con sulfato de colistina (2 mg/l). Los aislados fueron analizados mediante PCR para identificar el gen *mcr-1*, identificación bacteriana y perfil de susceptibilidad antibiótica a los aislados positivos al gen *mcr-1* por el sistema automatizado Microscan®. La información fue registrada y analizada mediante estadística descriptiva. **Resultados.** La frecuencia de porcinos con aislados resistentes a colistina en la tamización fue del 70.52% (134/190). El 15.78% (30/190) portadores del gen *mcr-1* de los cuales el 1.05% (2/190) pertenecieron a la especie *Salmonella enterica* y el 4.21% (8/190) *E. coli*. Se identificó en los aislados positivos al gen *mcr-1* la capacidad de resistir la acción de múltiples antibióticos (10/10), y una *E. coli* con la habilidad de producir betalactamasas de espectro extendido (BLEE). La mayoría de los cerdos con enterobacterias portadoras del gen *mcr-1* provenían de granjas del departamento de Antioquia, y todos en etapa de levante y ceba. **Conclusiones.** Este estudio evidencia la circulación del gen *mcr-1* en cerdos al sacrificio, representando un riesgo potencial para la salud pública por su posible entrada a la cadena alimentaria.

Palabras clave: Colistina; enfermedades transmitidas por los alimentos; *Enterobacteriaceae*; Fármacoresistencia microbiana (Fuente: DeSC).

ABSTRACT

Objective. This study aimed to evaluate the acquired *mcr-1* gene-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. isolates obtained from fecal samples in pigs destined for human consumption at slaughterhouse located in Medellín (Colombia). **Materials and methods.**

Como citar (Vancouver).

Palacio Arias CA, Cienfuegos-Gallet AV, Fernández-Silva JA, Vásquez-Jaramillo L. *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. portadoras de *mcr-1* en planta de beneficio porcino, Medellín (Colombia). Rev MVZ Córdoba. 2023; 28(3):e3219. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3219>



©El (los) autor (es) 2023. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

A descriptive study was carried out, in which 190 fecal samples were collected from pigs at the slaughterhouse in March 2020. Colistin sulfate-supplemented chromogenic and MacConkey agars were used for the screening of colistin-resistant enterobacteria. The selected isolates were analyzed by PCR to identify the presence of the *mcr-1* gene. Bacterial identification and antibiotic susceptibility profile were performed on *mcr-1* gene-positive isolates by the automated Microscan® system. The information was collected and analyzed using descriptive statistics. **Results.** The 70.52% (134/190) of the animals were positive for colistin-resistant isolates by the screening test. The 15.78% (30/190) of the isolates were *mcr-1* gene carriers, of which 1.05% (2/190) belong to *Salmonella enterica* species and 4.21% (8/190) were *E. coli*. A multiple antibiotics resistance profile (10/10) and an extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) -producing *E. coli* were identified in all the isolates carrying the *mcr-1* gene. Most of the pigs with enterobacteria carrying the *mcr-1* gene came from farms located in the province of Antioquia, and all belonged to the growing-finishing production stage. **Conclusions.** This study evidences the circulation of the *mcr-1* type gene in pigs at the time of slaughter, representing a potentially serious threat to public health due to possible implications in the food chain.

Keywords: Drug resistance; colistin; colistin; *Enterobacteriaceae*; foodborne diseases (Source: DeSC).

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli y *Salmonella* spp. son bacterias entéricas comensales comunes a humanos y animales, importantes por su potencial riesgo zoonótico causantes de enfermedades de origen alimentario, con efectos importantes en la economía de los países (1). De igual manera, son agentes causantes de enfermedades en porcinos, que causan grandes pérdidas económicas debido al aumento en la mortalidad, la disminución en la ganancia de peso y los costos relacionados con tratamientos (2).

Dentro del grupo de antibióticos polimixinas se encuentra la colistina, éste fue ampliamente usado en porcinos como promotor del crecimiento (3), y para el tratamiento de infecciones entéricas (4). Asimismo, debido a la emergencia de patógenos Gramnegativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos, se reintrodujo la colistina para su uso clínico en humanos entre la década de los ochenta y mediados de los noventa a nivel mundial (5,6).

Como consecuencia del amplio uso de la colistina, se ha registrado un aumento en la resistencia a este antibiótico en bacterias de humanos y animales (7). La resistencia a colistina se debe a la modificación del lipopolisacárido bacteriano a través de dos mecanismos principales: uno cromosómico, moderado por cambios genéticos en el sistema regulatorio de PhoPQ-PmrAB y, otro plasmídico, mediado por el gen de resistencia móvil a colistina (*mobile colistin resistance, por sus siglas en inglés*) (4). Este último, es considerado de mayor importancia por su rápida diseminación, incluso entre bacterias patógenas

de diferentes especies mediante mecanismos de transferencia horizontal (5).

La resistencia a colistina por *mcr* fue reportada inicialmente en China en *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, de origen porcino a nivel de planta de beneficio animal, en carne de cerdo y de pollo (4). Actualmente, se han reportado diez variantes del gen *mcr* (8,9,10,11,12,13), siendo el *mcr-1* la más frecuente (14). Específicamente en porcinos, el gen *mcr-1* fue identificado en aislados de *E. coli* y *Salmonella* spp., a nivel de granjas, plantas de beneficio y en carne cruda, en diferentes lugares de los continentes asiático, americano y europeo (15).

En Colombia se reportó el gen *mcr-1* en aislados humanos de *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*, y *K. pneumoniae* (16). Asimismo, se identificó el gen *mcr-1* en aislados de *Salmonella enterica* en alimentos de origen animal (17) y en 86 aislamientos de *E. coli* provenientes de una granja porcícola (18). Recientemente, fue publicado la detección de este mismo gen en un 43.2% (240/555) de aislados crioconservados de *Salmonella* spp. provenientes de porcinos, aves, bovinos, equinos, caninos, peces, cuyes y tortugas morrocoy de diferentes partes del país (19).

Teniendo presente la posibilidad de que los porcinos actúen como reservorios de bacterias con resistencia a antibióticos, es importante monitorear la presencia de este tipo de microorganismos portadores de genes de resistencia durante la etapa de beneficio, por la alta probabilidad que tienen de llegar hasta el ser humano a través del consumo de productos

cárnicos. En consecuencia, este estudio se planteó como objetivo evaluar la resistencia adquirida a colistina mediada por el gen *mcr-1* en aislados de *E. coli* y *Salmonella* spp., provenientes de muestras de materia fecal de porcinos con destino a consumo humano en una planta de beneficio animal ubicada en Medellín, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: EL presente es un estudio descriptivo transversal.

Localización. Este estudio fue realizado del 2 al 11 de marzo del 2020, en una planta de beneficio animal ubicada en Medellín, Antioquia. Los porcinos provenían del departamento de Antioquia y de Caldas, criados en granjas tecnificadas, que alcanzaron la etapa de levante-ceba.

Selección de los animales. Se muestrearon 190 cerdos, seleccionados aleatoriamente a través de un muestreo sistemático, sometidos a inspección ante mortem, e identificados con la marca visible durante todo el proceso.

Colección de la muestra. Se recolectó un gramo de materia fecal directamente del ciego, se depositó en un recipiente estéril, e inmediatamente se diluyó en 2 mL de solución salina, siguiendo las recomendaciones del fabricante del CHROMID Colistina R agar (COLR)[®] (BioMérieux, Lyon, Francia). Las muestras fueron transportadas en refrigeración hasta el Laboratorio de Diagnóstico ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias perteneciente a la Universidad de Antioquia para su procesamiento inmediato. Se utilizó un termómetro para asegurar que la temperatura no superara los 4°C.

Aislamiento de *E. coli* y *Salmonella* spp resistentes a colistina. Para el aislamiento selectivo (tamización), 50 µL de cada muestra fueron diluidos en 9 mL de caldo de enriquecimiento cerebro corazón (Brain and heart infusion- BHI Merk, Darmstadt, Alemania), con un disco de colistina (COL 10 µg) (Oxoid, Basinstoke, Reino Unido) e incubados a 35±2°C por 4 a 5 horas. Posteriormente, 50 µL del caldo previamente incubado fue sembrado por agotamiento en el agar cromogénico CHROMID Colistina R agar (COLR)[®] (BioMérieux, Francia), y llevados nuevamente a incubación a 35±2°C durante 18 a 24 horas. De acuerdo con las instrucciones del fabricante, las colonias de

interés presuntivas de *E. coli* presentan un color rosa-burdeos y aquellas colonias presuntivas de *Salmonella* spp. presentan un color blanco o incoloro. Como cepa control positiva se usó la *E. coli* National Type Culture Collection NCTC 13846, y como negativa la *E. coli* American Type Culture Collection ATCC[®] 25922[®].

De cada muestra se tomaron máximo dos colonias por morfotipo y se sembraron en agar MacConkey (Merk, Darmstadt, Alemania) suplementado con sulfato de colistina a 2mg/l siguiendo las recomendaciones de preparación de diluciones de trabajo de la ISO 20776-1: 2006, y posteriormente incubadas a 35±2°C durante 18 a 24 horas.

A partir del agar MacConkey, se seleccionaron las colonias con mayor similitud morfológica a las especies de interés, las cuales fueron sembradas en 3 mL de caldo BHI suplementado con sulfato de colistina a 2 mg/L e incubadas nuevamente a 35±2°C durante 18 a 24 horas, para luego ser congelados a -80°C en una suspensión de 300 µL de glicerol al 50% y 700 µL del crecimiento bacteriano en BHI.

Detección del gen *mcr-1*. Para el aislamiento del ADN bacteriano, se utilizó el Kit de extracción de ADN Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit (Madison, Estados Unidos). La existencia de gen *mcr-1* fue identificada mediante PCR utilizando los cebadores descritos por Liu y colaboradores en el 2016 (3). Las amplificaciones de la PCR fueron visualizadas en gel de agarosa al 1% mediante electroforesis. Se utilizó como control positivo la cepa BK47554 (aislado *mcr-1* positivo) donada por el Laboratorio Kreiswirth del Center for Discovery and Innovation (CDI, New Jersey, USA).

Identificación bacteriana. La identificación bacteriana de las bacterias que albergaban el gen *mcr-1* se hizo utilizando los paneles CIM Gramnegativos/paneles combinados y paneles NC72 específicos para bacterias Gramnegativas (Beckman Coulter, Indianápolis, Estados Unidos) utilizando el sistema Microscan[®] (Beckman Coulter, Indianápolis, Estados Unidos), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Sensibilidad antimicrobiana. La evaluación de sensibilidad antimicrobiana se efectuó con la prueba de microdilución en caldo, utilizando los paneles NC72 específicos para bacterias Gramnegativas (Beckman Coulter, Indianápolis, Estados Unidos).

Se evaluaron e interpretaron un total de 21 antibióticos de acuerdo lo establecido por las directrices CLSI (20): ampicilina, ampicilina/sulbactam, aztreonam, cefoxitina, ticarciclina/ácido clavulánico, cefotaxima, cefepima, piperacilina/tazobactam, ceftazidima, ampicacina, gentamicina, tobramicina, tetraciclina, levofloxacina, trimetoprim/ sulfametoxazol, cefuroxima, imipenem, meropenem, ertapenem y ácido nalidíxico. La cepa *E. coli* ATCC 25922 se utilizó como control.

Análisis de datos. Los resultados fueron recopilados, filtrados y evaluados mediante estadística descriptiva en el software Excel 2003 (Microsoft Office, Redmond, Washington).

Aspectos éticos. El estudio contó con aval expedito por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia (acta N° 127, septiembre del 2019).

RESULTADOS

Características de la población. Los animales muestreados provenían de 40 granjas diferentes, 38 de ellas del departamento de Antioquia, y 2 de Caldas, Colombia. La mayoría provenían de los municipios de Donmatías 41.5% (79/190), Yolombó 8.4% (16/190) y Medellín 6.8% (13/190). El 100% de los porcinos pertenecieron a la etapa de levante - ceba, de los cuales 48.4% (92/190) eran hembras y 51.6% (98/190) machos (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de aislados con resistencia fenotípica a colistina y portadores del gen *mcr-1*.

Características de los animales muestreados	Aislados con resistencia presuntiva a colistina en el agar cromogénico			Aislados con resistencia móvil a colistina (<i>mcr-1</i>)		
	Positivo (n=134) n (%)	Negativo (n=56) n (%)	Total (n=190) n (%)	Positivo (n=30) n (%)	Negativo (n=19) n (%)	Total (n= 49) n (%)
Municipio de origen						
Barbosa	6 (4.5)	5 (8.9)	11 (5.7)	1 (3.3)	3 (15.8)	4 (8.2)
Bello	4 (2.9)	1 (1.8)	5 (2.6)	1 (3.3)	2 (10.5)	3 (6.1)
Belmira	4 (2.9)	0 (0)	4 (2.1)	0 (0)	1 (5.2)	1 (2)
Betania	7 (5.2)	0 (0)	7 (3.7)	2 (6.7)	2 (10.5)	4 (8.2)
Donmatías	54 (40.2)	25 (44.6)	79 (41.8)	10 (33.3)	4 (21.1)	14 (28.6)
El Retiro	1 (0.7)	1 (1.8)	2 (1.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Entrerriós	6 (4.5)	1 (1.8)	7 (3.7)	3 (10)	1 (5.2)	4 (8.2)
Fredonia	4 (2.9)	3 (5.3)	7 (3.7)	1 (3.3)	1 (5.2)	2 (4.1)
Maceo	4 (2.9)	1 (1.8)	5 (2.6)	0 (0)	1 (5.2)	1 (2)
Medellín	10 (7.5)	3 (5.3)	13 (6.9)	5 (16.7)	1 (5.2)	6 (12.2)
Neira*	3 (2.2)	0 (0)	3 (1.6)	1 (3.3)	0 (0)	1 (2)
Rionegro	5 (3.7)	7 (12.5)	12 (6.3)	3 (10)	0 (0)	3 (6.1)
San Andrés de Cuerquia	4 (2.9)	0 (0)	4 (2.1)	2 (6.7)	0 (0)	2 (4.1)
Santa Rosa de Osos	4 (2.9)	2 (3.6)	6 (3.2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Santo Domingo	3 (2.2)	3 (5.3)	6 (3.2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Viterbo*	3 (2.2)	0 (0)	3 (1.6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Yolombó	12 (8.9)	4 (7.1)	16 (8.4)	1 (3.3)	3 (15.8)	4 (8.2)
Etapas productivas						
Levante-Ceba	134 (100)	56 (100)	190 (100)	30 (100%)	19 (100)	49 (100)
Sexo						
Hembra	65 (48.5)	27 (48.4)	92 (48.2)	14 (46.7)	10 (52.6)	24 (49)
Macho	69 (51.5)	29 (51.8)	98 (51.8)	16 (53.3)	9 (47.4)	25 (51)
Bacteria						
<i>E. coli</i>	106 (55.8)	84 (44.2)	190 (100)	22 (62.9)	13 (37.1)	35 (100)
<i>Salmonella</i> spp.	75 (39.5)	115 (60.5)	190 (100)	8 (57.1)	6 (42.9)	14 (100)

*Municipio del departamento de Caldas, Colombia

Aislados de *E. coli* y *Salmonella* spp. resistentes a colistina. En el 70.5% (134/190) de las muestras hubo crecimiento de *Salmonella* spp y/o *E. coli*. en el medio cromogénico para la detección de resistencia fenotípica. El 56% (106/190) fueron compatibles con *E. coli* y 39%, (75/190) con *Salmonella* spp. (Tabla 1). En el 20.5% (39/190) de las muestras hubo crecimiento de ambas especies, y en el 29.5% (56/190) no se observó ningún crecimiento.

Detección del gen *mcr-1*. Se obtuvieron 49 aislados resistentes a colistina, que mantuvieron las características fenotípicas de las especies de interés y, posteriormente, procesados para la detección de *mcr-1* mediante PCR. El gen *mcr-1* se detectó en el 15.8% (30/190) de las muestras (Tabla 1).

Identificación bacteriana de aislados positivos al gen *mcr-1*. De los 30 aislados positivos al gen *mcr-1*, se recuperaron 15 posterior a la congelación. De estos, 4.2% (8/190) fueron *E. coli*, 1.0% (2/190) *Salmonella enterica*, y 2.6% (5/190) *Providencia heimbachae*. También se logró identificar el gen en aislados de *Salmonella enterica* y *Providencia heimbachae*, en uno de los predios del municipio de Medellín, Antioquia.

Evaluación de la sensibilidad antimicrobiana en aislados de *E. coli* y *Salmonella* spp., portadores del gen *mcr-1*. En los 10 aislados de *E. coli* y *Salmonella enterica* portadores del gen *mcr-1*, se observó resistencia a tetraciclina (10/10), seguidos por el trimetoprim/sulfametoxazol y ampicilina con resistencia (8/10), para ampicilina sulbactam (5/10), piperacilina tazobactam, ácido nalidíxico y tobramicina (3/10), gentamicina, cefuroxima y cefotaxima (2/10), y para ceftazidima del (1/10). Se observó sensibilidad (10/10) para levofloxacina y carbapenémicos (Tabla 2).

De forma específica para *E. coli*, se encontró en el grupo de los betalactámicos resistencia a ampicilina (7/8), ampicilina/ sulbactam (4/8), seguida por piperacilina/tazobactam (3/8), a cefuroxima (2/8), y para aztreonam, ceftazidima y cefotaxima (1/8), de igual forma, se identificó resistencia para trimetoprim/sulfametoxazol (6/8). En el grupo de los aminoglucósidos se observó resistencia a tobramicina (2/8), gentamicina (1/8), pero sensibilidad a amikacina (8/8). Para las quinolonas y fluoroquinolonas solo se observó resistencia para el ácido nalidíxico (2/8), y sensibilidad completa para la levofloxacina (8/8). Se identificó que el aislado E1092, fue positivo para la producción de BLEE presentando resistencia a cefotaxima y cefuroxima. Todos los aislados fueron sensibles para el grupo de los carbapenémicos evaluados (Tabla 2).

Para *Salmonella enterica*, se observó resistencia (2/2) trimetoprim/sulfametoxazol, y tetraciclina. En el grupo de los betalactámicos se observó resistencia para ampicilina, ampicilina/sulbactam y aztreonam (1/2). En los aminoglucósidos se observó resistencia para gentamicina y tobramicina (1/2) y, sensibilidad para amikacina. Solo se observó para las quinolonas y fluoroquinolonas un aislado resistente al ácido nalidíxico. Los aislados fueron sensibles a levofloxacina y al grupo de los carbapenémicos (Tabla 2).

De forma general se observa que todos los aislados (10/10), presentaron un patrón de multiresistencia, caracterizados por ser resistentes a un agente antimicrobiano en al menos 3 categorías de antibióticos (21).

Tabla 2. Perfil de sensibilidad antibiótica de los aislados de *E. coli* y *Salmonella* spp., portadores del gen *mcr-1*.

Aislado	AMP		SAM		ATM		FOX		TIM		CTX		FEP		COL		TZP		CAZ		AMK	
	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I
<i>Salmonella</i> spp.																						
4S1	<8	S	<8/4	S	16	R	<8	I	<16	S	2	I	<2	S	>4	R	<16	S	4	S	32	I
153S1	>16	R	>16/8	R	8	I	<8	S	<16	S	2	I	<2	S	>4	R	64	I	<1	S	<16	S
<i>E. coli</i>																						
58E1	>16	R	>16/8	R	<4	S	<8	S	<16	S	<1	S	<2	S	>4	R	<16	S	<1	S	<16	S
181E2	>16	R	8/4	I	<4	S	<8	S	<16	S	<1	S	<2	S	>4	R	<16	S	<1	S	<16	S
183E2	>16	R	>16/8	R	<4	S	<8	S	<16	S	<1	S	<2	S	>4	R	<16	S	<1	S	<16	S
187E1	>16	R	<8/4	S	<4	S	<8	S	<16	S	<1	S	<2	S	>4	R	<16	S	<1	S	<16	S
109E2	>16	R	>16/8	R	8	I	16	I	<16	S	16	R	8	I	>4	R	>64	R	8	I	<16	S
119E1	16	I	<8/4	S	8	I	<8	S	<16	S	2	I	<2	S	>4	R	>64	R	4	S	<16	S
167E1	>16	R	>16/8	R	>16	R	16	I	64	I	8	R	8	I	>4	R	>64	R	>16	R	32	I
57E1	>16	R	<8/4	S	<4	S	<8	S	<16	S	<1	I	<2	S	>4	R	<16	S	<1	S	<16	S
Aislado	GEN		TBR		TCY		LEV		LEV		CXM		IPM		MEM		ETP		NAL			
	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I	MIC	I
<i>Salmonella</i> spp.																						
4S1	8	I	8	I	>8	R	2	S	>2/38	R	<4	S	<1	S	<1	S	<0,5	S	>16	R		
153S1	>8	R	>8	R	>8	R	<1	S	>2/38	R	16	S	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		
<i>E. coli</i>																						
58E1	8	I	<4	S	>8	R	<1	S	>2/38	R	<4	S	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		
181E2	<4	I	<4	S	>8	R	<2	S	>2/38	R	<4	S	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		
183E2	<4	S	<4	S	>8	R	<2	S	>2/38	R	<4	S	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		
187E1	<4	S	<4	S	>8	R	<2	S	<2/38	S	8	I	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		
109E2	>8	R	>8	R	>8	R	<2	S	>2/38	R	>16	R	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		
119E1	<4	S	<4	S	>8	R	<2	S	>2/38	R	8	I	<1	S	<1	S	<0,5	S	>16	R		
167E1	8	I	>8	R	>8	R	<2	S	>2/38	R	>16	R	<1	S	<1	S	<0,5	S	>16	R		
57E1	<4	I	<4	S	>8	R	<2	S	<2/38	S	8	I	<1	S	<1	S	<0,5	S	<16	S		

MIC: concentración inhibitoria mínima, I: categoría interpretativa. Antibióticos: Ampicilina (AMP), ampicilina/sulbactam (SAM), aztreonam (ATM), Cefoxitina (FOX), ticarciclina/ácido clavulánico (TIM), cefotaxima (CTX), cefepima (FEP), colistina (COL), piperacilina/tazobactam (TZP), ceftazidima (CAZ), ampicilina (AMK), gentamicina (GEN), tobramicina (TBR), tetraciclina (TCY), levofloxacina (LEV), trimetoprim/sulfametoxazol (SXT), cefuroxima (CXM), imipenem (IPM), meropenem (MEM), ertapenem (ETP), ácido nalidíxico (NAL), concentración mínima inhibitoria (MIC), sensible (S), intermedio (I) y resistente (R)

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se identificó la presencia de *Salmonella* spp y *E. coli* fenotípicamente resistentes a colistina, y portadoras del gen *mcr-1*, en diferentes regiones de los departamentos de Antioquia y Caldas.

Todos los porcinos pertenecieron a la etapa levante – ceba, etapa donde se considera al porcino listo para ser beneficiado en planta de beneficio. La identificación de bacterias con genes de resistencia en esta etapa supone un riesgo por la posibilidad de diseminación a través de la cadena cárnica por contaminación de productos (22). La distribución equivalente de aislados que albergaban el gen *mcr-1* en relación con el sexo de los animales posiblemente se deba a que no existe un manejo diferencial por sexo de los animales destinados para ceba.

La identificación del gen *mcr-1* en varios individuos provenientes de un mismo predio, podría estar explicada por el uso de colistina como profiláctico (23), el contacto directo entre cerdos portadores y no portadores, o exposición a un ambiente contaminado (24). Por lo tanto, las buenas prácticas pecuarias, podrían ayudar a disminuir la permanencia de genes de resistencia a antibióticos a nivel de granjas, limitando el uso terapéutico de antibióticos como la colistina (4).

Por otra parte, la presencia del gen *mcr-1* en aislados bacterianos de porcinos originarios de 6 de las 9 subregiones del departamento de Antioquia, podría sugerir que la resistencia a colistina se trata de un problema generalizado en el departamento. La necesidad de producir cada vez más y mejor, ha llevado a la implementación de medidas preventivas basadas en el uso antibióticos (25). No obstante, el gen fue reportado también en otros departamentos de Colombia, indicando que la presentación de este gen puede darse en lugares con baja y alta producción de cerdos (19).

De forma particular, un estudio donde se analizaron aislados clínicos de bacterias Gramnegativas resistentes a colistina provenientes de muestras de humanos entre el 2002 y el 2016, se reportó resistencia fenotípica en un 8.7% (513/5887) y la presencia el gen *mcr-1* en un 2.3% (12/513), siendo Antioquia, Valle del Cauca y Santander, en donde se identificaron la mayor cantidad de aislados resistentes y portadores del gen *mcr-1* (16).

La frecuencia de *E. coli* portadora del gen *mcr-1* encontrada en este estudio de (4.21%) es más alta a la reportada del 0.7% en plantas de beneficio en Europa (26), y considerablemente más baja que las reportadas en cerdos en planta de beneficio en China del 21 % (3) y del 25.5% a nivel de granjas (24). Esto podría explicarse dado los estrictos controles establecidos por las entidades gubernamentales de Europa relacionados con el uso de antibióticos, al contrario del uso masivo de colistina China (3).

Un estudio previo en Colombia reportó la presencia del gen *mcr-1* en el 23.3% de aislamientos de *Salmonella* spp en granjas de cerdos, provenientes de 17 departamentos del país (19), siendo más alta que la reportada en el presente estudio (1.05%). Asimismo, las diferencias metodológicas con este estudio, podría explicar la baja frecuencia encontrada, además, a partir del 2018 el uso de colistina como promotor de crecimiento fue prohibido en Colombia por la Resolución 22747 del 208 del ICA. La frecuencia encontrada en este estudio es más cercana a la reportada en Europa del 0.1% en canales de porcinos en plantas de beneficio (26). Estos reportes indican que los programas dirigidos a limitar el uso de colistina y pueden impactar positivamente en la disminución de resistencia *cómo fue demostrado por China* (27). Es por esto que, la estrategia Una Salud ha reconocido como beneficiosa y necesaria, la vigilancia de la resistencia antimicrobiana de origen zoonótico a través de la cadena cárnica (28).

Basados en la hipótesis de Liu et al (3) en el 2016, del posible origen del gen *mcr-1* a nivel de granjas porcinas, la detección del gen *mcr-1* en enterobacterias de porcinos al beneficio, genera preocupación a nivel de salud pública, y refuerza la necesidad de garantizar la inocuidad del producto y la protección del consumidor.

De igual manera, puesto que las excretas animales son consideradas como biofertilizantes agrícolas (29), la presencia de enterobacterias portadoras del gen *mcr-1* en la materia fecal de cerdos de granja, podría suponer una fuente de contaminación ambiental, cuando es usada como abono de cultivos y pastizales (30). Especialmente, para *Salmonella* spp., se identificó la capacidad para adherirse en productos agrícolas como vegetales y frutas, siendo una posible fuente de infección, o diseminación de mecanismos de resistencia (31).

La identificación del gen *mcr-1* en aislados de los géneros *Providencia* y *Salmonella* spp., en una misma granja en este estudio, podría indicar la transferencia horizontal del gen a través de elementos genéticos móviles acelerando su diseminación (32). *Providencia heimbachae* es una bacteria Gramnegativa que posee resistencia intrínseca a colistina (33), reconocida como agente etiológico en diarreas en lechones (34).

Es probable que las muestras con aislados fenotípicamente resistentes sin detección del gen *mcr-1*, presentaran mecanismos cromosómicos de resistencia antimicrobiana que se dan a través de la modificación del sitio de acción del antibiótico (33), o que albergaran otra de las 10 variantes del gen *mcr* reportadas a nivel mundial hasta el año 2021 (9).

La identificación de aislados multirresistentes, genera una gran preocupación por la disminución crítica de las posibles opciones terapéuticas (21). Especialmente, se resalta los aislados *E. coli* 109E2, solo susceptibles a carbapenémicos y a fluoroquinolonas y el 167E1 solo a carbapenémicos. A razón de estos hallazgos, se enfatiza que la aparición de estas bacterias con un amplio espectro de resistencia a antimicrobianos, pudiera impactar negativamente la salud animal debido al fracaso terapéutico y generar pérdidas económicas (22).

Los aislados de nuestro estudio que albergaban el gen *mcr-1* mostraron una alta resistencia especialmente a ampicilina y tetraciclina, en concordancia con lo reportado por Arenas et al (22), quienes encontraron que el uso no terapéutico de antibióticos constituyó la mayor presión selectiva relacionada en las prácticas pecuarias a nivel nacional.

Cepas de *E. coli* y de *Salmonella* spp. portadoras de genes tipo *mcr* y productoras de BLEEs, han sido reportadas en diferentes contextos tanto en animales como en humanos (35). Aunque en este estudio sólo un aislado presentó esta característica, este hallazgo de resistencias conjuntas, sigue representando un gran reto en las estrategias de control en el uso de antibióticos bajo el enfoque de una salud (36).

Este estudio presentó varias limitaciones. Primero, debido a la emergencia sanitaria decretada en marzo de 2020 a razón de la

pandemia del COVID-19, no fue posible alcanzar el tamaño muestral calculado (n=321). Segundo, no se incluyeron las condiciones de uso previo de colistina por parte de los productores y finalmente, este estudio se enfocó en la detección del gen *mcr-1* por lo que los aislados podrían presentar otras variantes del gen.

En conclusión, esta investigación encontró una alta frecuencia de resistencia fenotípica adquirida a colistina y la circulación del gen tipo *mcr-1* en cerdos al momento del sacrificio, lo que demuestra el efecto que puede tener el uso previo de la colistina en la selección de aislados resistentes en porcinos. Por consiguiente, y con el fin de limitar la diseminación de estos genes de resistencia en la cadena alimentaria y el ambiente, el monitoreo de este fenómeno desde el enfoque de Una Salud podría identificar de manera más amplia y precisa los determinantes ecológicos que impactan de forma crítica la diseminación de agentes zoonóticas portadores de genes de resistencia a antibióticos, logrando de manera objetiva establecer estrategias de mitigación y control efectivas que logren mantener la inocuidad de los alimentos origen animal, y el riesgo ambiental que supone el uso y disposición de residuos generados en la industria pecuaria.

Conflictos de interés

Los autores no presentan conflictos de interés.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por grupo de investigación CENTAURO a través de la Estrategia para la Sostenibilidad de los Grupos de Investigación 2018-2019. Agradecimientos al Laboratorio de Diagnóstico de la Facultad de Ciencias Agrarias, a la línea de investigación en Epidemiología molecular y resistencia bacteriana (EPIMOL) del grupo de investigación MICROBA, y a la planta Sociedad Central Ganadera S.A.

Financiación

Este estudio fue financiado por el grupo de investigación CENTAURO, a través de la estrategia de sostenibilidad de grupos de Investigación (2018-2019), Universidad de Antioquia (Colombia).

REFERENCIAS

1. Martinović T, Andjelković U, Gajdošik MŠ, Rešetar D, Josić D. Foodborne pathogens and their toxins. *J Proteomics*. 2016; 147:226-235. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.04.029>
2. Luppi A. Swine enteric colibacillosis: diagnosis, therapy and antimicrobial resistance. *Porc Health Manag*. 2017; 8(3):16. <https://doi.org/10.1186/s40813-017-0063-4>
3. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016; 16(2):161-168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
4. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Emergence of colistin-resistant bacteria in humans without colistin usage: A new worry and cause for vigilance. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 47(1):1-3. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.11.009>
5. Yu CY, Ang GY, Chin PS, Ngeow YF, Yin WF, Chan KG. Emergence of *mcr-1* mediated colistin resistance in *Escherichia coli* in Malaysia. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 47(6):504-505. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.04.004>
6. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, Paul M, Daikos GL, Forrest A, et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy*. 2019; 39(1):10-39. <https://doi.org/10.1002/phar.2209>
7. El-Sayed Ahmed M, Zhong L, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian G. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerging Microbes & Infections*. 2019; 9(1):868-885. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>
8. Hussein NH, Al-Kadmy IMS, Taha BM, Hussein JD. Mobilized colistin resistance (*mcr*) genes from 1 to 10: a comprehensive review. *Mol Biol Rep*. 2021; 48(3):2897-2907. <http://doi.org/10.1007/s11033-021-06307>
9. Yin W, Li H, Shen Y, Liu Z, Wang S, Shen Z, et al. Novel Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *Mbio*. 2017; 8(3):1-6. <http://doi.org/10.1128/mBio.00543-17>
10. Carattoli A, Villa L, Feudi C, Curcio L, Orsini S, Luppi A. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill*. 2017; 22(31):18-22. <http://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.31.30589>
11. Borowiak M, Fischer J, Hammerl JA, Hendriksen RS, Szabo I, Malorny B. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(12):3317-3324. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx327>
12. Wang X, Wang Y, Wang Y, Zhang S, Shen Z, Wang S. Emergence of the colistin resistance gene *mcr-1* and its variant in several uncommon species of Enterobacteriaceae from commercial poultry farm surrounding environments. *Vet Microbiol*. 2018; 219:161-164. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.002>

13. Carroll LM, Gaballa A, Guldemann C, Sullivan G, Henderson LO, Wiedmann M. Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene *mcr-9* in a Multidrug-Resistant, Colistin-Susceptible *Salmonella* enterica Serotype Typhimurium Isolate. *mBio*. 2019; 10(3):1-6. <https://doi.org/10.1128/mBio.00853-19>
14. Qixia L, Yuan W, Yonghong X. Prevalence and transmission of mobilized colistin resistance (*mcr*) gene in bacteria common to animals and humans. *Biosaf and Health*. 2020; 2(2):71-78. <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.05.001>
15. Valiakos G, Kapna I. Colistin Resistant *mcr* Genes Prevalence in Livestock Animals (Swine, Bovine, Poultry) from a Multinational Perspective. A Systematic Review. *Vet Sci*. 2021; 8(11):265. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110265>
16. Saavedra S, Díaz L, Wiesner M, Correa A, Arévalo A, Ovalle M, et al. Genomic and Molecular Characterization of Clinical Isolates of Enterobacteriaceae Harboring *mcr-1* in Colombia, 2002 to 2016. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(12):1-13. <https://doi.org/10.1128/AAC.00841-17>
17. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – INVIMA. Alerta por la primera detección del gen *mcr-1* de resistencia al antibiótico colistín en aislamientos de *Salmonella typhimurium* y *Salmonella gibe* en alimentos en Colombia. Bogotá; 2017. <https://app.invima.gov.co/alertas/ckfinder/userfiles/files/ALERTAS%20SANITARIAS/Alimentos/Bebidas/2017/Agosto/02-08-17%20Alerta%20colistina%20alimentos.pdf>
18. Ministerio de Salud y Protección Social. Circular externa conjunta No 000027 Del 14 AGO 2017. Colombia; 2017. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/circular-externa-conjunta-n0027-de-2017.pdf>
19. Brito E, Hernández I, Calderón C, Hernández J, Patiño A, Pulido A, et al. Detección del gen *mcr-1* en aislamientos de *Salmonella* spp. de animales 2006 – 2018. *Revista de la Asociación Colombiana de Médicos Veterinarios Y Zootecnistas, Médicos Veterinario y Zootecnistas, ACOVEZ*. 2021; 50(2):7–13. <https://www.acovez.org/index.php/noticias/revistas-acovez/108-revista-acovez-no-140>
20. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical Lab Standards Institute: USA; 2020. <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
21. Alkofide H, Alhammad AM, Alruwaili A, Aldemerdash A, Almangour TA, Alsuwayegh A, et al. Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Enterobacteriaceae: Prevalence, Treatments, and Outcomes - A Retrospective Cohort Study. *Infect Drug Resist*. 2020; 13:4653-4662. <https://www.doi.org/10.2147/IDR.S283488>
22. Arenas N E, Moreno V. Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Infectio* 2018; 22(2):110-119. <https://doi.org/10.22354/in.v22i2.717>
23. Nordmann P, Poirel L. Plasmid-mediated colistin resistance: An additional antibiotic resistance menace. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(5):398–400. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.03.009>
24. Katja H K, Roschanski N, Ruddat I, Woydt J, Hartmann M, Rösler U, Kreienbrock L. Investigation of potential risk factors for the occurrence of *Escherichia coli* isolates from German fattening pig farms harbouring the *mcr-1* colistin-resistance gene. *Int J Antimicrob Agents*. 2018; 51(2):177-180. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.08.007>
25. Li XS, Liu BG, Dong P, Li FL, Yuan L, Hu GZ. The prevalence of *mcr-1* and resistance characteristics of *Escherichia coli* isolates from diseased and healthy pigs. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018; 91(1):63–65. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.12.014>

26. El Garch F, de Jong A, Bertrand X, Hocquet D, Sauget M. *Mcr-1*-like detection in commensal *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from food-producing animals at slaughter in Europe. *Vet Microbiol.* 2018; 213:42-46. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.014>
27. Lv Z, Shen Y, Liu W, Ye H, Liu D, Liu J, et al. Prevalence and risk factors of *mcr-1*-positive volunteers after colistin banning as animal growth promoter in China: a community-based case-control study. *Clin Microbiol Infect.* 2022; 28(2):267-272. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.06.033>
28. Institute of Medicine (US). Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US); 2012. <https://doi.org/10.17226/13423>
29. Ballard A, Laramée N, Haardörfer R, Freeman M, Levy K, Caruso B. Measurement in the study of human exposure to animal feces: A systematic review and audit. *Int J Hyg Environ Health* 2023; 249:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114146>
30. Glaize A, Young M, Harden L, Gutierrez-Rodriguez E, Thakur S. The effect of vegetation barriers at reducing the transmission of *Salmonella* and *Escherichia coli* from animal operations to fresh produce. *Int J Food Microbiol.* 2021; 347:109196 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109196>
31. Hanning IB, Nutt JD, Ricke SC. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce: sources and potential intervention measures. *Foodborne Pathog Dis.* 2009; 6:635-48. <http://doi.org/10.1089/fpd.2008.0232>
32. Wang C, Feng Y, Liu L, Wei L, Kang M, Zong Z. Identification of novel mobile colistin resistance gene *mcr-10*. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1):508-516. <http://doi.org/10.1080/22221751.2020.1732231>
33. Prava Rout B, Behera B, Kumar Sahu K, Praharaj I, Otta S. An overview of colistin resistance: A breach in last line defense. *Med J Armed Forces India.* 2023; 79(5):516-525. <http://doi.org/10.1016/j.mjafi.2023.06.006>
34. Zhang Z, Zhao L, Song M, Luo J, Liu H, Xue K, et al. *Providencia heimbachae* Associated with Post-weaning Diarrhea in Piglets: Identification, Phenotype, and Pathogenesis. *Curr Microbiol.* 2022; 79(1):1-12. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02697-1>
35. Faccone D, Moredo F, Giacoboni G, Albornoz E, Alarcón L, Nievas V, Corso A. Multidrug-resistant *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* and *blaCTX-M* genes isolated from swine in Argentina. *J Glob Antimicrob Resist.* 2019; 18:160-162. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.03.011>
36. Haenni M, Poirel L, Kieffer N, Chatre P, Saras E, Metayer V, et al. Co-occurrence of extended spectrum beta lactamase and *MCR-1* encoding genes on plasmids. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16(3):281-182. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00007-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00007-4)