



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 1

Neiva, 31 Octubre 2018

Señores
CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Carlos Mario Rocha Baquero, con C.C. No. 14236709, Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado Factores Antrópicos y Perfiles de Resistencia Antimicrobiana en Tilapias Cultivadas en el Embalse de Betania presentado y aprobado en el año 2018 como requisito para optar al título de Médico.

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores" , los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Nombre: CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO

Firma

Vigilada Mineducación



TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Factores Antrópicos y Perfiles de Resistencia Antimicrobiana en Tilapias Cultivadas en el Embalse de Betania

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
ROCHA BAQUERO	CARLOS MARIO

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
CASTRO	DOLLY

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
GALINDO BUITRAGO	JOSÉ ISRAEL

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Magister en Epidemiología

FACULTAD: Salud

PROGRAMA O POSGRADO: Epidemiología

CIUDAD: Neiva

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2018

NÚMERO DE PÁGINAS: 211

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas___ Fotografías_x___ Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general___ Grabados___
Láminas___ Litografías___ Mapas___ Música impresa___ Planos___ Retratos___ Sin ilustraciones___
Tablas o Cuadros_x_

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):



PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

	Español	Ingles
1.	<u>Piscicultores</u>	<u>fish farmers</u>
2.	<u>Antrópicos</u>	<u>Anthropic</u>
3.	<u>bacteria</u>	<u>bacteria</u>
4.	<u>Antimicrobiana</u>	<u>antimicrobial</u>
5.	<u>Antimicrobiana</u>	<u>Fish</u>

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Introducción: Con el objeto de determinar los perfiles de resistencia a los antibacterianos en bacterias gram negativas que han colonizado a tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e híbridos rojos de tilapias (*Oreochromis sp*) cultivadas en el embalse de Betania para establecer su asociación con factores antrópicos que realizan los piscicultores. Desde la perspectiva de “Una Salud” la resistencia a los antimicrobianos en la cadena alimentaria y en salud pública ha suscitado preocupación por la selección de cepas resistentes a antibióticos provocada por su abuso.

Materiales y métodos: Estudio de tipo ecológico exploratorio cuya muestra correspondió a un grupo representativo equivalente a 46 jaulones con *Oreochromis sp* y 43 con *Oreochromis niloticus* para aislar de ellas las bacterias gram negativas que las colonizaban. La representación por jaulón se hizo conforme al plan nacional de control de residuos de medicamentos veterinarios y otras sustancias químicas para productos de la acuicultura diseñado por el Instituto nacional de alimentos y medicamentos INVIMA y el Instituto Colombiano agropecuario ICA para el año 2016. Por muestra oficial se entendió (5) cinco unidades entre 400 y 500 gramos que se agruparon en pooles para ser analizados en el laboratorio. El componente antrópico correspondió a 72 propietarios de los establecimientos en los que para aproximarse a los hechos y acceder al conocimiento se utilizó un formulario de encuesta. Para predecir la posible relación entre el uso de antimicrobianos o la presencia de bacterias RAM y las variables explicatorias se realizó un análisis logístico binomial fijando un nivel de significación para la entrada de 0,05 y calculando los OR con sus intervalos de confianza del 95%.

Resultados: Se recolectaron 445 peces clínicamente sanos de 89 jaulones entre enero y junio de 2017; se aislaron 161 cepas de bacterias gram negativas en las cuales se evaluó la resistencia a los antibióticos, se tipificaron y caracterizaron 20 especies por su perfil de resistencia antimicrobiana. El antibiótico que presentó el mayor perfil de resistencia la Novobiocina (98,2%) seguido por la ampicilina (76,5%) y la oxitetraciclina (57,1%). La menor resistencia se presentó con la ceftazidima (2,1%), norfloxacin (4,8%), Cefotaxima (5,0%), ciprofloxacina (5,2%), Kanamicina (5,5%) y enrofloxacin (5,6%). El 87,0% de las cepas presentaron resistencia múltiple, el 11% resistencia simple y el 2% sensibilidad a los antibióticos probados. El índice IMAR fue mayor a 0,2 en el 47,7% de las cepas lo que indica resistencia múltiple alta. El análisis de regresión logística, sin ser estadísticamente significativo ($\text{Prob } > \chi^2 = 0,5911$) indicó que por cada unidad en que se usen antibióticos, si el resto de variables se mantienen constantes, se aumenta el OR de presentarse bacterias RAM en 1,4285 veces (IC 95%: 0,3876; 5,2644) con asociación positiva entre la presencia de bacterias RAM y el uso de antimicrobianos.

Conclusiones: Los resultados indican que las tilapias cultivadas portan cepas gram negativas RAM que están referenciadas como causantes de problemas en la salud de las personas especialmente los inmunosuprimidos o con periodos prolongados de estancia hospitalaria.



ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

Introduction: In order to determine the profiles of resistance and antibacterials in the negative bacteria that have colonized the nilotic tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the red hybrids of the tilapia (*Oreochromis sp*) cultivated in the Betania reservoir. The fish farmers. From the perspective of "One health", resistance to antimicrobials in the food chain and in public health has focused on the selection of strains of antibiotics caused by their abuse.

Materials and methods: Ecological exploratory type study sample corresponding to a representative group equivalent to 46 cauliflowers with *Oreochromis sp* and 43 with *Oreochromis niloticus* to isolate the gram negative bacteria that colonized them. Representation by jaulón was made in accordance with the national plan to control residues of veterinary drugs and other chemical substances for aquaculture products, as well as the National Institute of Food and Drugs, the Colombian Agricultural Institute ICA for the year 2016. Por official sample was understood (5) five units between 400 and 500 grams that were grouped into groups to be analyzed in the laboratory. The anthropic component corresponds to 72 owners of the establishments in which they approach the facts and access to knowledge. To predict the possible relationship between the use of antimicrobials or the presence of RAM bacteria and the explanatory variables, a binomial logistic analysis is performed, setting a level of significance for the input of 0.05 and calculating the ORs with their 95% confidence intervals.

Results: 445 clinically healthy fish of 89 cages were collected between January and June 2017; Seventy-six strains of grammatical bacteria were isolated in which antibiotic resistance was evaluated, 20 species are characterized and characterized by their antimicrobial resistance profile. The antibiotic that showed the highest resistance profile Novobiocin (98.2%) followed by ampicillin (76.5%) and oxytetracycline (57.1%). The lowest resistance was presented with ceftazidime (2.1%), norfloxacin (4.8%), Cefotaxime (5.0%), ciprofloxacin (5.2%), Kanamycin (5.5%), and enrofloxacin (5%), 6%). 87.0% of the strains of the multiple resistance, 11% of the simple resistance and 2% of sensitivity to the antibiotics tested. The IMAR index was greater than 0.2 in 47.7% of the strains indicating high multiple resistance. The analysis of the logistic regression, without being statistically significant ($Prob > \chi^2 = 0.5911$), which is used every time it is used, antibiotics are used, the rest of the variables are kept constant, the OR of the bacteria RAM increases in 1, 4285 times (95% CI: 0.3876; 5.2644) with a positive association between the presence of RAM bacteria and the use of antimicrobials.

Conclusions: The results indicate that the cultivated tilapias are the Gram-negative RAM strains that are found as causes of problems in the health of people, especially the immunosuppressed ones or prolonged periods of hospital stay.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Jurado: DOLLY CASTRO

Firma:

FACTORES ANTRÓPICOS Y PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA
EN TILAPIAS CULTIVADAS EN EL EMBALSE DE BETANIA

CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGIA
NEIVA
2018

FACTORES ANTRÓPICOS Y PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA
EN TILAPIAS CULTIVADAS EN EL EMBALSE DE BETANIA

CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO

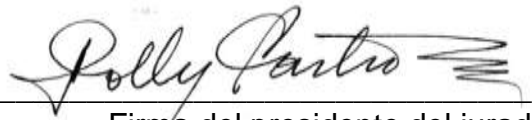
Tesis de grado presentado para optar al título de
Magíster en epidemiología

Asesor
MCALLISTER TAFUR GARZÓN
Mvz M. Sc., Phd.
JOSÉ ISRAEL GALINDO BUITRAGO
Doctorado en modelado y gestión de políticas publicas

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA
NEIVA
2018

Nota de aceptación:

Aprobado mediante Acta de sustentación
No. 005 del 19 de octubre de 2018



Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Neiva, octubre de 2018

DEDICATORIA

A Dios, quien me acompaña en cada momento de mi vida, me da fortaleza, me ilumina y por si fuera poco, puso en mi camino a las personas que me dirigieron y asesoraron; y no conforme con esto, me permitió vivir la experiencia de realizar una maestría en la que pude conocer excelentes personas y aprender para transmitir estos conocimientos y ayudar a los demás.

A mi esposa María Jesús Ocampo Chamorro, por el apoyo, paciencia y amor que ha tenido para conmigo durante tanto tiempo, y a mis hijos Carlos Mario, Andrés Camilo y María Nathalia, por haber estimulado al monstruo a estudiar y ser mis inmediatos críticos y seguidores.

A Mi madre Lucia Baquero González y a mi padre José Vicente Rocha (QEPD) por darme la vida y a mis hermanos y hermanas, todos ellos por estar conmigo, creer en mí y apoyarme siempre.

Carlos Mario

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis de maestría es un trabajo no sólo fruto del esfuerzo personal del maestrando sino de la ayuda de muchas personas, tanto en lo profesional como en lo personal, por lo que antes de plasmar el texto que trata de reportar de manera sistemática la investigación realizada, en las siguientes líneas expreso mi agradecimiento a personas e instituciones que hicieron posible su desarrollo y término.

A los doctores McAllister Tafur Garzón Médico Veterinario M.Sc. Ph. D, José Israel Galindo Buitrago Magister en Epidemiología, Especialista en Auditoría de Salud, directores de tesis por su dirección y apoyo académico.

A la bacterióloga Diana Acuña Plata del Centro de diagnóstico del ICA de Neiva por su dedicación en el aislamiento y cultivo de las cepas bacterianas.

A la Doctora Martha Patricia Vela Flórez del ICA por la asesoría brindada al análisis de la resistencia a los antibacterianos y ofrecer de forma clara y generosa su conocimiento.

Al doctor Rhonald Andrés Hernández Rodríguez por su acompañamiento y asesoría en aspectos fundamentales del diseño del tipo de estudio y el análisis estadístico del trabajo.

El doctor Néstor Alfonso Mossos Campos, director Técnico de Análisis y Diagnóstico Veterinario del ICA por su apoyo en el análisis de las muestras.

El doctor Uriel Sierra Zuleta, coordinador del grupo red laboratorios de diagnóstico Veterinario del ICA y su grupo colaborador en el LNDV por permitir el proceso de necropsias y cultivos bacterianos.

A los piscicultores del embalse de Betania, quienes acompañaron el presente estudio con entusiasmo, aportaron los peces para el muestreo, facilitaron el desplazamiento hasta sus establecimientos y expresaron sus experiencias sin ninguna reserva.

A todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis y en especial a la doctora Dolly Castro Betancourt y mis compañeros y profesores de maestría quienes aportaron permanentemente sus conceptos en los clubes de revista y en los momentos de clase.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	31
1. JUSTIFICACIÓN	32
2. ANTECEDENTES	34
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	36
4. OBJETIVOS	39
4.1 OBJETIVO GENERAL	39
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	39
5. MARCO TEÓRICO	40
5.1 LA PISCICULTURA COLOMBIANA	41
5.1.1 El ambiente del embalse de Betania	41
5.1.2 La piscicultura en el embalse de Betania	42
5.1.3 Establecimientos piscícolas en jaulas flotantes	42
5.2 LAS TILAPIAS QUE SE CULTIVAN PARA EL CONSUMO HUMANO	43
5.2.1 La tilapia plateada (<i>Oreochromis niloticus</i>)	44
5.2.2 Los híbridos rojos de tilapia (<i>Oreochromis</i> sp)	44
5.3 LOS ANTIBIÓTICOS Y LOS ANTIMICROBIANOS	45

	Pág.	
5.3.1	Clasificación de los antibióticos y los antimicrobianos	46
5.3.1.1	Bacteriostáticos	46
5.3.1.2	Bactericidas	46
5.3.1.3	De bajo espectro	46
5.3.1.4	De amplio espectro	46
5.3.2	Lista de antimicrobianos de la OMS	46
5.3.3	Clasificación de los antibióticos según su mecanismo de acción	48
5.3.3.1	Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana	48
5.3.3.1.1	Betalactámicos	49
5.3.3.1.2	Glicopéptidos	49
5.3.3.2	Antibióticos que inhiben la membrana bacteriana	50
5.3.3.3	Antibióticos que inhiben la síntesis proteica ribosomal	50
5.3.3.3.1	Aminoglucósidos	50
5.3.3.3.2	Macrólidos	50
5.3.3.3.3	Tetraciclinas	51
5.3.3.3.4	Cloranfenicol	51
5.3.3.3.5	Lincosamidas	51
5.3.3.3.6	Isoxazolidinonas	51
5.3.3.4	Antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos	51
5.3.3.4.1	Quinolonas	51
5.3.3.5	Antibióticos que interfieren en las vías metabólicas	52

	Pág.	
5.3.3.6	Sulfamidas	52
5.3.4	Antimicrobianos sintéticos	53
5.3.5	Los antibióticos promotores de crecimiento (AGP)	53
5.3.6	Antibióticos utilizados en piscicultura	54
5.4	LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (RAM)	56
5.4.1	Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos	58
5.4.1.1	Resistencia natural	58
5.4.1.2	Resistencia adquirida	58
5.4.1.3	Mantenimiento y transferencia de la resistencia	60
5.4.1.3.1	Transducción	60
5.4.1.3.2	Conjugación	61
5.4.1.3.3	Transformación	61
5.4.1.3.4	Transposición	61
5.4.1.4	Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia	61
5.4.1.4.1	Destrucción o modificación enzimática del antibiótico	62
5.4.1.4.2	Permeabilidad al antimicrobiano	63
5.4.1.4.3	Alteración de sitios blanco	63
5.4.1.4.4	Bombas de eflujo	64
5.4.1.4.5	Sobre-expresión del sitio blanco	64
5.4.1.4.6	Casos especiales	64
5.4.2	Nivel de análisis de los tipos de la RAM	65

	Pág.	
5.4.2.1	Análisis de resistencia individual	65
5.4.2.2	Análisis de resistencia poblacional in vitro	66
5.4.2.3	Análisis de resistencia poblacional en una infección	66
5.4.3	Susceptibilidad y resistencia	66
5.4.4	Excreción del antibiótico del organismo humano y animal	67
5.4.5	Aparición de superbacterias en el ambiente	67
5.4.6	La resistencia antimicrobiana en la salud pública	69
5.4.7	La RAM en el entorno acuícola y en los peces	71
5.4.8	Consumo de antimicrobianos y RAM	74
5.4.9	Costos de la RAM	75
5.4.10	RAM en infección o colonización de personas	76
5.5	MICROBIOTA BACTERIANA DE LAS TILAPIAS	77
5.6	RIESGOS DE LA RAM EN BACTERIAS DE ORIGEN ANIMAL	80
5.7	LA VIGILANCIA DE LA RAM	81
5.8	UTILIZACIÓN DE ANTIMICROBIANOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL	83
5.9	COLONIZACIÓN DE BACTERIAS RAM A LOS HUMANOS	85
5.10	MÉTODOS PARA ANALIZAR LA RAM	86
5.10.1	Métodos de difusión disco en agar	88
5.10.2	Método de Kirby Bauer	89
5.10.3	Métodos de dilución	90
5.10.4	Determinación de la CIM y la CBM	90

	Pág.	
5.10.5	Métodos automatizados comerciales	91
5.10.5.1	Micro dilución rápida	91
5.10.5.2	Medios con cromógenos	92
5.10.5.3	PCR	92
5.10.5.4	Espectrometría de masas (MALDI-TOF) (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz) acoplada a un analizador TOF (tiempo de vuelo)	92
5.10.6	Los antibiogramas	92
5.11	ENFOQUE ECOSISTÉMICO PARA EL ANÁLISIS DE LA RAM	93
5.11.1	Enfoque de “Una Salud” (“One health”)	94
5.11.2	Enfoque multinivel de los estudios epidemiológicos	95
5.11.3	La RAM en la cadena agroalimentaria y la inocuidad	96
5.12	ESTUDIOS ECOLÓGICOS	96
5.12.1	Características de los estudios ecológicos	97
5.12.2	Clasificación de los estudios ecológicos	97
6.	HIPÓTESIS	99
7.	DISEÑO METODOLÓGICO	100
7.1	TIPO DE ESTUDIO	100
7.2	LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN	100
7.3	POBLACIÓN Y MUESTRA	101
7.3.1	Unidades de observación	101

		Pág.
7.3.2	Unidades de análisis	101
7.3.3	Unidades de selección	102
7.3.4	Universo	103
7.3.5	Definición del tamaño muestral	103
7.3.6	Muestreo	104
7.3.7	Muestra	104
7.4	ESTRATEGIAS PARA CONTROLAR LAS VARIABLES DE CONFUSIÓN	105
7.5	TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	105
7.5.1	Entrevista, formulario y aplicación de encuesta	106
7.5.2	Recolección de datos de campo	106
7.6	INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	106
7.7	PRUEBA PILOTO	107
7.7.1	Ubicación geográfica de la prueba piloto	108
7.7.2	Personal participante en la prueba	108
7.7.3	Duración y medición del tiempo	108
7.7.4	Resultados de la prueba	109
7.7.5	Conclusiones de la prueba piloto	109
7.8	PERÍODO DE ESTUDIO	109
7.9	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	110
7.10	TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	110

	Pág.	
7.11	PLAN DE PROCESAMIENTO DE DATOS O TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	111
7.12	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO - PLAN DE ANÁLISIS	111
7.12.1	Análisis estadístico	112
7.12.2	Modelo logístico	113
7.13	ANÁLISIS DE LABORATORIO	113
7.14	CARACTERÍSTICAS DE LA INFORMACIÓN RECAUDADA	113
7.15	FUENTES DE INFORMACIÓN PARA ANÁLISIS Y BASE DE DATOS	114
7.16	CONSIDERACIONES ÉTICAS	115
7.17	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	115
8.	RESULTADOS	117
8.1	ANÁLISIS DE FACTORES ANTRÓPICOS	117
8.1.1	Producción autorizada de los establecimientos	118
8.1.2	Especies cultivadas	118
8.1.3	Nivel educativo de los piscicultores y capacitación en sanidad	119
8.1.4	Numero de operarios en los establecimientos	120
8.1.5	Forma corporativa de los establecimientos	120
8.1.6	Participación en actividades gremiales	121
8.1.7	Utilización de antibióticos, probióticos y desinfectantes	121
8.1.8	Diagnóstico del laboratorio para uso de antibióticos	122

		Pág.
8.1.9	Criterios y etapas en la utilización de antibióticos	122
8.1.10	Recomendación del uso de antibióticos y percepción de su utilidad	124
8.1.11	Conocimiento sobre antibióticos	125
8.1.12	Percepción de los piscicultores sobre uso de antimicrobianos	126
8.1.13	Percepción sobre el mejor antibiótico utilizado	126
8.1.14	Actitud frente a la calidad del pescado que producen	127
8.1.15	Percepción sobre acuicultura sin antibióticos	127
8.1.16	Conocimiento de los tiempos de retiro de los antibióticos	128
8.1.17	Alternativas para la acuicultura en Betania	128
8.1.18	Percepción sobre las especies que se cultivan en Betania	129
8.1.19	Utilización de desinfectantes	129
8.1.20	Percepción sobre la utilidad de los desinfectantes	130
8.1.21	Utilización de probióticos	131
8.2	AISLAMIENTOS MICROBIOLÓGICOS	132
8.2.1	Obtención y manejo de las muestras de tilapias y aislados	132
8.2.2	Órganos origen de las cepas bacterianas	134
8.3	CARACTERIZACIÓN DE LOS AISLADOS	135
8.3.1	Perfiles bioquímicos básicos	135
8.3.2	Bacterias tipificadas	136
8.4	RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS	138

	Pág.	
8.4.1	Resistencia de bacilos gram negativos	139
8.4.2	Resistencia antibacteriana por familias de antimicrobianos	141
8.4.3	Índice de resistencia múltiple (IMAR)	141
8.4.4	Resistencia de las especies bacterianas analizadas	142
8.4.4.1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	142
8.4.4.2	Resistencia antibiótica de <i>Aeromona hydrophila</i>	142
8.4.4.3	Susceptibilidad antibiótica de <i>Burkholderia cepacia</i>	143
8.4.4.4	Susceptibilidad antibiótica de <i>Citrobacter amalonaticus</i>	143
8.4.4.5	Resistencia antibiótica de <i>Citrobacter freundii</i>	144
8.4.4.6	Resistencia antibiótica de <i>Citrobacter koseri</i>	144
8.4.4.7	Resistencia antibiótica de <i>Ewingella americana</i>	145
8.4.4.8	Resistencia antibiótica de <i>Escherichia coli</i>	145
8.4.4.9	Resistencia antibiótica de <i>Enterobacter cancerogenus</i>	146
8.4.4.10	Resistencia antibiótica de <i>Enterobacter cloacae</i>	146
8.4.4.11	Resistencia antibiótica de <i>Enterobacter sakazakii</i>	147
8.4.4.12	Resistencia antibiótica de <i>Klebsiella oxytoca</i>	147
8.4.4.13	Resistencia antibiótica de <i>Plesiomona shigelloides</i>	148
8.4.4.14	Resistencia antibiótica de <i>Proteus mirabilis</i>	148
8.4.4.15	Resistencia antibiótica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	149
8.4.4.16	Resistencia antibiótica de <i>Pseudomonas putida</i>	149
8.4.4.17	Resistencia antibiótica de <i>Serratia plymutica</i>	150

	Pág.
8.4.4.18 Resistencia antibiótica de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	150
8.5 COMPORTAMIENTO DEL USO DE ANTIBIÓTICOS RESPECTO A LAS VARIABLES EXPLICATIVAS	151
8.5.1 Volumen de producción	153
8.5.2 Nivel de educación	153
8.5.3 Número de jaulones	154
8.5.4 Diagnóstico de enfermedades	154
8.5.5 Tipo de tilapia cultivada	154
8.5.6 Asistencia veterinaria	155
8.5.7 Participación en eventos de capacitación	155
8.5.8 Formulación o recomendación del uso de antibióticos	155
8.6 ANÁLISIS DE LA DEPENDENCIA DEL USO DE ANTIBIÓTICOS	155
8.7 ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE LA RAM Y EL USO DE ANTIBIÓTICOS	159
9. DISCUSIÓN	161
10. CONCLUSIONES	168
11. LIMITACIONES	170
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	171
ANEXOS	187

LISTA DE TABLAS

		pág.
Tabla 1	Distribucion de los establecimientos por numero de jaulas y espejo de ocupacion en el embalse de Betania, 2018	43
Tabla 2	Resumen del diseño muestral	104
Tabla 3	Halos de inhibición CLSI utilizados para interpretación de la resistencia	111
Tabla 4	Distribución de los establecimientos por tipo de tilapia producida en el embalse de Betania, 2018	118
Tabla 5	Bacterias aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018	138
Tabla 6	Resistencia antimicrobiana en bacterias gram negativas aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018	139
Tabla 7	Índice de resistencia IMAR en cepas de bacterias aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018	141
Tabla 8	Análisis bivariado. Variables asociadas al uso de antimicrobianos en establecimientos acuicolas del embalse de Betania, 2018	152
Tabla 9	Odds ratios del uso de antimicrobianos frente a las variables explicativas en establecimientos acuicolas del embalse de Betania	156
Tabla 10	Regresión logística del uso de antimicrobianos frente a variables antrópicas explicativas	157
Tabla 11	Análisis de regresión logística para ajuste del modelo explicativo del uso de antibióticos	158
Tabla 12	OR de las variables analizadas según el efecto	159

Tabla 13	Resistencia a los antimicrobianos en cepas de <i>Pseudomona aeruginosa</i> de origen humano y acuícola, 2017	166
----------	--	-----

LISTA DE FIGURAS

	Pág.	
Figura 1	Exportaciones de tilapia a Estados Unidos entre 2010 y 2017	44
Figura 2	Clasificación clásica de los antibióticos	47
Figura 3	Lista modelo OMS de medicamentos esenciales 2018	48
Figura 4	Base y organismo obtentor de antibióticos betalactámicos	49
Figura 5	Clasificación de los antibióticos que inhiben la síntesis proteica	50
Figura 6	Mecanismos de expresión de resistencia antimicrobiana	62
Figura 7	Mecanismos de destrucción o modificación enzimática de los antibióticos	62
Figura 8	Impactos y costos de la RAM para la salud pública	70
Figura 9	Mecanismo de transferencia de RAM patógena a humanos	82
Figura 10	Paralelo de la RAM en animales terrestres y acuáticos	83
Figura 11	Evolución y efecto de la restricción en el uso de antibióticos en animales	84
Figura 12	Principales métodos para analizar la RAM	88
Figura 13	Interdependencia bajo el enfoque de una salud de la salud humana, la sanidad animal y ambiente sano	95
Figura 14	Arquitectura de muestreo y procesos del estudio	103
Figura 15	Plan de análisis del estudio	112
Figura 16	Ruta crítica para recolección y análisis de información antrópica, 2018	117
Figura 17	Nivel educativo de los responsables de los establecimientos acuícolas del embalse de Betania, 2018	119

	Pág.	
Figura 18	Uso de antibióticos, desinfectantes y probióticos en establecimientos acuicolas del embalse de Betania, 2018	122
Figura 19	Criterios en la utilización de antibióticos y desinfectantes en establecimientos acuicolas en el embalse de Betania, 2018	123
Figura 20	Distribución de los establecimientos del embalse de Betania según recomendaciones, tiempo de uso y percepción del uso de antibióticos, 2018	124
Figura 21	Conocimiento antibióticos, actividad gremial, mantenimiento de registros y necesidades de antibióticos de los piscicultores del embalse de Betania, 2018	125
Figura 22	Distribución de los establecimientos del embalse de Betania según recomendaciones, tiempo de uso y percepción del uso de desinfectantes, 2018	130
Figura 23	Esquema del muestreo y análisis realizados a las cepas aisladas	132
Figura 24	Distribución porcentual de los aislados por órgano de origen de bacilos gram negativos aislados de tilapias del embalse de Betania, 2018	135
Figura 25	Porcentajes de cepas positivas a las pruebas bioquímicas básicas, 2018	136
Figura 26	Tipos de resistencia antimicrobiana en bacterias gram negativas aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018	140
Figura 27	Porcentaje de bacilos gram negativos resistentes a determinado número de antimicrobianos aislados de tilapias rojas y nilóticas en el embalse de Betania, 2018	140
Figura 28	Resistencia antibiótica de <i>Acinetobacter baumannii</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	142
Figura 29	Resistencia antibiótica de <i>Aeromonas hydrophila</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	143

	Pág.
Figura 30 Resistencia antibiótica de <i>Burkholderia cepacia</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	143
Figura 31 Resistencia antibiótica de <i>Citrobacter amalonaticus</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	144
Figura 32 Resistencia antibiótica de <i>Citrobacter freundii</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	144
Figura 33 Resistencia antibiótica de <i>Citrobacter koseri</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	145
Figura 34 Resistencia antibiótica de <i>Ewingella americana</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	145
Figura 35 Perfil de resistencia antibiótica de <i>Escherichia coli</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	146
Figura 36 Resistencia antibiótica de <i>Enterobacter cancerogenus</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	146
Figura 37 Resistencia antibiótica <i>Enterobacter cloacae</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	147
Figura 38 Perfil de resistencia de <i>Enterobacter sakazakii</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	147
Figura 39 Resistencia antibiótica de <i>Klebsiella oxytoca</i> aisladas de tilapias, 2018	148
Figura 40 Resistencia de <i>Plesiomona shigelloides</i> aisladas de tilapias, 2018	148
Figura 41 Resistencia antibiótica de <i>Proteus mirabilis</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	149
Figura 42 Resistencia antibiótica de <i>Pseudomona aeruginosa</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	149
Figura 43 Resistencia antibiótica de <i>Pseudomona Putida</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	150

	Pág.
Figura 44 Resistencia antibiótica de <i>Shigella dysenteriae</i> aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018	150
Figura 45 Resistencia antibiótica de <i>Stenotrophomona maltophilia</i> , 2018	151

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Grupos y características de los antibioticos	52
Cuadro 2	Principales grupos de antimicrobianos sintéticos	53
Cuadro 3	Antimicrobianos utilizados como AGP en animales	54
Cuadro 4	Principales clases estructurales de antibióticos y tiempo de reporte de RAM	59
Cuadro 5	Variables independientes analizadas	116
Cuadro 6	Familias y generos de las cepas bacterianas gram negativas aisladas de peces cultivados en el embalse de Betania, 2018	137

LISTA DE ANEXOS

	pág.	
Anexo A	Consentimiento informado para participar en el estudio	188
Anexo B	Consentimiento informado	190
Anexo C	Acuerdo de confidencialidad	191
Anexo D	Reporte fotográfico	192
Anexo E	Formulario encuesta	195
Anexo F	Aspectos éticos	197
Anexo G	Codificación de muestras en el laboratorio ICA Neiva	199
Anexo H	Codificación de muestras en el LANIP ICA Mosquera	200
Anexo I	Órganos de origen de las cepas bacterianas	202
Anexo J	Regresión logística	203
Anexo K	Operacionalización de las variables	210
Anexo L	Aprobación por el comité de ética en investigación	211

ACRÓNIMOS Y SIGLAS

AGP	Agentes promotores del crecimiento
ARG	Genes de resistencia antimicrobiana
ATCC	Coleccion de cepas de la American Type Culture Collection
BLEE	Betalactamasa de espectro extendido
BSAC	Sociedad Britanica de quimioterapia antimicrobiana
CASFM	Comite de antibiogramas de la sociedad francesa de microbiologia
CBM	Concentracion bactericida minima
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CIM	Concentracion inhibitoria minima
CLSI	Instituto de estandares clinicos y laboratorio de Estados Unidos
DIN	Instituto aleman de normativas
ECDC	Centro europeo para la prevencion y control de enfermedades
ESKAPE	Grupo de bacterias representadas por Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomona aeruginosa y enterobacterias con gran capacidad de "escapar" las acciones de las terapias efectivas
ExPEC	Escherichia colli patogena extraintestinal
FAO	Organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y la agricultura
FDA	Food and drug administration. Administración de medicamentos y alimentos o administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos
GLASS	Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos
IDA	Ingesta diaria admisible

IDSA	Sociedad de enfermedades infecciosas de America
Índice de MAR	Indice de resistencia a multiples farmacos
MALDI-TOF	Matriz de desorción láser de ionización-tiempo de vuelo está adaptada para su uso en los laboratorios de microbiología donde sirve como un método robusto para la identificación microbiana
MAS	Infecciones de tipo septicemia hemorragica
MDR	Multidrogorresistentes
MRSA	Meticilinorresistentes
ODM	Objetivos de desarrollo del milenio
OIE	Organizacion internacional de sanidad animal
OMS	Organizacion mundial de la salud
RAM	Resistencia a los antimicrobianos
SNT	Salmonella no tifoidea
STEC	Escherichia colli productor de toxinas Shiga
UFC	Unidades formadoras de colonias
UCI	Unidad de cuidados intensivos
USDA	Departamento de agricultura de los Estados Unidos
XDR	Extremadamente drogorresistente

RESUMEN

Introducción: Con el objeto de determinar los perfiles de resistencia a los antibacterianos en bacterias gram negativas que han colonizado a tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e híbridos rojos de tilapias (*Oreochromis* sp) cultivadas en el embalse de Betania para establecer su asociación con factores antrópicos que realizan los piscicultores. Desde la perspectiva de “Una Salud” la resistencia a los antimicrobianos en la cadena alimentaria y en salud pública ha suscitado preocupación por la selección de cepas resistentes a antibióticos provocada por su abuso.

Materiales y métodos: Estudio de tipo ecológico exploratorio cuya muestra correspondió a un grupo representativo equivalente a 46 jaulones con *Oreochromis* sp y 43 con *Oreochromis niloticus* para aislar de ellas las bacterias gram negativas que las colonizaban. La representación por jaulón se hizo conforme al plan nacional de control de residuos de medicamentos veterinarios y otras sustancias químicas para productos de la acuicultura diseñado por el Instituto nacional de alimentos y medicamentos INVIMA y el Instituto Colombiano agropecuario ICA para el año 2016. Por muestra oficial se entendió (5) cinco unidades entre 400 y 500 gramos que se agruparon en pools para ser analizados en el laboratorio. El componente antrópico correspondió a 72 propietarios de los establecimientos en los que para aproximarse a los hechos y acceder al conocimiento se utilizó un formulario de encuesta. Para predecir la posible relación entre el uso de antimicrobianos o la presencia de bacterias RAM y las variables explicatorias se realizó un análisis logístico binomial fijando un nivel de significación para la entrada de 0,05 y calculando los OR con sus intervalos de confianza del 95%.

Resultados: Se recolectaron 445 peces clínicamente sanos de 89 jaulones entre enero y junio de 2017; se aislaron 161 cepas de bacterias gram negativas en las cuales se evaluó la resistencia a los antibióticos, se tipificaron y caracterizaron 20 especies por su perfil de resistencia antimicrobiana. El antibiótico que presentó el mayor perfil de resistencia la Novobiocina (98,2%) seguido por la ampicilina (76,5%) y la oxitetraciclina (57,1%). La menor resistencia se presentó con la ceftazidima (2,1%), norfloxacin (4,8%), Cefotaxima (5,0%), ciprofloxacina (5,2%), Kanamicina (5,5%) y enrofloxacin (5,6%). El 87,0% de las cepas presentaron resistencia múltiple, el 11% resistencia simple y el 2% sensibilidad a los antibióticos probados. El índice IMAR fue mayor a 0,2 en el 47,7% de las cepas lo que indica resistencia múltiple alta. El análisis de regresión logística, sin ser estadísticamente significativo ($\text{Prob} > \chi^2 = 0,5911$) indicó que por cada unidad en que se usen antibióticos, si el resto de variables se mantienen constantes, se aumenta el OR de presentarse bacterias RAM en 1,4285 veces (IC 95%: 0,3876;

5,2644) con asociación positiva entre la presencia de bacterias RAM y el uso de antimicrobianos.

Conclusiones: Los resultados indican que las tilapias cultivadas portan cepas gram negativas RAM que están referenciadas como causantes de problemas en la salud de las personas especialmente los inmunosuprimidos o con periodos prolongados de estancia hospitalaria.

Palabras Claves: Piscicultores, Antrópicos, bacteria, Antimicrobiana, Antimicrobiana

ABSTRACT

Introduction: In order to determine the profiles of resistance and antibacterials in the negative bacteria that have colonized the nilotic tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the red hybrids of the tilapia (*Oreochromis* sp) cultivated in the Betania reservoir. The fish farmers. From the perspective of "One health", resistance to antimicrobials in the food chain and in public health has focused on the selection of strains of antibiotics caused by their abuse.

Materials and methods: Ecological exploratory type study sample corresponding to a representative group equivalent to 46 cauliflowers with *Oreochromis* sp and 43 with *Oreochromis niloticus* to isolate the gram negative bacteria that colonized them. Representation by jaulón was made in accordance with the national plan to control residues of veterinary drugs and other chemical substances for aquaculture products, as well as the National Institute of Food and Drugs, the Colombian Agricultural Institute ICA for the year 2016. Por official sample was understood (5) five units between 400 and 500 grams that were grouped into groups to be analyzed in the laboratory. The anthropic component corresponds to 72 owners of the establishments in which they approach the facts and access to knowledge. To predict the possible relationship between the use of antimicrobials or the presence of RAM bacteria and the explanatory variables, a binomial logistic analysis is performed, setting a level of significance for the input of 0.05 and calculating the ORs with their 95% confidence intervals.

Results: 445 clinically healthy fish of 89 cages were collected between January and June 2017; Seventy-six strains of grammatical bacteria were isolated in which antibiotic resistance was evaluated, 20 species are characterized and characterized by their antimicrobial resistance profile. The antibiotic that showed the highest resistance profile Novobiocin (98.2%) followed by ampicillin (76.5%) and oxytetracycline (57.1%). The lowest resistance was presented with ceftazidime (2.1%), norfloxacin (4.8%), Cefotaxime (5.0%), ciprofloxacin (5.2%), Kanamycin (5.5%), and enrofloxacin (5%), 6%). 87.0% of the strains of the multiple resistance, 11% of the simple resistance and 2% of sensitivity to the antibiotics tested. The IMAR index was greater than 0.2 in 47.7% of the strains indicating high multiple resistance. The analysis of the logistic regression, without being statistically significant ($\text{Prob} > \chi^2 = 0.5911$), which is used every time it is used, antibiotics are used, the rest of the variables are kept constant, the OR of the bacteria RAM increases in 1, 4285 times (95% CI: 0.3876; 5.2644) with a positive association between the presence of RAM bacteria and the use of antimicrobials.

Conclusions: The results indicate that the cultivated tilapias are the Gram-negative RAM strains that are found as causes of problems in the health of people, especially the immunosuppressed ones or prolonged periods of hospital stay.

Keywords: fish farmers, Anthropic, bacteria, antimicrobial, Fish.

INTRODUCCIÓN

Se considera que el abuso de antimicrobianos en agricultura, en medicina humana y veterinaria ha ocasionado una sobre exposición de las bacterias, que han respondido con la generación de resistencia y la difusión de los genes de resistencia adquirida. El fenómeno de resistencia a los antimicrobianos (RAM) ha generado preocupación en las autoridades de salud pública a nivel mundial por lo que es indispensable la necesidad de desarrollar investigaciones sobre su presencia y difusión (1). La percepción de los consumidores se ha traducido en desconfianza sobre la inocuidad de los productos acuícolas y se expone la producción bajo consumo y al riesgo del cierre de mercados. En Colombia, por la escasa información, no se ha logrado interpretar técnicamente la situación y consecuentemente las medidas instauradas no han dado resultados con credibilidad manifiesta.

Fruto de la situación planteada, resulta significativo considerar que bacterias resistentes a los antibacterianos estén presentes en las tilapias cultivadas y puedan reportar un impacto en salud pública, por lo que se requiere conocer el perfil de resistencia a los antibacterianos en estos peces.

En el embalse de Betania, existe una de las mayores producciones de peces en aguas continentales de Latinoamérica y la más significativa unidad de producción piscícola de Colombia, que la destina al consumo interno y a la exportación, producción que llega a mesas de los consumidores en Norteamérica o en cualquier ciudad de Colombia en menos de 24 horas.

Esta investigación aborda el tema de la resistencia antimicrobiana RAM en bacterias que han colonizado tilapias (*Oreochromis niloticus* y *Oreochromis* sp) cultivadas en jaulones en el embalse de Betania para conocer su perfil de resistencia, mejorar la comprensión de los procesos que realizan los piscicultores y tomar decisiones en salud pública e inocuidad de los alimentos.

1. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se enfocó en estudiar la RAM de bacterias gram negativas que colonizan tilapias (*Oreochromis niloticus* y *Oreochromis sp*) clínicamente sanas y que por esta condición están dispuestas para consumo humano en fresco, teniendo en cuenta que factores antrópicos como la exposición a los antimicrobianos utilizados en acuicultura o los provenientes de vertimientos, pueden haber seleccionado e incrementado bacterias RAM, aumentándose el riesgo de que las personas las adquieran por la vía de los alimentos, con la consecuente transferencia, ya sea de bacterias zoonóticas resistentes o de genes de resistencia a la flora bacteriana comensal del intestino humano, grave en personas inmunosuprimidas.

Considerando que la actividad humana influye en la modificación de los perfiles de resistencia de las bacterias para adaptarse y resistir al arsenal antimicrobiano al que son expuestas, se hace necesario profundizar en el conocimiento de los procesos antrópicos que participan en la adquisición y adaptación acelerada a la RAM y tener una mirada integral del impacto en salud pública con miras a diseñar estrategias de control que involucren a los piscicultores utilizando el enfoque “Una Salud”.

El estudio reporta relevancia social al atender uno de los retos más difíciles que afronta la ciencia médica sobre bacterias que superan la estrategia terapéutica y como esta habilidad dificulta el tratamiento de infecciones en humanos (salud pública) y en animales productores de alimentos (seguridad alimentaria). La OMS considera la RAM como un problema complejo que requiere vigilancia global, evitar el incremento de reservorios de bacterias RAM en animales destinados al consumo humano y no adicionar en alimentos para animales, antimicrobianos requeridos en enfermedades graves o que generen resistencia cruzada con los de primera elección en medicina humana (19).

Las implicaciones prácticas de la investigación radican en que en Colombia las instituciones de salud pública y sanidad animal exigen requisitos de uso y registro de medicamentos y han implementado un plan nacional de control de residuos en bovinos, cerdos y aves pero no en peces. Esta investigación permitirá mejorar el monitoreo del fenómeno RAM en acuicultura de la tilapia, principal especie que se cultiva en Colombia aportando información sobre su magnitud, necesaria para la toma de decisiones.

Desde el punto de vista de la epidemiología, la investigación es útil metodológicamente al analizar mediante un diseño de tipo ecológico los perfiles de resistencia y la posible asociación entre factores antrópicos y RAM con la participación de los piscicultores quienes expresaron los conocimientos y prácticas que realizan cuando cultivan peces para consumo humano, además “Una Salud” aplica principios epidemiológicos, bioestadísticos y de salud pública por tanto, relevante en esta investigación.

2. ANTECEDENTES

Uno de los principales problemas de salud pública de la actualidad, aunque existe naturalmente desde antes de descubrimiento de los antibióticos, es el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos (2), cuya problemática se atribuye al incremento de nuevos mecanismos de resistencia en bacterias comunes, por el abuso de antimicrobianos en medicina humana y en producción animal o por contaminantes ambientales. Varios estudios tratan de explicar cómo se conecta el uso de antimicrobianos en la producción primaria de alimentos de origen animal con infecciones humanas ocasionadas por bacterias resistentes a los antibióticos (3) y las evidencias cada día son más concluyentes, sobre todo por técnicas como el análisis genético, que permiten caracterizar y determinar el origen de los genes que confieren la resistencia y seguir su trazabilidad.

Dentro de los efectos globales que produce la resistencia a los antimicrobianos se reporta el creciente número de infecciones causadas por bacterias resistentes en la medicina humana y veterinaria que ha obligado a las organizaciones internacionales a declararla como grave problema de salud pública por amenazar la efectividad de los actuales antimicrobianos (4) y el diseño de estrategias desde el punto de vista de “Una salud”

El análisis académico suscitado durante la maestría en epidemiología de la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana fue depurando un problema visto desde la perspectiva ambiente-salud pública (“Una salud”), que puede estar relacionado con las condiciones bajo las cuales se producen peces para consumo humano y que concluyó en la necesidad de conocer el perfil de resistencia a los antimicrobianos y los factores antrópicos que pudieran estar influenciándola. Es posible que, en los eventos de mortalidad ocurrida en los establecimientos acuícolas, algunos piscicultores hayan suministrado antimicrobianos a los peces y es innegable que al embalse de Betania se vierten aguas residuales de los municipios de Hobo, Yaguará y otros poblados. Surge de este análisis plantear el estudio de investigación titulado: “Factores antrópicos y perfiles de resistencia antimicrobiana de bacterias gram negativas presentes en tilapias cultivadas en el embalse de Betania”, como requisito para optar el título de Magister en epidemiología y con el cual se pretende solucionar un vacío en el conocimiento del problema y dar luces para que se fijen políticas que conduzcan a la producción piscícola bajo condiciones de inocuidad.

En el marco del estudio de la resistencia a los antimicrobianos se han escrito artículos, libros y textos a nivel mundial pero muy pocos en Colombia y no se conoce alguno en bacterias provenientes de peces que llegaran a la mesa del

consumidor provenientes del embalse de Betania. Si bien el problema globalmente ha sido descrito abundantemente en sus dimensiones de medicina humana, no ha sido así en medicina veterinaria, persistiendo vacíos en aspectos como el perfil de RAM; la interrelación de la generación de resistencia con los factores antrópicos que podrían presionar a que cepas bacterianas que han colonizado las tilapias cultivadas adquieran mayor resistencia. La noción de una salud, que vincula la salud humana con la animal y ambiental, proporciona un espacio para analizar la RAM (5) ya que tiene en cuenta la contribución de la acuicultura y el ambiente acuático en la aparición de infecciones resistentes a los antimicrobianos y la necesidad de conocer sus perfiles y causas en busca de ser monitoreada y controlada.

En el estudio se analizan los procesos antrópicos que pudieran haber hecho que los peces hayan sido colonizados por bacterias RAM, para apoyar las acciones de monitoreo de la RAM como un problema de salud pública (6). Se concibe el estudio como una investigación de campo que analiza el problema en forma ecológica a partir de los perfiles RAM y mediante encuestas a los piscicultores, analizar la participación antrópica en su generación.

En el embalse de Betania, los piscicultores han jugado un papel importante en la generación de su propia tecnología local de producción, manejo sanitario y han establecido empresas piscícolas, ocupando el mismo cuerpo de agua y ubicándolas, autorizados por la autoridad ambiental muy cerca unas de otras, lo que no brinda las condiciones de aislamiento mínimo que garantice las mejores condiciones de bioseguridad. Se considera que el problema pueda estar presente ya que ha tenido eventos de mortalidades masivas de peces cultivados que han desmejorado la productividad acuícola y han ocasionado la utilización de antimicrobianos en algunos establecimientos. Las empresas acuícolas del embalse se conciben como unidades productivas, que son atendidas por hasta 50 personas, se poseen hasta 100 jaulones dentro de los cuales se alojan hasta 80 000 peces y geográficamente están distribuidas en el reservorio Magdalena del embalse, concentrándose cercanas a las grandes islas y al dique del embalse, configurándose una problemática con alto componente ambiental, antrópico y productivo de alimentos.

Teniendo en cuenta lo anterior y los recursos tecnológicos y financieros disponibles, el estudio se concentró en el análisis desde los jaulones, de las especies bacterianas gram negativas con resistencia a los antimicrobianos de interés en medicina humana y veterinaria en las dos especies de tilapias que se cultivan.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La resistencia a los antimicrobianos (AMR, por sus iniciales en inglés y RAM, por sus iniciales en español) se refiere a un fenómeno natural de bacterias, virus, parásitos y hongos, que no son sensibles a antimicrobianos a los que anteriormente fueron eficaces (7). Los antimicrobianos resultan fundamentales tanto en salud humana como en sanidad animal para tratar infecciones de origen bacteriano, pero, algunas cepas han adquirido resistencia ocasionando la pérdida de su eficacia e incrementando el riesgo de afectación humana (8), hecho que resulta común porque los humanos y los animales, comparten muchas bacterias patógenas.

Para la salud Pública y la inocuidad de los alimentos, las bacterias patógenas representan riesgos biológicos por la probabilidad de que al encontrarse en el alimento afecten a las personas que los consumen (9). En Estados Unidos, al año dos millones de personas se infectan gravemente y 23 000 mueren por infecciones con bacterias RAM. El costo directo de las infecciones se calculó en US \$ 20 000 millones y las pérdidas de productividad en US \$ 35 000 millones (10). En Europa, se estimó en 25 000 las muertes atribuibles a bacterias RAM y costos directos e indirectos de € 1 500 millones anuales. En países en desarrollo no se tienen datos confiables, pero por ejemplo, en la India se estima en 58 000 las muertes por sepsis neonatal; en Tanzania y Mozambique las infecciones con bacterias RAM han aumentado la mortalidad en recién nacidos y menores de cinco años (11); la tasa de mortalidad en países en desarrollo se duplicó en el año 2015 (12) con respecto al 2013.

La organización mundial de la salud (OMS) se refiere a la RAM como una amenaza para la salud pública al impactar la cirugía, la quimioterapia, la prolongación de la enfermedad, las incapacidades, el uso de medicamentos costosos, el costo de la atención médica, la tuberculosis multirresistente, el VIH y el paludismo y porque cada vez surgen nuevos mecanismos de resistencia que se propagan convirtiendo en procedimientos de alto riesgo al tratamiento de infecciones comunes, trasplante de órganos, la quimioterapia del cáncer y la diabetes y además pone en riesgo alcanzar los objetivos de desarrollo del milenio (ODM) y del desarrollo sostenible (ODS) (13). Por su parte, la inocuidad de los alimentos no es solo un problema de salud pública, sino una demanda concreta de los consumidores, reflejada en los requisitos de los mercados nacionales e internacionales que pueden convertirse en barreras arancelarias y constituyen elementos primordiales en los acuerdos de la Organización Mundial de Comercio (OMC) (9)

El uso de antimicrobianos ha ocasionado una sobre exposición de las bacterias a estos y su respuesta es la generación y difusión de genes de resistencia y la proliferación de bacterias resistentes en el ambiente acuícola, incrementándose la flora RAM y la capacidad de colonizar o infectar a los humanos (14). Los sistemas pecuarios que se llevan a cabo en la producción primaria de alimentos utilizan antimicrobianos a los que, según la OIE, es necesario garantizar su acceso adecuado y eficacia para tratar enfermedades en animales y según la FAO (14) deben enmarcarse en criterios de desarrollo sostenible considerando que son fuente de nutrición, salud y riqueza y que su producción debe ser inocua.

El sitio de mayor producción piscícola en agua dulce de Colombia es el embalse de Betania (15) donde se han ubicado cultivos de tilapias y sus residuos, junto con los vertimientos de poblados y escorrentías de predios rurales, impactan sus aguas. Bajo esta condición es factible prever que se puedan seleccionar en este ecosistema, cepas bacterianas portadoras de genes de resistencia que podrían ser transferidos a la flora bacteriana de los peces para consumo humano, tal como son las tilapias sanas cosechadas que llegan a la mesa de los consumidores. Por lo anterior, se requiere información con datos sólidos que ayude a comprender las interacciones entre las prácticas de manejo de las piscícolas, el ecosistema y la difusión de bacterias RAM para no convertir este entorno en un reservorio o fuente de ellas (16) y se permitan una intervención eficaz o se generen estrategias de mitigación.

Considerando las dimensiones polifacéticas de la RAM, la participación antrópica en su desarrollo y la afectación tanto humana como animal, las intervenciones deben tener un enfoque holístico para que no sean fragmentadas, especulativas o poco confiables. El enfoque, conocido como “Una Salud”, es una estrategia que puede dar respuesta a la necesidad de enfoques integrados a la RAM como problema de salud integral y no como algo puramente biológico, humano, animal o ambiental desintegrado. No es sólo ver una bacteria resistente aislada de un pez para consumo humano o en paciente recluido en una UCI; es reconocer la complejidad e importancia del periodo prepatogénico y la compleja red de interacción, donde el paciente humano es la expresión visible de un problema integral, tanto en bacterias patógenas como no patógenas, que preocupa tanto en el ámbito de la salud pública como en la sanidad animal al impactar el bienestar animal, la seguridad alimentaria y la inocuidad, en el ambiente en que se desarrolla la producción primaria de alimentos(9).

Es significativo el beneficio que se logra al conocer la dimensión y perfil de bacterias RAM en acuicultura, por esto, hipotéticamente se plantea que en tilapias cultivadas en Betania se han seleccionado cepas bacterianas cuya RAM está asociada a factores antrópicos como el uso de antimicrobianos, que es

considerado como primer factor de selección (17), por lo que en la presente investigación se pretende dar respuesta a la pregunta ¿Cuáles son los perfiles de resistencia a los antimicrobianos de cepas bacterianas gram negativas en tilapias en el embalse de Betania y cuál es su relación con los factores antrópicos que determinan o participan en su desarrollo?

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los perfiles de resistencia antibacteriana de cepas de bacilos Gram negativos aerobios o anaerobios facultativos presentes en las tilapias nilóticas y tilapias rojas clínicamente sanas, cultivadas en establecimientos acuícolas del embalse de Betania e identificar la asociación con las prácticas productivas de los piscicultores tras aplicar la integración de la salud humana, animal y ambiental propia del modelo “Una Salud”

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Describir las características sociodemográficas y las prácticas productivas de los piscicultores relacionados al uso de antimicrobianos.

Determinar los perfiles de resistencia antibacteriana de cepas de bacilos Gram negativos aerobios o anaerobios facultativos presentes en las tilapias clínicamente sanas cultivadas en el embalse de Betania.

Identificar la asociación entre las prácticas productivas de los piscicultores y los perfiles de resistencia bacteriana.

5. MARCO TEÓRICO

El centro de enfoque de esta investigación fue puesto en la resistencia bacteriana a los antimicrobianos como problema de salud pública que requiere conocerse en bacterias que han colonizado las especies de tilapias *Oreochromis niloticus* y *Oreochromis sp* que se cultivan en el embalse de Betania. El problema se aborda como consecuencia de acciones antrópicas, por lo tanto es necesario plantear algunos conceptos y parámetros que a manera de ejes conceptuales apoyen la investigación.

En primera instancia hay que recordar y tener en cuenta lo expresado en el encuentro internacional de salud pública veterinaria, celebrado en la ciudad de Bonito, Estado Mato Grosso do Soul, Brasil en el año 2009, donde se concluyó que “no puede haber salud humana si no hay salud animal, y ambas no pueden existir si el ambiente no es saludable, si está deteriorado o si no es sustentable” que en definitiva corresponde al concepto de “Una Salud” al que corresponde actuar teniendo en cuenta la interdependencia entre la salud humana y la de los demás seres vivos animales y el medioambiente (20).

Para empezar, se define el aspecto productivo relacionado con la piscicultura, el ámbito de ubicación de los establecimientos y las especies piscícolas involucradas. Posteriormente, se plantean los conceptos de resistencia a los antimicrobianos del modo como es definido por los organismos mundiales de referencia en materia de salud animal y salud pública e inocuidad de los alimentos, como son la OIE, la OMS y la FAO donde se ha postulado el fenómeno RAM como un problema de salud pública determinado por un fenómeno natural de la bacteria que han evolucionado desde sensibles a resistentes a los efectos de los medicamentos antimicrobianos desarrollados para el tratamiento de sus infecciones (7) ocasionando que los antimicrobianos se vuelvan ineficaces y las infecciones que producen persistan en el organismo, lo que incrementa el riesgo de agravamiento de la enfermedad y propagación a otras personas (8).

Para su organización en el marco teórico, los ejes conceptuales se atenderán de acuerdo con su ámbito, en los apartados temáticos que se presentan en la figura siguiente y se plantean a continuación:

5.1 LA PISCICULTURA COLOMBIANA

Según la FAO el suministro mundial de pescado para consumo humano superó el crecimiento demográfico en las últimas cinco décadas y su consumo anual per cápita anual paso a ser mayor a 20 kilogramos. En Colombia se duplicó el consumo de pescado al pasar de 3,7 kilos en el año 1985 a 6,7 kilos per cápita en el año 2015. Esto se debió en gran medida al crecimiento de la acuicultura frente a la pesca que se redujo de 133 000 toneladas en el año 1990 a 43 000 toneladas en el año 2015 (17).

Colombia produce cerca de 100 000 toneladas de productos acuícolas y durante los últimos diez años tuvo un crecimiento sostenido del 10,7%, al pasar de 39 774 toneladas en el año 2004 a 97 227 toneladas en el 2014 (19). En el año 2014, Colombia exportó 5 219 toneladas principalmente en forma de filete fresco de tilapia y trucha, (equivalentes a 14 386 toneladas de la producción piscícola nacional), lo que equivale a un crecimiento en las exportaciones de la piscicultura continental del 34% con respecto al año 2013 (20).

5.1.1 El ambiente del embalse de Betania. El embalse central hidroeléctrica de Betania, ubicado en la cuenca alta del río Magdalena en el departamento del Huila en las coordenadas 02°42' Norte y 75°26' Oeste, a 561 m de altitud, se formó por el represamiento de los ríos Magdalena y Yaguará en su sitio de confluencia, inundando 7 400 hectáreas que almacena 1 971 106 m³ de agua en una vida útil de 50 años. Su llenado inició en noviembre de 1986 y culminó en junio de 1987 para la generación eléctrica de 510 000 KW a través de 3 turbinas (21). Agroecológicamente pertenece a la zona de bosque seco tropical (bs-T) con temperatura promedio mayor de 24°C y precipitación anual de 1 000 a 2 000 mm, de carácter bimodal con picos de lluvia en los meses de abril y noviembre (22).

El embalse se conformó por la captación de aguas de los ríos Magdalena y Yaguará mediante una presa de 91 metros de altura, que ocupan un espejo de agua aproximada de 7.400 hectáreas, a la cota normal de operación (561.2 msnm) y presenta dos zonas diferenciadas por el origen de las aguas de los ríos que lo conforman: La zona del subembalse del Magdalena, de mayor caudal aferente, actualmente proveniente del embalse del Quimbo, a su vez formada por los ríos Guarapas, Suaza y Magdalena y el río Páez. Es más angosto, con paisaje escarpado y de mayor profundidad. El subembalse del Yaguará, formado por el río Yaguará, que se caracteriza por ser más ancho, menos profundo, con mayor desarrollo de zonas litorales, menor caudal aferente. El área en la cota máxima del subembalse del Magdalena es de 5.278,3 hectáreas y del subembalse del Yaguará de 2.145,6 hectáreas para un total de 7.423,9 hectáreas (21). El embalse de Betania, además de la acuicultura con su apoyo logístico presenta una gran actividad pesquera, que da sustento a más de 375 pescadores (22).

Presenta un caudal de entrada promedio mensual de 463.26 m³/segundo, con un valor máximo de 755.2 m³/segundo y mínimos de 145.08m³/segundo. El caudal de descarga promedio mensual es de 388.6 m³/segundo, con un caudal máximo de 819.0 m³/segundo y mínimo de 166 m³/segundo. El tiempo de residencia de las aguas es en promedio de 50 días con un valor máximo de retención de 130 días y mínimo de 24 días, valores que reflejan el grado de estabilidad en el manejo hidráulico del sistema y la dificultad de ser tratado como un sistema natural (23)

5.1.2 La piscicultura en el embalse de Betania. Geográficamente el embalse de Betania dispuso de tierras de los municipios de Yaguará, Campoalegre y Hobo y se establecieron cultivos de tilapias en jaulas según tradición oral de los piscicultores desde cerca del año 1998, Utilizando el cuerpo de agua del brazo Magdalena para el cultivo de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) y la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

5.1.3 Establecimientos piscícolas en jaulas flotantes. Se emplean en general en Colombia dos sistemas productivos que se diferencian en el sitio de producción. La mayoría (98%), pero no la que más produce tilapias en cantidad, corresponden a estanques en tierra, mientras que el resto (2%) (24) que produce la mayor cantidad de pescados se realiza con sistemas de jaulas en diferentes cuerpos de agua. El cultivo de tilapias en Betania se inició a finales de la década de 1980, con proyectos que trataban de asimilar la tecnología de otros embalses y experiencias de ensayo-error que poco a poco se fueron mejorando hasta llegar a los cultivos actuales.

De acuerdo con lo establecido por la AUNAP la capacidad de carga de tilapias en jaulas y jaulones en el embalse es de 22 000 toneladas, sin embargo, es cuestionado el cumplimiento de esta capacidad de carga (25) estimándose una mayor producción. Actualmente, se encuentran 72 establecimientos piscícolas autorizados para producción en jaulas para los cuales la Corporación Autónoma regional del alto Magdalena, CAM autorizó la ocupación del cauce de 2 575 230 m² del embalse que por piscícolas 41 corresponden a Campoalegre, 5 al Hobo y 26 a Yaguará (26). De acuerdo con datos del ICA el número de jaulas censadas en el año 2015 fueron 1.519 en las cuales el espejo de agua interno fue de 245.954 m² (26) según se muestra en la tabla 1

Tabla 1. Distribucion de los establecimientos por numero de jaulas y espejo de ocupacion en el embalse de Betania, 2018

Numero de jaulas	Número de empresas	Espejo de agua
Menos de 9	38	
Entre 10 y 19	26	
Entre 20 y 29	4	
Más de 30	4	
Total	72	245 954

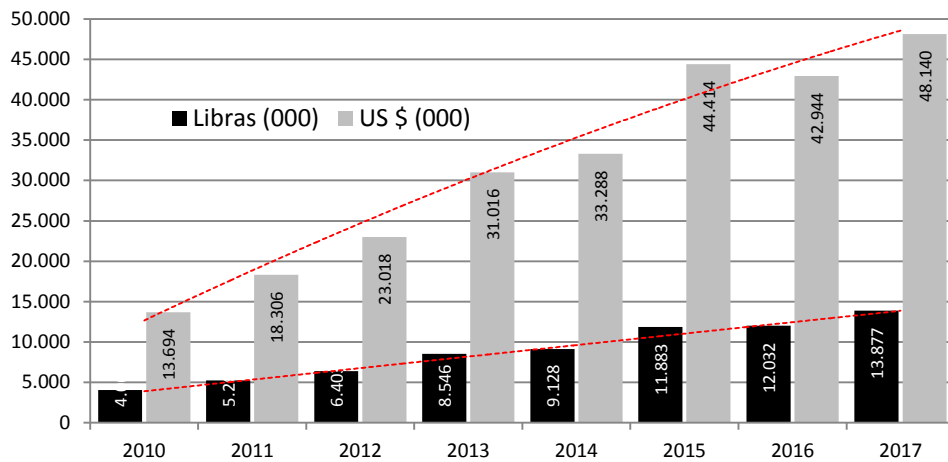
Fuente: elaboración propia con base en encuestas realizadas

Las dimensiones de las jaulas y jaulones varían en cada proyecto. Las más pequeñas son llamadas jaulas y van desde 1,5 m x 1,5 m o 2 m, mientras que las más grandes son llamados jaulones, utilizados para engorde y de forma dodecagonales que miden ente 10 y 12,5 metros de apotema y en los que se siembran entre 100 000 y 200 000 alevinos por jaulón. El tiempo de cultivo difiere según el uso comercial y especie de tilapia, en el caso de la tilapia roja el ciclo dura aproximadamente 6 meses y en tilapia nilótica entre 10 y 12 meses (26).

5.2 LAS TILAPIAS QUE SE CULTIVAN PARA EL CONSUMO HUMANO

Las tilapias son peces de origen africano que se cultiva especialmente en las regiones tropicales de muchas partes del mundo. Su cultivo posee gran importancia en la producción de proteína animal en más de 100 países y ocupa el segundo puesto en la producción mundial de pescados con 1,6 millones de toneladas métricas al año. Según el informe del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), las importaciones a Estados Unidos desde Colombia de tilapia en fresco pasaron de 4 067 Libras americanas en el 2010 a 13 877 libras americanas en el 2017 (27).

Figura 1. Exportaciones de tilapia a Estados Unidos entre 2010 y 2017



Fuente USDA (27)

5.2.1 La tilapia plateada (*Oreochromis niloticus*). *Oreochromis niloticus* es ampliamente reconocida y utilizada por su potencial desempeño productivo y la más comúnmente cultivada en el mundo entero. Es considerada como una de las especies de mejor crecimiento y sobrevivencia dentro de las tilapias, mostrando tolerancia a condiciones de acuicultura (28). Fue introducida en Colombia en el año 1979, procedente de Panamá, presentando buen consumo por su oferta en el mercado, su precio, su valor nutricional, su aporte de vitaminas del complejo B y ácidos grasos insaturados. Es la especie de tilapia que se cultiva en forma intensiva principalmente para obtener filetes destinados a exportación (29).

5.2.2 Los híbridos rojos de tilapia (*Oreochromis* sp). Es un híbrido producto de cruzamientos de especies del género *Oreochromis* originarias de África e Israel, a saber: *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* x *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis hornorum*, realizados para la obtención de características deseadas en producción, rentabilidad, calidad organoléptica, docilidad, crecimiento, tolerancia a altas densidades poblacionales, adaptación al cautiverio y amplia aceptación en el mercado. La mayor producción de este tipo de tilapias se realiza con destino al mercado nacional colombiano donde su consumo es cada vez mayor a pesar de que sus rendimientos productivos no son tan altos comparado con los de la tilapia plateada, pero posee la ventaja de adaptarse a cualquier sistema de producción (29).

5.3 LOS ANTIBIÓTICOS Y LOS ANTIMICROBIANOS

Los antibióticos son moléculas naturalmente producidas a bajas concentraciones por algunos microorganismos especialmente bacterias, hongos o actinomicetos que desarrollaron la capacidad de su producción en su proceso evolutivo para su competir biológicamente con otros microorganismos en los que logran suprimir su reproducción, crecimiento o los destruyen (30). Fueron descubiertos por Alexander Fleming en el año 1928 de una especie de hongo, al primero de los cuales se le denominó penicilina y se utilizaron en medicina humana desde el año 1941 (2) (31). Los antibióticos se desarrollaron ante la necesidad de tratar las enfermedades infecciosas en humanos y en animales, pero, posteriormente fueron utilizados como promotores del crecimiento en animales para consumo humano y ocasionalmente en el tratamiento de algunas enfermedades de los vegetales.

El término “antibiótico” originalmente se refería a un compuesto químico natural producido por organismos vivos en contra de otras bacterias. Debido a los avances tecnológicos y terapéuticos se lograron desarrollar sustancias sintéticas o semisintéticas sin mayores efectos adversos sobre el huésped por lo que se incluyó el término “antimicrobiano” que involucró a los compuestos naturales y a los sintéticos. Por costumbre, universal y genérico se utiliza el término “antimicrobiano” y el término “antibiótico” para referirse a los dos (32). Es necesario mencionar que otros autores utilizan el término quimioterapéutico para las sustancias obtenidas por síntesis química (sulfas, quinolonas) pero recalcan en que se puede denominar a los quimioterapéuticos como antibióticos sintéticos y que el término antimicrobiano engloba a los dos anteriores (antibiótico, quimioterapéutico) (33).

Los antibióticos se consideran la principal herramienta terapéutica para el tratamiento de infecciones bacterianas en humanos y animales, sin embargo, el incremento de su consumo y otros factores han dado lugar a la emergencia de la resistencia de las bacterias a los antimicrobianos, convirtiéndose en un importante problema en salud pública que afecta a la mayoría de los países del mundo. Dentro de las prácticas cuestionables sobre su uso están su incorporación a los alimentos de animales en concentraciones sub-terapéuticas para mejorar el crecimiento, es decir, para que actúen como promotores del crecimiento, por su impacto en la eficiencia del alimento y la ganancia de peso del animal al que se le suministra. Esta práctica zootécnica fue introducida en la década de 1950 como uso rutinario en la cría o ceba intensiva de los animales, independientemente de su estado de salud o el riesgo de infección bacteriana (34).

5.3.1 Clasificación de los antibióticos y los antimicrobianos. La comunidad científica ha clasificado más de 5 000 antibióticos (alrededor del 75%, son producidos por el género *Streptomyces*) teniendo en cuenta que por su condición de sustancia química producida por un ser vivo (antibiótico) o fabricada por síntesis (antimicrobiano), producen un efecto o acción sobre los microorganismos, en los siguientes grupos:

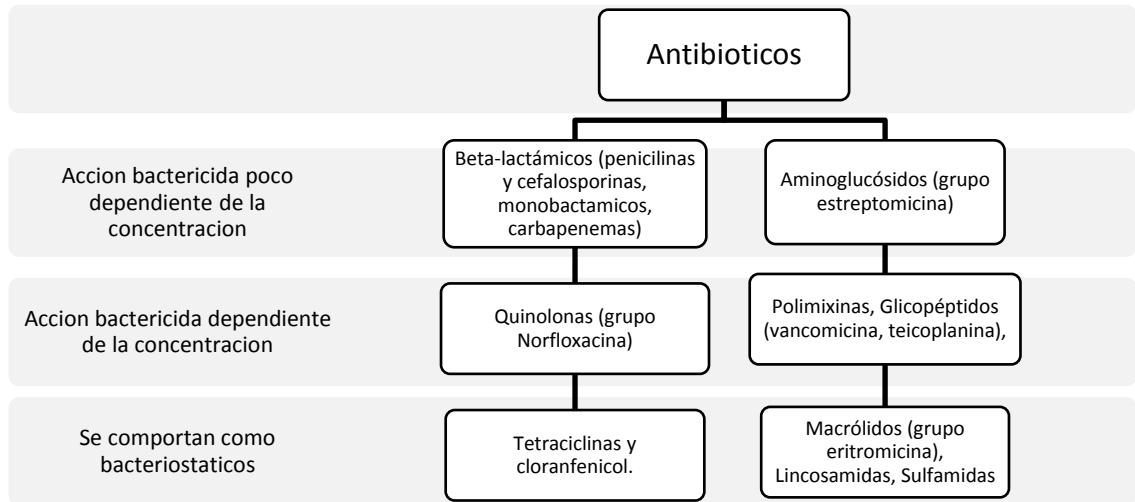
5.3.1.1 Bacteriostáticos. Cuando tiene la capacidad de paralizar, impedir o destruir el desarrollo o multiplicación de determinados microorganismos, tal es el caso de los Macrólidos (grupo eritromicina), Tetraciclinas, Cloranfenicol, Clindamicina, lincomicina y Sulfamidas.

5.3.1.2 Bactericidas. Cuando es capaz de causar la lisis o muerte del microorganismo como lo hacen los Beta-lactámicos (penicilinas y cefalosporinas), Glicopéptidos (vancomicina, teicoplanina), Aminoglucósidos (grupo estreptomicina), Quinolonas (grupo Norfloxacina) y Polimixinas. También la comunidad científica los ha clasificado de acuerdo con el espectro antibacteriano sobre el cual ejerzan su acción en:

5.3.1.3 De bajo espectro. Cuando su acción está limitada a unos pocos grupos de especies de microorganismos.

5.3.1.4 De amplio espectro. Cuando su acción es capaz de afectar a muchos grupos de especies de microorganismos.

Figura 2. Clasificación clásica de los antibióticos

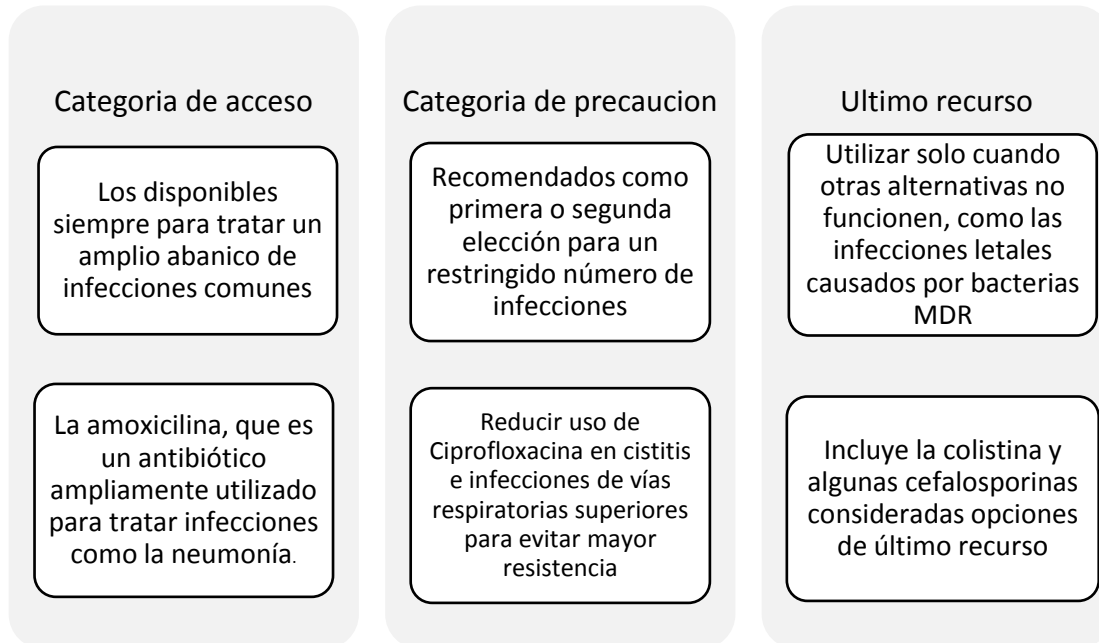


Fuente: elaboración propia

Además de estas clasificaciones clásicas que adicionalmente permiten variadas combinaciones, se han ideado nuevas formas de clasificar los antimicrobianos tales como las relacionadas a continuación:

5.3.2 Lista de antimicrobianos de la OMS. Por la importancia de los antibióticos en salud pública, la OMS elaboró la lista modelo OMS de medicamentos esenciales 2017 donde se especifican las indicaciones de los medicamentos considerados esenciales de las necesidades más apremiantes de salud pública, clasificando los antibióticos utilizados para tratar 21 de las infecciones generales más comunes de los humanos en tres categorías que orientan su acceso, decisiones de uso y disponibilidad. El fin de esta lista es, por una parte, garantizar que los antibióticos estén disponibles cuando se necesiten y que se receten adecuadamente para las infecciones apropiadas y por la otra, mejorar los resultados terapéuticos, reducir el desarrollo de bacterias RAM y preservar la eficacia de los antibióticos de “último recurso” necesarios cuando los demás fallen. La lista respalda el plan de acción mundial de la OMS sobre la RAM, cuyo objetivo es luchar contra el desarrollo de farmacorresistencia velando por el uso óptimo de los antibióticos (6). Por tal motivo los expertos de la OMS (35) han agrupado los antibióticos en tres categorías:

Figura 3. Lista modelo OMS de medicamentos esenciales 2018



Fuente elaboración propia con base en información de la OMS

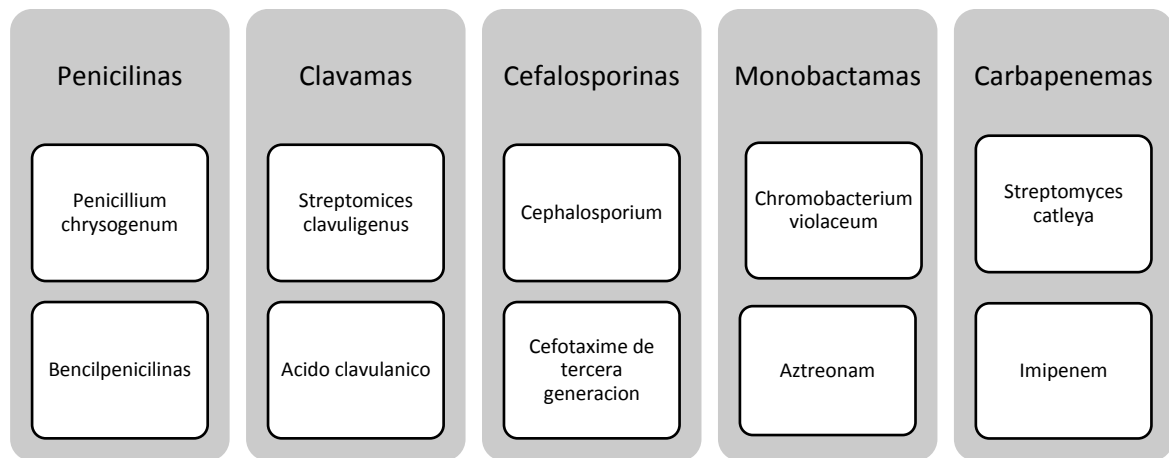
Igualmente, se ha creado una clasificación farmacéutica que tiene en cuenta el mecanismo de acción, o incluso la estructura química de la siguiente manera:

5.3.3 Clasificación de los antibióticos según su mecanismo de acción. Por mecanismo de acción se entiende la manera como un antibiótico inhibe el crecimiento o destruye una bacteria. Según el mecanismo de acción se han agrupado los antibióticos en cinco grandes grupos, a saber: antibióticos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana; antibióticos que inhiben la membrana bacteriana; antibióticos que inhiben la síntesis proteica; antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos y antibióticos que interfieren en las vías metabólicas, los cuales se detallan a continuación:

5.3.3.1 Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana. Las bacterias poseen una pared celular que les permite mantener su integridad cuando se encuentran en los tejidos de los organismos a los que infectan por lo que una acción que inhiba la síntesis de la pared bacteriana reporta un efecto bactericida. A continuación, se presentan los principales integrantes:

5.3.3.1.1 Betalactámicos. Los betalactámicos actúan sobre proteínas con actividad enzimática encargadas del proceso de conformación de la pared bacteriana, desencadenando un proceso autolítico al debilitando la estructura y volviendo a la bacteria sensible a los cambios osmóticos. Debido a este mecanismo a los betalactámicos se les considera bactericidas (33). En el cuadro 2 se muestran las bases y organismos productores de este tipo de antibióticos.

Figura 4. Base y organismo obtentor de antibióticos betalactámicos



Fuente: Elaboración propia con base en información general consultada en la literatura

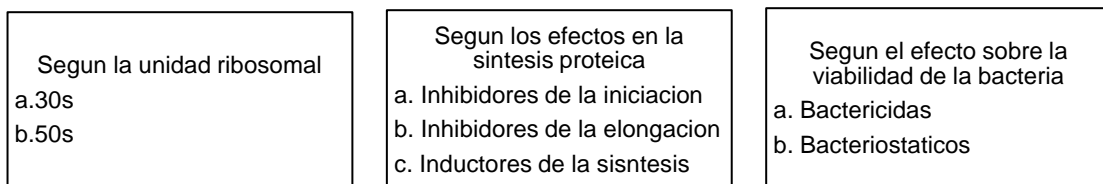
5.3.3.1.2 Glicopéptidos. Son antibióticos de estructura química compleja que interfieren en la conformación de la pared bacteriana, actúan sobre bacterias Gram positivas, como reacción adversa pueden ocasionar un eritema y prurito en cuello y parte alta del tronco. Hay dos representantes en uso clínico: vancomicina que es un bactericida de espectro reducido que se obtiene de Streptomyces orientales y la teicoplanina que tiene una estructura y un perfil de actividad similar a la vancomicina (36).

Otro antibiótico que se incluye en este grupo es la bacitracina, un polipeptídico aislado de Bacillus subtilis, activo como bactericida por vía tópica y parenteral frente a bacterias gram-positivas por lo que a menudo se utiliza asociado a neomicina y a polimixinas que son activas frente a bacterias gram negativas. Rara vez se utiliza por vía parenteral debido al riesgo de nefrotoxicidad y se utiliza tópicamente (33), aunque ocasionalmente se emplea por vía oral para el tratamiento de la colitis pseudomembranosa producida por el Clostridium difficile dado que no se absorbe por esta vía (37)

5.3.3.2 Antibióticos que inhiben la membrana bacteriana. En este grupo se encuentran las Polimixinas que actúan como detergentes catiónicos desintegrando la membrana de bacterias gram negativas, pero solo para uso tópico por la toxicidad renal que representa su uso sistémico (33)

5.3.3.3 Antibióticos que inhiben la síntesis proteica ribosomal. Corresponden a diversos antibióticos que se fijan a una de las 2 subunidades de los ribosomas bacterianos, inhibiendo la síntesis proteica y que generalmente se clasifican de acuerdo a tres criterios diferentes que se observan en la figura 5

Figura 5. Clasificación de los antibióticos que inhiben la síntesis proteica



Fuente: Elaboración propia con base en la literatura referenciada

5.3.3.3.1 Aminoglucósidos. Son antibióticos bactericidas que actúan inhibiendo la subunidad ribosomal 30s interfiriendo la lectura correcta del código genético con el consiguiente bloqueo de la síntesis proteica de la bacteria preferentemente en Gram negativas; Los más conocidos y disponibles son: gentamicina, amikacina y estreptomina para uso parenteral, la tobramicina para uso oftalmológico y la Estreptomina para el tratamiento de la tuberculosis. Como inconvenientes se reporta que tienen efectos nefrotóxicos y ototóxicos (36).

5.3.3.3.2 Macrólidos. Corresponden a un grupo amplio de derivados de la eritromicina producida por el Streptomyces eritreus que comparten un mecanismo de acción similar pero que poseen estructura diferente y en su mayor proporción son de factura semisintética (33). Inhiben la subunidad ribosomal 50s, se consideran bacteriostáticos, aunque en determinadas condiciones pueden actuar como bactericidas especialmente de Gram positivos, algunos Gram negativos y bacterias intracelulares, siendo la alternativa cuando se presentan reacciones inmunológicas a las penicilinas (36). En este grupo se encuentran la eritromicina, claritromicina y azitromicina; las lincosamidas (lincomicina y clindamicina), los cetólidos y las estreptograminas que son antibióticos. Se clasifican de acuerdo al número de carbonos: 14 carbonos (eritromicina y claritromicina), 15 carbonos (azitromicina) y 16 carbonos (Espiramicina) (36).

5.3.3.3.3 Tetraciclinas. Son antibióticos bacteriostáticos que inhiben la subunidad ribosomal 50s, actuando sobre bacterias Gram positivas y negativas, algunos anaerobios y que se encuentran contraindicadas en el embarazo por interferir con la formación normal de huesos y dientes. Se incluyen en este grupo la tigeciclina que es un derivado de la minociclina para uso parenteral, caracterizada por tener menos resistencia que las tetraciclinas de primera y segunda generación (33).

5.3.3.3.4 Cloranfenicol. Inhibe la subunidad ribosomal 50s y se le considera bacteriostático actuando sobre gram positivos, Gram negativos y anaerobios, alcanzan buenas concentraciones sobre líquido cefalorraquídeo, pero no se consideran de primera elección en casi ningún cuadro infeccioso por el riesgo de generar anemia aplásica (33).

5.3.3.3.5 Lincosamidas. Son bacteriostáticos que actúan sobre la subunidad ribosomal 50s con acción especialmente sobre Gram positivos, algunos Gram negativos y anaerobios de las cuales son la alternativa para tratar sus infecciones (33).

5.3.3.3.6 Isoxazolidinonas. Inhiben la síntesis proteica y se le considera bacteriostático. Se encuentra en este grupo el Linezolid que se caracteriza por actuar sobre bacterias MDR, en especial sobre S. Aureus, S. Pneumoniae y Enterococcus, siendo la única alternativa frente a estos microorganismos cuando se vuelven resistentes a la vancomicina (33).

5.3.3.4 Antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos. Estos antibióticos pueden inhibir la síntesis de nucleótidos o producir su interconversión o interferir en la transcripción y replicación del DNA.

5.3.3.4.1 Quinolonas. Las quinolonas son antibióticos bactericidas que actúan inhibiendo la ADN girasa, enzima que cataliza la morfología del ADN cromosómico afectando el proceso de división celular. Es un grupo de antimicrobianos que se derivan de una molécula básica formada por una doble estructura de anillo de la cual se derivan desde el ácido nalidíxico hasta las quinolonas fluoradas. Se clasifican en generaciones, así, las quinolonas de primera generación como el ácido nalidíxico y el ácido pipemídico, actúan sobre enterobacterias, pero son inactivas sobre gram positivos y anaerobios; las de segunda generación como la norfloxacin y la ciprofloxacina, llamadas fluoradas, presentan mayor actividad sobre gram negativos, moderada sobre Gram positivos y ninguna sobre anaerobios. La ciprofloxacina es la quinolona con mejor actividad sobre Pseudomona aeruginosa y la norfloxacin aunque no es útil en infecciones

sistémicas es una buena opción en infecciones urinarias no complicadas; las de tercera generación como la levofloxacin y la gatifloxacin actúan sobre Gram negativos como el Streptococcus, especialmente sobre S. pneumoniae; las de cuarta generación como moxifloxacin y trovafloxacin actúan sobre Gram negativos (36).

5.3.3.5 Antibióticos que interfieren en las vías metabólicas. Corresponden a un grupo de medicamentos sintéticos que contienen el grupo químico sulfonamida que interfieren con la síntesis del ácido fólico en las bacterias, la cual es esencial para la formación de ácidos nucleicos y a partir de estos del ADN y ARN. Solos son bacteriosticos pero en combinación con trimetoprim pasan a ser bactericidas.

5.3.3.6 Sulfamidas. Corresponden a antimicrobianos considerados bacteriostáticos que actúan sobre una amplia variedad de bacterias Gram positivas, negativas, hongos y protozoos ya que su mecanismo de acción es la competencia con el ácido paraaminobenzoico PABA inhibiendo la síntesis de ácido fólico esencial para la supervivencia de las bacterias. Este grupo es bastante complejo ya que se han desarrollado muchos derivados a partir del núcleo básico y tienen la propiedad de que al asociarse con el trimetoprim se refuerza el efecto antibacteriano (33). Algunas características de los grupos de antibióticos se resumen en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Grupos y características de los antibioticos

Grupo	Principales integrantes	Organismo obtentor	Características especiales
Aminoglucósidos	Estreptomina Neomicina	Streptomyces griseus	La Neomicina por su baja absorción se utiliza vía oral antes de una cirugía intestinal.
Polipeptídicos	Polimixina B La bacitracina	Bacillus polymyxa Bacillus subtilis.	El nombre derivado de una joven llamada Tracy afectada por una infección de donde se aisló.
Macrólidos	Eritromicina	Streptomyces erythreus	Aislado de un suelo de Filipinas.
Tetraciclinas	Tetraciclina, Clortetraciclina, Oxitetraciclina Doxiciclina	Genero Streptomyces	
Cloranfenicol	Cloranfenicol	Streptomyces venezuelae. (Síntesis química).	Puede causar anemia aplásica. No debe administrarse por largos periodos (30).
Polienos	Nistatina Anfotericina B.	Streptomyces noursei (Nistatina) Streptomyces nodosus (Anfotericina B)	La nistatina por su toxicidad se usa en tratamientos de piel y boca; su nombre se deriva de New York State. La anfotericina es nefrotóxica. Su nombre se deriva de su carácter anfotérico

Fuente: elaboración propia de literatura general consultada

5.3.4 Antimicrobianos sintéticos. Entre las principales sustancias sintéticas o semisintéticas desarrolladas tecnológicamente con fines terapéuticos sin mayores efectos adversos, entre los que se encuentran el salvarsán, las sulfamidas, denominados antimetabolitos debido a que interfieren un proceso metabólico esencial en las bacterias, el trimetoprim (pirimidina sintética) que comúnmente se usa junto con una sulfonamida y las quinolonas derivados de la quinina, obtenidos mediante síntesis química en un laboratorio. Estos “antimicrobianos” se resumen en el cuadro 2:

Cuadro 2. Principales grupos de antimicrobianos sintéticos

Antimicrobiano	Estructura	Mecanismo de acción	Características
Trimetoprim	Pirimidina sintética	Comúnmente se usa en combinación con una sulfamida en infecciones del tracto urinario, respiratorio y gastrointestinal	Su acción sinérgica inhibe la enzima dihidrofolato reductasa de las bacterias con diferente estructura a la enzima humana.
Nitrofuranos	Sustancias derivadas del furfural al que se le ha añadido un grupo nitro	Estos compuestos actúan inhibiendo la síntesis de proteínas de las bacterias.	La nitrofurantoina se utiliza en infecciones urinarias ya que se excreta por los riñones y se concentra en la orina.
Isoniazida		Es un análogo estructural de la piridoxina por lo que se considera que puede bloquear las reacciones bioquímicas en las que esté involucrada la vitamina B6.	Usada para tratar la tuberculosis por su poder bactericida frente al <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Se elimina por la orina en cerca de 24 horas en forma de metabolitos inactivos.
Quinolonas	Son derivados de la quinina. La ciprofloxacina, oflaxacina levofloxacina y norfloxacina son los más comunes.	Evitan la reproducción bacteriana al interferir en la síntesis de DNA.	El ácido nalidíxico inhibe la síntesis de DNA en bacterias gram negativas al inhibir la DNA girasa, se usa en infecciones del tracto urinario. (30).

Fuente: elaboración propia con base en literatura general consultada

5.3.5 Los antibióticos promotores de crecimiento (AGP). Aunque no es una clasificación científica los AGP se han agrupado por parte de la comunidad técnica para ser tratados por las consideraciones especiales de la problemática que presentan como un grupo especial (cuyo primer integrante fue descubierto como AGP en 1940 para la especie porcina), para atender la especial preocupación de la inocuidad de los alimentos y de la discusión internacional sobre la conveniencia y la factibilidad de dejar de utilizar antibióticos con fines de promoción del crecimiento (38).

Se define como AGP a cualquier medicamento que destruye o inhibe el crecimiento bacteriano y se administra a una dosis subterapéutica baja (39) cuyo

uso ha sido fruto de la intensificación de la producción pecuaria en su afán de aumentar la demanda de alimentos para la población y la mejora de la eficiencia de la conversión de los recursos naturales en alimentos para animales. Se utiliza una amplia gama de antimicrobianos (naturales, sintéticos o semisintéticos) que se administran por vía oral como aditivos para alimentos balanceados o como promotores de crecimiento en diversos sectores pecuarios (39).

A continuación, se presenta el cuadro 3 donde se relacionan los AGP más comúnmente utilizados.

Cuadro 3. Antimicrobianos utilizados como AGP en animales

Antimicrobiano	Grupo químico	Especie animal
Avilamicina	Glicopéptido	
Avoparcina	Glicopéptido	
Bacitracina	Polipéptidos	Conejo, bovino, cerdos y aves
Bambermicina	Glicopéptido	Cerdos y aves
Carbadox	Quinoxalina	
Clortetraciclina	Tetraciclinas	Pollos, cerdos, bovinos
Eritromicina	Macrólidos	Pollos, Cerdos
Espiramicina	Macrólidos	
Lasalocid sódico	Ionóforos	Bovinos
Monensina	Ionóforos	Bovinos
Narasin	Ionóforos	Cerdo
Neomicina	Aminoglucósidos	Bovinos
Olaquinox	Quinoxalina	
Oxitetraciclina	Tetraciclinas	Pollos, cerdos, bovinos
Penicilina G procaína	B-lactámico	Cerdos y aves
Salinomicina	Ionóforos	Bovinos
Tiamulina	Pleuromutilinas	Porcino, Aves
Tilosina	Macrólidos	Cerdos y aves
Virginiamicina	Estreptograminas	

Fuente: Elaboración propia con base en el reglamento (CEE) 37/2010, y registro AGP (2016) Canadá (40)

5.3.6 Antibióticos utilizados en piscicultura. Desde el presente milenio la situación de la acuicultura continental en Colombia fue la de una incipiente actividad, sin uso técnico o médico de productos farmacológicos para la prevención y tratamiento de las patologías que se presentaban en estas explotaciones, y mucho menos sin un control riguroso y bajo la responsabilidad exclusiva de los piscicultores o propietarios a su cargo estas instalaciones o, en muy escasos casos, de algunos veterinarios que eran propietarios de establecimientos acuícolas

o que trabajan para los distribuidores de medicamentos o que hacían parte de entidades de enseñanza tecnológica o universitaria.

El desarrollo de la industria acuícola, requirió mayores exigencias en todo lo relativo a las autorizaciones, registro de los medicamentos y el establecimiento de límites máximos de residuos admisibles (LMR) en el musculo de los organismos acuáticos por parte de las autoridades de inspección, vigilancia y control, de acuerdo con las diferentes especies e implica que sólo se permite su uso como alimento seguro cuando este límite no es superado y para esto es necesario establecer los tiempos de retiro como los días que se debe esperar desde la última administración del medicamento hasta el momento de su sacrificio.

Fisiológicamente, la absorción de antimicrobianos por parte de los peces varía en gran medida según el tipo de producto utilizado. Por ejemplo, los fenicoles tienen un porcentaje de absorción mayor al 90% y la cantidad excretada a través de las heces, mientras que la oxitetraciclina tiene muy bajo porcentaje de absorción en el intestino del pez, por lo que se excreta en gran porcentaje al medio acuático. De esta manera, los antibióticos excretados por el pez y los presentes en el alimento medicado no consumido son incorporados al agua o al fondo del estanque quedando en los lodos conservando su actividad antimicrobiana hacia las bacterias sensibles y seleccionando las cepas resistentes.

El único antibiótico autorizado para uso piscícola en Colombia es el Florfenicol, pero según lo expresan por los piscicultores la oxitetraciclina es la que más comúnmente se utiliza, por lo que a continuación se expresan sus principales características: El Florfenicol es un antibiótico perteneciente al grupo de los fenicoles, derivado del tianfenicol. Es un compuesto neutro, liposoluble, que atraviesa fácilmente las barreras celulares y es capaz de difundirse rápidamente por todo el organismo. Está catalogado como un antibiótico de amplio espectro, usado contra bacterias gram positivas, gram negativas y rickettsias. Su mecanismo de acción consiste en el bloqueo de la síntesis de proteínas por acción directa sobre los ribosomas bacterianos inhibiendo su multiplicación, por lo que su efecto es bacteriostático. Tiene alta afinidad por moléculas lipídicas y se almacena fácilmente en tejido muscular de algunos peces y es de muy rápida eliminación en los tejidos. Su vía de administración es preferentemente oral, aunque se puede administrar vía parenteral.

La oxitetraciclina por su parte pertenece al grupo de las tetraciclinas. Es moderadamente lipofílica y atraviesa fácilmente las barreras celulares, distribuyéndose en todo el organismo. Es uno de los grupos de antibióticos de elección en el tratamiento de infecciones causadas por patógenos intracelulares

como rickettsias y por su amplio espectro de acción, también pueden utilizarse en otro tipo de infecciones bacterianas como flavobacteriosis. La vía de administración es preferentemente oral, pero con el inconveniente que la presencia de cationes divalentes como Ca^{+2} , Mg^{+2} o Fe^{+2} en los alimentos disminuye su absorción por el efecto quelante de estos iones, alterándose su biodisponibilidad. También se pueden administrar por vía parenteral. La oxitetraciclina está incluida en el Anexo I de la European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA como sustancia farmacológica para la que hay un LMR, lo cual indica que es necesario usar dosis adecuadas, previo diagnóstico, tiempo de retiro y detección de los residuos en carne.

Un gran inconveniente del uso de los antimicrobianos en peces como las tilapias, es que las investigaciones en medicina veterinaria se encuentran enfocados a mamíferos, en ambientes aéreos con temperaturas superiores a lo requerido para agentes bacterianos acuáticos y en el caso de la lectura e interpretación de las pruebas de resistencia in vitro se podrían presentar diferencias que no han sido bien estimadas, pero se considera que si se realizan pruebas sobre bacterias específicas, se producen lecturas muy aproximadas a la realidad, aunque la sensibilidad puede variar incluso dentro de una misma especie.

5.4 LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (RAM)

Se denomina resistencia a los antimicrobianos al mecanismo natural o adquirido mediante la cual una bacteria puede resistir la acción de uno o más agentes antimicrobianos. El fenómeno de resistencia antimicrobiana por ser de origen biológico y evolutivo ha sido estudiado especialmente por las ciencias biológicas ambientales encargadas del análisis de la relación de los sistemas biológicos con su entorno (41,42).

Entender la RAM como un problema que está asociado a las prácticas productivas o las interacciones entre humanos y animales o por desequilibrios ecológicos requiere conocer a profundidad el origen de su causalidad. Entre las causas a las que más frecuentemente se atribuye el incremento de la resistencia antimicrobiana están el uso y el abuso de antimicrobianos en humanos y en la producción pecuaria. La resistencia a los antibióticos desde el punto de vista de la medicina se ha convertido en un problema mundial con el agravante que cada vez aparecen nuevas formas de resistencia que no respetan fronteras y que se difunden fácil y rápidamente. Las organizaciones de salud han descrito los organismos resistentes a los antibióticos como "una pesadilla que representa una amenaza catastrófica " para la salud pública mundial (43).

El estado de la salud humana, la salud de los microorganismos, los animales o las plantas, están influenciadas por el medio ambiente, con sus infinitas interrelaciones físico-químicas, biológicas, e incluso sociales cuya conceptualización sanitaria hoy integra el enfoque “Una Salud”, promovidos por la OMS y la organización mundial de sanidad animal, OIE para presentar un punto de vista integral que unifique el manejo de la salud en forma efectiva y multidisciplinaria en las diversas especies ante un problema de impacto global.

La OMS expresa en uno de sus informes en humanos que “la resistencia a los antimicrobianos es uno de los principales factores que determinan la falta de respuesta clínica a los tratamientos y la rápida evolución del paciente hacia una septicemia y un choque septicémico. Alrededor de 214 000 de las muertes neonatales por septicemia que se producen cada año en el mundo podrían ser atribuibles a patógenos resistentes ya que se ha observado que los pacientes afectados por estos presentan mayor riesgo de mortalidad hospitalaria. En Europa, por ejemplo, *S. aureus*, es el agente más común en pacientes con septicemia ingresado en una UCI. Se calcula que la tasa de mortalidad por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina es superior en cerca del 50% a la de pacientes afectados por *S. aureus* sensibles a este antibiótico (4).

El uso de antimicrobianos en animales destinados al consumo humano se produjo casi simultáneamente como su uso terapéutico en las personas. Actualmente es mayor el consumo por los animales que por las personas debido al elevado uso dado para estimular el crecimiento o como preventivo tratando de sustituir la mala higiene. Un informe del Center for Disease Dynamics, Economics & Policy del año 2015, citando a Van Boeckel et al., expresa que en el año 2010 en el mundo al menos 63 200 toneladas de antimicrobianos se destinaron al consumo del ganado y que para el 2030 se prevé que esta cifra aumente a 105 600 toneladas (10).

Cuando se suministran oralmente antimicrobianos con fines terapéuticos o como promotores del crecimiento a los bovinos son incompletamente metabolizados o presentan baja absorción intestinal excretándose en la forma del compuesto original o la de sus metabolitos. Por las excretas, estos compuestos llegan al ambiente y se difunden por escorrentía o por pequeñas partículas y en el ambiente o en los animales los antimicrobianos facilitan el desarrollo de bacterias resistentes al tener una ventaja selectiva (44).

Se estima una creciente demanda de alimentos de origen animal y del uso de antimicrobianos por lo que grandes cantidades terminaran en el ambiente sin que las consecuencias de su carga aún no estén suficientemente analizadas y los efectos en las personas aún no se hayan medido adecuadamente (10).

La adquisición de resistencia en las bacterias es un proceso biológico complejo y prácticamente inevitable donde la comprensión de los orígenes, evolución y difusión de los elementos de resistencia proporcionan información vital en la búsqueda de alternativas de mitigación de sus efectos. Los esfuerzos se han basado en estrategias de salud pública como la inmunización, el control de infecciones, la inocuidad de los alimentos, la administración de nuevos antimicrobianos y la reducción de la transmisión de persona a persona a través del diagnóstico y la educación (9).

Desde el punto de vista de inocuidad de los alimentos, es importante conocer y controlar las vías por las que las bacterias RAM y sus genes relacionados, pueden llegar al humano. En los alimentos, desde la producción primaria de animales, el beneficio, manipulación y la preparación, así como acatar la regulación de la seguridad alimentaria aplicando buenas prácticas productivas y manteniendo la bioseguridad de los establecimientos y mantener una higiene adecuada como barrera contra los microorganismos resistentes.

5.4.1 Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Las bacterias como organismos vivos no diferencian sus mecanismos de defensa entre humanos y animales, por lo que a continuación se relaciona teniendo en cuenta esta universalidad:

5.4.1.1 Resistencia natural. La resistencia natural o intrínseca a un antimicrobiano es una propiedad específica de determinadas bacterias cuya aparición es anterior al uso de los antibióticos y tiene la característica de ser inherente a una especie en particular (45). Es una cualidad innata, propia y constante de determinadas cepas bacterianas a ese mismo antibacteriano que lo posee como mecanismo permanente, heredado y no influenciada por la dosis del antimicrobiano. Como ejemplos se pueden citar: La resistencia de *Proteus mirabilis* a las tetraciclinas por un proceso natural de expulsión del antibiótico; La de la colistina por la presencia de un lipopolisacárido que disminuye la afinidad de los antibióticos polipeptídicos a su sitio blanco; la de *Klebsiella pneumoniae* a las penicilinas por su producción natural de β lactamasas o la de los bacilos gram negativos aeróbios a la clindamicina por no contar con un sitio blanco para este antibiótico. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano como es el caso de las bacterias gramnegativas que son resistentes a la vancomicina y esta situación no es variable, contrario a lo que se produce cuando los microorganismos sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos (46).

5.4.1.2 Resistencia adquirida. Recién descubiertos los antibióticos se pensaba que era poco probable que se adquiriera resistencia a ellos ya que se tenía la idea que

la frecuencia de mutaciones generadoras de bacterias resistentes era insignificante y fueron muy pocos los investigadores, entre los que se encontraba el propio Alexander Fleming (47), los que predijeron que las bacterias podrían reaccionar ante los antimicrobianos adaptándose a ellos desarrollando la RAM mediante una amplia variedad de mecanismos, como el intercambio de genes horizontalmente, Cuadro 4.

Cuadro 4. Principales clases estructurales de antibióticos y tiempo de reporte de RAM

Blanco/Clase estructural	Antibiótico	Resistencia	Años hasta identificar resistencia
B-lactámicos	Penicilina	Pared celular	3
	Cefalosporina	B-Lactamasa, mutantes de PBP	
	Carbapenemes		
	Monobactámicos		
Polipéptidos		Desorganizadores de membrana	36
	Polimixina	Sustitución por D-Ala-D-Lac o D-Ala-D-Ser	
Aminoglucósidos	Vancomicina		16
	Estreptomicina	Síntesis de proteínas	
Rifampicina	Kanamicina	Modificación del antibiótico	12
	Rifampicina		
Nitroimidazoles	Metronidazol		
Oxazolidinona	Linezolid	Desconocido	2
Tetraciclina	Tetraciclina	Eflujo	5
Cloranfenicol	Cloranfenicol		16
Macrólidos	Eritromicina	Metilación RNA r/bombas de eflujo	36
		Inhibidores competitivos de la síntesis de ácido fólico	
Sulfonamidas	Cotrimoxazol	Otros	
		Síntesis de ADN	
Fluoroquinolonas		Mutaciones en la DNA girasa	

Fuente: Gaceta Medica de México (48)

Más tarde se demostró que la RAM existía antes de que se descubriera el primer antibiótico y que es una característica de una cepa bacteriana que se ha modificado genéticamente, la cual una vez generada, puede transmitirla por intercambio de plásmidos. Por esta razón la RAM además de ser evolutiva, es variable y su frecuencia depende de la exposición a los antibióticos (49). Actualmente, se le responsabiliza de la falla terapéutica de un antibiótico supuestamente activo sobre una bacteria patógena (50) por ejemplo, algunas cepas de neumococo que han adquirido resistencia a la penicilina, cepas de *Escherichia coli* a la ampicilina, cepas de estafilococos a la meticilina o incluso la resistencia a las quinolonas por modificación de la DNA girasa o las mutaciones generadas en genes que codifican a las porinas ocasionando el bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo (49).

5.4.1.3 Mantenimiento y transferencia de la resistencia. El desarrollo y mantenimiento del fenómeno RAM depende de la aparición y conservación de elementos génicos cromosómicos o extra cromosómicos en las bacterias. La modificación en el genoma sucede por cambios que se clasifican en micro y macroevolutivos. Los microevolutivos son mutaciones únicas que comprometen nucleótidos apareados, mientras que los macroevolutivos afectan segmentos de ADN (51).

La transferencia de genes de resistencia se realiza horizontalmente a través de elementos genéticos entre los que se encuentran, los plásmidos, los transposones, el ADN de bacteriófagos, los integrones y los cassettes genéticos. Los plásmidos y los transposones son elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia. Los plásmidos son fragmentos de ADN bacteriano de longitud variable, algunos con capacidad para replicarse independientemente de la estructura genética que posea la célula, razón por la que se les clasifica en conjugativos y en no conjugativos según posean o no, esta capacidad. Los transposones son secuencias de ADN que pueden ser translocados entre cromosomas o de un cromosoma a un plásmido o entre plásmidos, gracias a un sistema de recombinación propio. La transferencia permite la trasmisión a otras generaciones y también a otras especies bacterianas, de resistencia a uno o varios antimicrobianos sin necesidad de haber estado en contacto con estos. Si una bacteria porta varios genes de resistencia, se le denomina multirresistente (52). Los mecanismos que utilizan las bacterias para defenderse de los antimicrobianos están en constante evolución, presentando una base genética intrínseca y una adquirida (49).

Otros fenómenos reportados son la capacidad de los plásmidos de trasladarse de una célula a otra; la adquisición de genes de resistencia entre bacterias de la misma o diferente especie durante la conjugación; y el hecho que algunos plásmidos y transposones posean elementos génicos denominados integrones que les permite capturar varios genes exógenos determinando la aparición de resistencia a varios antimicrobianos (resistencia múltiple) (51). En general la transferencia de estos elementos entre diferentes bacterias puede ocurrir por transducción, conjugación, transformación o Transposición (53).

5.4.1.3.1 Transducción. La Transducción es la transferencia de una parte de un genoma bacteriano, cuando un bacteriófago durante su fase de ensamblaje, encapsula este material, es decir en la transducción los bacteriófagos introducen su propio DNA en la bacteria y en algunos casos lo integran al cromosoma bacteriano. Si el fragmento de DNA que queda envuelto es totalmente bacteriano se denomina transducción generalizada y si sólo se encapsula parte del genoma

bacteriano conservándose el genoma viral se habla de transducción especializada. La cubierta del fago protege el DNA en el medio ambiente de manera que la transducción, a diferencia de la transformación, no se ve afectada por las nucleasas presentes en el medio ambiente (53,54). No todos los fagos pueden mediar la transducción. En la mayoría de los casos la transferencia de gen está entre los miembros de la misma especie bacteriana. Sin embargo, si un fago particular tiene una amplia gama de huéspedes entonces se puede producir la transferencia entre especies (54).

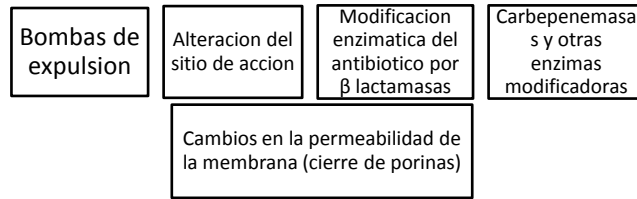
5.4.1.3.2 Conjugación. Transferencia de material genético contenido en plásmidos de una bacteria donante a una receptora por contacto físico directo a otra a través de una hebra sexual; estos plásmidos usualmente contienen genes que le confieren resistencia a antimicrobianos, antisépticos y desinfectantes (54,55).

5.4.1.3.3 Transformación. Transferencia de genes desde un ADN desnudo de una bacteria previamente lisada a otra que lo recibe y lo incorpora a su genoma, es decir, la transformación resulta de la absorción por una célula receptora de ADN desnudo a partir de una célula donante (55). Ciertas bacterias (por ejemplo, Bacillus, Haemophilus, Neisseria, neumococo) pueden ocupar el ADN del medio ambiente y el ADN que se recoge se pueden incorporar en el cromosoma del destinatario (54).

5.4.1.3.4 Transposición. Movimiento de una sección de ADN (transposón) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antimicrobianos y otros genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular. Corresponde a elementos genéticos transponibles es decir, segmentos de ADN que tienen la capacidad de moverse de un lugar a otro (salto de genes) (54,56).

5.4.1.4 Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia. Se han descrito cinco mecanismos generales por medio de los cuales las bacterias pueden expresar la resistencia al antimicrobiano que pueden ocurrir individual o simultáneamente. Estos mecanismos son:

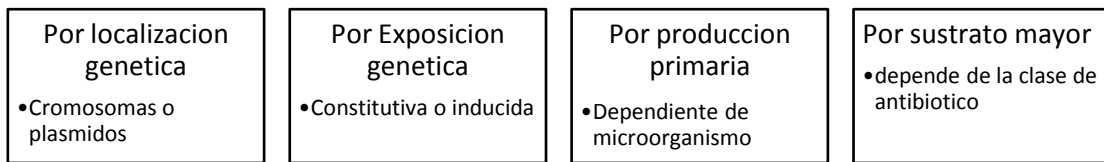
Figura 6. Mecanismos de expresión de resistencia antimicrobiana



Fuente: elaboración propia con base en literatura consultada

5.4.1.4.1 Destrucción o modificación enzimática del antibiótico. La destrucción se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico y cuyos ejemplos más estudiados son las β lactamasas y las β lactamasas de amplio espectro que hidrolizan su anillo betalactámico (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes y monobactámicos) (57). Se han clasificado en 4 clases: Clase A: penicilinasas; Clase B: β lactamasas; Clase C: cefalosporinasas; Clase D: oxacilinasas (58). Este mecanismo es frecuente en bacterias gram negativas y de acuerdo con su forma de producción se presentan cuatro grupos:

Figura 7. Mecanismos de destrucción o modificación enzimática de los antibióticos



Fuente: Elaboración propia con base en información consultada

Las más difundidas son las codificadas por plásmidos como las enzimas de amplio espectro que hidrolizan bencilpenicilinas y cefaloridina; las oxacilinasas que degradan oxacilinas y similares como las producidas por *E. coli* (TEM-1) y *Klebsiella pneumoniae* (SMV-1) que codifican la β lactamasa de amplio espectro que hidroliza las cefalosporinas de tercera generación y los monobactámicos; las carbapenemasas que hidrolizan la penicilina; las β lactamasas de espectro extendido; las oximino β lactamasas y las carbapenemasas (51).

Por su parte, la modificación enzimática se realiza mediante: 1. Enzimas modificadoras de aminoglucósidos como la acetil transferasa (AAC), la fosfatidil

transferasa (APH) y la adenil transferasa (ANT o AAD) que hacen que el aminoglucósido no se adhiera a la subunidad 30S ribosomal y no interfiera la síntesis de proteínas; 2. Las eritromicina esterasas, (estearasa I y II propia de gram negativos) común a lincosamidas y estreptograminas (grupo MLS) que catalizan la hidrólisis del anillo de lactona de la eritromicina; y 3. La modificación del cloranfenicol realizada por la enzima cloranfenicol acetil transferasa (CAT), existente tanto en gram positivos como en gram negativos, la cual acetila los dos grupos hidroxilo y evita la unión del cloranfenicol al ribosoma 50S. (51)

5.4.1.4.2 Permeabilidad al antimicrobiano. En este fenómeno influyen tres aspectos: la estructura de las membranas de la bacteria, los canales inespecíficos llamados porinas que excluyen el antibiótico por tamaño molecular y las características fisicoquímicas del antimicrobiano. Por lo anterior, existen básicamente dos mecanismos de resistencia: En el primero se presenta una entrada disminuida y en el segundo la expulsión del antimicrobiano (49).

El fenómeno de permeabilidad es posible porque en la envoltura celular de bacterias gram negativas, existe una estructura de membrana consistente en lipopolisacárido y lipoproteína anclados al peptidoglicano junto con grandes proteínas de membrana externa llamadas porinas que varían en número y tamaño y funcionan como canales hidrofílicos a través de la membrana (59). La resistencia sucede cuando algunas cepas bacterianas mutan alterando la forma y el número de porinas afectando el paso de los antimicrobianos, por ejemplo: la resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* y *Enterococcus* sp., relacionada con la poca cantidad de porinas y los medicamentos hidrofílicos como Imipenem que requieren la presencia de porinas para su transporte al interior de la célula; En el caso de la modificación de las porinas se genera una disminución del paso del antibiótico y ese mecanismo es empleado por *Salmonella typhimurium* (OmpC) contra cefalosporinas de primera generación o *Serratia marcescens*, *E. coli* y *Pseudomona aeruginosa* contra amino glucósidos y carbapenem (51).

Se presenta disminución en la entrada por permeabilidad de la membrana externa como la de bacterias gram negativas que poseen una membrana lipídica externa que actúa como barrera que impide o dificulta el ingreso de un antimicrobiano hidrosoluble o por permeabilidad de la membrana interna que consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antimicrobiano al interior de la célula (51,60).

5.4.1.4.3 Alteración de sitios blanco. Son uno de los mecanismos más importantes de resistencia pues evitan el efecto bactericida o bacteriostático del antimicrobiano al modificar el sitio blanco específico de la bacteria, principalmente en la pared

celular, subunidades 50S, 30S y ribosoma. Por ejemplo, en el mecanismo más común de resistencia a macrólidos (eritromicina) por bacterias gram negativas, la modificación del sitio blanco ocurre en el ribosoma. En la resistencia a fluoroquinolonas, se afectan los sitios blanco ADN-girasa y topoisomerasa (59).

Las subunidades 30s y 50s son los sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas por tanto las modificaciones a nivel de múltiples subunidades afecta la resistencia. Como ejemplos se tienen: la metilación ARN ribosomal de la subunidad 50S de *S. aureus*, *Bacteroides fragilis* y *Clostridium Perfringens* a tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos; el mecanismo de resistencia ribosomal a gentamicina, tobramicina y amikacina consiste en la mutación del péptido S12 de la subunidad 30S o los mecanismos de metilino resistencia por producción de una proteína ligadora de penicilina (PBP) que reporta resistencia a la penicilina por *S. pneumoniae* y resistencia a glicopéptidos por *S. aureus*. La resistencia a las quinolonas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se debe a la modificación por mutación de los genes Gyr A y Gyr B que codifican para las topoisomerasas II y IV (51).

5.4.1.4.4 Bombas de eflujo. El mecanismo de eflujo ocasiona resistencia intrínseca y adquirida contra los antimicrobianos al expulsarlo del espacio intracelular bacteriano y se ha confirmado en bacterias gram positivas y gram negativas. El diseño de eflujo es mediado por proteínas de transporte que confieren resistencia a los antimicrobianos como las tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloranfenicol y β lactámicos. Los sistemas de eflujo de bacterias gram negativas se asocian con resistencia a múltiples antimicrobianos como sucede en las fluoroquinolonas (61).

5.4.1.4.5 Sobre-expresión del sitio blanco. La sobreexpresión del sitio blanco se ha descrito en casos aislados de micobacterias. La duplicación génica o las mutaciones de los promotores implicados en la transcripción de estos genes son probablemente el mecanismo responsable. La hiperproducción de β lactamasas (gen Tem) induce resistencia al clavulanato y se podría considerar como sobre expresión del blanco del antimicrobiano (59)

5.4.1.4.6 Casos especiales. Existen algunos microorganismos y casos especiales que según Sussmann, Mattos, & Restrepo (51) han adquirido gran importancia clínica como los siguientes:

Enterococcus resistente a vancomicina. Varios tipos de resistencia a vancomicina son mediados por transposones facilitando la transmisión del mecanismo a otros bacilos Gram negativos e incluso Gram positivos. Existen 3 fenotipos de

resistencia a vancomicina por *Enterococcus*: Fenotipo Van A: alto nivel de resistencia a vancomicina y resistencia a teicoplanina; Fenotipo Van B: bajo a alto nivel de resistencia a vancomicina, sin resistencia a teicoplanina; Fenotipo Van C: resistencia intrínseca de bajo nivel.

Lactamasa de espectro extendido. Es un tipo de resistencia que se encuentra en bacterias Gram negativas y que es mediado por plásmidos. El mecanismo de acción es una lisis de las moléculas de Oximinolactámicos. En este caso se encuentra frecuentemente un perfil de sensibilidad a cefotetan con resistencia a ceftazidima y aztreonam.

Staphylococcus metilino resistente. Es una forma de resistencia de carácter cromosómica con producción de una proteína anómala de unión a penicilina que afecta a antimicrobianos que no se inactivan por la acción de las β lactamasas como la cloxacilina y que permitió a estas bacterias evadirlos al alterar de esta manera el sitio blanco como es el caso de *Staphylococcus aureus* multirresistente (MRSA) (51).

β lactamasas de espectro extendido (BLEE). (En inglés: ESBL expanded spectrum β lactamases). Corresponde a un mecanismo de resistencia producido por bacterias Gram negativos en el que se presenta una forma para destruir el antimicrobiano conocido como β lactamasas de espectro extendido que afecto a la tercera y cuarta generación de cefalosporinas resistentes a las β lactamasas (59)

Carbapenemasas. Inicialmente resistentes a las BLEE, las bacterias desarrollaron carbapenemasas que los hidrolizan. Estas enzimas se han reportado en Brasil, Chile y Argentina, en cepas de bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* entérica y *Serratia marcescens* (62). Los mecanismos de resistencia a los antibacterianos cada día son más abundantes y complejos como el reporte de bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (Aztreonam) o la resistencia asociada con aminoglucósidos, ciprofloxacina y piperacilina (Tazobactam) (63)

5.4.2 Nivel de análisis de los tipos de la RAM. Según Vignoli R. y Seija V. (50) para la atención e investigación médica de la RAM se han sido definido diferentes niveles de análisis a saber: análisis individual, análisis de resistencia poblacional y análisis de resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección. A continuación, se detallan:

5.4.2.1 Análisis de resistencia individual. Analiza la interacción molecular entre una cepa bacteriana y un antimicrobiano determinado, ya que no siempre es suficiente que el microorganismo posea el gen que codifica un mecanismo de resistencia en particular, sino que ese gen debe ser expresado en cantidad y calidad suficiente,

incluso muchas veces deben interactuar distintos mecanismos de resistencia para que la bacteria sea capaz de sobrevivir. Es el caso de la expresión en *E. coli* de su β lactamasa de clase C (tipo Amp-C) en el cual la bacteria puede poseer el gen que codifica para la β lactamasa en su cromosoma, sin embargo, la expresión de resistencia que da esta enzima es mínima debido a que la bacteria carece de un promotor natural (Amp), es decir, si bien *E. coli* posee el gen que codifica la β lactamasa, su escasa expresión hace que el microorganismo se comporte como sensible a ampicilina (50)

5.4.2.2 Análisis de resistencia poblacional in vitro. Analiza en el laboratorio el comportamiento in vitro de una cepa bacteriana frente a determinada concentración de un antimicrobiano por un período de tiempo determinado. Los resultados de estas pruebas informan sobre la sensibilidad o resistencia de la cepa bacteriana y orientan la terapia, pero esto no siempre coincide con el éxito terapéutico (64). Así, en un paciente que presenta una infección producida por una cepa de *E. coli*, los estudios in vitro pueden mostrar que es resistente a la ampicilina, sin embargo puede obtenerse un tratamiento eficaz con esta. Esto se debe a que los β lactámicos se concentran más de 100 veces en la vejiga que en el plasma, por lo que alcanzan niveles que exceden las posibilidades de resistencia bacteriana. Por el contrario, un coco gram positivo como *S. aureus* o *S. pneumoniae*, que in vitro es sensible a eritromicina, no puede ser combatido con este antibiótico si se encuentra produciendo una bacteriemia, debido a que los macrólidos alcanzan una concentración plasmática insuficiente (50).

5.4.2.3 Análisis de resistencia poblacional en una infección. Analiza la eficacia terapéutica bajo la influencia de otros factores, como el sitio de infección, las propiedades farmacocinéticas del antibiótico, la dosis, la duración del tratamiento, estado inmunológico del paciente, tamaño del inóculo bacteriano, etc. La recuperación del estado de salud del paciente es el parámetro que determina la efectividad del tratamiento (50).

5.4.3 Susceptibilidad y resistencia. La resistencia a los antimicrobianos se puede determinar en el laboratorio, pero, para decidir si una determinada bacteria es susceptible o resistente a un antimicrobiano se requiere una evaluación integral de su actividad in vitro, características farmacológicas y evaluación clínica. Para aprobar el uso clínico de una sustancia debe demostrar in vitro su potencial para inhibir el crecimiento del grupo blanco de bacterias a concentraciones con aceptables riesgos de toxicidad. La OMS, informa que la RAM se encuentra en cepas bacterianas en todo el mundo, pero, para su estudio se centra en la RAM en siete bacterias responsables de infecciones comunes graves, como la septicemia, la diarrea, la neumonía, las infecciones urinarias o la gonorrea y destaca la resistencia a los antibióticos carbapenémicos, último recurso terapéutico para las

infecciones potencialmente mortales por *Klebsiella pneumoniae* y la resistencia a las fluoroquinolonas, utilizadas en el tratamiento de las infecciones urinarias por *E. coli* (6). En Austria, Australia, Canadá, Eslovenia, Francia, Japón, Noruega, Reino Unido, Sudáfrica y Suecia, donde se ha confirmado el fracaso del tratamiento de la gonorrea con cefalosporinas de tercera generación, el último recurso terapéutico en estos casos, la preocupación es muy significativa ya que la estructura de la cefalosporina confiere resistencia a la hidrólisis producida por la penicilinasas de los estafilococos y a las β lactamasas de los grupos de bacilos gram negativos, o como sucede con el Aztreonam, primer monobactámico aprobado en EU, que funciona de manera similar a la penicilina y las cefalosporinas (43), con un espectro limitado contra bacterias gram negativas, aerobias y anaerobias facultativas, incluyendo *P. aeruginosa*, *Haemophilus* y *Neisseria*.

Aunque el fenómeno RAM está globalizado, preocupa mucho a la comunidad científica, los países en donde los antimicrobianos se pueden comprar sin receta médica como sucede en China e India, donde la venta de antimicrobianos ha aumentado y también en países de Asia y América Latina. También preocupa, la utilización antimicrobianos en seres humanos comparado con lo que ocurre en el sector agroalimentario (ganadería, avicultura, porcicultura, acuicultura), donde los cálculos indican que la utilización de antimicrobianos en la cría de animales es como mínimo mil veces mayor, en toneladas, que en la medicina humana (65).

5.4.4 Excreción del antibiótico del organismo humano y animal. Un alto porcentaje de los antimicrobianos administrados a los seres humanos y los animales se excreta en forma activa sin cambios a través de la orina y heces fecales (66) por una absorción incompleta hasta del 95 % del antimicrobiano administrado o de sus metabolitos y pueden llegar a acumularse en el ambiente, principalmente las aguas superficiales, subterráneas, suelos y sedimentos (67) y la presentación de coliformes RAM es un indicador de un gran problema de salud pública.

5.4.5 Aparición de superbacterias en el ambiente. Un aspecto de la RAM que preocupa a la comunidad médico científica es la aparición de superbacterias RAM que, si llegaren a convertirse en patógenas para los humanos o animales, no habría manera de controlarlas, por lo que son consideradas peligrosos contaminantes emergentes y una amenaza potencial para los ecosistemas. Los genes de resistencia se originan en bacterias del medio ambiente, donde han evolucionado durante millones de años para desempeñar diferentes funciones en la naturaleza, sin embargo, como consecuencia de la fuerte presión selectiva ejercida por los antimicrobianos en los entornos clínicos y pecuarios, las fuerzas selectivas que impulsan la evolución de los potenciales determinantes de la RAM han aumentado y han llegado a ecosistemas naturales donde se han acumulado un gran número de posibles genes de resistencia; afortunadamente, sólo unos

pocos están actualmente presentes en unidades de transferencia de genes y diseminados entre patógenos (68). El aumento de cepas bacterianas RAM en el ambiente hace necesario vigilar su presencia, distribución, caracterizar los genes de resistencia, profundizar en el conocimiento sobre la ocurrencia, el destino y el transporte de antimicrobianos o sus metabolitos en los ecosistemas y comprender la relación existente entre su excreción, sus metabolitos y las poblaciones de bacterias resistentes a ellos (69).

Es considerablemente bajo el conocimiento de los efectos de los antimicrobianos en la dinámica poblacional de las bacterias presentes en los cuerpos de aguas naturales debido a que la mayor información reportada se refiere a entornos clínicos. Después de su aplicación y excreción, los antimicrobianos son transportados al medio ambiente por el aire, escorrentía, lixiviación o aplicación de estiércol al suelo. Un estudio que caracterizó el transporte aéreo de medicamentos desde corrales de ganado y determinó el grado en que los antimicrobianos, los ARG y los microorganismos se dispersan de forma aérea a través de partículas suspendidas. En el estudio se recogieron en la noche muestras a favor y en contra del viento a una distancia de 10 yardas del corral del ganado y los resultados mostraron que el aire proveniente de ellos, facilitó la dispersión de antimicrobianos y de cepas microbianas que contienen ARG porque las concentraciones de antimicrobianos en el aire a favor del viento desde los corrales fluctuaban entre 0,5 y 4.6 mg/g y las cepas bacterianas asociadas a taxones rumiantes que se recogieron a favor del viento de los corrales de alimentación eran distintas comparadas con las recogidas en contra del viento y los genes que codifican resistencia fueron significativamente más abundantes en las muestras a favor del viento comparadas con las encontradas en contra del viento, concluyéndose que en la noche se dispersan partículas que contienen antimicrobianos, bacterias y ARG por el viento, en este caso, desde los corrales de ganado (44).

Hasta el momento son pocos los estudios acerca de estimaciones cuantitativas de la exposición humana a bacterias del medio ambiente y específicamente de bacterias RAM lo que dificulta la evaluación de los efectos sobre la salud humana. Sin embargo, es reconocida por la sociedad médica, aunque se necesitan más investigaciones, la contribución de la transferencia horizontal de genes de resistencia en el medio ambiente y las condiciones que pueden favorecer la transferencia horizontal de genes de resistencia a antimicrobianos en los patógenos humanos. Las investigaciones se han centrado en los efectos sobre la salud humana y en baja cuantía en los ecosistemas naturales y agropecuarios (70).

Por su parte, en el ambiente clínico se reportan cepas "Pan resistentes" o resistentes a todos los antibióticos β lactámicos y a las quinolonas, recomendadas

como tratamiento de la neumonía asociada al ventilador, que corresponden a especies de *Pseudomona aeruginosa* o *Acinetobacter* resistentes a todos, o casi todos, los antimicrobianos disponibles en el mercado y que por lo general son provenientes de pacientes con neumonía asociada al ventilador en las UCI. Estas cepas se adaptan bien al ambiente del hospital y en estudios epidemiológicos moleculares se han puesto de manifiesto que sólo 1 o 2 clones provocaron brotes en las UCI por lo que es necesario mejorar la vigilancia de estos organismos, en las instituciones de salud (71).

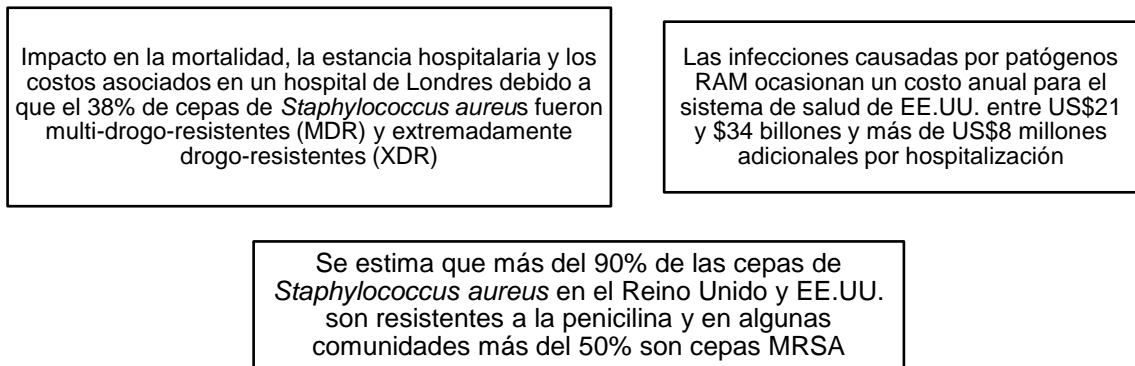
5.4.6 La resistencia antimicrobiana en la salud pública. De acuerdo con la OMS, la RAM se produce cuando es el microorganismo el que es resistente mas no, el fármaco ni el paciente, de tal manera que algunas cepas de bacterias que normalmente son sensibles, por ejemplo a la penicilina, pueden desarrollar resistencia a este antibiótico, ya sea a través de mutación (transmisión vertical) o mediante la adquisición de otras bacterias de los genes de resistencia (transmisión horizontal) razón por la cual se explica por qué la resistencia se propaga rápidamente y reemplaza una población bacteriana previamente susceptible a este fármaco (72).

La RAM es un fenómeno común en bacterias, pero también se puede presentar en hongos y parásitos, que se adaptan a los fármacos utilizados para eliminarlos. La RAM fue reconocida por la FAO como una amenaza emergente para la salud pública que requiere un esfuerzo coordinado mundialmente por el riesgo que representa para la seguridad alimentaria, en razón a que el uso excesivo o indebido de antimicrobianos promueve la resistencia entre las bacterias patógenas que en principio debían suprimir, impactando a su paso también a la población rural y la seguridad alimentaria. La conferencia de gobierno de la FAO pidió en el año 2015 una acción urgente para responder a la creciente amenaza de patógenos resistentes a los medicamentos en los sistemas de producción alimentaria, tanto terrestres como acuáticos (17)

Expresa la OIE que el uso de antimicrobianos en animales productores de alimentos ha contribuido a la obtención de animales saludables y productores de alimentos de bajo costo, menor incidencia de enfermedades y que a pesar de estos beneficios, existe una gran preocupación de salud pública, seguridad alimentaria y en las perspectivas de regulación sobre el uso de antimicrobianos en este tipo de animales, sobre todo porque no se pueden aislar los sistemas de producción del entorno ambiental y los problemas relacionados con la resistencia a los agentes antimicrobianos están intrínsecamente relacionados con el uso de agentes antimicrobianos en cualquier entorno, antrópico o natural (5).

La sociedad de enfermedades infecciosas de América (IDSA) (73) refiere algunos estudios donde se cuantifican los impactos de la RAM en la salud pública en algunas partes del mundo entre los que se encuentran:

Figura 8. Impactos y costos de la RAM para la salud pública



Fuente: Elaborado con base a información del IDSA

Refiere igualmente IDSA (73) que entre las bacterias gram positivas el *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina es uno de los principales problemas debido a que ha surgido resistencia a antimicrobianos como quinupristina, dalfopristina y Linezolid; Otro gran problema es el caso de la *Neisseria gonorrhoeae* que ha aumentado la resistencia a penicilinas, tetraciclinas y fluoroquinolonas quedando en muchas regiones como una única opción viable la ceftriaxona, aunque algunas cepas ya han desarrollado resistencia a esta y a Cefotaxime; En el caso de las bacterias gram negativas se considera que los organismos productores de β lactamasas de amplio espectro (BLEE) han aumentado su prevalencia en Europa y en algunas han salido del hospital a la comunidad. La aparición y rápida propagación de gram negativos XDR productores de carbapenemasas, como *Acinetobacter* spp., enterobacteriaceae, *Klebsiella pneumoniae*, han agotado las opciones de tratamiento disponibles. Finalmente expresa IDSA que en conjunto, los organismos resistentes altamente problemáticos son denominados patógenos BLEE (*Enterobacter*, *E. coli*) y ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y enterobacterias) por su capacidad para “escapar” de las acciones de las terapias efectivas y ser responsables de la crisis de resistencia antibiótica en diferentes partes del mundo (73).

La adopción de una terminología internacional estandarizada para definir organismos resistentes a un número significativo de medicamentos terapéuticamente activos es un paso importante para mejorar la comparabilidad de los datos de vigilancia de estos organismos y para evaluar mejor su importancia epidemiológica mundial, regional y local y su impacto en la salud pública. Por tal razón se ha establecido por consenso sobre la definición y el uso de términos como "resistente a múltiples fármacos", "resistente a los medicamentos extremos", "extensivo, extensivo o extremadamente resistente a los medicamentos" (XDR) y panresistente (PDR) para caracterizar la resistencia en organismos multirresistentes – MDRO y poder comparar confiablemente los datos de vigilancia para los MDRO y, en consecuencia, lograr la comunidad médica tenga una comprensión completa del alcance del problema de la resistencia a los antimicrobianos y transmitir información precisa al público y a los responsables de las políticas sobre la creciente amenaza de los MDRO para la salud pública (74)

5.4.7 La RAM en el entorno acuícola y en los peces. El más importante riesgo ambiental que potencialmente se produce por los antibióticos es la generación de resistencia, en especial en organismos patógenos para los humanos ya que su mal uso favorece la selección de bacterias resistentes y la diseminación de los genes de resistencia, que podrían llegar al ambiente humano. El código sanitario para los animales acuáticos de la OIE refiere en el análisis del riesgo asociado a la resistencia a los agentes antimicrobianos como consecuencia de su uso en animales acuáticos, que los microorganismos que habitan el entorno acuícola constituyen el reservorio fundamental de determinantes de resistencia en la biosfera y que este reservorio representa el origen básico de todos los determinantes de resistencia a los agentes antimicrobianos, tanto en medicina humana como veterinaria. La frecuencia de determinantes de resistencia en microorganismos ambientales se mantiene por factores intrínsecos no generados por el hombre y todos los usos de agentes antimicrobianos en el hombre, incluyendo la acuicultura, tienen el potencial de aumentar el tamaño del reservorio. Existe el riesgo que la utilización de agentes antimicrobianos en la acuicultura traiga como consecuencia un incremento de la frecuencia de determinantes de resistencia en el microbioma ambiental y este aumento de frecuencia se transfiere a los microorganismos capaces de infectar a los humanos y a los demás animales, sin embargo, la evaluación y gestión del riesgo es muy compleja porque las vías biológicas para la evaluación de la difusión y la exposición son innumerables (5).

Algunos autores refieren que el uso de agentes antimicrobianos en la acuicultura aumenta la frecuencia de cepas RAM y estas cepas pueden tener un impacto en la terapia de enfermedades de los peces, la terapia de enfermedades humanas o el ambiente de las granjas piscícolas pero el análisis de la magnitud de estos impactos se ve obstaculizado por la limitada información disponible y la variación en los métodos analíticos utilizados (75) o que las granjas de peces impactan la

diversidad y distribución de ARG en los sedimentos y su presencia está asociado con los antibióticos que se utilizan en las granjas (76).

Para el análisis de bacterias RAM en peces es necesario analizar la situación en el continente asiático y en especial en China donde se produce más del 60% de la acuicultura mundial y en este país, se utiliza una gran cantidad de antimicrobianos en la piscicultura para asegurar su producción. El uso de antimicrobianos en el control de enfermedades y como promotor de crecimiento de la acuicultura en China es preocupante por las amenazas potenciales para la salud humana, requiriéndose desde el punto de vista de la acuicultura, más estudios sobre los potenciales riesgos en el ambiente y la salud humana, así como la existencia y propagación de genes de resistencia a antimicrobianos (77). En acuicultura, se han realizado trabajos y para efectos de la presente investigación se analizaron estudios relevantes entre los cuales se mencionan los siguientes:

Un estudio donde se trata de mejorar la comprensión de los riesgos de la seguridad alimentaria, realizando análisis genómicos funcionales para identificar los genes de resistencia a los antimicrobianos en muestras de peces de una granja de peces en Ohio, donde se identificó un nuevo determinante Tet resistente, designado como Tet 47 en *Providencia* spp, proveniente del intestino de peces. Este nuevo gen se encontró también confiriendo resistencia Tet en *Escherichia coli* y una de las conclusiones obtenidas por el estudio es que el pescado y los subproductos mostraron ser posibles portadores que pueden diseminar los nuevas, funcionales y potencialmente transmisibles determinantes de resistencia a los antimicrobianos por alimentos y contactos ambientales (78).

Los estudios sobre la percepción del riesgo por parte de los consumidores de pescado de agua dulce y sus factores de influencia como el realizado en la ciudad de Yangzhou, en la provincia de Jiangsu, donde los resultados mostraron que casi el 40 % de los consumidores tienen una mayor percepción de riesgo en la calidad de los peces de agua dulce y consideran que los residuos de hormonas en el ambiente y los residuos de antimicrobianos son los principales problemas de inocuidad de los peces de agua dulce. También determinó que los factores que más influyen en la percepción de riesgo por el consumo de peces de agua dulce son: la seguridad alimentaria, el género de los consumidores, el conocimiento de peces de agua dulce, el concepto de dieta saludable, la experiencia de compra, la edad (menores de 18 años), la educación y el precio, respectivamente (79).

Sobre la presencia de antimicrobianos en peces se analizó un estudio realizado en el sur de China donde se investigaron residuos de seis antimicrobianos veterinarios (tres quinolonas y tres sulfonamidas) en tres muestras de peces

cultivados en el delta del río Pearl. Los resultados revelaron que las quinolonas y las sulfonamidas se acumularon en los peces a niveles que se encontraron más altos, en peces de agua dulce que en peces marinos. La anguila y el bajo contenían las concentraciones más altas de quinolonas ($185,7 \pm 19,9$ mg/kg) y sulfonamidas totales (140.5 ± 12.5 mg/kg) respectivamente, en el tejido muscular. La ingesta diaria estimada mostró que la contribución de los peces investigados en la ingesta diaria de quinolonas y sulfonamidas estaba por debajo de la ingesta diaria admisible (IDA) por lo que no parece plantear un riesgo para la salud pública, recomendándose urgentemente más investigación sobre los efectos de estos contaminantes (80).

Analizado el resumen de estudio donde se investigó la bioacumulación de antimicrobianos en bilis, plasma, hígado y tejido muscular de peces silvestres de cuatro ríos en la región del delta del río Perla, se determinó que 12 antimicrobianos estaban presentes en al menos un tipo de tejidos de nueve especies de peces silvestres y que el tejido digestivo, la bilis, el plasma y el hígado mostraron una gran capacidad de bioacumulación para algunos antimicrobianos, lo que indica un patrón diferente de bioacumulación de contaminantes orgánicos hidrófobos. Al realizar la evaluación de riesgo para la salud humana basada en el potencial de consumo de pescado se determinó que estos antimicrobianos no parecen plantear un riesgo apreciable para la salud humana (81).

Para conocer la presencia de cepas de *Aeromonas* spp y su actividad hemolítica, la RAM y la presencia de plásmidos, un estudio realizado en Malasia evaluó muestras del mercado de cinco tipos de pescado observándose que la actividad hemolítica varió ampliamente entre las cepas aisladas y que las cepas aisladas mostraron resistencia a tres o más de los antimicrobianos probados y todos eran susceptibles a ceftazidima. También se observó que el 56,7% de los sesenta aislados albergaban plásmidos con tamaños que van desde 2,3 hasta 15.7 kb. Los resultados indicaron que *Aeromonas* hemolíticas, resistentes genéticamente a diversos antimicrobianos se presentan en el pescado en esta región (82)

Del continente americano se analizaron estudios como el realizado en Estados Unidos, considerando que la presencia de antimicrobianos en productos importados, pueden promover el desarrollo de resistencia, utilizando la espectrometría de cromatografía líquida por masas en tándem, se investigó la presencia de 47 antimicrobianos en camarones, salmón, bagre, trucha, tilapia, y swai (basa) importados de 11 países diferentes. Todas las muestras ($n = 27$) cumplieron con las regulaciones de la FDA y cinco antimicrobianos se encontraron por encima de los límites de detección. A pesar de que este estudio fue limitado en el tamaño de la muestra, representa el reconocimiento de antimicrobianos en productos pesqueros en Estados Unidos y proporciona datos sobre

antimicrobianos no controlados previamente. Aunque los resultados indican bajos niveles de residuos de antimicrobianos y el cumplimiento general de las normas estadounidenses, el potencial de desarrollo de RAM se identificó como una de las principales preocupaciones y prioridades a investigar (83).

Igualmente se analizó un estudio, realizado con muestras de camarón de cultivo importado a los Estados Unidos de seis países diferentes. El análisis preliminar se realizó con kits ELISA rápidas para cloranfenicol, verde malaquita, nitrofuranos y fluoroquinolonas. Las muestras dieron positivo al verde de malaquita y fluoroquinolonas y negativas para el cloranfenicol y nitrofuranos. Los resultados de estos kits de ELISA se confirmaron mediante cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem, encontrándose residuos confirmados para el cloranfenicol en concentraciones desde 0,30 hasta 0,49 ppb y enrofloxacin de 1.22 a 5.95 ppb. Al mismo tiempo se analizaron camarones capturados en medio natural en los EE.UU. dando negativo para los medicamentos considerados. Según estos resultados se sugiere que las pruebas actuales de la FDA pueden no ser adecuadas para determinar la seguridad de alimentos marinos importados. (84)

Para conocer la situación del problema en Colombia se analizó un estudio realizado por Suárez y Col., en el año 2011 en pescado fresco la prevalencia de *Aeromonas* fue de 76,47% distribuidas en *A. Hydrophila* (29%), *A. sobria* (19,1%), *A. jandaei* y *A.veronii* (17%), *A. popoffii* (6,4%), *A. media* (43%), *A. eucrenophila* (4,3%) y *A. schubertii* (2.1%) (85)

5.4.8 Consumo de antimicrobianos y RAM. El doctor Alexander Fleming, quien descubrió la penicilina en 1945 reportó que la administración de antimicrobianos podría generar en un futuro resistencia a las bacterias porque después de realizar un experimento con bacterias sensibles a penicilinas, observó que estas pueden multiplicarse aún en altas concentraciones del agente (86) lo cual ocurrió con muchas cepas de bacterias RAM resistentes a los antimicrobianos de elección como es el caso de *Neisseria gonorrhoeae* a penicilina, *Mycobacterium tuberculosis* a la estreptomycin y *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* a la vancomicina.

Actualmente se cuenta con el plan de acción mundial contra la resistencia a los agentes antimicrobianos adoptado por los países miembros de la OMS en mayo de 2015, donde la OIE en alianza tripartita con la FAO y la OMS, creó una base de datos mundial sobre el uso de agentes antimicrobianos en los animales. Para el caso 96 de 130 (74 %) países miembros en el año 2015 no autorizaba el uso de agentes antimicrobianos como promotores de crecimiento indicando una

disminución del porcentaje de países que los autorizan para este fin con respecto al año 2012, cuando eran 77 de 151 (51%) los países miembros que los habían prohibido por completo (87).

La OMS refiere que el aumento en el uso general de antimicrobianos en muchos países, por ejemplo, en los Estados Unidos, como agentes promotores del crecimiento (AGP) aumentó cincuenta veces entre 1951 y 1978 (De 110 a 5.580 toneladas), mientras que sólo hubo un aumento de diez veces en el uso de antimicrobianos para tratar infecciones en personas y animales por lo que durante este período, muchas cepas bacterianas tanto de fuentes humanas como animales que eran susceptibles a los antimicrobianos adquirieron resistencia, tal como sucedió en países como en Inglaterra (Reino Unido), donde la prevalencia de *Escherichia coli* resistente a la tetraciclina en aves de corral aumentó de 3,5% a 63,2% después de cuatro años (1957-1960) del uso de antimicrobianos en aves de corral.

Inicialmente, virtualmente todos los antibióticos se podían usar como AGP y las dosis suministradas eran subterapéuticas hasta que en 1968 en Gran Bretaña, la preocupación por los posibles efectos adversos sobre la salud humana se creó un comité conjunto en el uso de antimicrobianos en la cría de animales y medicina veterinaria y recomendó que los antimicrobianos no deben utilizarse como AGP si se utilizan como agentes terapéuticos en la medicina humana o animal o sean asociados con el desarrollo de resistencia cruzada a los antimicrobianos utilizados en las personas. El informe, denominado Swann, fue el fundamento para el desarrollo de la política de uso prudente de los antimicrobianos y de reglamentos en muchos países de Europa occidental (34).

5.4.9 Costos de la RAM. En una ponencia realizada en Madrid (España) en el marco del “Día Europeo para el uso prudente de los antibióticos 2016” el 18 de noviembre de ese año la OMS mencionó que para el año 2050 debido a la RAM los países tendrán pérdidas en el PIB, entre el 1,1 y el 3,8% y más del 5% en los países de ingresos bajos, que conducirá a 28 millones de personas a la pobreza sin perspectivas de recuperación cíclica e impactará en los costos de la atención de salud de \$300 millones a \$1billón y producirá 10 millones de muertes al año (88).

La OMS y el Centro Europeo para la prevención y control de enfermedades (ECDC) estiman que las bacterias RAM son responsables en Europa de alrededor de 400 000 infecciones, generando 2,5 millones de días adicionales de hospitalización y 25 000 muertes por año, con un gasto añadido superior a los 1 500 millones de € por los costos derivados de la atención sanitaria y de la pérdida

de productividad. Asimismo, según estimaciones los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) de Estados Unidos, cada año mueren en ese país más de 23 000 personas por infecciones causadas por bacterias RAM y se generan unos costos sanitarios directos derivados de dichas infecciones que alcanzan 20 000 millones de dólares, a los que habría que añadir otros 35.000 millones en costos indirectos (9). En esta misma línea, según la OMS, cada año se producen unos 440 000 casos nuevos de tuberculosis MDR en el mundo, que causan al menos 150 000 muertes (89).

La FAO reconoce que el manejo de las enfermedades junto con el cambio climático y la urbanización son retos para una humanidad la producción de alimentos para una población mundial esperada de 10 000 millones para el año 2050 en un entorno en el que el uso excesivo o indebido de antimicrobianos promovería el aumento de la RAM en bacterias patógenas y amenaza con revertir un siglo de progreso en la salud humana y animal (17).

5.4.10 RAM en infección o colonización de personas. Teniendo en cuenta que la presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos, como por ejemplo el *Staphylococcus aureus*, en los alimentos ha evidenciado que es una consecuencia de la inadecuada manipulación higiénica, lo que representa un riesgo potencial para la salud pública se realizó en Egipto un estudio donde se analizó la relación entre los animales, los productos alimenticios y las personas en el cual se caracterizaron los factores de virulencia y MRSA de *Staphylococcus aureus*, aislada de productos de pollo en ventas al por menor. Mediante hisopados de las manos de los vendedores se estableció la relación genética de los aislados del pollo y los de los vendedores, mediante la reacción en cadena de polimerasa-restricción de longitud de fragmentos polimorfismo (PCR-RFLP) usando la proteína A como objetivo, se evidenció la relación genética de los aislados. La genotipificación mostró patrones de bandas de restricción idéntico de los aislados de MRSA de origen carne de pollo y humano, lo que indicó la relación genética de los aislados, indicando los autores que fue el primer estudio para caracterizar MRSA PVL-positiva de productos de pollo y utilizar el spa-RFLP para la evaluación de la relación genética entre SARM de origen humano y de pollo en Egipto (90).

La resistencia puede ser obtenida en humanos y animales por los microorganismos que forman parte de su flora normal, así como por los agentes patógenos zoonóticos y algunas bacterias RAM que alcanzan al humano a través de la cadena alimentaria causan efectos patógenos menores adicionales a la resistencia, pero, al hacer el análisis de riesgos, sólo en el caso de *Salmonella* y *Campylobacter* se reporta que la resistencia adquirida posiblemente en los animales, puede añadir a la carga de la enfermedad humana, donde la virulencia es un factor de riesgo y una consecuencia adversa de la infección con bacterias

RAM. Casi todos los casos a favor o en contra de los antimicrobianos utilizados en animales se complican por el uso de los mismos antimicrobianos en los humanos que son igualmente capaces de dar lugar a la resistencia. Esto sucede con los antimicrobianos AGP en bacterias Gram-positivas que actúan sobre los enterococos en animales destinados al consumo y posiblemente, la flora fecal normal de los humanos, pero que parecen no ser responsables de infecciones en humanos ni determinantes de la resistencia observada en aislados clínicos. (91)

5.5 MICROBIOTA BACTERIANA DE LAS TILAPIAS

En los productos recién capturados la carga microbiana encontrada depende en gran medida de la contaminación microbiológica de sus ambientes acuáticos. La microbiota bacteriana en las tilapias depende de la flora existente en las aguas de donde proviene y varía de acuerdo con el hábitat de la especie, sobre todo con la temperatura, profundidad y grado de contaminación de las aguas (92). Las bacterias generalmente no se localizan en órganos internos de los peces pero, las branquias, piel y tractos intestinales de peces albergan comunidades bacterianas que pueden migrar a otros órganos afectando la salud de los peces (93). Como muchos de los organismos patógenos pueden ser componentes usuales de la flora bacteriana de ambientes acuáticos, es necesario contar con información de la microbiota de peces sanos, pues estas bacterias se constituyen en patógenos potenciales ante una baja de las defensas de los peces o en un riesgo porque podrían llegar a la mesa de los consumidores al infiltrarse en el músculo. A continuación, se relacionan algunos de los grupos de mayor interés tanto en medicina humana como en ictiopatología:

La *Salmonella* es un género de bacilos gram negativos perteneciente a la familia Enterobacteriaceae de la cual se han identificado más de 2 500 serovares diferentes en dos especies, a saber, *Salmonella bongori* y *Salmonella entérica*. *Salmonella* es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua (35). Los bacilos son de 2 a 4 micras de longitud, anaerobios facultativos no esporulados que en su mayoría poseen flagelos peritricos y fimbrias con la excepción de *S. Pullorum* y *S. Gallinarum*, que son inmóviles (94). Las *Salmonellas* son las bacterias más comúnmente reportadas y documentadas en la salud humana y en alimentos de origen animal, en especial *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* que son tradicionalmente los serovares más frecuentemente aislados de humanos en el mundo, de tal manera que en EE. UU se reportó que el 20% de las muestras de carne molida contenían *Salmonellas*. La mayoría de los casos humanos de salmonelosis no tifoidea (SNT) son causados por un número limitado de serovares que pueden variar de un país a otro y con el tiempo. Se considera que las SNT son agentes zoonóticos y los alimentos de origen animal son las principales

fuentes de su transmisión, además se han reportado infecciones humanas causadas por *Salmonella* spp MDR después de viajes internacionales o por el comercio mundial de productos alimenticios (95).

Para comprender mejor las fuentes y la transmisión de serovares de *Salmonella* no tifoidea asociada con RAM, se realizó un estudio en África subsahariana donde se analizaron datos de RAM a largo plazo para humanos y ganado de Pacific Northwest usando medidas de diversidad y técnicas de bootstrapping donde se demuestra que algunos perfiles de RAM en los serovares predominantes eran comunes entre las poblaciones de acogida, pero más perfiles eran únicos a las poblaciones de origen que se compartieron. Además, el número esperado y observado de perfiles de RAM en humanos y ganado fueron diferentes, lo cual sugiere que *Salmonella* y RAM de humanos y ganado no pueden ser derivados totalmente de una población común (96).

Mientras que en Kampala (Uganda) se determinó la estructura antimicrobiana fenotípica y genotípica de serotipos comunes de diversas fuentes (aguas pluviales, residuales, enjuagues de matadero, aves de corral y heces porcinas) encontrando cepas similares entre las diferentes fuentes lo que significa que SNT difunde entre los humanos, el ganado y el ambiente. Se detectó una mayor resistencia en aves de corral lo que sugiere que son posibles reservorios. Mediante un enfoque de modelado matemático se hizo una idea de transmisión de SNT, encontrando que la proporción de humanos infectados por contacto con los animales depende de la prevalencia de SNT en los animales y de la proporción de los humanos en contacto con los animales (96).

La *Aeromonas* corresponde al género propuesto por Kluver & van Niel (1936) para ubicar las bacterias en forma de bacilo que poseen propiedades generales del grupo entérico, pero móviles por medio de flagelos polares con las siguientes propiedades destacadas: Forma alargada y recta de 1 a 3 micras de largo; Gram-negativa; polarmente flagelado (generalmente monótono) o inmóvil; anaerobios facultativos, fermentación de carbohidratos con formación de ácido o ácido y gas; oxidasa positiva; reductor nitratos a nitritos (97). De acuerdo a la última edición del "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", se desplazó este género de la familia Vibrionaceae para formar su propia familia Aeromonadaceae con solo el género *Aeromonas*. Las *Aeromonas* spp., son muy sensibles a las condiciones ácidas y a la sal, por lo que en general no se desarrollan en alimentos con un pH menor de 6,5 y un contenido de NaCl mayor del 3,0%. Las temperaturas óptimas de crecimiento de *Aeromonas* spp., están entre 20 °C y 37 °C, aunque la *A. salmonicida* se considera psicrófila (98). La *Aeromonas hydrophila*, es un microorganismo medioambiental cuyas aeromonadas móviles mesófilas son acuáticos ubicuos y autóctonos presentes en aguas dulces, residuales, salobres y

en agua potable clorada o no, así como en alimentos. Es un agente patógeno oportunista implicado en enfermedades humanas tales como gastroenteritis, infecciones de heridas, septicemia, neumonía, fascitis necrotizante y afecciones de los tejidos blandos. Algunas cepas virulentas de *A. hydrophila*, en condiciones de estrés, pueden invadir la mayoría de las especies de peces de agua dulce produciendo infecciones de tipo septicemia hemorrágica (MAS). En China la plaga roja de los peces se ha convertido en la más importante y peligrosa enfermedad bacteriana de los peces. La patogénesis de *A. hydrophila* es multifactorial y los factores de virulencia en conjunto determinan la capacidad de daño y la ayudan a resistir la inmunidad del huésped. (99)

Dentro del género *Aeromonas* se pueden distinguir dos grupos: El primero es psicrófilo e inmóvil y está representado por *Aeromonas salmonicida*, la cual es patógeno para peces (forunculosis) pero no afecta al hombre ya que no puede multiplicarse a la temperatura de 37 °C. El segundo grupo es mesófilo y móvil que ocasiona la Aeromoniasis, enfermedad común al hombre y a los animales. Las especies más conocidas son *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* y *A. schubertii*, pero solo *A. hydrophila* y *A. sobria* son de interés clínico. Estudios de hibridación demuestran que el complejo *A. hydrophila* es genéticamente muy variable y con base en las propiedades bioquímicas se puede llegar a identificar en el 95% de los aislamientos (100).

La *Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, móvil por flagelos periféricos, no forma esporas, capaz de fermentar la glucosa y la lactosa. Puede ser un patógeno oportunista y se utiliza frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular. Al género *Escherichia* que en el pasado había sido representado por la especie *Escherichia coli*, por consideraciones taxonómicas se le agregaron cuatro nuevas especies: *Escherichia hermannii*, *Escherichia vulneris*, *Escherichia fergusonii*, y *Escherichia blattae*. *E. coli* está generalmente presente en el intestino distal de los organismos de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas, pero algunas pueden causar graves intoxicaciones alimentarias (101).

Según su relación con el huésped se agrupa en cepas comensales, patotipos intestinales y patógenas extraintestinales (ExPEC): Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*). Este último grupo es la causa principal de infecciones urinarias, abdominales y de tejidos blandos, meningitis, neumonía, bacteriemias y osteomielitis. Las cepas de *E. coli* son genéticamente diversas y las diferencias entre las patógenas y las comensales se fundamentan en sus antecedentes filogenéticos, con base en los cuales se clasifican en cuatro grupos principales: A, B1, B2 y D. Las cepas A y B1 se consideran de bajo poder virulento, en tanto que las ExPEC albergan genes que codifican factores de virulencia responsables de

promover las etapas de colonización, adherencia, invasión y evasión de los mecanismos de defensa del huésped humano y pertenecen principalmente a los grupos B2 y D (102).

El tipo de *E. coli* más patógeno es conocido como *E. coli* O157:H7 que genera una toxina denominada Shiga y se le conoce como productor de toxinas Shiga (STEC, siglas en inglés). Existen muchos otros tipos de STEC y algunos pueden provocar enfermedades tan graves como el *E. coli* O157:H7. *Escherichia coli* se ha asociado con un número grande de enfermedades, incluyendo cistitis, apendicitis, infecciones de la vesícula biliar, la septicemia, meningitis, endocarditis, y la diarrea epidémica (103). La resistencia a los antimicrobianos adquirida por *E. coli* es muy común, por ejemplo, un estudio reveló que *E. coli* aisladas de pescado ahumado usando nueve antimicrobianos pertenecientes a seis modos de acción diferente a saber: betalactámicos, las fluoroquinolonas, aminoglucósidos, sulfonamidas, tetraciclina y β -lactámicos- β -lactamasas. Basados en el patrón de resistencia de los aislados, se calculó el índice de resistencia a múltiples antimicrobianos (índice de MAR) para cada aislado. Los resultados del estudio revelaron que el 16% de los aislados exhibió MDR y 53% de los aislados tenían Índice de MAR de 0,2 y por encima. La MDR se presentó a cuatro o más antimicrobianos probados sugiriéndose que el origen de las cepas corresponde a un área de alto uso de antimicrobianos (104).

En otro estudio, se encontraron cepas de *E. coli* MDR, incluyendo dos cepas resistentes a siete agentes antimicrobianos. En cuanto a las quinolonas, 22 y 12% de las cepas eran resistentes a la ciprofloxacina y ácido nalidíxico, respectivamente. Las tasas de resistencia fueron 17% a la tetraciclina, 13% a sulfametoxazol, 8% cada uno a la ampicilina y trimetoprim y 5% a cloranfenicol. Ninguno de las cepas de *E. coli* fueron resistentes a la colistina, Cefotaxime, Gentamicina, meropenem, ceftazidime y la Tigeciclina. Para todos los aislados de *E. coli*, la CIM de Azitromicina fue \geq a 8 mg / litro, y estas cepas fueron considerados susceptibles (105).

5.6 RIESGOS DE LA RAM EN BACTERIAS DE ORIGEN ANIMAL

El uso de antibióticos en la cría de animales, incluyendo en el ganado, aves de corral y la piscicultura, requiere acciones urgentes para evitar el abuso y para reducir prácticas inadecuadas en las especies animales (106), así como en la terapéutica de los seres humanos. Se necesita más información sobre los antibióticos en la producción primaria de alimentos en todo el mundo, y en la aparición de resistencia a los antimicrobianos en diferentes países y sistemas de

producción, con el fin de hacer comparaciones entre países e identificar las áreas prioritarias de intervención (107).

Para llegar a afectar a la salud humana, las bacterias que han adquirido RAM por el uso de antibióticos en los animales deben ser transmitidas al hombre y ser directamente causantes de la enfermedad o transferir su RAM a otras bacterias que causan la enfermedad, de tal manera que esa concesión aumente su contribución al problema de la resistencia en la terapia humana. Las cepas RAM más importantes en este contexto son las salmonellas resistentes a antibióticos, las campilobacterias resistentes a macrólidos o fluoroquinolonas, los enterococos resistentes a los glicopéptidos o estreptograminas y las E. coli MDR. Por otro lado, en muchos patógenos humanos importantes el uso de antibióticos en humanos es suficiente para crear un problema importante, por ejemplo el *S. aureus* resistente fue creado por el uso sucesivo de antibióticos en los propios humanos y no necesito participación del uso de antibióticos en animales, lo mismo ocurrió con *S. pneumoniae* resistente a penicilina y macrólidos y *S. pyogenes* resistente a los macrólidos que tampoco necesitaron contribución del uso animal (108).

5.7 LA VIGILANCIA DE LA RAM

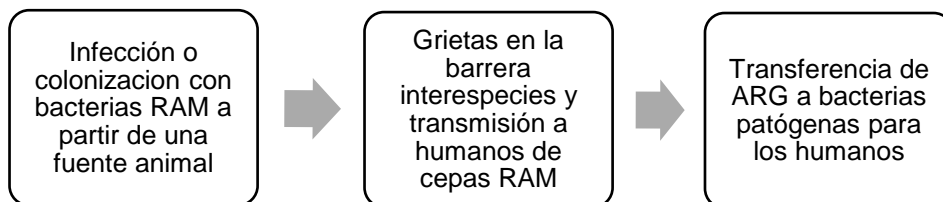
La Vigilancia de la RAM es una herramienta valiosa en epidemiología, terapéutica, salud animal y seguridad alimentaria, pero todavía no se ha implementado en muchos países. Es un proceso continuo que además de la inocuidad de los alimentos, abarca toda la salud pública y debe tener en cuenta aspectos como armonizar la recopilación e interpretación de datos, aumentar la vigilancia del consumo de antibióticos en animales, motivar los productores pecuarios y de insumos veterinarios o farmacéuticas para mejorar el uso de antibióticos, la producción de animales sanos y adoptar buenas prácticas.

La asamblea mundial de la salud de la OMS adoptó un plan de acción mundial sobre la RAM considerando que la vigilancia es la piedra angular para evaluar su carga y para proporcionar la información necesaria que respalde las estrategias locales, nacionales y mundiales. Por esto creó el sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (GLASS) y disponer de una estrategia normalizada de recopilación, análisis e intercambio de datos sobre la RAM en todo el mundo. Así se fundamentará la toma de decisiones, se orientarán las medidas y se aportarán las evidencias necesarias para la acción y promoción. El GLASS combina los datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio sobre los patógenos que suponen una mayor amenaza para la salud mundial y en su manual detalla la puesta en marcha del sistema de vigilancia, centrándose en bacterias RAM, y define el desarrollo flexible y gradual del sistema (109).

La comunidad científica es unánime acerca del uso prudente y responsable de antibióticos, de optimizar los tratamientos y minimizar el uso inadecuado, ya que, mientras son pocos los nuevos antimicrobianos, cada día es más difícil el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por bacterias MDR. Por su parte, a la industria farmacéutica y a la producción pecuaria, consideradas en gran medida responsables del incremento de bacterias RAM, por la complejidad del fenómeno, no amerita que se les atribuya responsabilidades individuales. Los datos sobre el uso de antimicrobianos en todas las especies deben estar a disposición del público y en la industria pecuaria se pueden recopilar directamente en las fábricas de alimentos balanceados (73). La vigilancia de las RAM de bacterias zoonóticas, comensales o patógenas presentes en personas o animales suministra la información básica para mejorar la inocuidad de los alimentos. Ya la OMS, la OIE, la FAO y la comisión del Codex Alimentarius, desarrollaron normas relacionadas con la vigilancia de las RAM y recomiendan realizar programas de vigilancia integrada, armonizar los métodos analíticos y notificar el uso de antimicrobianos (110).

El uso de antibióticos en la producción pecuaria se considera como un contribuyente al problema clínico de la enfermedad con agentes RAM en medicina humana pero no hay datos que demuestren de manera concluyente la magnitud de ese riesgo y los posibles mecanismos por los cuales podrían dar lugar al problema clínico en humanos como se observa en la figura 9

Figura 9. Mecanismo de transferencia de RAM patógena a humanos.



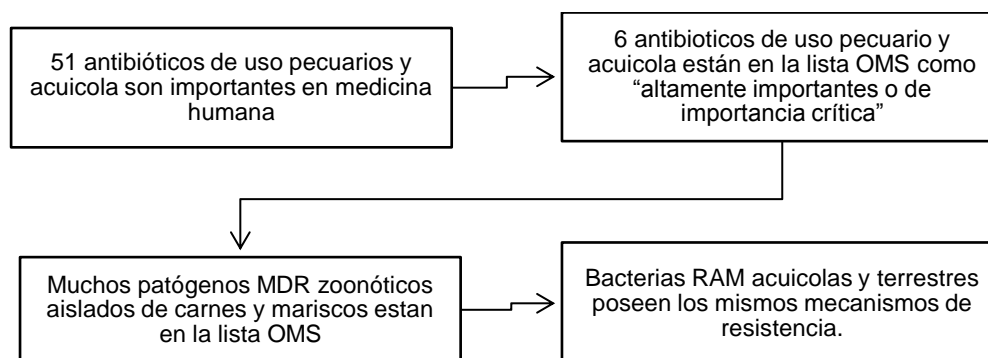
Fuente: Elaboración propia

De éstos tres, el primero se estima con mayor facilidad, pero su impacto es bajo comparado con la carga global de enfermedades por agentes RAM. Del segundo se conocen varios casos y se discuten los orígenes en el ganado de probables cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecium*, pero, aunque es fácil demostrar la relación del sentido de transmisión, es difícil evaluarla de manera robusta. El tercer mecanismo es el más difícil estudiar su contribución e incluso puede ser el más importante de todos (111).

5.8 UTILIZACIÓN DE ANTIMICROBIANOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Varios antibióticos se han utilizado en ganadería como promotores de crecimiento y para la terapéutica veterinaria, por lo que se les ha relacionado con el desarrollo de resistencia a los antibióticos. No es ajena a la administración en la acuicultura por lo que se considera que podría promover mecanismos de resistencia similares o nuevas al ganado (112). Una revisión realizada en el centro de seguridad ambiental, el Instituto Biodesign, la universidad de Arizona, la escuela Bloomberg de salud pública de la universidad Johns Hopkins de Baltimore, EE.UU. para determinar si el crecimiento de la acuicultura genera amenazas de RAM diferentes de las RAM asociadas con animales terrestres examinó paralelos y diferencias entre la producción de especies terrestres y acuáticas determinando que en 39 años:

Figura 10. Paralelo de la RAM en animales terrestres y acuáticos



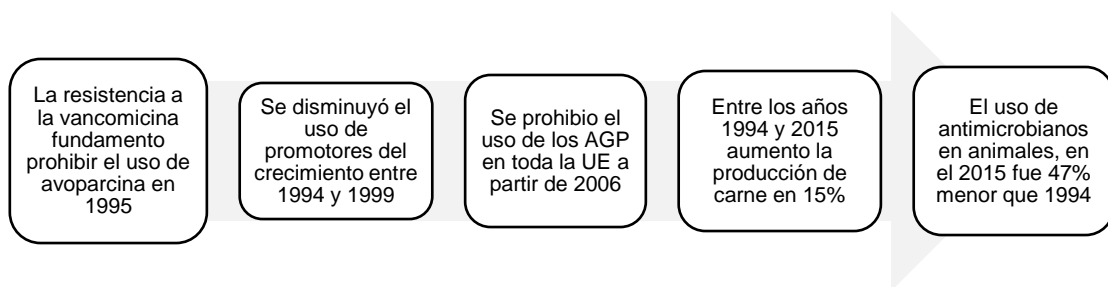
Fuente: Elaboración propia

Concluyen que se necesita más transparencia en la recopilación y comunicación de datos para que los riesgos y beneficios del uso de antibióticos se puedan evaluar de manera adecuada (113).

Para profundizar en este marco teórico, el análisis de la RAM de origen pecuario se pondrá como ejemplo un estudio en el que se determinó el papel potencial del entorno de granja porcícola en la propagación de cepas de *Enterococcus* MDR, tanto a los animales como a las personas. En este se concluyó, que el ambiente de la granja tiene un papel potencial subestimado en la transmisión de *Enterococcus* a los cerdos y posiblemente a los humanos. El contacto continuo de la especie porcina con *Enterococcus* MDR por diferentes vías (alimentación, polvo, aire) podría disminuir el impacto de las políticas restrictivas de uso de antibióticos

y refuerza la necesidad de las intervenciones a nivel de gestión de la cría (114). A nivel macro regional se presenta el caso de Europa sobre los efectos de la prohibición de promotores de crecimiento para detener la RAM que ocasiono (115).

Figura 11. Evolución y efecto de la restricción en el uso de antibióticos en animales



Fuente: Elaboración propia con base en información consultada

Con los resultados y observaciones realizadas las hipótesis que se plantean son:

Si las tasas de cepas RAM se disminuyen al prohibirse el uso de AGP, entonces algunas de estas cepas o sus genes de resistencia, son de hecho, por alimentos de origen animal;

La resistencia se ha incrementado en enterococos humanos en varios países de Europa desde la prohibición de los AGP, lo que coincide con el aumento del uso de antimicrobianos en los humanos

La prohibición de los AGP aumentó el uso de antibióticos terapéuticos como tetraciclinas, penicilinas, sulfonamidas, macrólidos más trimetoprim y aminoglucósidos, por lo tanto, aunque se redujo el volumen de antibióticos utilizados en animales, se aumentó su uso terapéutico en medicina veterinaria y humana y este mayor uso contribuyó al aumento de la resistencia de Salmonella Typhimurium a la tetraciclina en cerdos y humanos.

La bacitracina, que es utilizado sólo por vía tópica en medicina humana, ha sido ampliamente utilizada como AGP y en el tratamiento de la enteritis necrótica clostridial de pollos e infecciones de Lawsonia. Se ha evidenciado que su uso no ha tenido ningún efecto perjudicial sobre la resistencia en Estafilococos y Streptococos que son las especies objetivo en humanos. Se predijo que si

retiraba como AGP surgirían problemas gastrointestinales que requerirían tratamiento y efectivamente se presentó aumento general en el uso terapéutico de antibióticos en animales y no disminuyó la resistencia a la bacitracina de *E. faecium* (116).

Los defensores de los AGP mencionan un peligro teórico relacionado con la prohibición de AGP, cuál es la posibilidad de que las cargas de *Salmonella* y *Campylobacter* en alimentos que lleguen a los humanos sean mayores, lo que aumenta el riesgo de infección con estas bacterias. Argumentan que en Dinamarca se observó el aumento de la incidencia de la infección por *Campylobacter* y el aumento temporal de infecciones por *salmonella* y se ha confirmado que la campilobacteriosis ha alcanzado mayores niveles en países europeos, mientras que se redujo en los EE.UU. donde no estaban prohibidos.

5.9 COLONIZACIÓN DE BACTERIAS RAM A LOS HUMANOS

La adquisición humana, del ganado y otros animales de granja, de bacterias portadoras de genes de RAM puede ocurrir por contacto directo con animales, a través de la cadena alimenticia, o a través de la contaminación ambiental. El consumo de productos cárnicos se ha relacionado con brotes de origen alimentario de infección, incluyendo los causados por bacterias RAM (117). Los resultados adversos en la salud humana y la aparición de resistencia en animales han hecho que el tema haya adquirido gran importancia y hace necesaria la determinación de los factores modificables o intervenciones que reduzcan la ocurrencia de la RAM procedente del ganado. Infecciones por bacterias RAM se han asociado con efectos más graves en la salud comparada con la infección por cepas sensibles, por ejemplo, los pacientes con *Salmonella* RAM presentan mayor riesgo de hospitalización, aumento de la duración de la hospitalización e infecciones sistémicas (117). Los estudios realizados para analizar los posibles efectos adversos en la salud de los humanos al exponerse a residuos de medicamentos veterinarios utilizados en animales productores de alimentos como los agonistas beta, fenilbutazona, los nitroimidazoles y arsenicales han ocasionado que estos dos últimos, ya no están aprobados para su uso en animales productores de alimentos en muchos países (118).

Un ejemplo sobre cepas de bacterias RAM que han colonizado o infectado seres humanos, se realizó en un hospital de Londres donde se halló que el 38% de cepas de *Staphylococcus aureus* fueron resistentes a las penicilinas y que las bacterias MDR y XDR tienen un impacto significativo sobre la mortalidad, la estancia hospitalaria y los costos asociados. Igualmente se ha determinado que *S. aureus* resistente a la metilicina fue rara pero altamente asociada entre el trabajo en una granja (119). Otro ejemplo corresponde a un estudio realizado en Alemania

donde, teniendo en cuenta que los orificios nasales representan un depósito bacteriano importante para infecciones endógenas, se evaluó la prevalencia de colonización nasal por agentes patógenos de importancia, la susceptibilidad antimicrobiana y los factores de riesgo asociados. Este estudio demostró altas tasas de colonización nasal con enterobacterias en la población general alemana, pero con tasas de resistencia a los antibióticos bajas. *Staphylococcus aureus* es un patógeno que puede colonizar las fosas nasales, las mucosas oro faríngeas y la piel de algunas personas, pudiendo entablar una relación de huésped portador asintomático, pero también es el agente causal de infecciones leves localizadas en piel y tejido subcutáneo e intoxicaciones alimentarias en personas y uno de los microorganismos de mayor impacto en infecciones graves en la comunidad y en infecciones hospitalarias. Algunas cepas son capaces de adquirir genes que las facultan para producir ciertas toxinas y enzimas (enterotoxinas, penicilinasas), que le confieren mayor patogenicidad (120).

5.10 MÉTODOS PARA ANALIZAR LA RAM.

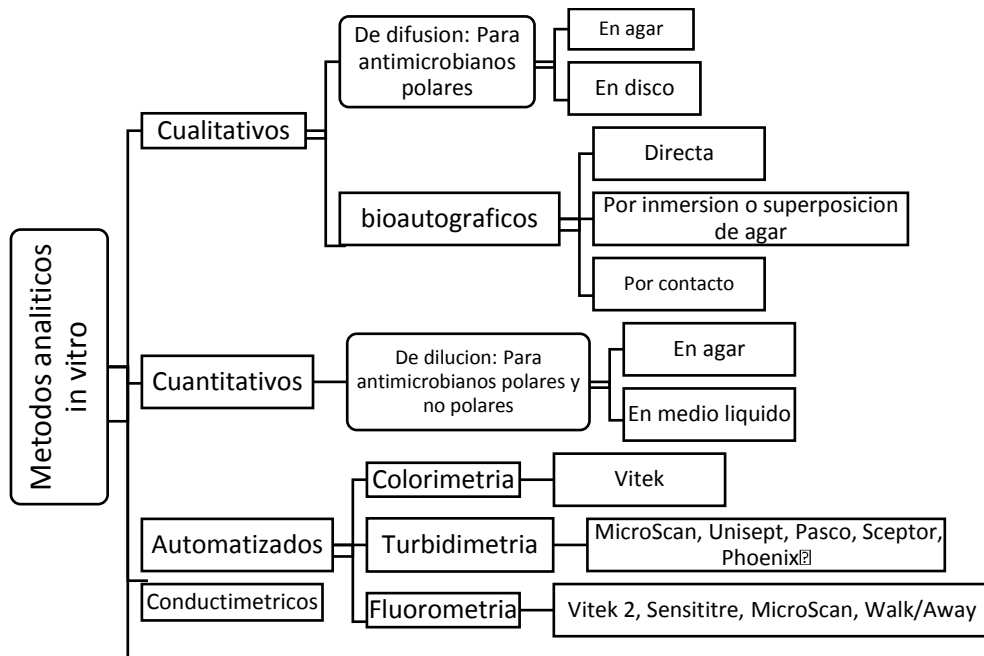
En general los métodos para analizar la resistencia a los antimicrobianos se clasifican en métodos *in vitro*, métodos *in vivo* y moleculares. En el laboratorio los métodos disponibles se clasifican en métodos de difusión (difusión en disco y E-Test), métodos de dilución (macro y micro dilución en caldo y dilución en medio sólido con agar) y los métodos moleculares y automatizados. Según el resultado de sus procedimientos de medición se clasifican en cuantitativos y cualitativos. Los cuantitativos son los que sus procedimientos permiten determinar la CIM expresada en $\mu\text{g/ml}$ y la CBM. Los cualitativos son los que sus procedimientos permiten clasificar a un microorganismo en categorías que van desde sensible a resistente y son los más utilizados en la práctica clínica diaria (121). Estos métodos analizan la resistencia *in vitro* y su fin en la práctica clínica es predecir si una bacteria puede responder al antimicrobiano *in vivo* (122). Como todas las técnicas analíticas no tienen la misma sensibilidad o los mismos principios, los resultados *in vitro* sobre la resistencia de una bacteria a los antimicrobianos dependen de la técnica seleccionada, el tipo de bacteria y aspectos bioquímicos o físicos inmersos en la técnica como son el grado de solubilidad de los antimicrobianos evaluados y la calidad de los insumos (123). Los grupos de métodos que suministran resultados significativamente reproducibles son los de difusión en disco, el de dilución en medio líquido y el método de dilución en medio sólido con agar (122).

Adicionalmente a estos métodos se menciona un cuarto grupo de métodos que pueden ser utilizados para determinar la actividad microbiana denominado análisis conductimétrico, que cual detecta el crecimiento microbiano como un cambio en la conductividad eléctrica o impedancia del medio de cultivo (124).

Dentro de los cuantitativos existen los de referencia o Gold standard (ya sea micro o macro dilución en caldo y/o dilución en agar) y otros que no son de referencia (E-test, Just-One), pero que facilitan la realización de antibiograma por la CIM en la práctica diaria a la vez que da flexibilidad respecto de decidir en cuales antimicrobianos estudiar la CIM. Los cualitativos (difusión en disco o Kirby Bauer) permiten a través de la medición de un halo en mm correlacionar con la CIM e interpretarse en 3 categorías, susceptible, Intermedio o resistente frente a cada antimicrobiano. Los de screening y punto de corte, permiten separar cepas con algún mecanismo de resistencia específico, de aquellas que no lo poseen mediante diversos agares cromógenos o de screening que contienen una concentración de antimicrobiano que constituye el punto de corte para identificar las cepas resistentes (125).

En la figura 12, se esquematiza el uso de los métodos de difusión y se indica para que tipo de se utilizan. Según la técnica metodológica utilizada y debido a que es necesario detectar de manera oportuna y precisa la existencia de mecanismos de resistencia se pueden clasificar en: convencionales o fenotípicos y automatizados que a su vez pueden ser fenotípicos o genotípicos. Estas últimas corresponden a técnicas rápidas, de screening, o confirmatorias, ya sea fenotípica o genotípica para identificar especies en particular o la medición de la CIM.

Figura 12. Principales métodos para analizar la RAM



Fuente: Elaboración propia con base en la literatura referenciada.

Los medios de cultivo más utilizados en dichas técnicas son el agar Mueller Hinton y agar tripticasa soya ya que sus componentes facilitan el crecimiento de diferentes cepas bacterianas y mayor difusión de las muestras. Sea cual fuere el método empleado debe cumplir unos requisitos como son la facilidad para su realización, fiabilidad, flexibilidad, costo, exactitud reproducibilidad y adaptación a los sistemas automatizados o semiautomatizados. Existen directrices o estándares que se deben aplicar a las pruebas de sensibilidad a los antibióticos y su interpretación, como las formuladas por el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio CLSI de los Estados Unidos, la sociedad Británica de quimioterapia antimicrobiana (BSAC) del Reino Unido, el comité de antibiogramas de la sociedad Francesa de microbiología (CASFM) de Francia y el instituto Alemán de normativas (DIN) para Alemania.

5.10.1 Métodos de difusión disco en agar. Este método se caracteriza por la difusión de un agente antimicrobiano, contenido en discos a determinada concentración, hacia un medio de cultivo sólido que ha sido sembrado con un inóculo seleccionado. Se fundamenta en la determinación de una zona de inhibición del crecimiento que es proporcional a la sensibilidad de la bacteria ante el antimicrobiano presente en el disco (122). Es necesario precisar que el tamaño del halo de inhibición es influenciado por factores como el medio de cultivo, la

capacidad de difusión del compuesto, la cantidad de inóculo, tiempo de generación del microorganismo, sensibilidad al antibiótico, y período de incubación, que pueden afectar el resultado de la prueba, sin embargo, empleando un procedimiento estándar es posible obtener resultados confiables.

El método de difusión en agar presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles y la técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer et al., (método de Kirby-Bauer).

5.10.2 Método de Kirby Bauer. Este método de difusión en disco fue descrito por primera vez en 1966, fue estandarizado y actualmente recomendado por el subcomité de ensayos de susceptibilidad del CLSI de Estados Unidos. Ha sido objeto de amplias evaluaciones y diferentes organismos oficiales lo recomiendan como método de referencia, susceptible de utilizarse en la práctica ordinaria del laboratorio clínico (126). Realiza la inoculación y siembra sobre la superficie del agar Mueller Hinton de bacterias objeto de investigación, estándares y blancos en discos de papel filtro Whatman N° 42 que se incuban invertidas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, posteriormente se miden los halos de inhibición incluyendo el diámetro de los discos. Establece el efecto de un antimicrobiano sobre las cepas bacterianas, determinándose la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir la cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento, alrededor de un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro impregnado con una cantidad conocida del antimicrobiano (127). Es el método más empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico y se fundamenta en que durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al microorganismo estudiado, formándose el halo de inhibición cuyo diámetro es convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo a tablas publicadas por los organismos encargados del control como el NCCLS (128).

Como prueba diagnóstica, la sensibilidad y especificidad del método de Kirby-Bauer dependen del disco antimicrobiano y del tipo de agente que se esté analizando, por ejemplo, cuando se utiliza un disco de cefoxitina de 30 μg , es la prueba más accesible y tiene una alta sensibilidad y especificidad, para la detección fenotípica de BLEE, tiene un amplio uso y es económica, pero requiere al menos 48 horas para dar un resultado. Esta técnica presenta la desventaja que el papel filtro Whatman está compuesto de celulosa, lo que hace que la superficie del disco sea hidrofílica y pueda absorber algunos compuestos catiónicos impidiendo su difusión en el agar, mientras que los compuestos apolares difunden

fácilmente en el agar. Esto puede explicar en parte la más alta sensibilidad detectada cuando el método se utiliza directamente en pozo (123).

El método E-Test consiste en la colocación de tiras plásticas impregnadas con concentraciones específicas de antimicrobianos sobre cultivos de bacterias que luego se incuban y se observan unas elipses de inhibición del crecimiento.

5.10.3 Métodos de dilución. Los métodos de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana son utilizados para determinar la CBM y la CIM. En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del antimicrobiano donde el microorganismo en estudio es inoculado, incubado y la CIM es determinada. En el método de dilución en agar, las cajas se siembran por profundidad con una determinada concentración del antibiótico, luego se inoculan con el microorganismo en estudio y se incuban por 24 horas, después de ésta, se examina si el microorganismo crece o no en cada una de las cajas, la principal desventaja de este método es la cantidad necesaria de muestra a evaluar. Los métodos de microdilución en caldo son una técnica útil para determinar CIM, en un gran número de muestras. La ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, además permite diferenciar entre un efecto bactericida y uno bacteriostático.

5.10.4 Determinación de la CIM y la CBM. La CIM es definida como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas, y la CBM como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de cultivar en un medio libre del compuesto evaluado, estas variables son una herramienta para investigar nuevos antimicrobianos. La cuantificación de la actividad *In vitro* de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante algunas de las variantes de los métodos de dilución. La CIM se ha establecido como "Gold Standard" frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado. Se puede realizar en microdilución para lo cual se escogen las placas que tienen 96 pocillos (12 mm x 8 mm), en las que se estudia en cada una de ellas, el mismo microorganismo, 8 antimicrobianos y 11 diluciones (la última columna se suele utilizar como control de crecimiento) o viceversa.

La determinación de la CBM también conocida como concentración letal mínima, es definida como la concentración más baja del agente antimicrobiano necesario para matar el 99% del inóculo inicial después de incubación por 24 horas bajo

condiciones estandarizadas. Es una prueba que se realiza generalmente como dilución en caldo empleando diluciones dobles, y se realiza posterior a la determinación de la CIM. Se comprueba sembrando de cada una de las diluciones por difusión en agar y se determina el número de unidades formadoras de colonias/ml (UFC), puede ser determinado usando un método de macrodilución (1 o 2 ml por tubo) o por microdilución (0.1 o 0.2 ml por tubo), sin embargo el método por microdilución tiene más sensibilidad. El método estandarizado para alcanzar la CBM a través de microdilución en caldo se encuentra en el protocolo de NCCLS descrito como M-26 A.

En los bioensayos de actividad antibacteriana se deben tener en cuenta algunos aspectos: El panel de microorganismos a evaluar siempre debe tener dentro de la batería, microorganismos gram positivos y gram negativos; Las cepas ATCC (American Type Culture Collection) son bien caracterizadas, aunque también se pueden utilizar aislamientos clínicos; El inóculo se recomienda que se encuentre en el rango de 10^5 y 10^6 ufc/ml; La concentración de los extractos a evaluar no debe exceder el rango de 1 mg/ml para extractos y 0.1 mg/ml para compuestos aislados (124).

5.10.5 Métodos automatizados comerciales. La FDA ha analizado los sistemas automatizados comerciales y reporta que estos proporcionan resultados de susceptibilidad equivalentes a los resultados generados por el método de referencia recomendado por CLSI para los microorganismos y agentes antimicrobianos descritos en el inserto de manufactura. Estos métodos determinan puntos de corte o diluciones en concentraciones específicas que permiten diferenciar entre las categorías de interpretación, entre las cuales se encuentran disponibles en el mercado los siguientes:

5.10.5.1 Microdilución rápida. Corresponden a métodos comerciales fenotípicos de los cuales existen en el mercado 3 marcas de equipos automatizados que son: Vitek 2 y Vitek 2 compaq de Biomerieux; Microscan WalkAway y Autoscan de Siemens y Phoenix BD de Becton Dickinson. Estos sistemas varían en su automatización, método de detección (turbidimetría, fluorometría), tiempo de incubación, tiempo de lectura y sistema experto. Cada uno tiene sus propias instrucciones y recomendaciones de manufactura para el manejo y control de calidad de las tarjetas o paneles de identificación y susceptibilidad, almacenamiento de los mismos y ajuste del inóculo. Sus puntos de corte permiten diferenciar cepas resistentes de cepas intermedias o de cepas sensibles. Los paneles o tarjetas de estos métodos contienen antimicrobianos específicos para los distintos grupos de microorganismos (bacilos, cocos, levaduras, gram positivos, gram negativos) y mediante turbidimetría se establece las CIM de cada cepa. Además, cuentan con software de interpretación o reglas de experto para

informar resultados coherentes de susceptibilidad. Estos equipos permiten realizar la identificación ya sea bioquímica o por matriz de ionización-desorción laser tiempo de vuelo (MALDI-TOF, por sus siglas en ingles) y el estudio de susceptibilidad en forma integrada (125).

La FDA indica que los sistemas comerciales proporcionan resultados de susceptibilidad equivalentes a los resultados generados usando el método de referencia recomendado por CLSI para los microorganismos y agentes antimicrobianos descritos en el inserto de manufactura con una tasa aceptable de errores mayores menor de 1,5% y de errores superiores menor de 3,0% de los aislamientos (129).

5.10.5.2 Medios con cromógenos. Existen también en el mercado medios con cromógenos que permiten una rápida identificación de microorganismos con perfiles de resistencia determinados como los son *Staphylococcus aureus* MRSA y detección de BLEE. También se encuentran en el mercado la prueba de cefalosporina cromogénica (nitrocefina) que permite detectar la hidrólisis de la β -lactamasa, esta prueba es muy útil para *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis* y *Enterococcus* spp.

5.10.5.3 PCR. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de laboratorio que permite amplificar pequeños fragmentos de DNA para identificar material genético completo de donde proviene el fragmento, en este caso de bacterias. El PCR en tiempo real se encuentra dentro de los métodos moleculares (Métodos comerciales genotípicos), que detectan la presencia de genes, en este caso, de resistencia conocidos.

5.10.5.4 Espectrometría de masas (MALDI-TOF) (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz) acoplada a un analizador TOF (tiempo de vuelo). Es una técnica de ionización suave utilizada en espectrometría de masas que permite el análisis de biomoléculas (proteínas, péptidos y azúcares) y macromoléculas orgánicas (polímeros, dendrímeros) que tienden a hacerse frágiles y fragmentarse cuando son ionizadas por métodos convencionales en la detección de perfiles proteómicos por ejemplo.

5.10.6 Los antibiogramas. En clínica se realizan los denominados antibiogramas debido a que la resistencia no siempre es homogénea entre cepas de una misma especie bacteriana y las terapias basadas en el diagnóstico simple de la especie causal pueden fallar. Una forma adecuada de elegir la antibioticoterapia es aislar la cepa causante de la infección a partir de muestras del portador o del paciente y

medir su sensibilidad in vitro a diferentes antibióticos realizando un antibiograma por difusión en agar. Se siembra la cepa bacteriana en la superficie del agar y se colocan sobre esta superficie discos de papel de filtro impregnados con una concentración conocida de cada antibiótico, que se difundirá por el agar. Después de la incubación se mide el diámetro del halo de inhibición de crecimiento que rodea cada disco y mediante una tabla de valores estándar se establece si la cepa bacteriana es sensible, intermedia o resistente a la concentración de antibiótico respectivo (127). Una vez aislada la bacteria también puede calcularse la CIM, para lo cual se inocula en varios caldos que contienen concentraciones crecientes del antibiótico y se observa, tras la incubación, cuál ha sido la concentración más baja en la cual no se aprecia crecimiento de la bacteria en el caldo.

5.11 ENFOQUE ECOSISTÉMICO PARA EL ANÁLISIS DE LA RAM

Para comprender el funcionamiento de la diversidad biológica y la salud se requieren tanto de las ciencias sociales como de las naturales por su aporte y sustento significativo a la investigación. Los enfoques integradores como el enfoque por ecosistemas, ecosalud y one health (una sola salud) permiten combinar distintos campos de acción y cooperación entre las disciplinas y permiten maximizar el uso de los recursos y comprensión de los resultados en materia de conservación, salud y desarrollo. Un enfoque multidisciplinario aporta conocimientos valiosos sobre como surgen y se propagan las enfermedades, como se identifican patrones de riesgo y ayuda al análisis de los riesgos en diversos sistemas socioecológicos. Cada vez se reconoce más su valor en la prevención y control de enfermedades infecciosas y sus aplicaciones en la evaluación de exposiciones y resultados en salud ambiental, comprensión de los servicios de salud y cómo las actividades antropogénicas en los ecosistemas pueden influir en los riesgos de enfermedades (130).

La ecosalud demuestra su relevancia y eficacia dado que la globalización y las crecientes interacciones sociales y económicas, la sobreexplotación de los recursos naturales, el cambio climático, el creciente número, severidad y alcance de los desastres naturales, han contribuido a tomar conciencia con respecto a la interdependencia entre el futuro de la humanidad y el bienestar del planeta y para esta toma de conciencia inciden los marcos científicos de los proyectos de investigación en salud (131). Hasta ahora, la mayor parte de la investigación en salud ambiental tiene como objetivo identificar los efectos de los agentes ambientales en la salud humana, entendida esta como un fenómeno de vivencia individual, sin embargo, no siempre interesa la salud de un individuo, sino la salud de grupos de personas, a lo que responde el llamado enfoque de poblaciones o ecológico (132).

5.11.1 Enfoque de “Una Salud” (“One health”). Tratar un asunto tan complejo para enfrentar la RAM como uno de los mayores problemas ecoepidemiológicos requiere un enfoque holístico y multisectorial por las siguientes razones:

Los antimicrobianos utilizados para tratar infecciones en animales pueden ser iguales o similares a los utilizados en humanos;

Las bacterias RAM tanto en los humanos como en los animales o el ambiente (112) pueden propagarse de uno a otro y de una región a otra, es decir la RAM no reconoce fronteras geográficas o entre las especies humanas y animales;

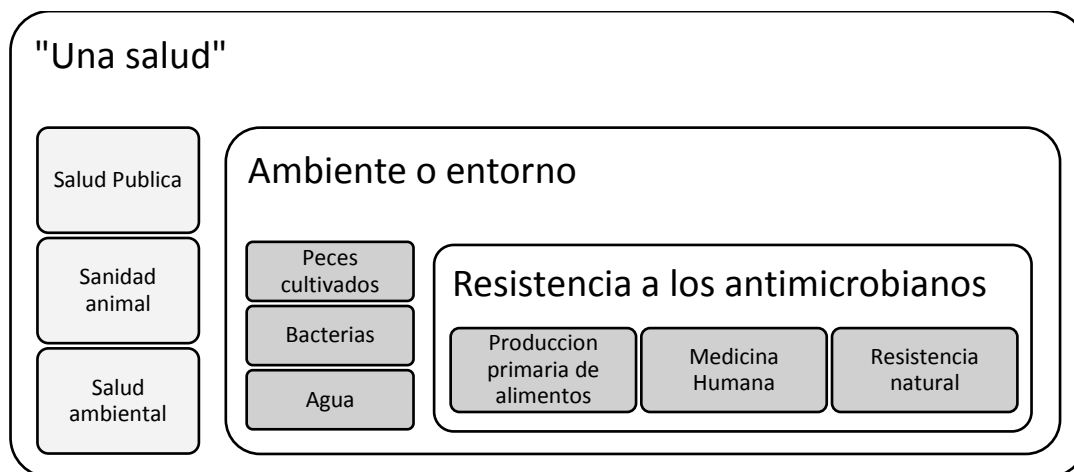
El uso de antimicrobianos se ha asociado con el riesgo de aparición de RAM

El descubrimiento y el desarrollo de los nuevos antimicrobianos deben ser preservados tanto como sea posible (133).

La OIE reconoce la importancia del enfoque «Una sola salud» considerando las necesidades de la salud humana, sanidad animal, agricultura y medio ambiente y establece una estrategia sobre la RAM conforme con el Plan de acción mundial de la OMS (134). En el caso de la acuicultura, la aparición de cepas bacterianas RAM portando ARG, el control de la globalización de la RAM requiere tratarse bajo el concepto de “Una Salud”, lo que significa que la salud de los peces y del ecosistema y su microbiota se convierten en objetivos primordiales, en los que al enfatizar en educación, se mejorara su conocimiento (5).

Según se observa en la figura 13, el ambiente o entorno es el componente físico, en el que interactúan factores y procesos químicos y biológicos, que determina cómo se desarrollan e interactúan los organismos vivos sin perder de vista lograr una salud óptima para las personas, una sanidad animal adecuada para la producción de alimentos y la conservación de un ambiente sano. Los ambientes pueden mantener poblaciones bacterianas equilibradas y sensibles, pero cuando ocurren malas prácticas o son alteradas por factores antrópicos, puede acelerarse la aparición de resistencia a los antimicrobianos. (135) El desafío es entonces el mantener la integridad de los ambientes, evitando la deforestación, las malas prácticas de los sistemas acuícolas, el agotamiento del recurso hídrico y la pérdida de biodiversidad.

Figura 13. Interdependencia bajo el enfoque de una salud de la salud humana, la sanidad animal y ambiente sano



Fuente: elaboración propia

Para implementar el enfoque "Una Salud" se requiere comprender de la interfaz humano: animal: ambiente y entender cómo es el comportamiento de la resistencia a los antimicrobianos en el sistema de producción pecuaria; es decir, identificar si el problema está asociado con las prácticas productivas, con las diferentes interacciones entre los humanos y los animales o es un problema generado por la ruptura de los equilibrios ecoepidemiológicos (137) También es significativo comprender dónde se presenta la carga contaminante de Bacterias RAM; si es en el agua del cultivo, si es en los peces asilvestrados, en los biofilms de la infraestructura productiva o en los operarios de los establecimientos. Así mismo es trascendental saber de dónde proviene la contaminación; si su fuente son los entornos urbanos asociados a un mal manejo de excretas humanas, del ámbito rural, si la producción acuícola es la responsable, de la avifauna silvestre o de algún origen desconocido.

5.11.2 Enfoque multinivel de los estudios epidemiológicos. Para efectos de abordar los problemas antropogénicos y de la RAM existen herramientas metodológicas generadas en las ciencias sociales que, por la presencia de múltiples niveles de organización, pueden ser relevantes para entender el proceso de salud-enfermedad y afrontarlo epidemiológicamente. Los determinantes de la salud se definen por el nivel de agregados o grupos de individuos, porque afrontarlos con enfoque individual tendría limitaciones en detectar los efectos de los determinantes grupales. Los estudios epidemiológicos en los que las unidades de análisis son grupos (estudios ecológicos) son apropiados cuando se está

interesado en explicar la variación entre los grupos y las variables de interés se pueden conceptualizar como características grupales, por ejemplo, cuando se examina la relación entre características socioambientales de un área y las tasas de morbilidad o mortalidad, usando espacios geográficos como unidades de análisis. En estos casos, las características socioambientales del área se conciben como cualidades del grupo que afectan a todos los individuos que viven dentro de esa comunidad y el estudio permite hacer inferencias entre áreas (135).

5.11.3 La RAM en la cadena agroalimentaria y la inocuidad. Una de los cuatro atributos básicos que permiten medir o evidenciar la calidad de los alimentos y por la cual las personas están dispuestas a pagar ya que les permitiría consumir alimentos libres de patógenos, es la inocuidad. Las ETA's, como la salmonelosis, son enfermedades de origen bacteriano generalmente asociadas con el consumo de productos como carne, pollo, huevos, leche, mariscos y pescados contaminados (28).

Los ambientes acuáticos pueden ser fuente de bacterias resistentes a los antimicrobianos que pueden transmitirse a los humanos a través del contacto directo con el agua o con los peces o mediante el manejo o consumo de estos. Identificar la relación entre el uso de antimicrobianos en la acuicultura y la resistencia a los antimicrobianos en personas es de fundamental importancia ya que el medio acuático es el que recibe finalmente los desechos antropogénicos generados.

La contaminación de los peces con bacterias RAM también puede ocurrir en las plantas de beneficios en durante las etapas de procesamiento, como transporte, lavado, evisceración, descamación y fileteado, así como el contacto con hielo utilizado para la conservación, agua contaminada, tablas, cuchillos, bandejas y cajas de plástico. También ocurre debido al estado sanitario inadecuado de los manipuladores de alimentos en su estado de portadores que pueden excretar bacterias en las heces y, debido a la higiene personal insuficiente, crean riesgos para la salud pública, ya que pueden causar contaminación de los peces al manipularlos al descargarlos, procesarlos o prepararlos (138)

5.12 ESTUDIOS ECOLÓGICOS

Los estudios ecológicos a los que también se les denomina estudios exploratorios o generadores de hipótesis son aquellos en los que la unidad de análisis es un grupo o agregado en lugar de un individuo (139). Con este es posible analizar la frecuencia de una enfermedad o problema de salud en una perspectiva colectiva –

espacial, utilizando la estructura de análisis común a todo estudio epidemiológico, es decir, necesita de una o más variables dependientes y una o más variables independientes. El objetivo de los estudios ecológicos, dado el análisis grupal que realizan, es hacer inferencias biológicas sobre los efectos de los riesgos individuales o sobre los efectos ecológicos en grupos poblacionales (137). Una característica importante de los estudios ecológicos es que la comparación entre diversas áreas permite la evaluación de múltiples niveles de exposición, lo cual puede ser imposible en una sola área geográfica cuando se tienen exposiciones casi homogéneas (138), por ejemplo, sería difícil hacer una comparación de niveles de exposición a los antimicrobianos entre los peces de un mismo jaulón pues comparten las mismas prácticas de manejo y suministro de alimentos. Estos estudios son fuente de información que no se fundamentan exclusivamente en la epidemiología, lo que permite el empleo de disciplinas como las ciencias sociales y del comportamiento, cuyos modelos conceptuales y métodos de estudio amplían la gama de posibilidades metodológicas. Cuando se trata de investigar poblaciones, es posible hacerlo con métodos cualitativos en el marco de un estudio ecológico por su gran utilidad en salud ambiental (132).

5.12.1 Características de los estudios ecológicos. En general se utilizan como un primer paso en la investigación de una exposición y su relación con la incidencia, prevalencia o cualquier factor de interés en una población. Las investigaciones que se realizan con este diseño utilizan datos que se han recopilado previa o rutinariamente en censos, encuestas, programas de vigilancia epidemiológica, registros de enfermedades o programas de control. Son los diseños más adecuados para estudiar exposiciones que sean más fáciles de definir y medir en una población que a nivel individual, sobre todo en grupos en los que existe una exposición que se manifiesta de forma ecológica (139).

Hay que tener cuidado con las conclusiones que se obtienen de este tipo de estudio, por ejemplo, concluir sobre los individuos con base en datos de la población a la que pertenecen o asumir que las relaciones entre los factores considerados en el estudio se expresan de igual manera a nivel individual. Es necesario tener cuidado para no caer en lo que Thorndike (1939) y Robinson (1950), denominaron falacia ecológica. Generalmente la inferencia causal a partir de datos ecológicos aplicados a nivel individual es insuficiente para configurar una falacia ecológica, pero pueden existir datos individuales que la confirmen por lo que siempre es necesario evitar las inferencias causales en niveles de observación diferentes a los analizados (132).

5.12.2 Clasificación de los estudios ecológicos. Los estudios ecológicos se clasifican teniendo en cuenta dos aspectos: El método de medida de exposición y el método de agrupamiento. Según la medida de exposición se presentan dos

tipos: Exploratorio si no hay interés marcado o no es medida la exposición específica; y etiológico si la variable de exposición primaria es medida y se incluye en el análisis. En este último caso, los grupos diseñados en el estudio pueden ser identificados por lugar (diseño de grupos múltiples), por tiempo (diseño de serie de tiempo) o por combinación de lugares y de tiempo (diseño mixto) (137)

Considerado este marco teórico, cabe plantear algunas consideraciones entre las cuales se pueden mencionar: En primer lugar, sería muy difícil determinar si el no utilizar antimicrobianos en peces para consumo humano, puede disminuir la prevalencia de bacterias RAM en los peces que se producen. Tanto el no utilizar antimicrobianos como la presencia de cepas bacterianas RAM afectan a la comunidad generando dos polos de opinión entre los diferentes actores sociales. En segundo lugar, los posibles tipos de estudios tienen limitaciones para examinar el papel de variables individuales pues existen factores de confusión, mediadores o modificadores del efecto de las asociaciones a nivel grupal (135). En tercer lugar, lo complejo es investigar las diferencias entre el impacto del uso de antimicrobianos en acuicultura según las características de los piscicultores o evaluar el efecto de las diferencias en los piscicultores en cuanto al uso de antimicrobianos en el embalse. En cuarto lugar, en un estudio con variables ecológicas con análogos a nivel individual (por ejemplo, % de cepas RAM de un pez y % de cepas RAM de un establecimiento piscícola), si el grupo es la unidad de análisis, no puede distinguirse el efecto contextual de la variable, de su efecto a nivel individual. En quinto lugar, en la situación posible que el estudio ecológico detecte mayor prevalencia de cepas RAM en establecimientos acuícolas con menor aplicación de antibióticos no se podrá asegurar si las diferencias se deben a los efectos del suministro de antibióticos en un establecimiento pequeño (menos jaulones) o al efecto contextual del establecimiento correlacionado con el suministro de antibióticos y con las características del ambiente que afecta a todos los jaulones o establecimientos independientemente de su tamaño individual. En sexto lugar, al cuantificarse las diferencias, debe considerarse si una población de 72 piscicultores sería lo suficientemente grande para poder medirlas de manera apropiada.

6. HIPÓTESIS

Los perfiles de resistencia a los antimicrobianos de bacterias gram negativas aisladas de tilapias cultivadas en jaulas en el embalse de Betania están relacionados con factores antrópicos como el uso de antimicrobianos y otras características sociodemográficas de los piscicultores, lo que determina la mayor o menor prevalencia de tales bacterias.

CONSIDERACIONES Y PREDICCIONES

Los establecimientos acuícolas en jaulas se encuentran en un mismo cuerpo de agua, por ende se espera que sean homogéneos en cuanto a la RAM que presentan las bacterias gram negativas presentes en las tilapias. Predicción: Las especies y los perfiles de resistencia de estas bacterias será similar en los establecimientos.

Cada establecimiento presenta singulares factores antrópicos que están relacionados con los perfiles de resistencia de bacterias gram negativas presentes en las tilapias cultivadas. Predicción: El perfil de resistencia a los antimicrobianos de las bacterias gram negativas será diferente en los establecimientos.

Hay establecimientos que utilizan antimicrobianos en el cultivo de las tilapias y otros que no. Predicción: La presencia de bacterias RAM será mayor en los establecimientos que utilizan antibióticos.

La resistencia a los antimicrobianos es un proceso de selección de algunas cepas y su generación depende de múltiples factores. Predicción: En las tilapias cultivadas habrá bacterias que, aunque sean de la misma especie, presentan diferentes perfiles de resistencia, incluyendo algunas multirresistentes.

7. DISEÑO METODOLÓGICO

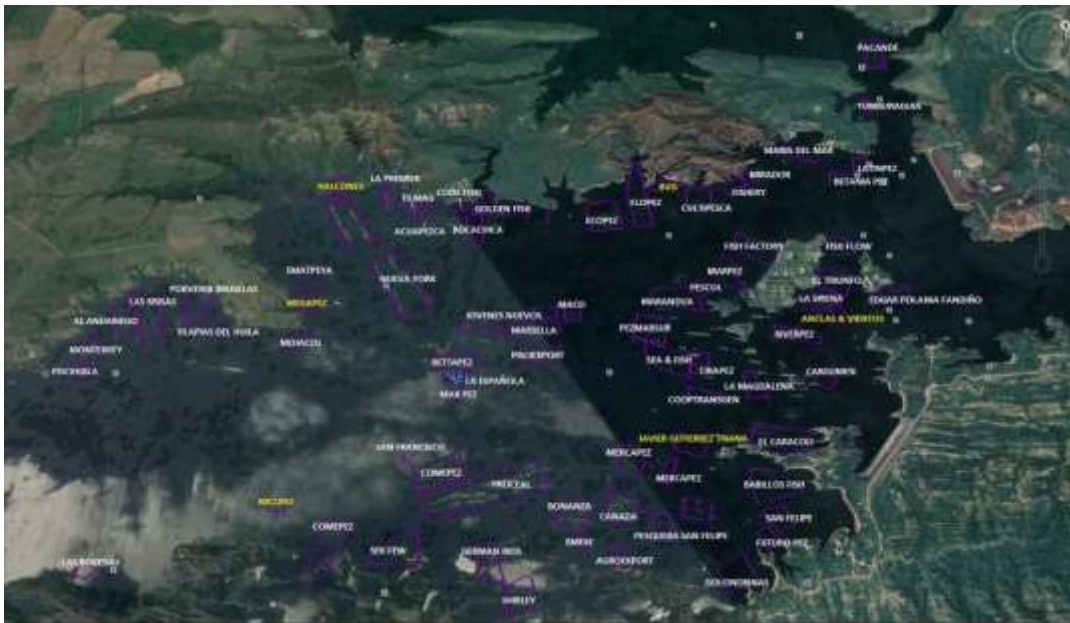
7.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio de tipo Ecológico exploratorio (140) donde se identificaron los perfiles de resistencia antibacteriana de bacterias gram negativas presentes en tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e híbridos rojos de tilapias (*Oreochromis sp*) cultivadas en jaulones y los factores antrópicos relacionados con el uso de antimicrobianos en establecimientos del embalse de Betania.

7.2 LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó en el brazo magdalena del embalse de Betania el cual se encuentra localizado en el Departamento del Huila, en jurisdicción de los municipios de Yaguará, Campoalegre y Hobo a 557 metros sobre el nivel del mar en la cuenca alta del río Magdalena.

Foto 1. Imagen de satélite de los establecimientos piscícolas en el embalse de Betania, 2018



Fuente: Elaborado a partir de Google earth

7.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

Los resultados que apoyan el presente estudio se exponen en los siguientes párrafos:

7.3.1 UNIDADES DE OBSERVACIÓN.

Las unidades sobre las cuales se realizó la medición fueron las tilapias plateadas y los híbridos rojos de tilapia cultivadas en jaulones, que fueron sometidos a tratamiento de reversión sexual en establecimientos en tierra y posteriormente llevados como alevinos al embalse de Betania y los piscicultores propietarios o responsables del establecimiento.

Foto 2. *Oreochromis* sp obtenida en el muestreo obtenida en el presente trabajo



Foto 3. *Oreochromis niloticus* obtenida en el muestreo en el presente trabajo



7.3.2 Unidades de análisis. Las unidades sobre las que se realizaron los análisis fueron los establecimientos acuícolas del embalse de Betania, que cuentan con los permisos otorgados por la autoridad ambiental y de acuicultura y pesca para su operación.

Foto 4. Imagen satelital de un establecimiento acuícola como unidad de análisis.



Fuente: Google earth

7.3.3 Unidades de selección. Las unidades sobre las cuales se identificaron las unidades de observación fueron los jaulones que se encontraron con peces finalizando el ciclo de producción. En total se encontraban sembrados 794 jaulones (23) de los cuales 138 (17,3%) poseían híbridos rojos de tilapias y 117 (14,73%) tilapias nilóticas de los tamaños correspondientes al usualmente establecido para la cosecha.

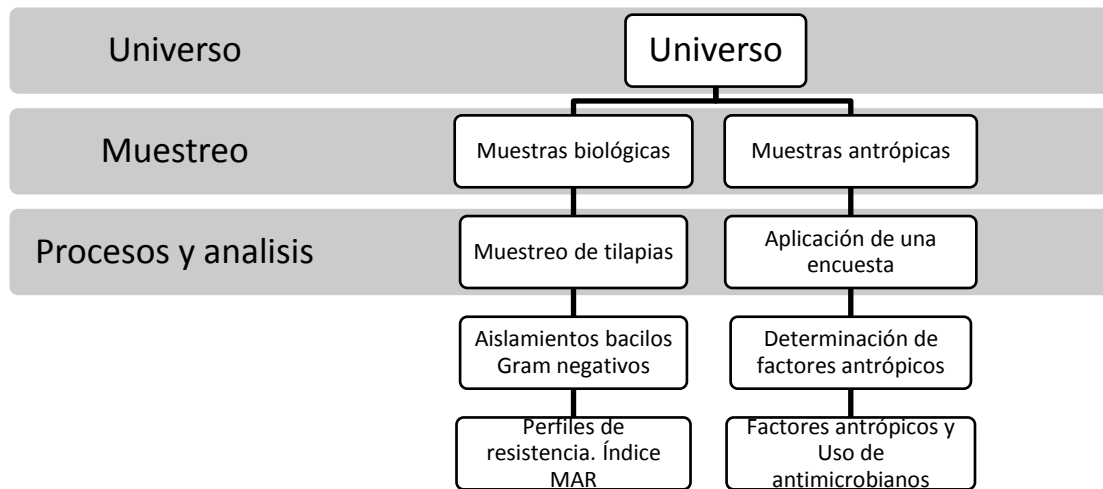
Foto 5. Jaulón como unidad de selección



Fuente: Obtenida en trabajo de campo

7.3.4 Universo. El universo, definido en función de las características que son comunes a todos, en este caso corresponden a los jaulones con peces cultivados presentes en los establecimientos y propietarios de los establecimientos acuícolas que son de tipo finito.

Figura 14. Arquitectura de muestreo y procesos del estudio



7.3.5 Definición del tamaño muestral. La definición del tamaño muestral corresponde a una proporción conocida de los jaulones, en los cuales se obtendrán las tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) y los híbridos rojos de tilapias (*Oreochromis sp*) de las que se obtendrán las cepas bacterianas gram negativas que se presenten. El tamaño de la muestra de los jaulones en los establecimientos acuícolas estuvo dado por la siguiente fórmula (142):

$$n = \frac{N Z^2 pq}{d^2 (N - 1) + Z^2 pq}$$

Dónde: N corresponde al total de jaulones, Z el nivel de confianza empleado del 90%, n corresponde al número de jaulones a seleccionar para obtener las unidades de observación, d la precisión empleada, p= proporción aproximada del fenómeno en estudio en la población de referencia; q= proporción de la población de referencia que no presenta el fenómeno en estudio (1-p). Según se observa en la tabla 2 el proceso de estimación del tamaño muestral dio como resultado un total de 43 jaulones cultivados con tilapia plateada y 46 jaulones cultivados con híbridos rojos de tilapia.

Tabla 2. Resumen del diseño muestral

Tilapia plateada		Tilapia Roja	
Población (N)	117	Población (N)	138
Nivel de confianza (Z)	1.645	Nivel de confianza (Z)	1.645
Variabilidad positiva (p)	0.5	Variabilidad positiva (p)	0.5
Variabilidad Negativa (q)	0.5	Variabilidad Negativa (q)	0.5
Precisión (d)	0.1	Precisión (d)	0.1
Muestra (n)	43	Muestra (n)	46
Factor de proporción (K)	0.349	Factor de proporción (K)	0.276

Fuente: Elaboración propia con base en Bustamante C. (143)

7.3.6 Muestreo. En el diseño muestral se aplicó un factor de proporción (K) porque no todos los establecimientos eran iguales en cantidad de jaulones, por lo que se estableció una distribución proporcional del universo y se aplicó esta distribución a su tamaño para ajustar la conformación de la muestra. El procedimiento para el muestreo de los peces dentro del jaulón para que la inferencia estadística sea válida fue aleatorio simple lo que garantizó que cada jaulón del universo y cada pez en su jaulón tuvieron la misma probabilidad de ser elegidos en la muestra. Para conformar la muestra humana se seleccionaron todos (72) los piscicultores o responsables de los establecimientos en jaulas en el embalse de Betania a quienes se les aplicó una encuesta y de esta manera conocer las variables antrópicas relativas al estudio.

7.3.7 Muestra. La muestra correspondió a un grupo representativo de los jaulones que culminan su ciclo en el momento de iniciarse el estudio (138 con híbridos rojos y 117 con tilapias nilóticas) de los que se tomaron peces en 46 jaulones cultivados con híbridos rojos de tilapia (*Oreochromis sp*) y en 43 con tilapias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) para aislar de ellas las bacterias gram negativas que las colonizaban. La representación de la muestra en términos de unidades según el tamaño del pez, características del producto y exigencias del método analítico por jaulón se hizo conforme al plan nacional de control de residuos de medicamentos veterinarios y otras sustancias químicas para productos de la acuicultura diseñado por el Instituto nacional de alimentos y medicamentos INVIMA y el Instituto Colombiano agropecuario ICA para el año 2016. Por muestra oficial se entendió (5) cinco unidades entre 400 y 500 gramos cada una de un mismo jaulón (141). Los 5 peces se agruparon en pooles para ser analizados en el laboratorio. Se excluyeron del muestreo los jaulones donde las tilapias no alcanzan el peso de cosecha, jaulones conformados por residuos de varios lotes anteriores, jaulones

que se hubieran cosechado parcialmente o sin información de siembra y origen de los alevines.

7.4 ESTRATEGIAS PARA CONTROLAR LAS VARIABLES DE CONFUSIÓN.

La confusión, entendida como la participación del efecto del factor de riesgo o protector, suministro de antibióticos o variables antrópicas, con un tercer factor asociado, que a la vez es factor de riesgo o protección para RAM, por lo que podría sobreestimarse o subestimarse el efecto de los factores antrópicos sobre el desenlace RAM se trató de controlar de la siguiente manera:

Se hizo un análisis sistemático para identificar y medir los posibles factores de confusión en la fase de protocolo del estudio.

Se determinó no incluir peces muertos, con menos de 120 días en el establecimiento y lotes de peces en policultivo de híbridos rojos con tilapias nilóticas en los jaulones.

La regresión logística permitió hacer el cálculo ajustado del efecto de la intervención, mediante el cálculo de la asociación de cada variable independiente con la variable dependiente, luego de ajustar por los efectos de las otras variables.

La muestra de cada jaulón correspondió a 5 peces de los cuales se conformó un pool y cada pool se analizó de manera independiente.

7.5 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Las técnicas y procedimientos que corresponden a los mecanismos, medios o recursos dirigidos a recolectar, conservar, analizar y transmitir los datos de los fenómenos antrópicos y RAM, son tanto cualitativos como cuantitativos. Por consiguiente, las técnicas de los que se valió el estudio para aproximarse a los hechos y acceder al conocimiento de los perfiles de resistencia antimicrobiana y factores antrópicos fueron:

Un formulario de encuesta realizada a los responsables en todos los establecimientos acuícolas.

Recolección de datos y especímenes de tilapias en campo

Cultivos a nivel de laboratorio para extraer cepas bacterianas objeto del estudio

Datos de tipificación de las cepas bacterianas a través de cultivos y pruebas específicas.

Datos provenientes del laboratorio sobre resistencia a los antimicrobianos

7.5.1 Entrevista, formulario y aplicación de encuesta. Se realizó una entrevista en profundidad o abierta en forma de diálogo planificado entre el investigador y el entrevistado con el propósito de conocer las apreciaciones o puntos de vista que el piscicultor concibe acerca de determinados tópicos de su actividad productiva y su ambiente. En todos los predios se realizó una encuesta a los propietarios o administradores del establecimiento sobre las condiciones del establecimiento y la historia productiva y sanitaria del lote muestreado, utilizando para esto un formulario previamente diseñado.

7.5.2 Recolección de datos de campo. Se realizó una recolección de las muestras de peces en los jaulones y una encuesta en los establecimientos acuícolas seleccionados entre enero y mayo de 2017 de la siguiente manera:

Utilización de un cuestionario estructurado que fue realizado por el investigador, después del consentimiento informado dirigido los propietarios, administradores o responsables de los establecimientos acuícolas presentes en el embalse de Betania.

Recolección de muestras de peces seleccionando aleatoriamente los predios a muestrear de acuerdo con el tamaño de la muestra calculado y ajustado de acuerdo al tamaño del establecimiento en número de jaulones que estuvieran dentro del peso usualmente establecido para su cosecha según la metodología de muestreo oficial en términos de unidades que por una muestra se entendió (5) cinco unidades, correspondientes a un mismo jaulón. Los 5 peces se agruparon en pules para ser analizados en el laboratorio.

7.6 INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Se construyó un formulario que se aplicó por los investigadores, mediante entrevista cara a cara con los piscicultores entrevistados. El formulario consto de 50 aspectos organizados en 6 bloques a saber:

Bloque de información general: Con información sobre el establecimiento, ubicación, especie o tipo de tilapia, fechas de diligenciamiento y siembra del jaulón, número de jaulones, peso de siembra, procedencia de los alevinos, número de operarios, asistencia del médico veterinario, nivel académico del propietario o responsable, título profesional o tecnológico y preguntas cerradas con respuestas dicotómicas sí o no sobre utilización de medicamentos, químicos o productos biológicos, uso de desinfectantes y uso de antibióticos.

Bloque de utilización de antibióticos en los peces: el cual recogía información con preguntas cerradas sobre cuándo se utilizan antibióticos, diagnóstico por laboratorio de enfermedad para su aplicación en forma dicotómica (sí, no); cual enfermedad; etapa del ciclo de cultivo en la que se encontraban los peces tratados; cuánto tiempo hace que se utilizan antibióticos en el establecimiento; por quien fue formulado o recomendado, como lo dieron a los peces; concepto sobre la experiencia de usar antibióticos y de usarlo nuevamente.

Bloque de utilización de probióticos en los peces: Con los mismos ítems del anterior bloque

Bloque de utilización de desinfectantes en el establecimiento: con ítems similares a los dos bloques anteriores.

Bloque de conocimiento, percepciones y actitudes de los piscicultores donde se indaga en forma dicotómica sobre conocimiento de cuales antibióticos se pueden usar en peces; cual considera que es el mejor antibiótico que ha utilizado en peces; conocimiento acerca del registro para exportar con respuesta dicotómica (sí o no) y ante qué entidad; asistencia a eventos de capacitación sobre sanidad en piscicultura en el último año, actividad asociativa o gremial con respuesta dicotómica, (sí o no) y en caso afirmativo cuál; registros de los productos y/o medicamentos que usa en el predio; tiempo de retiro para suspender el tratamiento con antibióticos.

Bloque de investigación acción local: Se indaga sobre lo que se piensa en caso de que no se utilizaran antibióticos; cambios o acciones necesarias para mejorar la sobrevivencia; necesidad de antibióticos para uso en piscicultura; calidad del pescado producido (sanitaria o inocuidad) y percepción sobre las especies que se cultivan en Betania.

7.7 PRUEBA PILOTO

Con el objeto de someter a una prueba general, el formulario encuesta para la realización del estudio y comprobar su aplicación en el campo y la respuesta de la población a las mismas, se realizó un pilotaje articulado al proyecto que permitió

establecer los criterios para el uso del formulario de encuesta diseñada para recolectar la información de los piscicultores del embalse de Betania y el ajuste del instrumento de acuerdo a sus circunstancias. Los objetivos específicos de la prueba fueron:

Comprobar la redacción de cada una de las preguntas del formulario.

Verificar que las personas entrevistadas comprendieran claramente las preguntas.

Comprobar que las preguntas cumplan con el objetivo de captar la información que se necesita.

Verificar que la información que los piscicultores suministren sea la pertinente al estudio.

Medir la duración de la entrevista completa en diferentes tipos de establecimientos.

Revisar y corregir lo que fuera necesario para mejorar la captación de la información.

7.7.1 Ubicación geográfica de la prueba piloto. La prueba se llevó a cabo en el embalse de Betania con 5 piscicultores de los 72 existentes con autorización oficial. Los piscicultores seleccionados permitieron tener un panorama bastante completo y posibilitaron observar varios de los escenarios que se podrían presentar al correr el formulario encuesta en el trabajo de campo.

7.7.2 Personal participante en la prueba. En la prueba piloto participaron 5 piscicultores seleccionados al azar y que voluntariamente expresaron su voluntad de participar y tres personas vinculadas académicamente a la Universidad Surcolombiana. Cada persona realizó al menos una encuesta a un piscicultor, la primera de las cuales fue dirigida por el doctor José Israel Galindo Buitrago, como parte del proceso de capacitación sobre la aplicación de las encuestas. Las otras dos personas fueron el Magister Rhonald Andrés Hernández Rodríguez y el especialista en epidemiología Carlos Mario Rocha Baquero. Después de la primera encuesta que se realizó como capacitación, las tareas fueron la aplicación de la encuesta, la evaluación del cuestionario, la revisión del diligenciamiento del formulario y análisis de los resultados de la encuesta para realizar correcciones y ajuste.

7.7.3 Duración y medición del tiempo. La prueba inició con una reunión para organizar el plan de trabajo de campo. Luego del desplazamiento al embalse de

Betania, se realizó una nueva reunión en el puerto de Seboruco y se desplazó en embarcación fluvial a cada uno de los sitios seleccionados. Al medir el tiempo total que transcurren durante una entrevista como el saludo, la autorización de entrega de información, las explicaciones iniciales y las interrupciones normales que pueden suceder durante la aplicación, se obtuvo que para las cinco encuestas de invirtieron 4 horas, lo que da un promedio de 48 minutos por encuesta.

7.7.4 Resultados de la prueba. No se presentó mayor problema en el diligenciamiento del formulario, sin embargo sí se corrigieron o mencionaron aspectos como la importancia de prestar atención a los posibles sesgos de memoria en las preguntas que requieran acudir a la memoria o a pérdida de información debido al tiempo de trabajo en el predio por parte del entrevistado y cuando este ha recibido instrucciones de sus superiores de no contestar algunas preguntas que les pudieran afectar o que se conozca información para cuestiones tributarias. Según la experiencia de las personas que realizaron el pilotaje se debe indagar bien al realizar esas preguntas y que las encuestas se realicen al responsable que tenga mejor conocimiento del predio.

También se mencionó que cuando la respuesta es negativa se pueden saltar a otros aspectos para darle agilidad y no hacerse repetitivo o porque se pueden presentar confusiones con el pase de una pregunta a otra. Por ello, se sugirió que cuando el piscicultor responda negativamente y no sea aplicable seguir preguntando sobre este mismo aspecto se pase a otra pregunta diferente.

Es importante mencionar que los piscicultores entrevistados se mostraron muy atentos y anuentes a brindar información y al finalizar la entrevista se le dio al entrevistado el agradecimiento por su colaboración.

7.7.5 Conclusiones de la prueba piloto. La prueba piloto cumplió con los objetivos propuestos de evaluar el formulario y medir el tiempo de duración de la encuesta. En cuanto a capacitación se destaca la experiencia del director del estudio para dar entrenamiento en campo sobre pilotaje de encuestas a las personas que participaron en la prueba.

7.8 PERÍODO DE ESTUDIO

El periodo de estudio estuvo comprendido en el primer semestre de 2017 y se contó con el consentimiento informado de los propietarios de los establecimientos y con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Surcolombiana.

No se presentaron mayores inconvenientes en la realización de las entrevistas, ni en la recolección de muestras las cuales se realizaron de acuerdo al cronograma de trabajo, pero se presentó una tardanza en el análisis de la resistencia y tipificación de las cepas bacterianas debido a las dificultades para la obtención de reactivos y tratamiento oficial de los resultados, por lo que el periodo de análisis en laboratorios se prolongó durante el primer semestre de 2018.

7.9 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron del muestreo los jaulones cultivados con peces que presentaron las siguientes situaciones: Peces que aún no alcanzan en el momento del muestreo el peso de cosecha, hagan parte de varios lotes anteriores, se hayan cosechado parcialmente y no se tenga información de siembra, manejo y origen de los alevines.

7.10 TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

La recolección de las muestras de peces en los jaulones se realizó con el apoyo de personal de las empresas acuícolas tal como se explicó en el numeral 7.3.7. Las tilapias se identificaron y se codificaron para trazabilidad de la muestra y se enviaron inmediatamente en una caja isotérmica con paquetes de gel pack congelados con oxígeno en agua potable al laboratorio del centro de diagnóstico del ICA en Neiva para que lleguen vivos para ser analizados. En el laboratorio, los peces fueron externamente lavados, se limpió su superficie corporal con una gasa empapada con alcohol al 70%. Para el sacrificio se utilizó la técnica de corte de la espina dorsal. Se elaboraron pools por jaulón con los órganos de los 5 peces que lo componían bajo condiciones de esterilidad para asegurar que las cepas aisladas sean colonizadoras del pez y no del ambiente acuático. Se realizó el sacrificio y disección con un equipo y campo estéril extrayéndose las muestras de los órganos para cultivo bacteriológico. A partir de cada pool con un asa estéril se inocularon cajas con agar específico para el crecimiento de bacilos gram negativos. Después de incubarse a 37°C durante 48 horas, se examinó la morfología de las colonias, se evidenció su desarrollo, tamaño, bordes, pigmento y se prepararon para su envío en cajas de Petri debidamente rotuladas al laboratorio de resistencia a los antibacterianos del ICA en Mosquera (Cundinamarca) donde se depuraron, se les dio un código único a cada cepa y se realizaron 5 pruebas bioquímicas básicas. Se determinó la resistencia a los antibacterianos por el método de difusión en disco de Kirby Bauer. El diámetro del halo de inhibición alrededor del disco se interpretó en las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I o R) según las tablas y las recomendaciones del National

Committee for Clinical Laboratory Standards de Norteamérica – NCCLS (146), para el año 2016, con los valores que se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Halos de inhibición CLSI utilizados para interpretación de la resistencia.

Antimicrobiano	Resistente (<Halo mm)	Intermedia (Halo mm)	Sensible (>Halo mm)
Ácido Nalidixico	13	14-18	19
Amoxicilina	13	14-17	18
Ampicilina	13	14-16	17
Amikacina	14	15-16	17
Cloranfenicol	12	13-17	18
Ceftazidima	14	15-17	18
Gentamicina	12	13-14	15
Ciprofloxacina	19	20-21	22
Enrofloxacin	16	15-22	23
Fosfomicina	12	13-15	16
Novobiocina	16		16
Cefotaxima	14	15-22	23
Oxitetraciclina	11	12-14	15
Kanamicina	13	14-17	18
Imipenem	19	20-22	23
Trimetoprim sulfametoxazol	13	14-15	16
Norfloxacin	19	20-21	22

Fuente: Halos de inhibición CLSI, Enero de 2016.

Cada cultivo se mantuvo en conservación para ser transferidas a cajas de Petri y se enviaron al laboratorio nacional de diagnóstico veterinario del ICA para su tipificación.

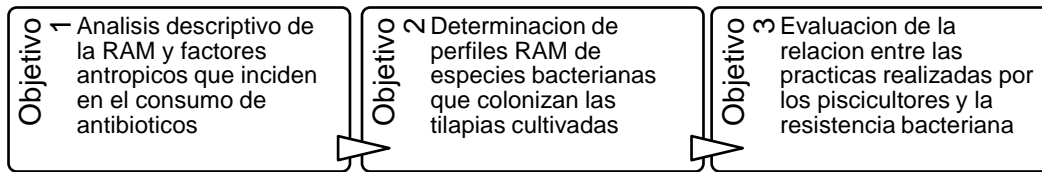
7.11 PLAN DE PROCESAMIENTO DE DATOS O TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.

Entre los meses de febrero y mayo del año 2017, se realizó el muestreo en los jaulones y predios seleccionados y las encuestas a los responsables de todos los establecimientos acuícolas del embalse de Betania (Anexo 1).

7.12 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO - PLAN DE ANÁLISIS

El análisis de la información estuvo dividido en las fases que se indican en la figura 13

Figura 15. Plan de análisis del estudio



Fuente: Elaboración propia

7.12.1 Análisis estadístico. Se obtuvieron las muestras de 445 peces de 89 jaulones pertenecientes a 43 de los 72 establecimientos acuícolas y se realizaron 72 encuestas a los piscicultores responsables de estos.

Para presentar los resultados se utilizó estadística descriptiva para analizar las características y los factores posiblemente asociados con el uso de antibióticos y la resistencia antimicrobiana para los tipos de tilapias estudiada.

El proceso de análisis de información se realizó a través del software Stata versión 14 disponible en la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana.

Los aislados por muestra se analizaron para determinar la susceptibilidad antimicrobiana y se calculó la proporción de RAM presente por especie de bacterias en cada tipo de tilapias y para los diferentes antimicrobianos se compararon descriptivamente las diferencias en la proporción de cepas resistentes en ambos tipos de tilapias.

Los administradores, o propietarios de los establecimientos respondieron basados en el cuestionario relacionado con la producción, características, factores de manejo, y uso de antibióticos en el establecimiento.

Utilizando los datos resultantes del laboratorio se evaluaron las asociaciones, utilizando modelos de regresión logística, entre el uso de antimicrobianos, las cepas RAM presentes, las variables explicativas, los posibles factores que determinaron la presencia de bacterias RAM en cada especie de tilapia.

Se determinó el índice de resistencia múltiple a antibióticos (IMAR), definido como el cociente entre el número de antibióticos para los cuales determinada cepa presentó resistencia y el número de antibióticos al cual se expuso dicha cepa

donde un IMAR mayor a 0.2 indica que la bacteria presenta resistencia múltiple)
(4)

7.12.2 Modelo logístico. El método utilizado como herramienta para predecir la posible relación entre la variable dependiente uso de antimicrobianos o la presencia de bacterias RAM y como explicatorias las asociadas en el estudio bivariado como las prácticas realizadas y las características de los establecimientos acuícolas que pudieran favorecerla, fue el multinivel logístico binomial fijando un nivel de significación para la entrada de 0.05. En éstos modelos se calcularon OR con sus intervalos de confianza del 95%. El mejor modelo fue aquél donde los datos predichos representen adecuadamente a los observados. Para entender la decisión de usar antimicrobianos o la RAM se parte del objetivo que plantea una regresión logística que intenta predecir una probabilidad que ocurra un fenómeno o acontecimiento según la información que ofrecen las diferentes observaciones. De este modo se predice la probabilidad, dentro de su intervalo de confianza, para que se utilicen antimicrobianos o se presenten bacterias RAM, mediatizado por el grupo de variables independientes analizados. Entonces la ecuación para una variable dependiente dicotómica busca conocer la probabilidad que se utilicen antimicrobianos o se presenten bacterias RAM. En relación a los modelos la variable dependiente se expresa en el valor 1 cuando sucede el evento y 0 cuando no es así. La significación de Chi-cuadrado (p) comprueba si el resultado es significativo o no. Si p es menor de 0,05 el resultado es significativo, es decir, se rechaza la hipótesis nula de independencia y por lo tanto se concluye que ambas variables son dependientes o que existe una relación entre ellas.

7.13 ANÁLISIS DE LABORATORIO

La evaluación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos se realizó mediante el Método de Kirby-Bauer siguiendo lo recomendado por el National Commitee for Clinical Laboratory Standards de Norteamérica – NCCLS. El Método de Kirby-Bauer es confiable para la identificación y antibiograma de bacterias que se obtienen en la producción primaria de alimentos y tiene la ventaja de ser económico para la detección y confirmación de resistencia antibacteriana permitiendo proporcionar este resultado oportunamente (144).

7.14 CARACTERÍSTICAS DE LA INFORMACIÓN RECAUDADA

Los datos utilizados en este estudio fueron recolectados mediante un formulario encuesta aplicada a todos los piscicultores o responsables de las piscícolas, a la

vez que se producía el muestreo de material biológico en el caso de que lo tuvieran o mediante visitas al establecimiento y corresponde a las respuestas dadas por los piscicultores.

Las encuestas fueron respondidas en forma autónoma y voluntaria por el responsable del manejo de cada establecimiento. El tratamiento sobre la base de datos fue la homogenización, la revisión de errores de digitación y congruencia de la información.

Foto 6. Momentos de la realización de la prueba de pilotaje y encuestas



Fuente: Obtenida durante el trabajo de campo

7.15. FUENTES DE INFORMACIÓN PARA ANÁLISIS Y BASE DE DATOS

La información fue tabulada a través del software Microsoft Office Excel versión 2013 en dos bloques: Información biológica proveniente de los laboratorios sobre especie y resistencia bacteriana e información reportada por los responsables de los establecimientos para conocer los factores antrópicos.

7.16 CONSIDERACIONES ÉTICAS

No se efectuó ningún procedimiento invasivo en personas y el tratamiento individual de los factores antrópicos realizados por los piscicultores en cada predio no estuvo influenciado por el curso de la investigación. Se considera una investigación SIN RIESGO para pacientes humanos según el Artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993, del Ministerio de Salud y respeta íntegramente las disposiciones del artículo 8 de la misma.

Se contó con el aval de los predios y entidades participantes y con aprobación del Comité de Ética en investigación de la facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana, según acta No. 10 del 15 de noviembre de 2016. Se garantizó la confidencialidad de la información encontrada. Las bases de datos fueron custodiadas en los laboratorios donde se realizaron los análisis y las encuestas por el autor el cual posee la competencia técnica requerida y se dispusieron de las herramientas necesarias para cuidado y utilización de los datos.

7.17 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Las variables desenlace fueron el uso de antimicrobianos y la resistencia de las cepas bacterianas que se presentan en el cuadro 5.

Cuadro 5. Variables independientes analizadas

Variable	Definición	Indicador	Escala
Información General			
Nombre del establecimiento	Nombre		C. Nominal
Volumen autorizado	Cantidad	toneladas	Cuantitativa
Tipo o especie de tilapia	Nilótica; roja	Nilótica; roja; ambas	C. Nominal
Numero de Jaulones	Cantidad		Cuantitativa
Presencia de MVZ	MV	Sí; No	Cualitativo
Origen de los alevinos	Nombre		C. Nominal
Suministro de antibióticos	Suministro	Sí; No	Cualitativo
Personal del establecimiento	Numero		Cuantitativo
Siembra de los peces	Fecha		Cualitativo
Ubicación	Coordenadas		Cualitativo
Tipo de antibiótico	Nombre		Cualitativo
Utilización de antimicrobianos			
Conocimiento de antibiótico		Sí; No	Cualitativo
Concepto uso de antibióticos		4 opciones	Cualitativo
Utilización de probióticos o productos biológicos			
Tiempo uso de antibióticos	Tiempo (meses)	8 posibilidades	Ordinal
Actuación en enfermedad	Conocimiento, percepciones y actitudes		
	5 opciones		Cualitativo
Investigación acción local			
Utilización de probióticos		Sí; No	Cualitativo
Resultados de laboratorio			
Resistencia antibacteriana		Sensible, intermedia, resistente	Cualitativa.
Cepa bacteriana	Especie gram negativa		Cualitativa
Órgano de origen de la cepa	Ojo; hígado, bazo, branquias		Cualitativa

Fuente: Elaboración propia

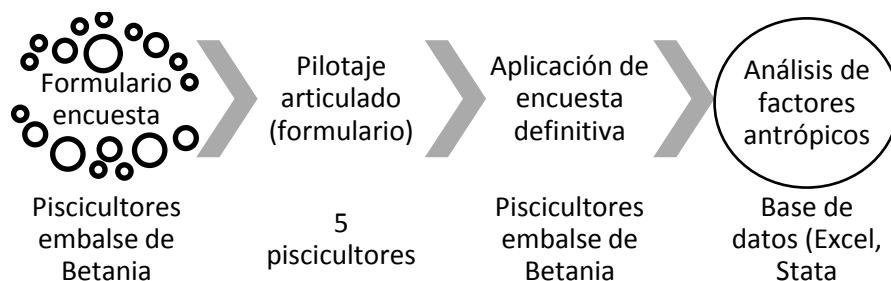
8. RESULTADOS

Se obtuvo información de factores antrópicos en 72 establecimientos acuícolas autorizados para cultivar tilapias en el embalse de Betania. En estos establecimientos se encontraron en la época de estudio 117 jaulones con tilapia nilótica y 138 con híbridos rojos de tilapia que presentaban la talla establecida en el estudio. De acuerdo al tamaño de la muestra, se seleccionaron 43 jaulones con tilapia nilótica y 46 con tilapia roja. En total 445 tilapias (215 nilóticas y 230 rojas) de 43 establecimientos fueron enviados al laboratorio para obtener las cepas de bacterias gram negativas y de ellas elaborar los perfiles de resistencia a los antimicrobianos. En concordancia con los criterios de inclusión y exclusión, tanto los especímenes como los establecimientos cumplieron con los requisitos para ser incluidos en el estudio. A continuación, se presenta el análisis de la información de los resultados obtenidos factores en los establecimientos del embalse de Betania.

8.1 ANÁLISIS DE FACTORES ANTRÓPICOS

Se realizó el análisis de cada una de las variables de interés por separado mediante estadística descriptiva y distribución de frecuencias de los factores antrópicos relacionados con la utilización de antibióticos, desinfectantes y/o probióticos, y de las demás variables que se relacionaron con el manejo y operación del cultivo para cada una de las especies. De la información proveniente de las 72 encuestas realizadas, partió el análisis de sistemas productivos correspondientes, tanto a los establecimientos como a las especies cultivadas la cual se presenta en forma global para evitar la complejidad en el texto y porque el análisis de la información individual no presenta mucha variabilidad entre establecimientos.

Figura 16. Ruta crítica para recolección y análisis de información antrópica, 2018



Una vez desarrollada la ruta crítica mostrada en la figura 16 a continuación se presentan sus resultados:

8.1.1 Producción autorizada de los establecimientos. Se determinó que el 41,7% de los predios producen hasta 100 toneladas y se consideran de subsistencia; el 29,2% entre 101 y 200 toneladas y se consideran como pequeños; el 19,5% producen entre 201 y 500 toneladas y se consideran de mediana producción; entre 501 a 1000 toneladas el 4,2% y los mayores a 1001 toneladas el 5,6%. De esta distribución se infiere que solo el 18,1% son establecimientos considerados industriales y que la mayoría son de subsistencia y pequeña acuicultura.

8.1.2 Especies cultivadas. Según se observa en la tabla 4, El 69,4% de los establecimientos cultivan híbridos rojos de tilapia (*Oreochromis spp*) en volumen de 7 780 toneladas por año con destino al mercado nacional, el 8,3% cultivan tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en volumen de 4 763,6 toneladas por año con destino a la exportación y el restante 22,3% cultivan los dos tipos de tilapias. En general los establecimientos de mayor tamaño producen tilapias nilóticas, mientras que los de menor tamaño producen híbridos rojos de tilapia destinada al comercio nacional por su demanda y la exigente capacidad financiera de la tilapia nilótica.

Tabla 4. Distribución de los establecimientos por tipo de tilapia producida en el embalse de Betania, 2018

Piscícolas		Volumen (ton) (%)				Total	
		Oreochromis spp		Oreochromis niloticus			
n	%	n	%	n	%	n	%
1	1.4	26	40	39	60	65	0.3
1	1.4	43	50	43	50	86	0.4
1	1.4	95,2	70	40,8	30	136	0.6
1	1.4	83,4	20	333,6	80	417	1.9
4	5.6	391,5	75	130,5	25	522	2.4
3	4.2	456,8	80	114,2	20	571	2.7
1	1.4	540	90	60	10	600	2.8
1	1.4	886,16	44	1127,84	56	2.014	9.4
3	4.2	447,7	10	4029,3	90	4.477	20.9
6	8.3	0	0	4763,6	100	4.763,6	22.2
50	69.4	7780	100	0	0	7.780	36.3
72	100.0	10.749,76	50,2	10.681,84	49,8	21.431,6	100

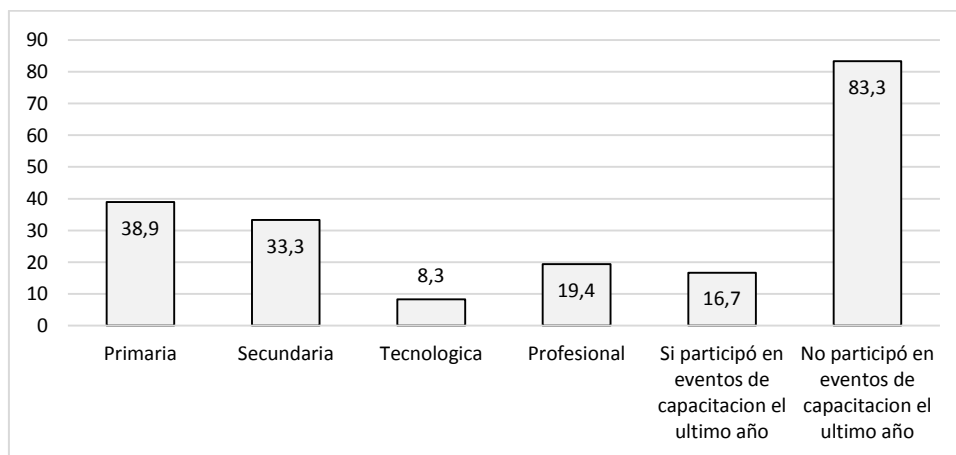
Fuente: Encuestas a los piscicultores confrontados con los permisos de cultivo otorgados por la AUNAP, 2018

Teniendo en cuenta el aspecto mencionado se obtienen dos tipos de tilapias con un ciclo productivo diferente, más largo en el caso de la tilapia plateada y más corto en el caso del híbrido rojo, el cual está definido por aspectos comerciales. También se obtiene que los establecimientos de mayor tamaño han solicitado permiso para la producción de tilapias nilóticas, mientras que los de menor tamaño obtuvieron permisos para la producción de híbridos rojos, por la facilidad de comercialización y porque no requieren una capacidad financiera tan exigente como la que se requiere en la tilapia nilótica.

Como se observa en la tabla 4 el 50,2% del volumen autorizado en el embalse corresponde al cultivo de híbridos rojos de tilapia, que es producido en el 69.4% de los predios, mientras que el 49,8% es para el cultivo de tilapia nilótica que es producida en el 8.3% de los predios y que el 22.2% de los predios están autorizados, en proporciones solicitadas por los productores para cada una de ellas, a producir ambos tipos de tilapias.

8.1.3 Nivel educativo de los piscicultores y capacitación en sanidad. La figura 17 muestra que la mayor parte de los responsables de los establecimientos cursaron solo educación primaria y no se observó analfabetismo. Una tercera parte cursaron educación secundaria, tecnológica el 8,3% y universitaria incluyendo profesiones no relacionadas con la acuicultura el 19,4%. En general la población provino de actividades ganaderas, arroceras, pesca y operarios de otras piscícolas. El nivel educativo no fue obstáculo para desempeñarse en acuicultura, pero dejó una falencia para adoptar conocimientos en sanidad, buenas prácticas y bioseguridad.

Figura 17. Nivel educativo de los responsables de los establecimientos acuícolas del embalse de Betania, 2018.



La piscicultura no ha utilizado en gran medida el recurso humano generado por universidades el servicio nacional de aprendizaje SENA, hasta el punto que el 83% de los piscicultores expresaron no haber asistido a eventos de capacitación sobre aspectos de sanidad en el último año, lo que hace débiles, incomprensibles y heterogéneos los paquetes tecnológicos adoptados. Para establecer los cultivos iniciales se requirió solamente de personas laboriosas pero, sin una planeación inicial de la acuicultura en el embalse. No fue por casualidad que los piscicultores han tenido que pagar multas y pérdidas por desaciertos en la toma de decisiones sobre acuicultura, manejo ambiental y administración empresarial.

8.1.4 Numero de operarios en los establecimientos. Se encuentran a la fecha de la encuesta 461 operarios directos de los cuales el 33,0% laboran en establecimientos con menos de 3 operarios; el 42,0% en los de entre 4 y 8 y el 25,0% en los de más de 9 operarios. Los establecimientos industriales poseen un jefe o coordinador de producción de nivel profesional o técnico y los demas operarios participan como alimentadores, vigilantes o en servicios generales. Por las condiciones del trabajo los operarios permanecen en el establecimiento por lo que cuentan con alojamientos y servicios que se han adecuado en islotes o riveras del embalse, algunos de ellos con sus familias generando una carga adicional sobre las condiciones del embalse.

8.1.5 Forma corporativa de los establecimientos. La organización empresarial que adquirieron los establecimientos acuícolas el 40% es en forma de compañía limitada; el 25% de sociedad anónima simplificada; el 13% sociedad anónima, 11% a empresas asociativas de trabajo; el 10% a empresa unipersonal y 1% a cabildo indígena.

Aunque los establecimientos acuícolas en su organización empresarial aún se mantienen debido a los requerimientos establecidos por la autoridad ambiental, de pesca y acuicultura, para el cambio del permiso se presenta la adquisición por parte de algunos piscicultores de otras empresas sin cambiar esta razón social. Estas operaciones obedecen a que por cuestiones comerciales, derivadas del bajo volumen autorizado, no alcanzan el punto de equilibrio que permita su operación en condiciones de rentabilidad, lo que finalmente ocasiona la concentración de varias razones sociales, que dieron origen al permiso de cultivo, en un menor número de propietarios, de tal manera que mientras los permisionarios son 72 los propietarios llegan a 52, con tendencia a ser menor esta cantidad, es decir, una sola empresa o persona es propietaria de varios permisos por medio de adquisiciones, fusiones o alianzas comerciales.

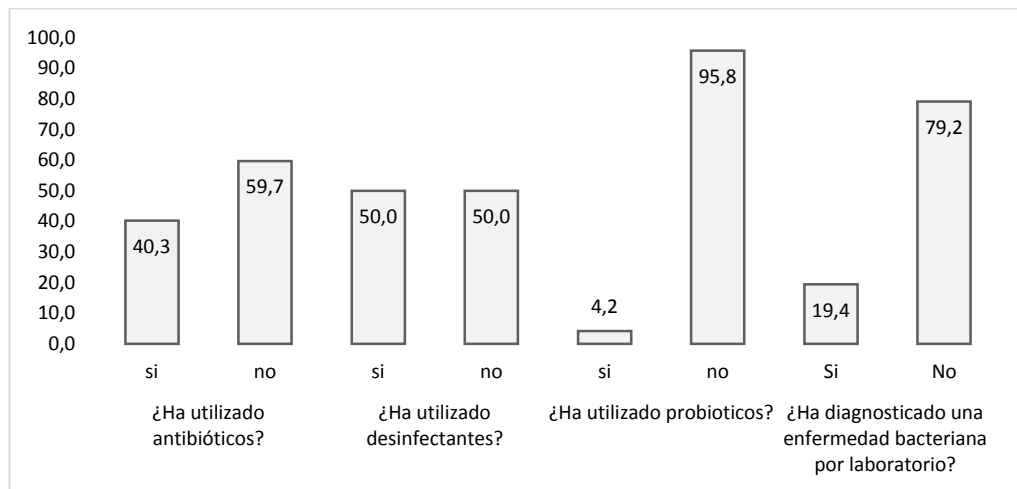
8.1.6 Participación en actividades gremiales. El 94% de los piscicultores expresaron pertenecer al menos a un gremio acuícola. Uno de estos gremios es la federación colombiana de acuicultores FEDEACUA, organización que los representa ante entidades nacionales o internacionales, públicas y privadas. Otro de los gremios es la asociación de piscicultores del Huila ASOPISHUILA para atender colectivamente necesidades locales del orden empresarial, jurídico y económico. Finalmente, la asociación de pequeños piscicultores del embalse de Betania ASPEPIBE, actualmente registrada como empresa SAT no reporta mucha participación e influencia gremial.

8.1.7 Utilización de antibióticos, probióticos y desinfectantes. Los piscicultores han hecho uso de antibióticos, desinfectantes y probióticos para controlar o prevenir las mortalidades en los peces cultivados y este uso se ha incrementado desde la mortalidad que se presentó en el año 2007.

La figura 18 muestra los porcentajes de utilización de antibióticos, desinfectantes y probióticos que en alguna oportunidad han utilizado los piscicultores en su establecimiento. Entre quienes utilizaron antibióticos el 21% menciona al florfenicol, el 62% la oxitetraciclina y el 17%, ambos. En el caso de los antibióticos, su uso se debió principalmente para manipular peces cuando son trasladados y por problemas de calidad del agua del cultivo. Por esta razón y por no haber en Colombia antibióticos registrados para su uso en peces, la utilización de antibióticos adquirió un gran nivel de desinformación que aunados al crecimiento del sector acuícola y falta de asistencia veterinaria, dificultaron el monitoreo de su uso y el acopio de información estadística sobre las cantidades y tipos de antibióticos utilizados en el embalse de Betania.

El uso de desinfectantes fue realizado por la mitad de los establecimientos y el uso de probióticos fue mínimo (4,2%).

Figura 18. Uso de antibióticos, desinfectantes y probióticos en establecimientos acuícolas del embalse de Betania, 2018



Los datos disponibles no establecen la cantidad de antibióticos, desinfectantes o probióticos utilizados en cada fase de cultivo ya que no se llevan registros de su uso.

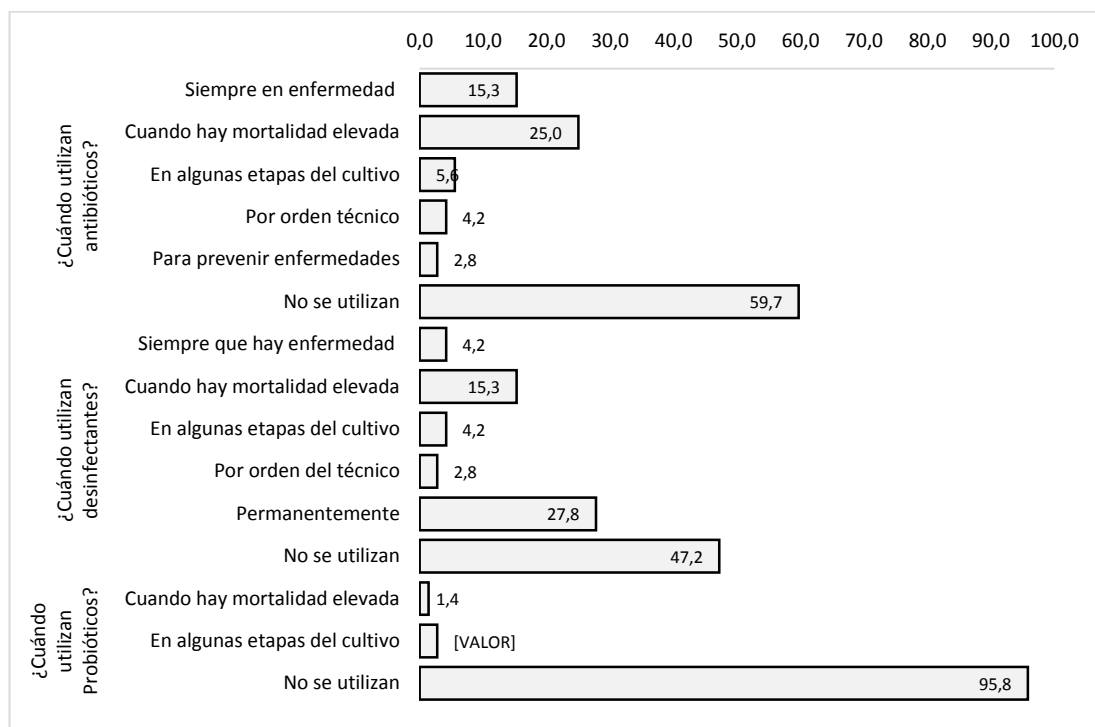
8.1.8 Diagnóstico del laboratorio para uso de antibióticos. A pesar de manifestar que los antibióticos se utilizan cuando se presenta una enfermedad, el 79% de los piscicultores expreso que nunca han utilizado el servicio de laboratorios de diagnóstico cuando se presentan enfermedades o para conocer o corroborar la causa de un problema sanitario que amerite la utilización del antibiótico, mientras que el 21% manifestó que dispuso de resultados de laboratorio para decidir utilizar antibióticos.

El éxito de la terapia con antibióticos en peces depende de factores como el diagnóstico preciso del agente causal y de la enfermedad ocasionada por este. En Betania, la enfermedad bacteriana mayormente reportada fue la estreptococcosis que les produce pérdidas presentar una mortalidad permanente, especialmente en la época en que los peces han adquirido un buen tamaño y se ha realizado una alta inversión en su alimentación y manejo. Desde la perspectiva de los piscicultores los problemas sanitarios son escasos o no tienen solución y la mortalidad la ven como normal y es poco lo que han podido hacer para disminuirla.

8.1.9 Criterios y etapas en la utilización de antibióticos. En la figura 19 se observa, dentro de la proporción de piscicultores que han usado antibióticos, que una

cuarta parte los utilizan cuando observan aumento de la mortalidad, en menor porcentaje cuando se presenta una enfermedad y en las etapas iniciales del ciclo. La proporción de piscicultores que atiende la orden del asistente técnico es muy baja (4,2%) y mucho menos quienes los utilizan rutinariamente (2,8%). Quienes no utilizan antibióticos, lo consideran innecesario argumentando que en caso de presentarse una enfermedad estos no dan resultado por lo difícil que es hacer que los peces lo consuman y porque representan un gasto innecesario.

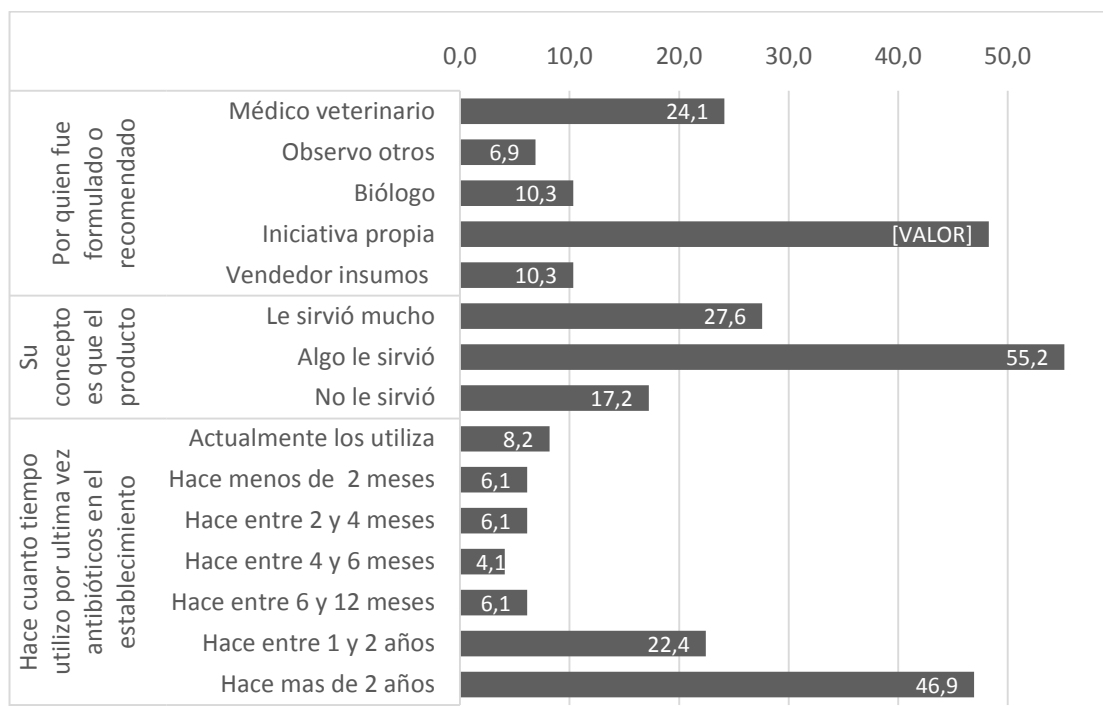
Figura 19. Criterios en la utilización de antibióticos y desinfectantes en establecimientos acuícolas en el embalse de Betania, 2018



Entre los que han usado desinfectantes, la mayor parte (15,3%) lo hacen cuando aumenta la mortalidad, cerca de una cuarta parte (27,8%) los usan permanentemente, un bajo porcentaje (4,2%) cuando se presenta una enfermedad o en algunas etapas del cultivo pero es mínima (2,8%) la utilización por orden del asistente técnico. La etapa del ciclo donde más usan antibióticos es el levante, seguido de los que utilizan en varias etapas, el alevinaje, la precria y en menos porcentaje en la ceba.

8.1.10 Recomendación del uso de antibióticos y percepción de su utilidad. En la figura 20 se observa que casi la mitad (48,3%) de los piscicultores automedicaron antibióticos apoyados por la facilidad de adquirirlos en los almacenes distribuidores; una cuarta parte (24,1%) fue formulado por el médico veterinario; en decimas partes (10,3%) fue recomendado por biólogos o vendedor de insumos y en menor porcentaje siguieron la idea al observar a otros piscicultores.

Figura 20. Distribución de los establecimientos del embalse de Betania según recomendaciones, tiempo de uso y percepción del uso de antibióticos, 2018



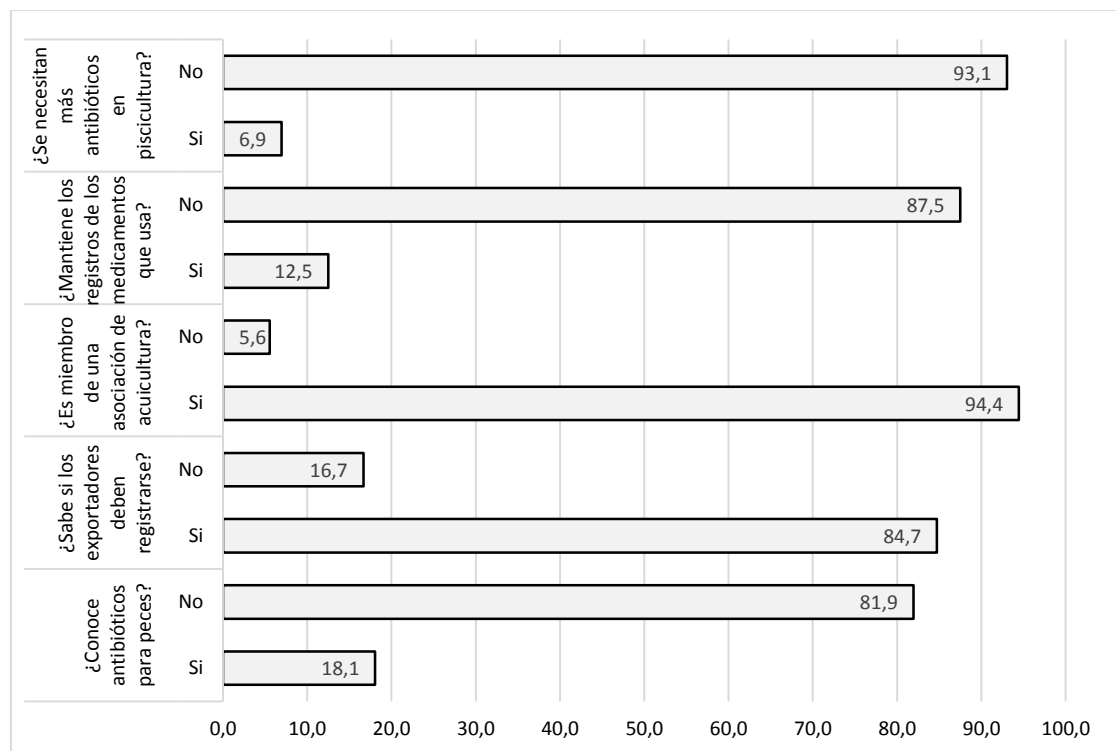
En cuanto a los beneficios del antibiótico, a más de la mitad (59%) algo les sirvió haberlos utilizado; a cerca de la cuarta parte (27%) les sirvió mucho y el inconformismo se reflejó en el 14% que expresaron que no les sirvió lo que demuestra la variable e impredecible percepción de utilidad de los antibióticos por los piscicultores, sin embargo, entre quienes los utilizaron la gran mayoría (90%) manifestó que los volverían a utilizar.

Cerca de la mitad (46,9%) de los piscicultores hace ya más de 2 años que no utilizan antibióticos, menos de la décima parte (8,2%) actualmente los están

utilizando y cerca de una quinta parte (22,4%) hace entre uno y dos años que no los utilizan.

8.1.11 Conocimiento sobre antibióticos. En la figura 21 se muestra que la mayoría (82%) de los piscicultores manifestaron no tener conocimientos sobre antibióticos o tienen creencias equivocadas con respecto a ellos, no hay claridad sobre cuál sería el antibiótico más efectivo en caso de tener que utilizarlos y utilizan oxitetraciclina solo por su bajo costo, desconociendo que es necesario saber la dosis, el tiempo de retiro y su uso de acuerdo con el diagnóstico por laboratorio de una enfermedad bacteriana. Conocen la medida del registro de los piscicultores para exportar que tiene un componente especial en la presencia de residuos en los filetes y más del 90% expresaron que no se necesitan más antibióticos para piscicultura.

Figura 21. Conocimiento antibióticos, actividad gremial, mantenimiento de registros y necesidades de antibióticos de los piscicultores del embalse de Betania, 2018



La principal y única vía como administraron antibióticos fue la oral, mezclándolo en el predio con el alimento como lo manifestó el 91% o por medicación en la planta de alimentos balanceados como lo expresó haberlo realizado el 9%. Cuando se adiciona en el predio se hace manualmente, utilizando una sustancia oleosa que lo adhiere a la superficie del pellet y no dentro de él, lo que no lo protege de factores como lavado o unión a cationes presentes en el agua y hace impredecible esta forma de administración al dispersarse rápidamente por el oleaje, el viento y el consumo por peces nativos o asilvestrados.

Una de las mayores debilidades de las practicas piscicolas es no llevar registros sobre aplicación de medicamentos que en este caso fue 93% quienes no lo hacen. El 69% de los piscicultores afirmaron que no usan antibióticos dos meses antes de la cosecha, el 10% una semana antes y el 20,7% de 3 a 4 semanas. Creen que lo que se le suministra al pez dentro del mismo pez desaparece y que las bacterias sean resistentes o no, son destruidas cuando se cocina el pescado. Afirman que en las exportaciones de filetes de tilapias a los Estados Unidos no se han reportado niveles indeseables de residuos, porque si así fuera, se habrían afectado los mercados hacia ese país.

Entre las reglamentaciones existentes está la presencia de los niveles de antibióticos permitidos en los filetes destinados a la exportación y su aplicación permite una regulación indirecta del uso de antimicrobianos. El 84% de los piscicultores conocen que los exportadores de peces para consumo humano deben registrarse ante el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA y que deben cumplir las medidas relacionadas con el uso de antibióticos ya que los países importadores de filetes de tilapia como los Estados Unidos son exigentes en este aspecto.

8.1.12 Percepción de los piscicultores sobre uso de antimicrobianos. De acuerdo con la respuesta ofrecida se considera que los piscicultores en general desconocen el impacto de la administración de antibióticos, sus dosis y características generales del antibiótico, además sin considerar las buenas prácticas en su administración y las consideraciones que deben tener para utilizarlos como último recurso. Otro aspecto que se expreso es que, el personal responsable no siempre verifica que los peces estén comiendo para aplicar el antibiótico, porque si no están comiendo y el alimento medicado es arrastrado por el agua fuera del jaulón, no se tendrán resultados terapéuticos, se contaminará el medio acuático y se tendrán perdidas económicas por el costo del producto.

8.1.13 Percepción sobre el mejor antibiótico utilizado. Sobre los antibióticos no hay claridad sobre cuál sería el más exitoso en caso de tener que utilizarlos. Sin

embargo, prefieren utilizar la oxitetraciclina por su bajo costo desconociendo que es necesario conocer la dosis adecuada, su tiempo de retiro, utilizarlo después de un correcto diagnóstico de laboratorio y tener en cuenta que la detección de sus residuos en la carne del pescado es un problema ya que como sustancia farmacológica tiene un LMR (contenido máximo de residuos resultante de la utilización del medicamento veterinario).

De acuerdo con lo autorizado por el ICA, los antibióticos autorizados para su uso en Colombia es el florfenicol. En Betania los más utilizados son el florfenicol cuyo uso lo ha practicado el 19% y la oxitetraciclina que lo ha utilizado el 28% de los piscicultores. El 53% no expresó su opinión sobre el antibiótico con el que ha obtenido mejores resultados o piensa que ningún antibiótico es útil en la piscicultura.

8.1.14 Actitud frente a la calidad del pescado que producen. La percepción general de la calidad del pescado producido en el embalse de Betania por parte de los piscicultores es buena y así lo expresó el 100% de los encuestados. Los comentarios realizados indican que aunque la calidad percibida es alta, existe la percepción de que la calidad disminuirá en el futuro. Los aspectos que más resaltan los piscicultores acerca de producto es que es un producto sano, inocuo, de buen color, de buen crecimiento, rendimiento, índice de conversión, resistencia, fácil comercialización, buen sabor, calidad y cantidad de la carne, eficiencia, conversión alimenticia, aspecto físico, tamaño, buen lomo, bien cultivado y procesado técnicamente. Se obtuvieron comentarios por parte de algunos piscicultores como los siguientes: La tilapia no posee espinas intramusculares y eso hace que sea más vendida que otros pescados nativos; No se arrastran las redes como se hace en los estanques en tierra y lógicamente no se bajan los niveles de agua para la cosecha por lo cual no se revuelca el fondo ni quedan los peces en agua lodosa durante la cosecha y no adquiere sabores indeseables; La contaminación del agua puede afectar en el futuro la calidad (inocuidad) de los pescados de Betania.

Como un atributo de la calidad no se mencionan la inocuidad, los residuos contaminantes o a las bacterias resistentes a los antibióticos y no se relaciona el consumo de antibióticos en los peces con el desarrollo de resistencia antimicrobiana que llega a afectar a la salud de las personas.

8.1.15 Percepción sobre acuicultura sin antibióticos. Sobre acuicultura sin antibióticos, el 17% expresaron que se aumentaría la mortalidad si no se utilizan; el 61% manifestó que no tienen idea de lo que sucedería si no se utilizan y consideran que con la poca información que tienen no saben que les pueda

sucedan; el 15% expresó que no pasaría nada si no se administran y que la venta del antibiótico es de utilidad solo para el que los fabrica y un costo innecesario porque igual, los peces van a morir porque no comen cuando están enfermos. El 7% restante considera que sería una gran pérdida no contar con antibióticos y que sería muy difícil lograr producciones rentables si no se utilizan.

8.1.16 Conocimiento de los tiempos de retiro de los antibióticos. Los conocimientos asociados con la administración de medicamentos son muy débiles ya que desconocen que su consumo esté asociado a la aparición de residuos en la carne del pescado, sin embargo, a pesar de esta debilidad, el 69% de los piscicultores afirmaron que suspenden el uso de antibióticos mínimo dos meses antes de la cosecha, mientras el 10% respondió que retiran cualquier tratamiento con una semana de anticipación a la cosecha y el 20,7 entre tres semanas y un mes. En cuanto a los tiempos de retiro, los piscicultores creen esencialmente que lo que se le suministra al pez, dentro del mismo pez desaparece o se queda dentro de él y que las bacterias sean resistentes o no, que allí puedan quedar, son destruidas cuando se cocina el pescado y de esa manera nunca afectaran a quien lo consuma.

8.1.17 Alternativas para la acuicultura en Betania. Cuando se les pregunto a los piscicultores sobre la problemática que se trata de resolver con antibióticos la mayor parte de ellos (38,9%) creen ser realistas al manifestar que no se puede hacer nada y que se debe seguir cultivando hasta cuándo el embalse aguante. La percepción entregada en esta respuesta esta generalmente acompañada del argumento que la calidad del agua y la contaminación del embalse es cada día mayor o que ante tan gran volumen de agua no se puede hacer nada, lo que refleja de cierta manera el conocimiento de factores ambientales determinantes de las mortalidades.

Las soluciones que plantean el 29,2% de los piscicultores es que se puede suministrar oxígeno al agua porque, en general consideran que el problema se inicia cuando hay una falta de oxígeno, creen que si hubiera la forma de mejorar el oxígeno, consecuentemente no tendrían la necesidad de usar medicamentos. El 12,5% ofrece como respuesta, disminuir la densidad de siembra porque es el estrés el que hace que el pez se enferme y se muera. El 9,7% combina las estrategias anteriores, es decir, aplicar oxígeno y disminuir la densidad. El 4,2% proponen el suministro de probióticos, el 2,8 creen que vacunando se resolvería en alto grado el problema y el aplicar medicamentos fue propuesto por el 2,8% de los productores. Los piscicultores en general aducen, que así el uso de antibióticos puede tener algo que ver con la resistencia de las bacterias a los antibióticos, no es un problema importante para la producción o para la salud humana, y que la inclusión de medicamentos, probióticos o vacunas (9,8% de los encuestados los

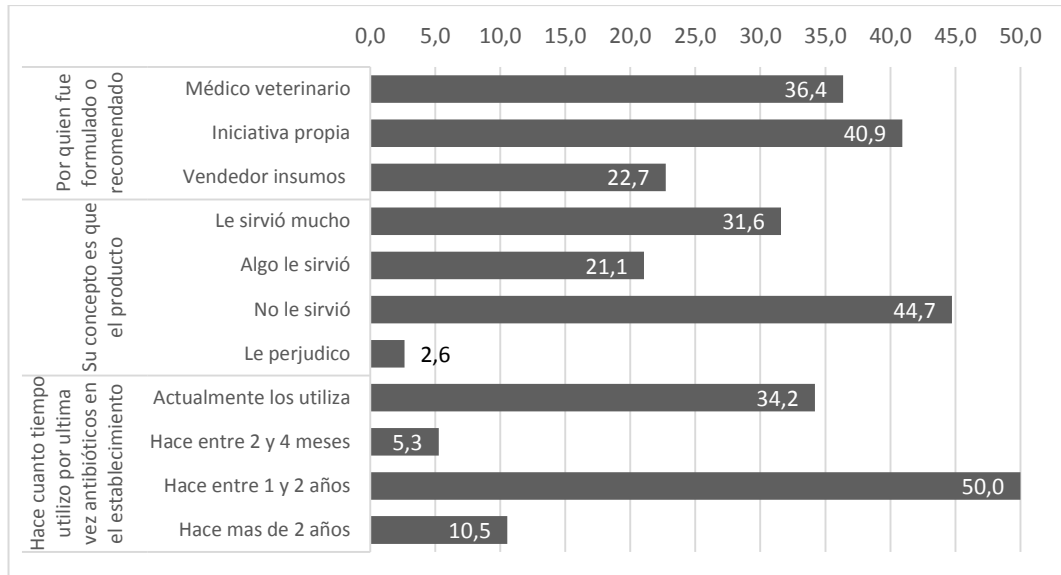
consideraron como opciones alternativas a futuro) no son importantes y consideran que se requiere es ayuda del estado, en temas como el precio de la energía eléctrica y el costo del alimento balanceado.

En cuanto a la utilización de vacunas para la prevención y control de enfermedades, para los piscicultores no significa o representa una herramienta que pueda ayudar en la sobrevivencia de los peces y en consecuencia que el sector de la tilapia pueda seguir creciendo, especialmente por la dificultad que existe de manipular al pez, la gran cantidad que habría que vacunar y el costo de la vacuna frente al de un alevino.

8.1.18 Percepción sobre las especies que se cultivan en Betania. Cerca de tres cuartas partes de los piscicultores (76,4%) expresaron que ambos tipos de tilapias son apropiadas por ser rentables y se comportan bien. El 16,7% respondieron que la tilapia plateada tiene mayor resistencia y la consideran más apropiada. Por cuestiones comerciales y por ser apetecida en el mercado nacional el 4,2% manifestó que los híbridos rojos son más apropiados y el 2,8% expresó que ninguna de las dos es apropiada porque su rentabilidad ha bajado mucho y se requieren especies más productivas. La percepción es que las tilapias son una alternativa rentable, que genera empleo, participa en la dieta y nutrición de las personas y que se posiciono en el mercado nacional y de exportación pero, que existen especies más rentables en el mercado mundial que podrían ser mejores como los pangasius.

8.1.19 Utilización de desinfectantes. Los desinfectantes vistos como agentes químicos que se aplican sobre superficies, materiales inertes o inanimados para eliminar los microorganismos en forma no selectiva, el 34,2% de los establecimientos actualmente los utiliza sin que para su elegirlos se tenga en cuenta los posibles microorganismos a eliminar. En la figura 22 se observan las proporciones de quienes los recomendaron.

Figura 22. Distribución de los establecimientos del embalse de Betania según recomendaciones, tiempo de uso y percepción del uso de desinfectantes, 2018



Por otro lado, entre quienes los utilizan, el 50% los vienen utilizando desde hace uno a dos años, el 10,5% llevan entre uno y dos años utilizándolos, el 5,3% los utiliza hace entre 2 y 4 meses.

8.1.20 Percepción sobre la utilidad de los desinfectantes. En primer lugar, los piscicultores no tienen mucho en cuenta o no perciben en el aire del ambiente de las piscícolas sensaciones ocasionadas por la descomposición, seguramente por haberse acostumbrado a ello. Así un olor de peces en descomposición no genera una mayor respuesta ni provoca un rechazo más o menos tolerable que justifique la aplicación de un producto desinfectante o desodorizante para contrarrestarlo. No es común que cuando aparezca un problema de mortalidad o se esté disponiendo de ellas en canecas se recurra al uso de desinfectantes que palien, en alguna medida, ese mal olor. En segundo lugar la percepción sobre los desinfectantes y también sobre los antisépticos es que son importantes pero, que no constituyen una herramienta esencial para controlar la diseminación de agentes infecciosos.

Sobre el concepto y experiencia en el uso de desinfectantes, el 44,7% de quienes los utilizan manifestaron que no les sirvió, el 31,6% que les sirvió mucho, el 21,1% que algo les sirvió y el 2,6% que le perjudico ya que afectó mallas o equipos. Después de la experiencia de uso, el 30% de los piscicultores expresó que no los

volvería a utilizar y el 70% que si los volvería a utilizar. Por otra parte, el 20% de quienes no los han utilizado expresó que no los va a utilizar y el 80% que si consideran utilizarlos. Tal como se observa en campo, los establecimientos no se mantienen en buen estado de conservación para que se facilite la limpieza y desinfección y que las jaulas, jaulones, mallas e incluso la ropa de trabajo cumplan la función propuesta, en condiciones de bioseguridad. La percepción en algunos piscicultores es que no se requiere de la desinfección sino de la limpieza, remoción de lodos y suciedades adheridas a superficies, las cuales realizan con chorros de agua y secado al sol.

8.1.21 Utilización de probióticos. Los probióticos por ser microorganismos vivos pueden ser de origen bacteriano y de levadura, razón por la cual es posible la transferencia de resistencia a los antimicrobianos a través de ellos y es un área de estudio que ha crecido como alternativa para el control y prevención de enfermedades frente al uso de antibióticos, incremento de peso y mejoramiento del estado de salud en los peces. Foto 7 y 8.

Foto 7. Fotografías de productos probióticos, antibióticos o desinfectantes utilizados en la actividad acuícola observados durante el trabajo de campo



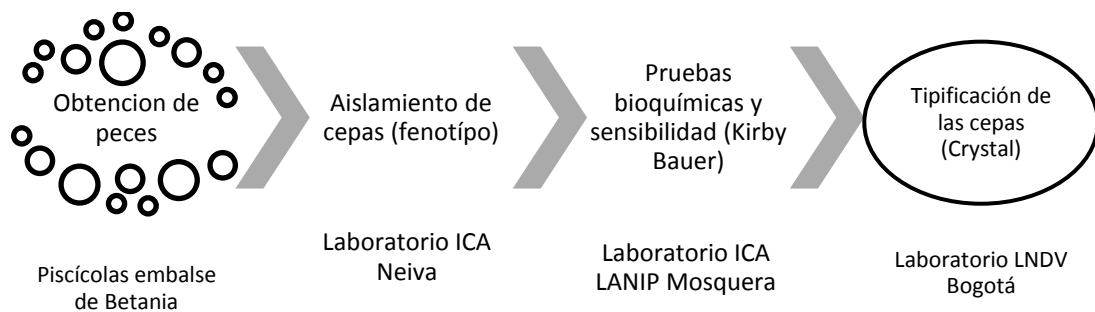
Foto 8. Fotografías de productos probióticos, antibióticos o desinfectantes utilizados en la actividad acuícola observados durante el trabajo de campo



8.2 AISLAMIENTOS MICROBIOLÓGICOS

Se obtuvo en total 161 muestras aisladas a partir de 445 peces obtenidas de pools de branquias, ojo, hígado, bazo de los híbridos rojos y tilapias nilóticas clínicamente sanas y en un momento previo a la cosecha, los cuales tuvieron la trazabilidad que se esquematiza en la figura 23.

Figura 23. Esquema del muestreo y análisis realizados a las cepas aisladas



8.2.1 Obtención y manejo de las muestras de tilapias y aislados. La coordinación de los muestreos y la logística para llegar a los establecimientos acuícolas se realizó con el apoyo de personal de las empresas acuícolas seleccionadas. Foto 9.

Foto 9. Jaulón con híbridos rojos previos al muestreo y preparación para realizarlo



El procedimiento a seguir consistió en capturar 5 ejemplares de tilapias clínicamente sanos de cada jaulón e inmediatamente fueron capturados se identificaron y se depositaron en recipientes para transporte de peces vivos del tipo de cajas termoaisladas con agua potable a la cual se le agregaron paquetes de gel pack congelados con el fin de lograr que los peces llegaran vivos al laboratorio de diagnóstico de la ciudad de Neiva para proceder a realizar su necropsia bajo condiciones de esterilidad a fin de garantizar que las cepas aisladas correspondan a cepas colonizadoras del pez y no del ambiente acuático.
Foto 10

Foto 10. Proceso de captura mediante nasa de mango largo y registro de identificación



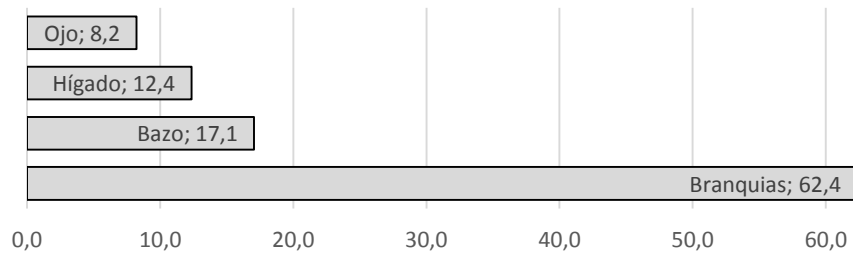
En el laboratorio, los peces fueron externamente lavados y se realizó su sacrificio y necropsia dirigida a la obtención de muestras para bacteriología, de cada uno de los órganos posiblemente colonizados. Foto 12.

Foto 11. Preparación de peces para la necropsia y obtención de los aislados



8.2.2 Órganos origen de las cepas bacterianas. Los aislados se obtuvieron de los pooles de branquias, bazo, hígado y ojo de tilapias, extrayéndose la muestra usando una asa estéril, con la cual se inocularon cajas de petri con agar específico para el crecimiento de las bacterias de interés. Los cultivos se observaron para evidenciar desarrollo de colonias, morfología, tamaño, bordes, pigmento y se prepararon y rotularon para su envío al laboratorio de resistencia a los antibacterianos. En el 90,5% de los 42 predios de donde se tomaron peces se logró obtener al menos una cepa de bacterias gram negativas para un total de 170 cepas aisladas en el centro de diagnóstico veterinario de Neiva, considerando como se dijo antes de peces sanos en condiciones de asepsia del laboratorio, cuya distribución se muestra en la figura 24.

Figura 24. Distribución porcentual de los aislados por órgano de origen de bacilos gram negativos aislados de tilapias del embalse de Betania, 2018



8.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS AISLADOS

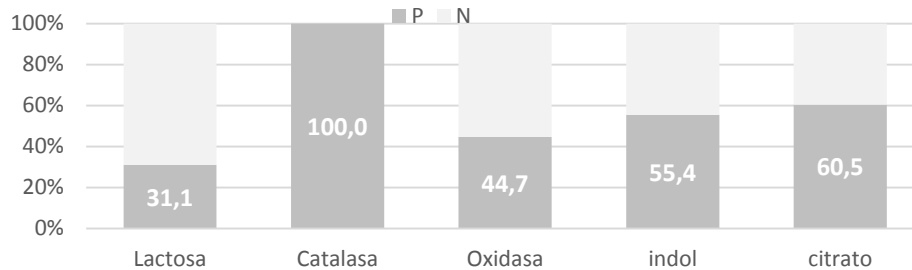
En el laboratorio de resistencia a los antimicrobianos del LANIP del ICA, se realizó la depuración y se identificaron con un código único para cada cepa. Foto 12.

Foto 12. Identificación para el transporte y realización de antibiogramas de las cepas



8.3.1 Perfiles bioquímicos básicos. Se analizaron los perfiles bioquímicos básicos de las cepas mediante las pruebas de reacción a lactosa, catalasa, oxidasa, indol, citrato, crecimiento en NaCl y motilidad que se observan en la figura 25.

Figura 25. Porcentajes de cepas positivas a las pruebas bioquímicas básicas, 2018



Posteriormente, se realizaron los perfiles de resistencia a los antimicrobianos y las cepas depuradas fueron preparadas para su traslado al laboratorio nacional de diagnóstico veterinario LNDV del ICA en Bogotá donde se realizó su tipificación con el sistema IMViC y se sometieron al sistema de identificación Crystal.

8.3.2 Bacterias tipificadas. La tipificación de las cepas permitió que se identificaran 5 familias de bacilos gram negativos, con 14 géneros bacterianos, como se muestra en el cuadro 6.

Cuadro 6. Familias y generos de las cepas bacterianas gram negativas aisladas de peces cultivados en el embalse de Betania, 2018

Familia	Género	Especie
Bacilos gram negativos aerobios		
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomona aeruginosa, Pseudomona putida Pseudomona fluorescens
Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter baumannii
Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomona maltophila
Burkholderia	Burkholderia	Burkholderia cepacea
Bacilos gram negativos anaerobios facultativos		
Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia coli
	Ewingella	Ewingella americana
	Citrobacter	Citrobacter freundii
		Citrobacter amalonaticus
		Klebsiella.
	Enterobacter	Enterobacter cloacae
		Enterobacter cancerogenus
		Enterobacter asburiae
		Enterobacter sakasakii
		Serratia
	Shigella	Shigella dysenteriae
	Proteus	Proteus mirabilis
	Plesiomona	Plesiomona shigelloides
Aeromona	Aeromona hydrophila	

De los géneros encontrados, cuatro corresponden a los bacilos aerobios *Pseudomona*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomona* y *Burkholderia* y 10 géneros a los bacilos anaerobios facultativos: *Escherichia*, *Ewingella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Shiguella*, *Proteus*, *Plesiomona* y *Aeromona*. En total se tipificaron 20 especies diferentes de bacilos gram negativos, colonizando en diferentes órganos las tilapias clínicamente sanas del embalse de Betania.

La mayor parte de las cepas fueron aisladas de las branquias, seguido por hígado, ojos y bazo. Así mismo, las especies bacterianas predominantes fueron *Citrobacter freundii*, *Aeromona hydrophila* y *Enterobacter cloacae* con una proporción del 30,3%; 16% y 14,7% respectivamente, tabla 5.

Tabla 5. Bacterias aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018

Especie bacteriana	Órganos	cepas	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Branquias	1	0,9
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Branquias, ojo, hígado	17	16,0
<i>Burkholderia cepacia</i>	Branquias	3	2,8
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	Branquias	2	1,8
<i>Citrobacter freundii</i>	Branquias, hígado, ojo	33	30,3
<i>Citrobacter koseri</i>	Branquias	1	0,9
<i>Enterobacter asburiae</i>	Branquias, hígado	1	0,9
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	Branquias, hígado	2	1,8
<i>Enterobacter cloacae</i>	Branquias, hígado, bazo,	16	14,7
<i>Enterobacter sakasakii</i>	Branquias, hígado, bazo	2	1,8
<i>Escherichia coli</i>	Branquias, hígado	5	4,6
<i>Ewingella americana</i>	Branquias, hígado	3	2,8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Hígado	1	0,9
<i>Plesiomona shigelloides</i>	Branquias	3	2,8
<i>Proteus mirabilis</i>	Branquias	4	3,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Branquias	3	2,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Branquias, bazo	1	0,9
<i>Pseudomonas putida</i>	Branquias, hígado, bazo,	5	4,6
<i>Serratia plymutica</i>	Branquias	1	0,9
<i>Shigella dysenteriae</i>	Hígado	1	0,9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Branquias, ojo	4	3,6
Cepas tipificadas		109	100,0

8.4 RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

Para realizar las pruebas de resistencia a los antimicrobianos, las cepas aisladas fueron enviadas al laboratorio de resistencia a los antimicrobianos utilizando el método de Kirby Bauer, cuyo procedimiento normalizado fue publicado por la WHO y adoptado como estándar consensuado por la CLSI, CA-SFM y EUCAST, se realizó la siembra en medio Mueller-Hinton y se seleccionaron los sensibilizadores, de los cuales se colocaron 6 discos en la periferia y 1 en el centro y se incubaron por 24 horas a 37 °C, para después proceder a medir los halos de inhibición con una regla de medición teniendo en cuenta las recomendaciones del NCCLS e incluyéndose la cepa de referencia *Escherichia coli* como control de calidad. Los discos permitieron la medición cuantitativa de la susceptibilidad in vitro de las bacterias a los siguientes agentes antimicrobianos: Ácido nalidíxico (AN), amoxicilina (AMC), Ampicilina (AMP), Amikacina (AK), cloranfenicol (C), Cefotaxima (CAZ), Gentamicina (CN), Ciprofloxacina (CIP), Enrofloxacina (ENR), Cefoxitina (FOX), Novobiocina (NV), Cefotaxime (CTX), Oxitetraciclina (OT), Kanamicina (K), Imipenem (IMP), sulfa-trimetoprim (SXT) y Norfloxacina (NOR).

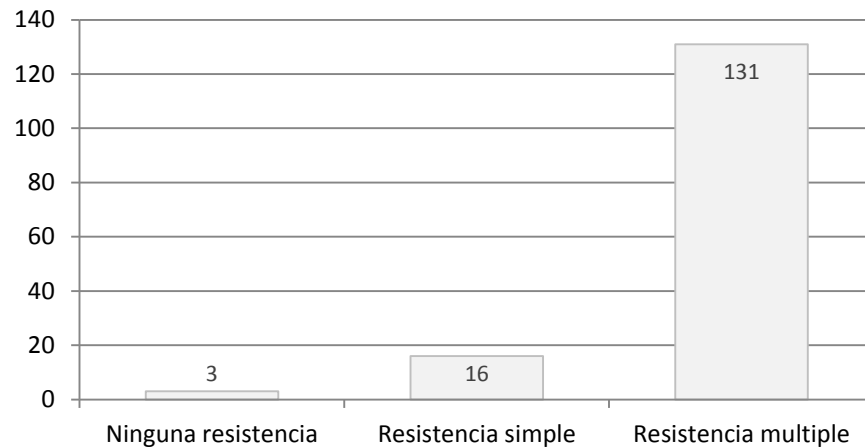
8.4.1 Resistencia de bacilos gram negativos. Según se observa en la tabla 6, las cepas mostraron variedad de resultados, siendo el antibiótico que presentó el mayor nivel de resistencia la Novobiocina (98,2%) seguido por la ampicilina (76,5%) y la oxitetraciclina (57,1%). El menor porcentaje de resistencia se presentó en la ceftazidima (2,1%), seguido de la norfloxacin (4,8%), la Cefotaxima (5,0%), la ciprofloxacina (5,2%), la Kanamicina (5,5%) y la enrofloxacin (5,6%). En total el 27,6% de las cepas analizadas fueron resistentes, 12,9% presentaron resistencia intermedia y 59,6% fueron sensibles.

Tabla 6. Resistencia antimicrobiana en bacterias gram negativas aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018

Antimicrobiano	R %	I %	S %	Cepas
Ácido Nalidíxico	27,3	24,2	48,5	33
Amoxicilina	44,6	23,2	32,1	56
Ampicilina	76,5	8,7	14,8	149
Amikacina	5,8	24,6	69,6	138
Cloranfenicol	30,8	0,0	69,2	146
Ceftazidima	2,1	3,4	94,5	146
Gentamicina	16,9	29,2	53,8	130
Ciprofloxacina	5,2	8,1	86,7	135
Enrofloxacin	5,6	28,7	65,7	143
Fosfomicina	36,3	2,1	61,6	146
Novobiocina	98,2	0,0	1,8	111
Cefotaxima	5,0	13,4	81,5	119
Oxitetraciclina	57,1	14,3	28,6	77
Kanamicina	5,5	24,7	69,9	73
Imipenem	10,0	10,0	80,0	10
Trimetoprim Sulfametoxazol	0,0	0,0	100,0	10
Norfloxacin	4,8	4,8	90,5	42
Global	27,6	12,9	59,6	1664

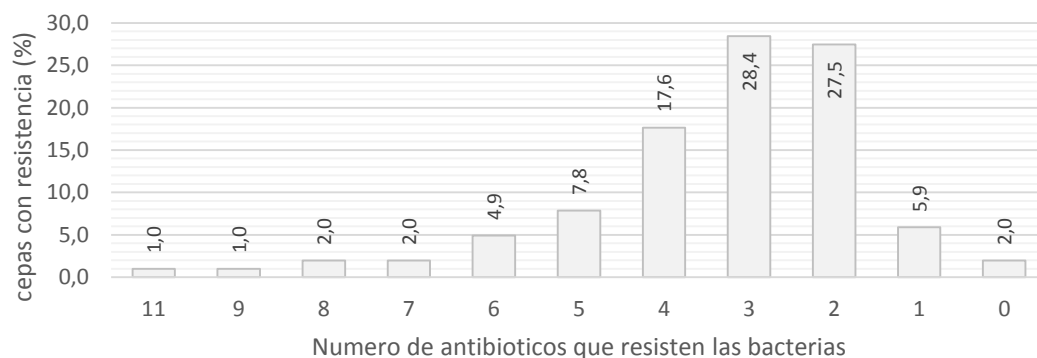
Según se observa en la figura 26, el 87% de las cepas presentó resistencia a varios antimicrobianos, es decir, resistencia múltiple. El 11% presentó resistencia simple (a un antimicrobiano), frente a Novobiocina (13 cepas), Ampicilina (2 cepas) y Cloranfenicol (1 cepa). El 2% de las cepas no presentó ninguna resistencia a los antibióticos probados.

Figura 26. Tipos de resistencia antimicrobiana en bacterias gram negativas aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018



De acuerdo en la figura 27, el 2% de las cepas no presenta resistencia a ninguno de los antimicrobianos probados, es decir fueron sensibles a todos ellos, mientras que el 1% de las cepas mostró resistencia hasta a 11 de los antimicrobianos probados. Los mayores porcentajes de resistencia se presentaron en bacterias que fueron resistentes a 2 (27,5%), 3 (28,4%) o 4 (17,6) antibióticos diferentes. Las cepas resistentes a más de 5 antibióticos ascienden en total al 18,7%.

Figura 27. Porcentaje de bacilos gram negativos resistentes a determinado número de antimicrobianos aislados de tilapias rojas y nilóticas en el embalse de Betania, 2018



8.4.2 Resistencia antibacteriana por familias de antimicrobianos. La resistencia de las cepas aisladas de acuerdo a la clase o grupo antimicrobiano al que pertenece mostró que a los aminoglucósidos fueron resistentes entre 5,5% y 16,9% de las cepas, a las quinolonas y fluoroquinolonas entre el 4,8% y el 27,3%. En el grupo de antimicrobianos que se observó mayor porcentaje de cepas resistentes fue las penicilinas donde estuvo entre 44,6% y 76,5%. El grupo de antimicrobianos en el que se observó menor frecuencia de cepas resistentes fue las cefalosporinas de tercera generación que estuvo entre el 2,1% y el 5,0%.

8.4.3 Índice de resistencia múltiple (IMAR). Se calculó el índice de resistencia múltiple a antibióticos (IMAR), definido como el cociente entre el número de antibióticos para los cuales determinada cepa presenta resistencia, y el número de antibióticos al cual se expuso dicha cepa. Un índice mayor a 0.2 indica que la bacteria presenta resistencia múltiple (145). Para las especies bacterianas aisladas, se observó que en el 35,6% de ellas presentaron un coeficiente IMAR menor a 0.2, mientras en el 64,4% fue mayor a 0.2 lo que en estas cepas indica, la existencia de resistencia múltiple, Tabla 7.

Tabla 7. Índice de resistencia IMAR en cepas de bacterias aisladas de tilapias rojas y nilóticas cultivadas en el embalse de Betania, 2018

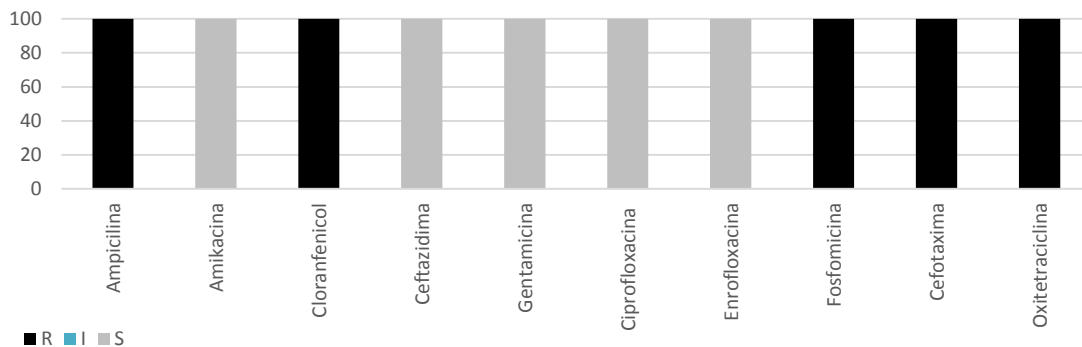
Bacteria	Índice IMAR		
	Mínimo	Máximo	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,50	0,50	100,0
<i>Aeromona hydrophila</i>	0,08	0,36	87,5
<i>Burkholderia cepacia</i>	0,14	0,31	50,0
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0,20	0,31	50,0
<i>Citrobacter freundii</i>	0,08	0,44	61,9
<i>Citrobacter koseri</i>	0,13	0,13	100,0
<i>Escherichia coli</i>	0,22	0,57	100,0
<i>Ewingella americana</i>	0,21	0,36	100,0
<i>Enterobacter asburiae</i>	0,30	0,30	100,0
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	0,00	0,30	50,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,00	0,70	46,6
<i>Enterobacter sakasakii</i>	0,21	0,30	50,0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,36	0,36	100,0
<i>Plesiomona shigelloides</i>	0,29	0,40	100,0
<i>Proteus mirabilis</i>	0,10	0,30	66,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,36	0,64	50,0
<i>Pseudomonas putida</i>	0,14	0,38	60,0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,30	0,67	100,0
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,23	0,23	100,0
<i>Serratia plymutica</i>	0,50	0,50	100,0
Otros bacilos Gram negativos	0,08	0,50	54,7

Por especie bacteriana, se observó que el 87,5% de las cepas de *Aeromona hydrophila*, todas las cepas de *Escherichia coli* y el 61,9% de *Citrobacter freundii* presentaron un IMAR por encima de 0.2, lo que indica que en estas cepas se observó resistencia múltiple. El mayor índice de resistencia múltiple lo presentó *Enterobacter cloacae* con 0.7. La existencia de 13 cepas de *Citrobacter freundii* con coeficientes IMAR mayor de 0.2 y 8 menores, y de *Enterobacter cloacae* con 8 cepas con IMAR menor de 0.2 y 7 mayor indican una gran variabilidad en cuanto a resistencia se refiere, en estas especies.

8.4.4 Resistencia de las especies bacterianas analizadas. El perfil de resistencia cada una de las especies bacterianas analizadas se presenta a continuación:

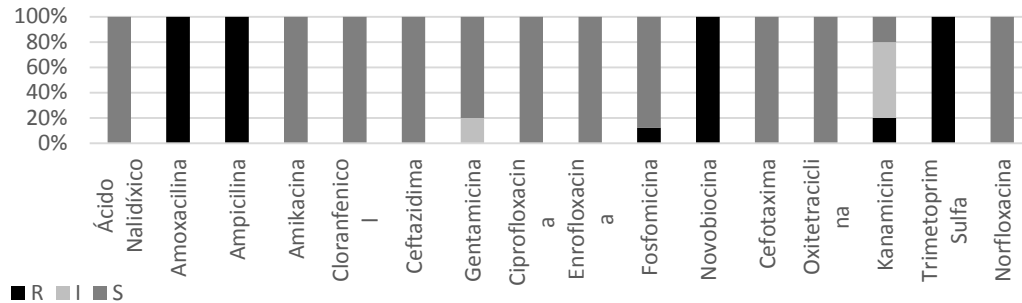
8.4.4.1 *Acinetobacter baumannii*. Es un bacilo gramnegativo aeróbico, pleomórfico e inmóvil que puede afectar personas inmunocomprometidos con estadía prolongada en el hospital. Asociado con ambientes acuáticos, se ha demostrado que coloniza la piel y aislado de secreciones respiratorias y orofaríngeas de personas infectadas considerándosele patógeno humano de "alerta roja", por su amplio espectro de resistencia a los antibióticos (146). Presento un IMAR de 0,5 y el perfil de resistencia se muestra en la figura 28.

Figura 28. Resistencia antibiótica de *Acinetobacter baumannii* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



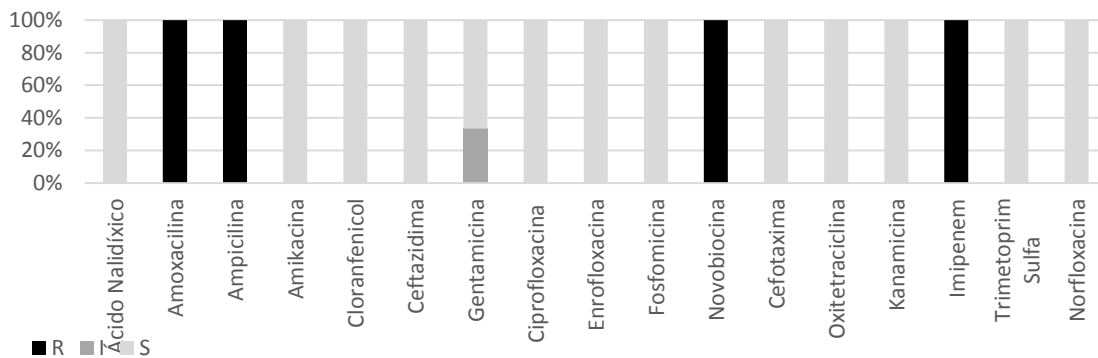
8.4.4.2 Resistencia antibiótica de *Aeromona hydrophila*. Es un bacilo heterotrófico, ubicuo de ambientes acuáticos considerados como patógenos emergentes por asociarse a cuadros infecciosos reportados en personas con infecciones gastrointestinales o de la piel. En el perfil de resistencia se muestra en la figura 29.

Figura 29. Resistencia antibiótica de *Aeromona hydrophila* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



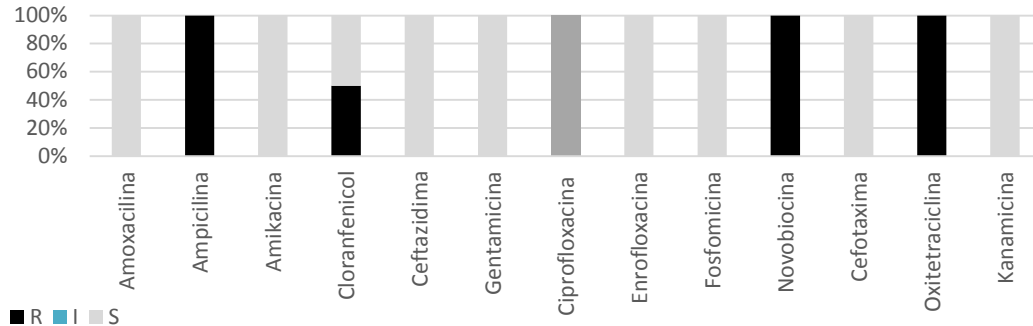
8.4.4.3 Susceptibilidad antibiótica de *Burkholderia cepacia*. El complejo *Burkholderia cepacia* está formado por 22 especies de bacilos no fermentadores, descrito como emergente, patógeno nosocomial y de algunos vegetales. En personas inmunocomprometidas puede ocasionar bacteriemia grave por su multiresistencia. Se han aislado de infecciones nosocomiales y en brotes intrahospitalarios. Su perfil se muestra en la figura 30.

Figura 30. Resistencia antibiótica de *Burkholderia cepacia* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



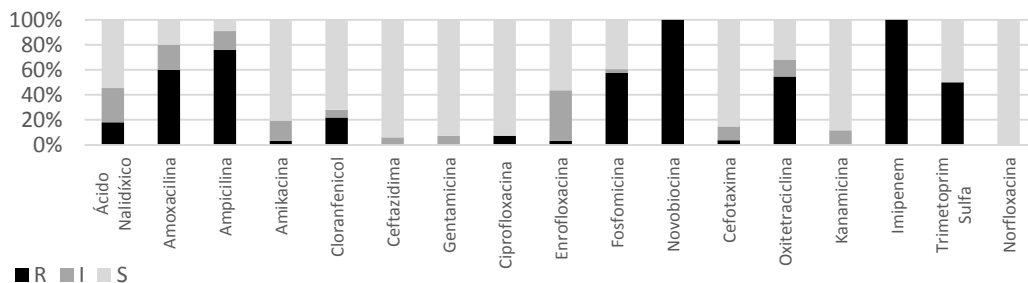
8.4.4.4 Susceptibilidad antibiótica de *Citrobacter amalonaticus*. Es un bacilo gram negativo entérico que pocas veces ha sido reportada como un patógeno humano y cuando esto sucede, se reportan con mayor frecuencia causando meningitis en neonatos. Su perfil se muestra en la figura 31

Figura 31. Resistencia antibiótica de *Citrobacter amalonaticus* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



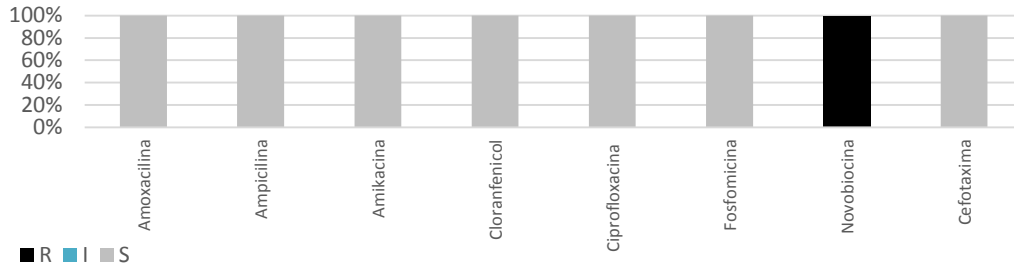
8.4.4.5 Resistencia antibiótica de *Citrobacter freundii*. Son bacilos aerobios, en su mayoría motiles por flagelos descritos como oportunistas por ocasionar infecciones del tracto urinario y vías respiratorias. Crecen en glicerol, metabolizan lactosa o citrato y son benéficos ambientales porque reducen el nitrato a nitrito en el ciclo del nitrógeno. Se encuentra en suelo, aguas residuales y en el tracto intestinal de animales y personas e indica contaminación del agua. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 32.

Figura 32. Resistencia antibiótica de *Citrobacter freundii* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



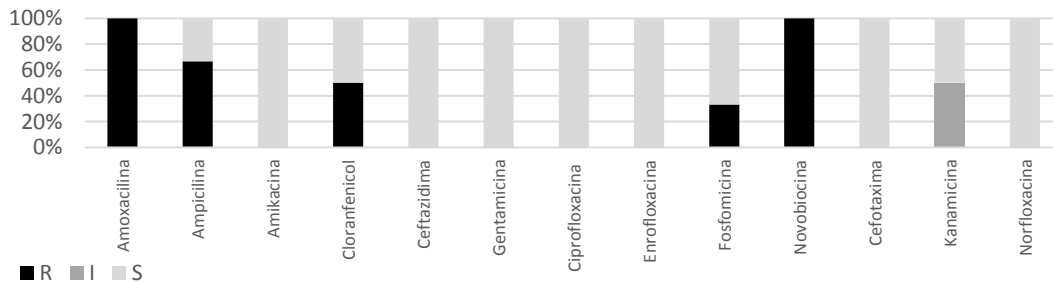
8.4.4.6 Resistencia antibiótica de *Citrobacter koseri*. Anaerobio facultativo con capacidad respiratoria aeróbica, móvil con flagelos peritricos y habitante normal de los tractos digestivos humanos y animales, pero patógeno oportunista en humanos. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 33.

Figura 33. Resistencia antibiótica de *Citrobacter koseri* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



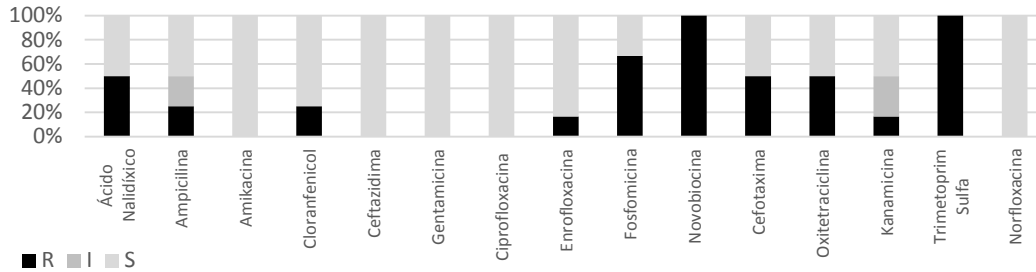
8.4.4.7 Resistencia antibiótica de *Ewingella americana*. Anaeróbico facultativo con metabolismo respiratorio y fermentativo motil por flagelos peritricos. Rara vez infecta a humanos pero se ha aislado en heridas, esputo, orina, heces y sangre. El perfil de susceptibilidad se observa en la figura 34.

Figura 34. Resistencia antibiótica de *Ewingella americana* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



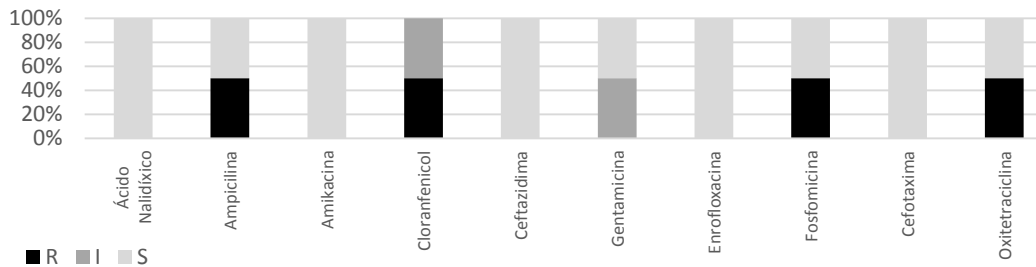
8.4.4.8 Resistencia antibiótica de *Escherichia coli*. Es habitual en el intestino de personas y animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas no son patógenas, pero algunas pueden causar infecciones alimentarias. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 35.

Figura 35. Perfil de resistencia antibiótica de *Escherichia coli* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



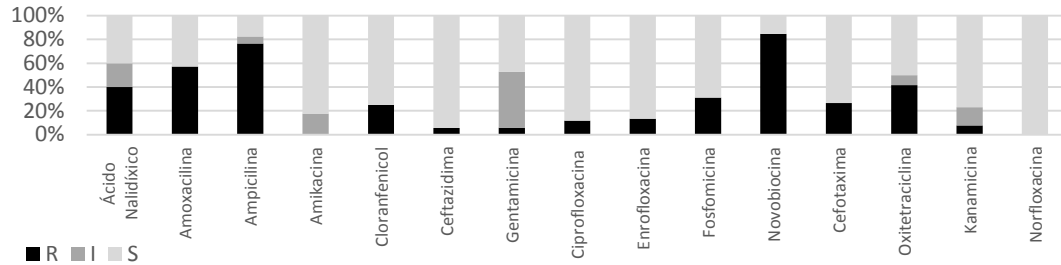
8.4.4.9 Resistencia antibiótica de *Enterobacter cancerogenus*. Anteriormente conocido como *Enterobacter taylorae*, es un anaeróbico facultativo que puede causar infecciones óseas y articulares en heridas abiertas o laceraciones. El perfil muestra resistencia tal como se observa en la figura 36.

Figura 36. Resistencia antibiótica de *Enterobacter cancerogenus* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



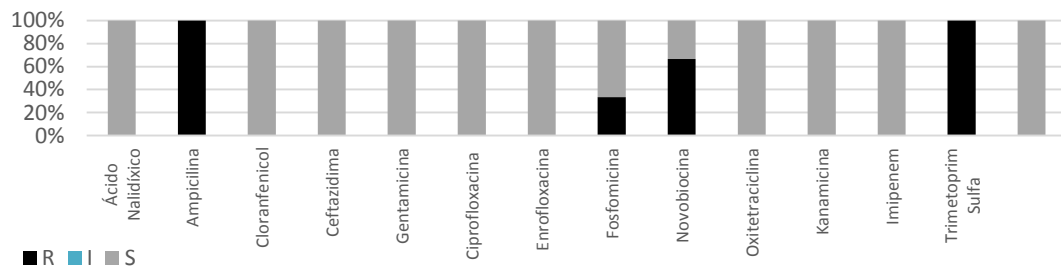
8.4.4.10 Resistencia antibiótica de *Enterobacter cloacae*. Es un bacilo gram negativo de la familia Enterobacteriaceae, por lo que pueden ser tanto aeróbicos como anaeróbicos capaz de causar infecciones respiratorias e infecciones del tracto urinario en humanos. Figura 37.

Figura 37. Resistencia antibiótica *Enterobacter cloacae* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



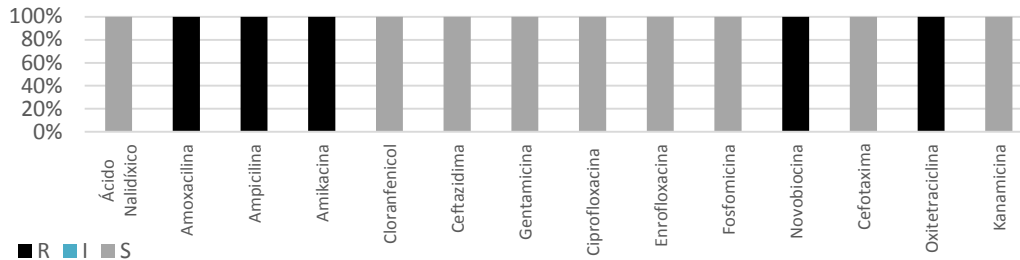
8.4.4.11 Resistencia antibiótica de *Enterobacter sakazakii*. No formador de esporas, patógeno emergente de importancia en salud pública porque puede afectar personas inmunosuprimidos. La infección es rara pero potencialmente mortal en menores de 1 año. El perfil de resistencia se muestra en la figura 38.

Figura 38. Perfil de resistencia de *Enterobacter sakazakii* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018



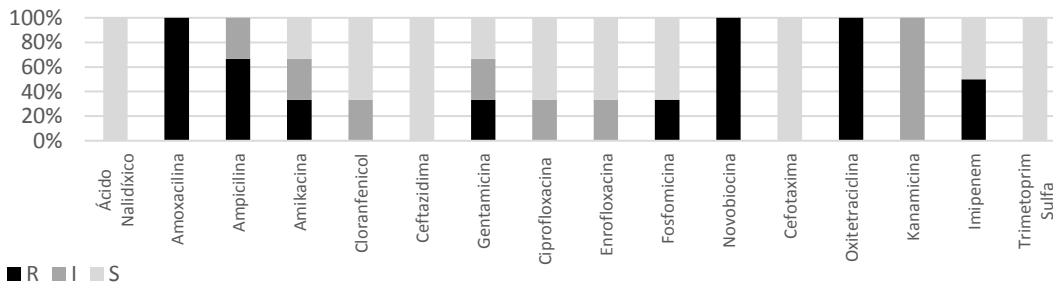
8.4.4.12 Resistencia antibiótica de *Klebsiella oxytoca*. Habitante natural del tracto intestinal, boca y nariz pero puede causar infecciones graves como neumonía, infecciones del tracto urinario y heridas. Se encuentra en entornos como ancianatos y UCI. La figura 39 muestra su perfil de resistencia.

Figura 39. Resistencia antibiótica de *Klebsiella oxytoca* aisladas de tilapias, 2018



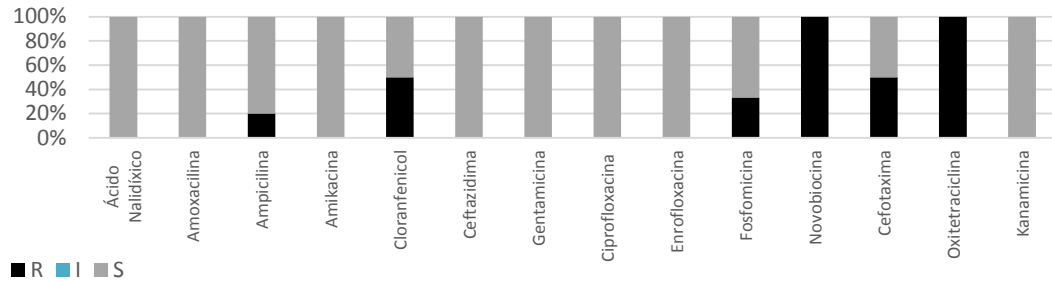
8.4.4.13 Resistencia antibiótica de *Plesiomona shigelloides*. El género consiste en una sola especie, fermentadora de glucosa, móvil, anaeróbica facultativa. Es un patógeno habitual que causa diarrea aguda en niños y personas inmunocompetentes. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 40.

Figura 40. Resistencia de *Plesiomona shigelloides* aisladas de tilapias, 2018



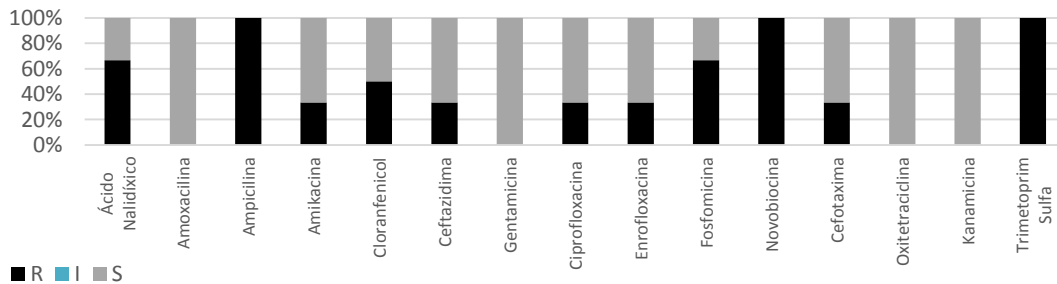
8.4.4.14 Resistencia antibiótica de *Proteus mirabilis*. Bacilo gramnegativo enteropatógeno verdadero, ubicuo, anaeróbico facultativo de la familia Vibrionaceae capaz de fermentar la maltosa pero no de la lactosa; aunque es parte de la flora intestinal humana se reportan brotes de enfermedades por la ingestión de agua o mariscos contaminados e infecciones de recién nacidos. Tiene motilidad de enjambrazón y capacidad de autoelongarse y secretar un polisacárido cuando está en contacto con superficies sólidas lo que le permite desplazarse por superficies y formar biopelículas. La mayoría de las cepas son negativas a la lactosa. Su perfil se muestra en la figura 41.

Figura 41. Resistencia antibiótica de *Proteus mirabilis* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



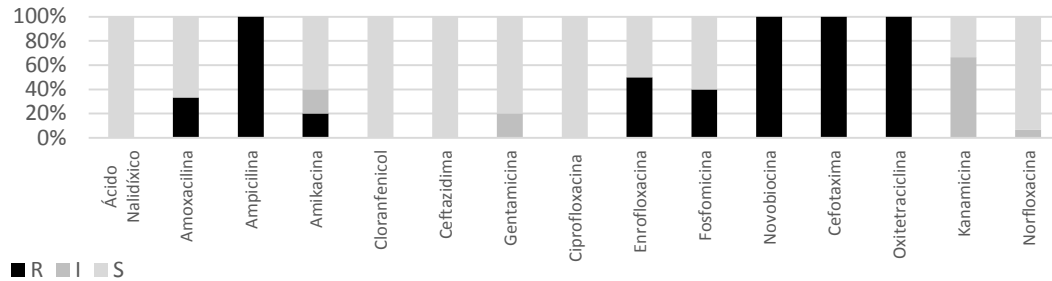
8.4.4.15 Resistencia antibiótica de *Pseudomonas aeruginosa*. Es una gamma-proteobacteria cosmopolita, metabólicamente versátil que prospera en el suelo y ambientes acuáticos y coloniza superficies vivas de plantas, animales y humanos que se ha convertido en una importante causa de infección, especialmente en pacientes inmunosuprimidos. Es el patógeno más común aislado de pacientes hospitalizados por más de 1 semana y de infecciones nosocomiales. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 42.

Figura 42. Resistencia antibiótica de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



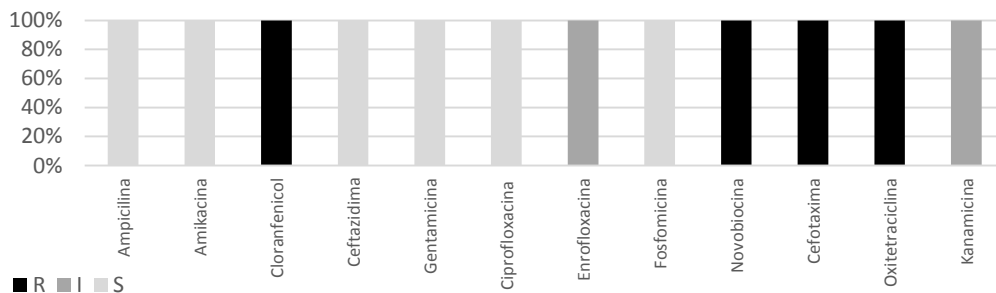
8.4.4.16 Resistencia antibiótica de *Pseudomonas putida*. Es un bacilo no fermentador de nichos ambientales que rara vez causa infecciones en humanos, pero, puede ser una plataforma de intercambio de genes de resistencia a bacterias patógenas. Su relevancia clínica está en que permite el diseño de estrategias de control de infecciones, como decidir el aislamiento de pacientes de alto riesgo colonizados con cepas multiresistentes de baja patogenicidad. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 43

Figura 43. Resistencia antibiótica de *Pseudomona Putida* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



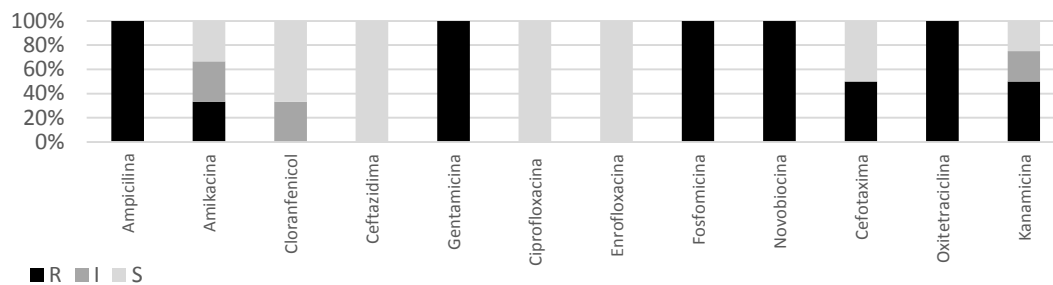
8.4.4.17 Resistencia antibiótica de *Serratia plymutica*. Se encuentra especialmente en el suelo y el agua. Las infecciones son poco comunes y generalmente en pacientes que se someten a cirugía o cateterismo del tracto urinario (147). Presento un IMAR de 0.5. Su perfil se muestra en la figura 44.

Figura 44. Resistencia antibiótica de *Shiguella dysenteriae* aisladas de tilapias cultivadas en el embalse de Betania, 2018.



8.4.4.18 Resistencia antibiótica de *Stenotrophomonas maltophilia*. Es un agente comensal o patógeno oportunista emergente en inmunosuprimidos y se ha convertido en patógeno nosocomial en entornos clínicos. Su perfil de resistencia se muestra en la figura 45.

Figura 45. Resistencia antibiótica de *Stenotrophomona maltophilia*, 2018.



8.5 COMPORTAMIENTO DEL USO DE ANTIBIÓTICOS RESPECTO A LAS VARIABLES EXPLICATIVAS.

Para analizar la asociación entre el uso de antimicrobianos y los diferentes variables antrópicas se empleó el programa Stata versión 14. Para el análisis se determinó el respectivo OR con su intervalo de confianza al 95%, según se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Análisis bivariado. Variables asociadas al uso de antimicrobianos en establecimientos acuícolas del embalse de Betania, 2018

Uso de antibióticos/ Variables	OR	[95% Conf. Interval]	z	P>z
Volumen de producción (ton)	1,00	(1,00 - 1,00)	1,42	0,16
Categorías de Volumen*				
De 101 a 150	4,12	(0,92 - 8,52)	1,85	0,06
De 151 a 600	3,06	(0,91 - 10,25)	1,81	0,07
Más de 601	4,40	(1,11 - 17,48)	2,10	0,04
Cultivo de tilapia	1,64	(0,76 - 3,54)	1,26	0,21
Cultivo de híbridos de tilapia roja	0,78	(0,30 - 2,00)	-0,52	0,60
Cultivo de tilapia nilótica	0,82	(0,18 - 3,74)	-0,25	0,80
Cultivo de ambas tilapias	1,45	(0,53 - 3,93)	0,72	0,47
Categoría tipo de tilapia**				
Cultivo de híbridos de tilapia roja	1,07	(0,22 - 5,09)	0,08	0,94
Cultivo de ambos tipos de tilapia	1,53	(0,29 - 7,94)	0,50	0,61
Numero de jaulones	1,02	(0,97 - 1,08)	0,93	0,35
Categorías de jaulones***				
Hasta 10	2,13	(0,53 - 8,45)	1,07	0,29
De 11 a 15	0,89	(0,17 - 4,78)	-0,14	0,89
De 16 a 20	0,80	(0,10 - 6,10)	-0,22	0,83
Más de 20	1,50	(0,22 - 1,66)	0,41	0,68
Peso de siembra del alevino	1,36	(0,76 - 2,44)	1,03	0,30
Numero de operarios	1,03	(0,98 - 1,08)	1,02	0,31
Uso de probióticos	1,62	(0,44 - 6,00)	0,72	0,47
Uso de desinfectantes	3,18	(1,21 - 8,40)	2,34	0,02
Asistencia de Médico veterinario	1,29	(0,41 - 4,06)	0,44	0,66
Escolaridad del Piscicultor	1,35	(0,88 - 2,06)	1,38	0,17
Categoría de escolaridad****				
Bachiller	0,30	(0,09 - 1,04)	-1,89	0,06
Tecnólogo	0,58	(0,09 - 3,68)	-0,58	0,56
Profesional universitario	2,88	(0,73 - 11,43)	1,51	0,13
Diagnóstico de enfermedad bacteriana	2,18	(0,67 - 7,12)	1,29	0,20
Conocimiento de los antibióticos	6,50	(1,61 - 26,31)	2,62	0,01
Participación en eventos de capacitación	2,25	(0,64 - 7,94)	1,26	0,21
Recomendador del uso del antibiótico	2,66	(1,65 - 4,28)	4,04	0,00
Recomendación por un médico veterinario	27,75	(2,92 - 263,47)	2,89	0,004
Automedica o recomendación no profesional	18,5	(4,86 - 70,36)	4,28	0,00

*Categorías analizadas con base en los de menos de 100 toneladas; **Categorías analizadas con base en la tilapia nilótica; ***Categorías analizadas con base en los de menos de 5 jaulones; **** Categorías analizadas con base en el nivel de escolaridad de primaria.

Como puede observarse en la tabla 8 las variables que en el análisis bivariado resultaron estadísticamente significativas en relación al uso de antibióticos fueron:

Volumen de producción mayor a 601 toneladas en donde se aumenta 4,39 (IC 95% 1,11 - 17,48) veces la oportunidad de utilizar antibióticos comparado con los establecimientos que producen menos de 100 toneladas.

El uso de desinfectantes en los establecimientos en donde se obtuvo que la oportunidad de utilizar antibióticos es 3,18 (IC 95% 1,21 - 8,40) mayor en los establecimientos que utilizan desinfectantes que en los que no lo hacen. Esta relación se puede explicar por el hecho que en los establecimientos se utilicen, además de antibióticos, desinfectantes para disminuir las cargas bacterianas.

El conocimiento sobre antibióticos en los establecimientos, observándose que en los establecimientos en donde los piscicultores no saben lo que son los antibióticos es 6,5 (IC 95% 1,61 - 26,31) veces mayor su uso que en los establecimientos donde tienen conocimiento de ellos.

Recomendador del uso de antibióticos. Se observó que los establecimientos que tuvieron la recomendación externa como un biólogo, vendedor de insumos o automedicado por el mismo piscicultor, la probabilidad de usar antibióticos fue 2,66 (IC 95% 1,65 - 4,28) veces mayor que los establecimientos donde no se utilizaron antibióticos. Cuando la recomendación la realizó el médico veterinario (OR 27,75 IC 95% 2,92 - 263,47) la probabilidad de usar antibióticos fue mayor que cuando fue recomendado por un personaje externo al establecimiento o la automedicación (OR 18,5 IC 95% 4,86 - 70,36)

8.5.1 Volumen de producción. El uso de antimicrobianos se mantiene constante cualquiera que sea el volumen de producción, es decir que la proporción de establecimientos que los utilizan no es significativamente diferentes en los de mayor o menor volumen (OR 1,000836) con una Chi cuadrado de 3,24 (Prob > Chi cuadrado 0,142).

Analizando el uso de antibióticos, respecto al volumen de producción en 4 categorías: La probabilidad de usar antibióticos en un establecimiento que produzca entre 100 y 150 toneladas es 4,12 veces la de los que producen menos de 100 toneladas, sin ser estadísticamente significativa. Un volumen mayor a 151 toneladas aumenta la oportunidad de utilizar antibióticos 3,06 veces comparado con los establecimientos que producen menos de 100 toneladas sin que las estimaciones de los OR presenten significancias estadísticas. No se observaron establecimientos de menos de 50 toneladas que utilicen antibióticos para incluirlos como base de comparación.

8.5.2 Nivel de educación. El análisis determinó que, por cada nivel de educación que tenga el acuicultor, se multiplica por 1,35 los establecimientos que utilizan antibióticos, en una asociación no significativamente mayor entre los de mayor y los de menor nivel de escolaridad (Chi-cuadrado de 1,94; p asociada 0,167), sin

embargo es importante considerar que existe una tendencia asociativa positiva entre estas variables.

Respecto al nivel de educación del piscicultor con 4 categorías, los OR basados en el nivel de primaria indican que en magnitudes no significativas, el uso de antimicrobianos se aumenta en un 30,36% cuando el piscicultor pasa al nivel educativo de secundaria, en el 43% cuando pasa a tecnólogo y llega al 188% cuando pasa a profesional universitario (OR 2,88) indicando que los piscicultores con título profesional universitario presentan mayor oportunidad de usar antibióticos que los que solo han realizado estudios primarios.

8.5.3 Número de jaulones. El análisis de regresión logística indica que por cada jaulón adicional que posea un establecimiento se incrementa el uso de antibióticos en un 2,33%, pero este incremento no es estadísticamente significativo.

Los OR generados y relacionados con los establecimientos de 5 jaulones, indican que sin significancia estadística el uso de antibióticos es mayor en los que poseen entre 6 y 10 jaulones (OR 2,125) y disminuye en los de entre 11 y 15 jaulones (OR 0,88) y en los de entre 16 y 20 jaulones, pero se incrementa nuevamente (OR 1,5) en los que poseen entre 21 a 40 jaulones. Es posible que los establecimientos de mayor número de jaulones, entre los que se encuentran los que producen filetes para exportación, utilicen menos antibióticos que los que poseen entre 6 y 10 jaulones y es posible también, que los que posean hasta 5 jaulones no los utilicen por razones económicas.

8.5.4 Diagnóstico de enfermedades. El análisis de regresión logística determinó que por cada establecimiento donde se diagnosticó una enfermedad bacteriana se multiplica por 2,18 (IC 95% 0,67 - 7,12) la utilización de antibióticos, es decir, se aumenta en un 218,18%, sin que sea estadísticamente significativo, se observa una tendencia asociativa positiva.

8.5.5 Tipo de tilapia cultivada. En los establecimientos donde se cultivan los dos tipos de tilapia (nilóticas e híbridos rojos) es 4,2 veces más probable (OR: 4,2 IC 95% 1,29 – 1,37 $p=0,02$) que se utilicen antibióticos que en los que cultivan solo tilapias nilóticas.

El análisis de regresión logística con odds ratio generados en relación a la tilapia nilótica determinó en magnitudes no significativas que la probabilidad de usar antibióticos en un predio donde se cultivan tilapias nilóticas es 0,96 veces la probabilidad de usar antibióticos a la de un predio donde se cultivan híbridos rojos y 1,48 veces la probabilidad de un establecimiento que cultiva ambos tipos de

tilapias o cuando se cambia el tipo de tilapia de nilótica a roja se disminuye la utilización de antibióticos ya que el OR se disminuye en un 4% y por el contrario se aumenta un 47% cuando se pasan a cultivos de los dos tipos de tilapia. Hay que tener en cuenta que por exigencias del mercado en las tilapias nilóticas, se tiene mayor cuidado en el uso de antimicrobianos por el problema de sus residuos en los filetes.

8.5.6 Asistencia veterinaria. Cuando se relacionó la utilización de antimicrobianos con la asistencia de un médico veterinario en el establecimiento como variable explicativa, el análisis de regresión logística determino sin significancia estadística que los establecimientos que posean médico veterinario presentan una oportunidad 29% mayor de utilizar antibióticos comparados con los que no lo poseen.

8.5.7 Participación en eventos de capacitación. El análisis de regresión logística determino sin significancia estadística, que la oportunidad de utilizar antibióticos (OR 2,252174 IC95% 0,638758 – 7,94085) en los establecimientos acuícolas fue 125% mayor en donde los responsables asisten a eventos de capacitación comparado con los establecimientos en donde no asisten a ellos. Se refleja en este análisis, que la búsqueda por mejorar los conocimientos técnicos, pero también se expone a información comercial relacionada con el uso de medicamentos para el tratamiento de enfermedades y lo puede usar al tomar decisiones con respecto al uso de antimicrobianos.

8.5.8 Formulación o recomendación del uso de antibióticos. El análisis de regresión logística determino sin significancia estadística (OR 2,659764 IC95% 1,654692 – 4,275325) que se aumenta 2,66 veces la oportunidad de usar antibióticos cuando estos son recomendados por alguna persona externa al establecimiento. En el caso de ser formulado por un médico veterinario la probabilidad (OR 27,75 IC95% 2,92 - 263,47) de utilizarlos es mayor que cuando el piscicultor los automedica o cuando se lo sugiere un biólogo o un vendedor de una casa comercial (OR 18,5 IC95% 4,86 - 70,36).

8.6 ANÁLISIS DE LA DEPENDENCIA DEL USO DE ANTIBIÓTICOS.

Analizando la regresión logística tomando como variable desenlace uso de antibióticos con las variables explicativas según su OR, la automedicación, la formulación por el médico veterinario, el no tener conocimiento sobre antibióticos, ser su responsable un profesional universitario, cultivarse los dos tipos de tilapias

y usar desinfectantes fueron las asociaciones con significación estadística del uso de antibióticos en establecimientos acuícolas en el embalse de Betania.

Por otro lado, pero sin significancia estadística, las variables explicativas cultivar solo tilapia nilótica, tener más de 20 jaulones, cultivar solo híbridos rojos de tilapia, los odds ratio indican ser factores en los cuales la utilización de antibióticos es menos probable, seguramente por el cuidado que se tiene al producir tilapias para producir filetes para exportar.

Al elaborar un modelo de regresión que estime el valor del uso de antibióticos (variable dependiente) en función de los valores que pueden tomar en conjunto las variables que aporten explicación al uso de antimicrobianos. Ordenando los OR de cada una de las variables de mayor a menor en la tabla 9 se observan las OR de la variable de resultado uso de antimicrobianos frente a 19 variables antrópicas explicativas analizadas con el respectivo intervalo de confianza al 95%.

Tabla 9. Odds ratios del uso de antimicrobianos frente a las variables explicativas en establecimientos acuícolas del embalse de Betania

Uso de antibióticos/ Variables	OR	[95% Conf. Interval]	z	P>z
Automedicación o recomendación de terceros	10,86	(3,09 - 38,10)	3,72	0,00
Formulado por médico veterinario	10,25	(1,16 - 90,32)	2,10	0,04
Falta de conocimiento sobre antibióticos	6,50	(1,61 - 26,31)	2,62	0,01
Responsable es profesional universitario	4,75	(1,32 - 17,08)	2,39	0,02
Cultivan ambos tipos de tilapias	3,47	(1,11 - 10,86)	2,14	0,03
Uso de desinfectantes	3,18	(1,21 - 8,40)	2,34	0,02
Ha participado en eventos de capacitación	2,25	(0,64 - 7,94)	1,26	0,21
Diagnóstico de enfermedad bacteriana	2,18	(0,67 - 7,12)	1,29	0,20
Uso de probióticos	1,62	(0,44 - 6,00)	0,72	0,47
Solo cursó educación primaria	1,38	(0,53 - 3,59)	0,65	0,51
Peso de siembra del alevino	1,36	(0,76 - 2,44)	1,03	0,30
Escolaridad del Piscicultor	1,35	(0,88 - 2,06)	1,38	0,17
Asistencia del Médico veterinario	1,29	(0,41 - 4,06)	0,44	0,66
Numero de operarios	1,03	(0,98 - 1,08)	1,02	0,31
Numero de jaulones	1,02	(0,97 - 1,08)	0,93	0,35
Volumen de producción (ton)	1,00	(1,00 - 1,00)	1,42	0,16
Cultivar solo tilapia nilótica	0,93	(0,15 - 5,93)	-0,08	0,94
Tiene más de 20 jaulones	0,82	(0,18 - 3,74)	-0,25	0,80
Cultivan solo híbridos rojos de tilapia	0,36	(0,13 - 1,00)	-1,96	0,05

Si se analiza la variable desenlace uso de antimicrobianos con las variables explicativas que según su OR son factores que lo determinan se obtuvo un OR de 78,84 (IC 95% 8,290459 - 749.84), según se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Regresión logística del uso de antimicrobianos frente a variables antrópicas explicativas

Uso de antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P>(z)	(95% Conf. Interval)	
Recomendado por un MV	78.8449	90.60802	3.80	0.000	8.290459	749.84
Automedicado o recomendado por terceros	27.01995	55.76207	1.60	0.110	.473182	1542.911
Conocimiento sobre antibióticos	1.511997	1.876651	0.33	0.739	.1327584	17.22026
Piscicultor profesional	1.738419	2.025822	0.47	0.635	.1771022	17.06417
Cultivar los dos tipos de tilapia	10.22198	9.024623	2.63	0.008	1.811505	57.68071
Uso de desinfectantes	.6140305	.5056209	-0.59	0.554	.1222564	3.083958
Participar en eventos de capacitación	.5674419	.7149144	-0.45	0.653	.0480287	6.704119
Diagnóstico de una enfermedad bacteriana	.7990808	.7978111	-0.22	0.822	.1129124	5.655092
Piscicultor con escolaridad primaria	.4165995	.4120805	-0.89	0.376	.0599446	2.895256
Cons	.1271266	.0872169	-3.01	0.002	.0331328	.4877695

Log likelihood = -28.566663

Number of obs = 72
 LR chi2 (9) = 40.67
 Prob > chi2 = 0.0000
 Pseudo R2 = 0.4158

Lo anterior está indicando que la oportunidad de que los antibióticos sean formulados por un médico veterinario si en los establecimientos se automedican o se aceptan recomendaciones de personas no médicos veterinarios, no se tienen conocimientos de lo que son los antibióticos, el piscicultor es profesional universitario, se cultivan los dos tipos de tilapias, se usan desinfectantes, se participa en eventos de capacitación, se diagnostica una enfermedad bacteriana y si el piscicultor de educación primaria es 78,84 veces a la oportunidad de no ser formulados por un médico veterinario en las mismas condiciones.

Al descartar por plausibilidad biológica las variables que no están relacionadas directamente con el uso de antimicrobianos. La automedicación o recomendación por terceros o por el veterinario, independientemente de quien lo recomendó, el antibiótico se utilizó, el OR simplemente apoya el resultado de los motivos y el uso de desinfectantes, que es una medida que acompaña al uso de antimicrobianos. La variable que en el análisis bivariado más se asocia al uso de antimicrobianos y de interés para explicarlo: Falta de conocimiento sobre antibióticos OR 6,50 (IC 95% 1,61 - 26,31). Los resultados de este análisis se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Análisis de regresión logística para ajuste del modelo explicativo del uso de antibióticos

Uso de antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P>(z)	(95% Conf. Interval)	
Conocimiento sobre antibióticos	4.417278	1.876651	0.33	0.739	.1327584	17.22026
Piscicultor es profesional universitario	2.720007	2.025822	0.47	0.635	.1771022	17.06417
Cultivar los dos tipos de tilapia	2.990007	9.024623	2.63	0.008	1.811505	57.68071
Participar en eventos de capacitación	1.36104	.7149144	-0.45	0.653	.0480287	6.704119
Diagnóstico de una enfermedad bacteriana	1.150532	.7978111	-0.22	0.822	.1129124	5.655092
Piscicultor con escolaridad primaria	3.008314	.4120805	-0.89	0.376	.0599446	2.895256
Cons	.2036177	.0872169	-3.01	0.002	.0331328	.4877695

Log likelihood = -28.566663

Number of obs = 72
 LR chi2 (9) = 40.67
 Prob > chi2 = 0.0000
 Pseudo R2 = 0.4158

Bajo estas consideraciones, el OR ajustado pasa de 6.50 a 4.22 cuando los piscicultores no tienen conocimiento de antibióticos ajustado para cuando tiene nivel de escolaridad es profesional universitario. En este caso, el valor 4.22 es el OR de los piscicultores que no tienen conocimiento sobre antibióticos sin importar el efecto de cuando son o no profesionales universitarios. Al ajustar por cuando cultivan los dos tipos de tilapias, la OR de los piscicultores que no tienen conocimiento de los antibióticos pasa de 4.21843 a 4.605959. En este caso el valor 4.605959 es el OR de los piscicultores que no tienen conocimiento sobre antibióticos sin importar el efecto de los que son o no profesionales universitarios y si cultivan o no los dos tipos de tilapias.

La oportunidad (OR) de usar antibióticos en los establecimientos piscícolas del embalse de Betania por la presencia de piscicultores que no tienen conocimiento de los antibióticos, sin importar que sean o no profesionales universitarios, cultiven o no los dos tipos de tilapias en su establecimiento, que participen o no en eventos no formales de capacitación, realicen o no diagnóstico de enfermedades bacterianas o solo tengan nivel de escolaridad primaria tuvo un valor de 4.417278 con un LR chi2 igual a 40.67 con Prob > chi2 igual a 0.0000 (IC 95% entre 0.1327584 y 17.22026).

Es evidente que la falta de conocimientos sobre antibióticos muestra un gran impacto sobre el uso de antimicrobianos. El resto de variables independientes no explican de manera significativa el uso de antimicrobianos en las tilapias cultivadas en el embalse de Betania.

8.7 ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE LA RAM Y EL USO DE ANTIBIÓTICOS

Para analizar la asociación entre la presencia de RAM y las diferentes variables antrópicas se determinó el respectivo OR con su intervalo de confianza al 95%, según se observa en la tabla 12.

Tabla 12. OR de las variables analizadas según el efecto

RAM/ Variables	OR	[95% Conf. Interval]	z	P>z
No conoce que son antibióticos	6,50	(1,61 - 26,31)	2,62	0,01
Cultivo de tilapia nilótica	2,82	(0,26 - 30,02)	-0,86	0,39
Piscicultor con educación primaria	2,24	(0,59 - 8,46)	1,19	0,23
Uso de antibióticos	1,43	(0,39 - 5,26)	0,54	0,59
Cultivo de ambos tipos de tilapias	1,42	(0,38 - 5,26)	0,54	0,59
Peso de siembra del alevino	1,20	(0,72 - 1,98)	1,15	0,28
Ha participado en eventos de capacitación	1,16	(0,22 - 6,13)	0,18	0,86
Diagnóstico de enfermedad bacteriana	1,08	(0,24 - 4,90)	0,10	0,92
Numero de jaulones	1,06	(0,97 - 1,15)	1,44	0,15
Volumen de producción (ton)	1,00	(0,99 - 1,00)	1,10	0,27
Asistencia del Médico veterinario	0,99	(0,25 - 3,82)	-0,02	0,98
Uso de desinfectantes	0,81	(0,21 - 3,11)	-0,29	0,77
Numero de operarios	0,60	(0,16 - 2,27)	-0,74	0,46
Cultivo de tilapia roja	0,48	(0,13 - 1,80)	-1,09	0,27
Piscicultor profesional universitario	0,6	(0,13 - 2,72)	-0,66	0,51

En los establecimientos donde se tomaron muestras de tilapias, el análisis de regresión logística que relacionó la presencia de bacterias resistentes con el uso de antibióticos con como variable predictora o explicativa, indicó que por cada unidad en que se usaron antibióticos, si el resto de variables se mantienen constantes, aumentaría el OR de presentarse bacterias resistentes a los antimicrobianos en 1,4285 veces más (IC 95%: 0,3876; 5,2644), que si no se aumentara en esa unidad el uso de antibióticos. Este valor por ser mayor de 1, indica asociación positiva entre la presencia en las tilapias de bacterias resistentes a los antimicrobianos y el uso de ellos, sin embargo este incremento no fue estadísticamente significativo (Prob >chi²=0,5911).

En el caso de que se usen desinfectantes, por cada unidad de uso que se aumente, si el resto de variables se mantienen constantes, se reduce el OR de que se presenten bacterias resistentes a los antibióticos en 0,81818 veces (IC 95%: 0,2147; 3,11788), con valor menor de 1, lo que indica asociación negativa entre la presencia en las tilapias de bacterias resistentes a los antibióticos y el uso de desinfectantes, es decir, los establecimientos que no utilizan desinfectantes

tienen más odds de presentar resistencia a los antibióticos en 1,8615 que los que sí los utilizan, sin embargo esta condición no fue estadísticamente significativa en este estudio.

9. DISCUSIÓN

Dada la especialidad del estudio realizado, es menester inicialmente, presentar algunas consideraciones que surgieron para plantear la discusión del trabajo realizado.

En primer lugar, reconocer que la resistencia bacteriana a los antimicrobianos constituye un problema de salud pública, que se incrementa día a día, no solo complicando la situación a nivel hospitalario, sino también en el campo de la inocuidad de los alimentos en su producción primaria. La búsqueda del marco teórico y el análisis realizado en esta investigación permite afirmar que existe en la literatura, evidencia científica que demuestra que el uso de los agentes antimicrobianos es la principal causa del incremento en las tasas y perfiles de resistencia, pero también que existen estudios, aunque en menor cuantía, tratan de desvirtuar esta hipótesis.

La mayor parte de las evidencias sobre la relación entre uso de antimicrobianos y la presentación del fenómeno RAM aparece en la red de internet en forma de noticias, informes de casos y brotes, vigilancia a nivel de campo y laboratorio, estudios epidemiológicos de diversos tipos, recomendaciones e información de autoridades de salud pública e incluso modelos matemáticos. De ahí que estas evidencias tengan muy variados y diferentes resultados y conclusiones, por lo tanto, la relación entre el uso de antibióticos en la producción primaria de alimentos y la resistencia a los antimicrobianos no es fácil de aclarar, o al menos en los estudios a nivel clínico humano, no se reportan muchos casos que relacionen a los pacientes en el hospital que hayan sido infectados por cepas resistentes provenientes de su actividad laboral o entorno ecológico o al menos no se concluyen o relacionan con un entorno diferente al hospital. El problema en las personas del común acerca de los antimicrobianos lo refieren Wilson y otros (2018), como falta de educación antimicrobiana, malas prácticas medioambientales y deficiencias en el manejo de los ecosistemas, en particular los dedicados a producir alimentos para los seres humanos (149), y propone potenciar el conocimiento sobre la relación entre degradación de los ecosistemas y aumento de la resistencia antimicrobiana para favorecer el avance en la lucha contra este problema de salud.

A medida que pasa el tiempo, son mayores las publicaciones que surgen con temas y conceptos sobre el abordaje intersectorial de la RAM con énfasis en su control y se presentan revisiones como la realizada por Hernández, Merchán y Prada sobre el impacto del uso de antimicrobianos en medicina veterinaria, aunque sin énfasis en acuicultura (150); Revisiones y estudios sobre, como la

resistencia pudiera ser transmitida a cepas patógenas para los humanos de manera directa o indirecta a través de los animales destinados al consumo humano o por las personas bajo su manejo que han sido colonizadas, como por ejemplo, el realizado por Yeon Soo, Young Kyung, Yong Ho and Kun Taek (151). Igualmente, se encuentran estudios sobre como el cambio climático y los factores antropogénicos inciden en el aumento de cepas resistentes (152) como un problema de salud pública en este caso en Cuba.

En segundo lugar, al iniciar la discusión de los resultados muchas investigaciones reportan altas frecuencias de RAM en bacterias en el medio ambiente (153), el agua, lodos, ventas y comercio de pescados, ambientes naturales costeros o en actividades de acuicultura en el mar abierto (154) y pocos estudios relacionan los factores antrópicos en la producción primaria de alimentos de origen animal con la prevalencia de RAM en el ambiente médico. Esto trae como consecuencia que se dificulte la situación de la vigilancia epidemiológica de la RAM, porque su transmisión no es fundamentalmente directa entre las bacterias acuáticas a las patógenas de humanos en los servicios médicos y puede tener vehículos como la microbiota comensal de animales, entre los cuales están los peces para el consumo humano, con efectos indeseables sobre la piscicultura y la salud humana, no solo por la transferencia física, sino porque algunos antimicrobianos utilizados en peces, son médicamente importantes para el uso en humanos o porque aunque no se utilicen en humanos, pueden presentar resistencia cruzada (155)

En tercer lugar, mencionar que estudios similares en los que se refiere la utilización de antibióticos en el cultivo de peces como factor antrópico, se han realizado en diferentes partes del mundo, especialmente en regiones piscicultoras como el delta del río Mekong (Vietnam), donde los piscicultores gastan un 5% del costo de producción en antibióticos para tratamientos profilácticos y terapéuticos, tal como lo menciona el estudio de Sarter, NamKha y otros que evaluaron prácticas de acuicultura en *Pangasius* sp y la resistencia de las bacterias de los peces a los antibióticos (156). Esto denota la preocupación por investigaciones en sitios de ambientes naturales donde se explota la producción piscícola y en el presente se aborda el sitio de mayor producción acuícola Colombiano.

En cuanto a la utilización de antibióticos, no se encontraron referencias documentadas que permitan cuantificar el volumen aproximado de su uso por los piscicultores en Colombia. En el presente estudio, el 60% de los piscicultores expresaron haber utilizado antibióticos en su predio en algún momento, incluyendo la oxitetraciclina que no tiene autorización legal para su uso en Colombia, y un porcentaje menor equivalente al 50% expresaron haber utilizado desinfectantes. Esta cantidad de piscicultores es menor que por ejemplo, lo reportado por Guzmán

y Zambrano para otras especies productivas informaron que el 72% de los ganaderos de una zona lechera de Cundinamarca los utilizaron (157) y que el 72% reportan que usan antibióticos para tratar enfermedades; el 46% por recomendación, el 24% por experiencia exitosa. En el presente trabajo se encontró que el 48% de los piscicultores expresaron utilizar antibióticos por automedicación, el 7% imitaron otros piscicultores, el 10% fue convencido por un vendedor de insumos y el 24% acudieron a un médico veterinario para su formulación. Esto demuestra que es una práctica común y empírica, considerada por la OMS como parte del abuso que se hace de los antimicrobianos ya que pueden permanecer en el organismo del pez luego de ser administrados o transmitir la resistencia (158).

Los resultados obtenidos en este estudio indican también, que los piscicultores establecidos en el embalse de Betania no utilizan antibióticos como promotores de crecimiento en los peces y prefieren buscar asesoría con vendedores de insumos agropecuarios, quienes, salvo contadas excepciones, no se encuentran calificados ni están autorizados de acuerdo con las normas colombianas para prescribir antibióticos.

Con relación al conocimiento sobre administración de antibióticos fueron similares a los reportados en estudios realizados en otras especies y en especial se destaca en la problemática en discusión, la falta de registro del uso de antibióticos ya que solo el 4% de los piscicultores mantiene el registro de dosis y frecuencia de uso. Según los resultados obtenidos, el 76% de la población de estudio no tiene un conocimiento que les permita un correcto uso del antibiótico, desconocen el efecto sobre la proliferación de bacterias RAM ni su residualidad en los alimentos. En sus respuestas se observó que el 100% de los piscicultores expresan que su pescado es de alta calidad pero, no consideran la inocuidad o la salud pública como un atributo de la calidad de su producto. Solo el 2,7% de los entrevistados expresaron saber que la RAM es un problema que podría afectarlos, a ellos o a sus familias, pero desconocen, la forma como los afecta y no lo relacionan con lo que sucede en los centros médicos con bacterias resistentes. En este aspecto del estudio viene al caso lo expresado por Jorge Errecalde, quien expresa que la RAM es un problema de educación que enfrenta, al negocio de los antimicrobianos; con la producción animal que los necesitan y consecuentemente con el problema de las resistencias microbianas y su impacto en la salud pública donde se llega a un equilibrio solo con capacitación de los productores (159).

El análisis del uso de antibióticos expresado por los piscicultores, sugiere un inconformismo con su utilización y el 59% consideraron que su uso apenas algo les sirvió y el 14% que no les sirvió. Las publicaciones sobre un tema similar al presente, miden diferentes aspectos del conocimiento sin utilizar una herramienta

similar al presente, sin embargo, ponen de manifiesto el desconocimiento acerca del uso de antimicrobianos. La búsqueda de resultados obtenidos en estudios similares no encontró coincidencias o diferencias, pero en humanos, el estudio realizado en España por Muñoz, Flórez y Martínez (2015) afirma que el 46,8% de quienes consumen antibióticos no conocen algunos aspectos importantes de su tratamiento (160).

En cuarto lugar, este estudio constituye uno de los pocos estudios con la descripción taxonómica de la microbiota de híbridos rojos de tilapia y tilapia nilótica obtenida a partir de branquias y órganos internos de especímenes aparentemente sanos bajo condiciones de asepsia, con lo cual se trata de reflejar la calidad sanitaria del pez que llega a manos de los consumidores.

Todas las especies bacterianas encontradas en el presente estudio han sido reportadas en muchos artículos de carácter médico, sobre todo en personas inmunosuprimidos, niños y ancianos, además es basta la cantidad de artículos y estudios de caso que lo aseveran (58), (99), (161), (66), (92).

En el análisis microbiológico, se identificaron 20 especies de bacterias Gram negativas en las muestras de peces recolectadas de los jaulones como fueron: *Pseudomona aeruginosa*, *Pseudomona putida*, *Pseudomona fluorescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomona maltophila*, *Burkholderia cepacea*, *Escherichia coli*, *Ewingella americana*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter sakasaki*, *Serratia plymutica*, *Shigella dysenteriae*, *Proteus mirabilis*, *Plesiomona shigelloides* y *Aeromona hydrophila*. Estos resultados coinciden parcialmente con los estudios de Alcaraz Saucedo en México (2010) donde las especies con los mayores índices de prevalencia fueron *Plesiomonas shigelloides* (18.6%), *Pseudomonas aeruginosa* (14.3%) y *Aeromonas hydrophila* (10.2%) (162) y sobre la flora bacteriana facultativa en el cultivo de la tilapia en ambiente dulceacuícola en Cuba, por estudios realizados por Rodríguez y Prieto, quienes reportan para la flora bacteriana intestinal en tilapia mantenida en jaulas flotantes y en hígado y riñón de peces clínicamente sanos el predominio de especies como *Aeromonas hydrophila*, *Aeromona sobria*, *Aeromona caviae*, *Vibrio fluviales* y *Vibrio anguillarum*.

Dentro de la variada gama de géneros y especies de bacterias facultativas que forman parte de la microbiota de las tilapias, el presente trabajo coincide con el realizado por Lightner et al quienes reportaron bacterias en asociación con enfermedades de tilapias cultivadas en el Estado de Arizona, EE.UU., para ambiente dulceacuícolas que similar al presente coincide en las especies

Aeromonas hydrophila, *Plesiomonas shigelloides* y *Pseudomonas putrefaciens* (163) La presencia de bacterias en peces aparentemente sanos podría atribuirse a la alta densidad de peces, la baja calidad del agua, el aumento de la actividad humana, la baja recirculación del agua en el embalse y el alto contenido de materia orgánica (164)

Entre las bacterias identificadas en este estudio se encuentran algunas que se consideran patógenos en peces como la *Aeromona hydrophila*, que se ha aislado de pescados y mariscos tal como lo reportan Sánchez, JD y Delgado MP (2016) en la ciudad de Bogotá (165), además bacterias Gram negativas muy comunes en las aisladas con el 16% de las cepas y esto podría atribuirse a su naturaleza ubicua en el ambiente acuático, la similitud de los sistemas de producción y las especies de peces involucradas en el estudio.

Las infecciones y la colonización en humanos con *Pseudomona putida* se han informado de diversas fuentes; sin embargo, el estudio presentado aquí no tiene precedentes donde se evalúe la frecuencia de la colonización por *Pseudomona putida*, en una población de peces clínicamente sanos. La mayoría de las enfermedades bacterianas de la tilapia son causadas por bacterias que forman parte de su microbiota o del agua en el que habitan, por lo que se consideran patógenos facultativos u oportunistas (166) como lo expresan Rubio Limonta et al. Al examinar la susceptibilidad antimicrobiana para las cepas aisladas se determinó que las cepas obtenidas y evaluadas directamente de los órganos de tilapias aparentemente sanas, el 91% presentaron resistencia múltiple y el 6% resistencia sencilla a antibióticos y resultados similares fueron reportados por Esther Eyram Agoba, Francis Adu, Christian Agyare, Vivian Etsiapa Boamah and Yaw Duah Boakye en Ghana donde casi el 90% de los aislados bacterianos mostraron resistencia a 3 o más antibióticos (167). Respecto a la identificación y resistencia a antimicrobianos, encontrar en el 87% de las cepas de bacterias Gram negativas resistencia, demuestra gran variabilidad de estas cepas que contribuyen al pool ambiental de resistencia a antibióticos (164).

Se estableció el índice de resistencia múltiple, en el cual se demostró que el 47,7% de las 151 cepas de bacterias Gram negativas aisladas y caracterizadas presentaron coeficientes mayores a 0.2 (resistencia múltiple) y solo 29 menores de 0.2. Además, el índice MAR de los aislamientos osciló entre 0.10 y 0.79 lo que revela una fuente antibiótica expuesta de alto riesgo (156). En este estudio una especie de *Enterobacter cloacae* fue la que presentó mayor índice IMAR. Contrario a esto un índice menor fue encontrado por Parrado et al, pero en agua y sedimentos en 2 establecimientos piscícolas del departamento del Meta donde se identificaron 19 cepas bacterianas, que en este caso sí coinciden con lo encontrado en el presente estudio en las especies *Enterobacter cloacae*,

Pseudomonas fluorescens y *P. aeruginosa*, donde el mayor índice de multirresistencia lo presentó *Enterobacter cloacae* con 1.00 y 0.8 (164).

Por otro lado, la resistencia múltiple a los antimicrobianos ha sido descrita en bacterias de potencial patógeno para peces y el presente estudio el índice IMAR coincide con el reportado de 0.71 para bacterias de la familia Enterobacteriaceae con resistencia simultánea hasta seis antibióticos en aislados obtenidos de jundiás realizado por Jarbas Freitas Amarante, Lilian Kolling y otros (168)

Los hallazgos encontrados con respecto a *Aeromonas* y *P. shigelloides*, bacterias que pueden compartir determinantes de resistencia y que Usui, Tagaki, Fukuda y otros, la relacionan como un marcador efectivo para monitorear la resistencia a los antimicrobianos en ambientes acuáticos (169) sugiriendo además que las altas concentraciones de antimicrobianos en los ambientes acuáticos probablemente seleccionen ARG.

Los géneros *Aeromonas* y *Pseudomonas* encontrados en los peces en el presente estudio han sido reconocidos por la FAO (2008) como causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, por lo cual se merece que se preste la mayor atención al análisis de la problemática en la población humana.

En sitios fuera del contexto acuícola, por ejemplo en el caso de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes de la Clínica D.A.M.E en el Ecuador (170), algunos de sus resultados son coincidentes con el presente estudio, tal como se observa a continuación:

Tabla 13. Resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen humano y acuícola, 2017

Antibiótico	Estudio de Tarco Alvares	Presente estudio
Amikacina	35,0%	33,0%
Ciprofloxacina	21,0%	33,0%
Ceftazidima	37,4%	33,3%

Fuente: Tarco Alvares y resultados del presente estudio.

Otro ejemplo, se reporta en enterobacterias de infecciones urinarias en muestras de pacientes ambulatorios y hospitalizados, en el estudio realizado por Myrian

Leguizamón, Margarita Samudio y Gustavo Aguilar en Paraguay donde se evidenció que el patógeno más frecuente en las infecciones urinarias, es la *Escherichia coli*, que presentó una sensibilidad alta a fosfomicina (171), pero en el presente estudio solo fue del 33,3%, lo que indica que por lo menos en este caso, las cepas aisladas en pacientes de ese hospital son menos resistentes, pero que el problema de la RAM es generalizado en muchas partes.

10. CONCLUSIONES

Estudios como el que en este momento se concluye es una de las formas como se aborda el acompañamiento académico a la salud pública en general y a las autoridades responsables de ella en especial con la necesidad de un cambio en el comportamiento de quienes se encargan de la producción primaria de alimentos, quienes se encargan de la salud y quienes se encargan del manejo correcto del medio ambiente. A partir de esta premisa los autores destacan entre otras las siguientes conclusiones:

No se demostró con diferencias estadísticamente significativas la hipótesis propuesta de que los factores antrópicos realizados por los piscicultores al usar antimicrobianos influyen sobre el desarrollo y/o selección de bacterias RAM utilizando como modelo animal las tilapias cultivadas en el embalse de Betania y como prototipo evaluado, las bacterias gram negativas, aunque el OR de la relación de las dos variables fue 1.42, su intervalo de confianza estuvo entre 0.38 y 5.26. Esto puede ser debido alto nivel de bacterias resistentes a los antimicrobianos presentes en el ambiente acuático que actuaron como una variable corresponsable que no fue medida en el estudio.

Los resultados de este estudio revelan o ratifican la presencia de cepas de bacterias resistentes a antibióticos en los establecimientos acuícolas del embalse de Betania, que han colonizado los peces y que las 20 especies bacterianas aisladas están referidas como causantes de enfermedades en personas inmunosuprimidos.

Las tilapias analizadas contienen bacterias gram negativas que son portadoras de resistencia a los antibióticos, destacando una cepa multirresistente de *Enterobacter cloacae*, que al encontrarse en el pez muy fácilmente puede llegar al hogar de una familia o a una persona que no esté relacionada con la actividad acuícola.

El mayor perfil de resistencia a los antimicrobianos fue observado para Novobiocina (más del 98%) y en la oxitetraciclina, que fue el antibiótico mayormente reportado como utilizado por los piscicultores fue del (57,1%), mientras que la menor resistencia se observó para la Ceftazidima y la trimetoprim sulfametoxazol.

La presencia de cepas multirresistentes fue evidente en ambos tipos de tilapias y en todos los tamaños de los establecimientos acuícolas. Los factores que influyen sobre la RAM son multivariados, aunque de origen antropogénica, en muchos casos desconocidos por la población en general, que mantienen conductas indeseables que pueden favorecer su transmisión.

Aunque no se pudo establecer que la resistencia a los antimicrobianos proviene de factores antropogénicos de la piscicultura, se observó que la mayoría de ellos son de baja utilización en medicina veterinaria la resistencia adquirida no provendría de su uso en los peces.

Es evidente que la falta de conocimientos sobre antibióticos muestra un gran impacto sobre el uso de antimicrobianos. La oportunidad (OR) de usar antibióticos en los establecimientos piscícolas del embalse de Betania está dada por la presencia de piscicultores que no tienen conocimiento de los antibióticos, lo que se demuestra en que sin importar que sean o no profesionales universitarios, cultiven o no los dos tipos de tilapias en su establecimiento, que participen o no en eventos no formales de capacitación, realicen o no diagnóstico de enfermedades bacterianas o solo tengan nivel de escolaridad primaria tuvo un valor de 4.417278 con un LR chi2 igual a 40.67 con Prob > chi2 igual a 0.0000 (IC 95% entre 0.1327584 y 17.22026).

Finalmente, una conclusión tácita y que vale la pena mencionar es que “Una Salud” presenta beneficios para mejorar las acciones contra la RAM pero, debe incluirse la mejora de la investigación, la capacitación, la comunicación, la cooperación y establecer prioridades institucionales hacia su vigilancia y con marcos de incentivos para investigación, la educación y la financiación. La RAM podría ser una explicación a las diferencias o similitudes existentes entre humanos y animales y el impacto de los unos sobre los otros; sin embargo, quienes se deben ocupar de ello crearon y se mantienen apartados en compartimentos de la misma ciencia médica humana y veterinaria afectando el compartir experiencias y soluciones.

11. LIMITACIONES

Aunque se presentaron limitaciones en la investigación como el hecho de que algunos piscicultores han adquirido los títulos de otros establecimientos o son responsables de varios predios, se podría haber presentado un sesgo al repetirse la información suministrada por esta situación, sin embargo, la metodología de incluir como tamaño de muestra a todos los piscicultores permitió alcanzar los objetivos principales y el número de encuestas respondidas para conocer la percepción de factores antrópicos de la totalidad de los responsables de las piscícolas.

Es preciso mencionar que, si bien, la metodología permitió alcanzar los objetivos principales, posibilitando una explicación profunda y directa de la presencia de bacterias gram negativas con resistencia a los antimicrobianos, el análisis del entorno acuático precisaría un tratamiento complementario, al plantearse como una covariable que podría estar aportando de gran manera al aumento de la prevalencia de bacterias RAM en los peces cultivados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: WHO, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data; 2015 abril. Report No.: ISBN 978 92 4 156494 6.
2. Gould K. Antibiotics: from prehistory to the present day. *Journal of Antimicrobial Chemother.* 2016 febrero; 71(3).
3. Hao H, Sander P, Iqbal Z, Wang Y, Cheng G, Yuan Z. The Risk of Some Veterinary Antimicrobial Agents on Public Health Associated with Antimicrobial Resistance and their Molecular Basis. *Frontiers in Microbiology.* 2016 octubre; 7(1626).
4. OMS. Mejora de la prevención, el diagnóstico y la atención clínica de la septicemia. Informe de la secretaria. ; 2017.
5. OIE. Analisis del riesgo asociado a la resistencia de los agentes antimicrobianos como consecuencia de su uso en animales acuaticos. In OIE. Código Sanitario para los Animales Acuáticos. Paris: OIE; 2015. p. 1-7.
6. OMS. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Suiza;; 2001.
7. FAO. <http://www.fao.org>. [Online].; 2016 [cited 2017 Julio 20. Available from: <http://www.fao.org/zhc/detail-events/es/c/452719/>.
8. OMS. Resistencia a los antimicrobianos Nota descriptiva septiembre 2016. [Online].; 2016 [cited 2016 junio 20. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>.
9. Rocha Baquero CM. Buenas practicas en la produccion primaria de alimentos de origen animal. Primera ed. Surcolombiana U, editor. Neiva: Universidad Surcolombiana; 2017.
10. CDC. antibiotic resistance Threats in the United States, 2013. USA;; 2013.
11. Center for Disease Dynamics, Economics & Policy. The state of the world's antibiotics 2015. Washington DC, New Delhy;; 2015.
12. Sanches Bruni SF. Caracterizacion y control de la resistencia antibacteriana: un desafio interdisciplinario integrado. *Ciencia e investigacion.* 2015;; p. 17-

- 20.
13. OMS. www.who.int/. [Online].; 2006 [cited 2016 03 06. Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwg/gdwq3_es_full_lowresres.pdf?ua=1.
 14. Acevedo Barrios RL, Severiche Sierra CA, Jaimes Morales JdC. Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Produccion + Limpia*. 2015 Julio-diciembre; 10(2): p. 160-172.
 15. FAO. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. FAO ed. FAO , editor. Roma: FAO; 2016.
 16. Martinez Silva P. Variación espacio-temporal de microalgas acuáticas del embalse de Betania – Huila y su relación con la calidad del agua. *Revista Intropica*. 2015 enero-diciembre; 10(ISSN 1794-161X): p. Vol. 10: 11 - 19.
 17. Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassi D. Tackling antibiotic resistance: The environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*. 2015 marzo; 13(5): p. 310-317.
 18. FAO. [www.fao.org](http://www.fao.org/news/story/es/item/382676/icode/). [Online].; 2016 [cited 2017 marzo 15. Available from: <http://www.fao.org/news/story/es/item/382676/icode/>.
 19. OMS. http://www.who.int. [Online].; 2016 [cited 2017 enero 9. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>.
 20. MADR-SIOC. *Cadena Nacional de Acuicultura*. Presentacion ppt. Bogota: Ministerio de agricultura y desarrollo rural, Cadena nacional de acuicultura; 2016.
 21. FEDEACUA. *Produccion de la acuicultura Colombiana 2004 - 2014*. Electronico. Bogota: FEDEACUA, Estadísticas; 2015.
 22. INCODER. *Plan de Ordenamiento de la pesca y la acuicultura en el embalse de Betania* Bogota: Imprenta Nacional; 2005.
 23. Puentes V, Escobar F, Polo C, Alonso J, (Eds). *Estado de los principales recursos pesqueros de Colombia 2014*. Bogota: Serie Recursos Pesqueros de Colombia –; 2014.
 24. Rocha Baquero M. *Informe de actividades del proyecto acuicola del*

- departamento del Huila. Informe de actividades. Neiva: ICA, Huila; 2016.
25. Parrado Sanabria YA. Historia de la Acuicultura en Colombia. Revista AquaTIC. 2012;(37).
 26. Fajardo SS, Duarte LO, Cuello F. Producción acuícola en los dos sitios piloto monitoreados por el SEPEC durante el año 2015: Hobo (Huila) y Silvia (Cauca). Informe de contrato. Bogota: Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), SEPEC; 2015.
 27. Rocha Baquero CM. La acuicultura en el departamento del Huila. Anual. Neiva: ICA, Huila; 2015. Report No.: Sin publicar.
 28. USDA. <http://www.ers.usda.gov/>. [Online].; 2016 [cited 2017 mayo 12. Available from: <http://www.ers.usda.gov/data-products/aquaculture-data.aspx#28153>.
 29. Hernández-Barraza CA, Trejo-Martínez AB, Loredó-Ostí J, Gutiérrez-Salazar G. Evaluación de la eficiencia productiva de tres líneas de tilapia con reversión sexual en un sistema de recirculación (RAS). Latin American Journal of Aquatic Research. 2016; 44(4): p. 869-874.
 30. Castillo Campo LF. <https://cals.arizona.edu>. [Online].; 2006 [cited 2016 Diciembre 18. Available from: <https://cals.arizona.edu/azaqua/ista/Colombia/TILAPIAROJA2006.pdf>.
 31. Mateos P. <http://www.sld.cu/>. [Online].; 2016. Available from: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a3-agentes-antimicrobianos-y-microorganismos.pdf>.
 32. Villanueva Meyer M. Alexander Fleming: Pionero en el uso de la penicilina. Revista Galenus. 2015;(47): p. 68-69.
 33. CDC. <http://www.cdc.gov/>. [Online].; 2015 [cited 2016 septiembre 19. Available from: <http://www.cdc.gov/getsmart/community/sp/about/antibiotic-resistance-faqs.html>.
 34. Quizhpe Peralta A, Encalada Torres L, Sacoto Molina AM, Andrade Rodas D, Muñoz Ortiz G. Uso apropiado de antibioticos y resistencia antibacteriana P. AQ, editor. Cuenca-Ecuador: ReAct Latinoamérica; 2014.
 35. WHO. <http://www.euro.who.int>. [Online]. Copenhagen: WHO Library Cataloguing in Publication Data; 2011 [cited 2016 octubre 30. Available from:

http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0005/136454/e94889.pdf?ua=1.

36. OMS. <http://www.who.int>. [Online].; 2016 [cited 2017 Febrero 14 [Nota descriptiva]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>.
37. Seija V, Vignoli R. Principales grupos de antibióticos. In Higiene FdMUdIRDdByVld. Temas de Bacteriología y Virología Médica. Montevideo: Oficina del libro FEFMUR; 2006. p. 631-647.
38. Sáenz Anduaga E, Sánchez Saldaña L. Antibioticos tópicos. Educacion médica continua. Dermatología Peruana. 2005; 15(1): p. 7-19.
39. Errecalde JO. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Estudio. FAO ed. FAO , editor. Roma: FAO; 2004.
40. Ronquillo MG, Hernandez JCA. Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: Review of impact and analytical methods. Food Control. 2017 febrero; 72 Parte B: p. 255-267.
41. Kirsty Brown RREUMLKSPJB. Antimicrobial growth promoter use in livestock: a requirement to understand their modes of action to develop effective alternatives. International Journal of Antimicrobial Agents. 2017; 49.
42. Acevedo R, Severiche C, Castillo M. Biología y Microbiología Ambiental. Practicas de Laboratorio Cartagena de Indias: Eumed.Ned; 2013.
43. François Lebreton ALMJTSTJSAME. Tracing the Enterococci from Paleozoic Origins to the Hospital. Cell. 2017 mayo; 169(5).
44. WHO. Informe de la OMS. OMS. 2014.
45. McEachran A, Blackwell B, Hanson D, Wooten K, Mayer G, Stephen Cox , et al. Antibiotics, Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes: Aerial Transport from Cattle Feed Yards via Particulate Matter. Environmental Health Perspectives (Online). 2015 April; 123(4): p. 337-345.
46. Calderon Rojas G, Aguilar Ullate L. Resistencia antimicrobiana: Microorganismos mas resistentes y antibioticos con menor actividad. Revista medica de Costa Rica y centroamerica LXXIII (621) 757 - 763, 2016. 2016 septiembre; 73(621).

47. OMS. Centro de prensa. Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva. Ginebra;; 2016.
48. Fleming A. On the bacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British Journal of experimental Pathology*. 1929 mayo; 10(3).
49. Poncedel León-Rosales S, Arredondo-Hernández R, López-Vidal Y. La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global. *Gaceta Medica de Mexico*. 2015;; p. 151:681-9.
50. Pérez-Cano HJ, Robles-Contreras. A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica MD*. 2013;; p. 187-191.
51. Vignoli R, Seija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. In *Higiene Id. Temas de Bacteriología y virología Medica*. Capítulo 35. Montevideo: Instituto de Higiene; 2006. p. 649-662.
52. Sussmann O, Mattos L, Restrepo A. <http://med.javeriana.edu.co>. [Online]. Bogota; 2016 [cited 2017 enero 6. Available from: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF>.
53. FAO. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. FAO PRODUCCIÓN Y SANIDAD ANIMAL ed. Errecalde JO, editor. Roma: FAO; 2004.
54. Di Conza JA, Power P, Gutkind GO. Intercambio de mecanismos de resistencia entre bacterias gram negativas. *Revista Farmacéutica Reviews*. 2013 diciembre; 155 (1-2).
55. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiología Médica* 6a. edición Barcelona: Elsevier Mosby - grafos sa; 2009.
56. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *nature Medicine Supplement*. 2004 diciembre; 10(12).
57. Mayer G. Exchange of genetic information. University of South Carolina School of Medicine Columbia South Carolina. Carolina del Sur; 2016.
58. Pérez-Cano H, Robles-Contreras. A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Medica MD*. 2013;; p. 187-191.

59. Abarca G, Herrera ML. Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*. 2001 Enero; 36(1-2).
60. Cabrera C, Gomez R, Zuñiga A. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Medica*. 2007 Abril-Junio; 38(2): p. 149-158.
61. Cabrera C, Gomez R, Zuñiga A. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Medica*. 2007;; p. 149-158.
62. Payot S, Bolla J, Corcoran D, Fanning S, F FM, Zhang P. Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Los microbios y la Infeccion*. Instituto Pasteur. Revision. 2006;; p. 1967-1971.
63. Paciel D, Seija V, Prieto J, Vignoli R, Medina J, Savio E. Enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa). *Revista Tendencias*. 2011.
64. Sader H. Resistencia antimicrobiana en Latinoamérica. ¿Como estamos? *Revista Chilena de Infectologia*. 2002;; p. Vol 19, S5-S13.
65. Universidad Central del Ecuador. <https://geneticabacterianauece.wikispaces.com>. [Online].; 2016. Available from: <https://geneticabacterianauece.wikispaces.com/GRUPO+B4>.
66. WHO. Resistencia a los antimicrobianos: el drama del abuso. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud*. 2010 noviembre; 88:2010(Recopilacion de articulos): p. 805-806.
67. Ahmad A, Hamid R, Dada C. *Pseudomonas putida* Strain FStm2 Isolated from Shark Skin: A Potential Source of Bacteriocin. *Probiotics & Antimicro*. 2013;; p. 165–175.
68. Acevedo Barrios RL, Severiche Sierra CA, Jaimes Morales JDC. Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Producción + Limpia*. 2015;; p. 160-171.
69. Baquero F, Alvares Ortega C, Martinez J. Ecology and evolution of antibiotic resistance. *Environmental Microbiologic Report*. 2009 diciembre; 1(6): p. 469-476.

70. Graham DW, Olivares-Rieumont S, Knapp CW, Lima L, Werner D, Bowen E. Antibiotic Resistance Gene Abundances Associated with Waste Discharges to the Almendares River near Havana, Cuba. *Environment Science Technologic*. 2011;; p. 418-424.
71. Williams-Nguyen J, Sallach JB, Bartelt-Hunt S, Boxall A, Durso LM, McLain JE, et al. Antibiotics and Antibiotic Resistance in Agroecosystems: State of the Science. *Journal of Environmental Quality*. Volumen 45. 2016;; p. 394-406.
72. Paterson D. The Epidemiological Profile of Infections with Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* Species. *CID Oxford Journals Medicina y salud Clinical Infectious Diseases* (Volumen 43 , Número 2 Suplemento). 2016;; p. S43-S48.
73. WHO. Antimicrobial resistance: a global threat. *Essential Drugs Monitor*. 2000;; p. 7-19.
74. IDSA. Combating Antimicrobial Resistance: Policy Recommendations to Save Lives. *Oxford Journals*. 2011 mayo; 52(5): p. 52 (Suppl 5): S397-S428.
75. Magiorakos A, Srinivasan R, Carey Y, Carmeli M, Falagas C, Giske S, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012 mayo; 18(3).
76. PeterSmith , P.Hiney M, BentSamuelsen O. Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: A critical evaluation of method and meaning. *Annual Review of Fish Diseases*. 1994; 4.
77. Muziasari WI, Pärnänen K, Johnson TA, Lyra C, Karkman A, Stedtfeld RD, et al. Aquaculture changes the profile of antibiotic resistance and mobile genetic element associated genes in Baltic Sea sediments. *FEMS Microbiology Ecology*. 2016 Marzo; 92(4).
78. Yin-Mo W, Chen Z, Man-Leung H, Wah-Leung AO. Application of veterinary antibiotics in China's aquaculture industry and their potential human health risks. *Eco-Aquaculture, Sustainable Development And Public Health*. 2015;; p. 1-12.
79. Huang Y, Zhang L, Wang HH. Identification of a New Tetracycline Resistance Determinant tet47 from Fish Intestine. *Journal of Food Protection*. 2015;; p. 1428-1617.

80. Ruixin L, Linhai W, Lijie S, Chunxian H. Research on Risk Perception and the Influence Factors Analysis of Freshwater Edible Fish. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 2015;; p. 562 - 568.
81. Xiuting É, Deng M, Qi W, Yang Y, Yufeng Y, Nie X. Residues and health risk assessment of quinolones and sulfonamides in cultured fish from Pearl River Delta, China. *ChinaAquaculture* volumen 458. 2016;; p. 38-46.
82. Zhao JL, Liu US, Rong-Liu W, Jiang YX, Su HC, Qian-Zhang Q, et al. Tissue-specific bioaccumulation of human and veterinary antibiotics in bile, plasma, liver and muscle tissues of wild fish from a highly urbanized region. *Environmental Pollution*. Volumen 198. 2015 ;; p. 15-24.
83. Radu S, Noorlis A, Ling FH, Reezal A. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*. 2003;; p. 261-266.
84. Hecho HY, Halden RU. Reconnaissance of 47 antibiotics and associated microbial risks in seafood sold in the United States. *Journal of Hazardous Materials* Volume 282. 2015;; p. 10-17.
85. Johnson JD. Detection and confirmation of veterinary drug residues Louisiana: Louisiana State University, 2012; 2014.
86. Soto Varela Z, Estrada Alvarado D, Perez Lavalle L. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos:una mirada en colombia. *Salud Uninorte*. 2016 enero; 32(1): p. 105-122.
87. Prevalia Magazine. <http://magazine.previsorabilbaina.com/>. [Online].; 2015 [cited 2016 Octubre 18. Available from: <http://magazine.previsorabilbaina.com/vida-sana/resistencia-a-los-antibioticos-su-mal-uso-en-la-ganaderia-nos-hace-mas-vulnerables-a-virus-y-bacterias/>.
88. OIE. Informe anual de la OIE sobre el uso de agentes antimicrobianos en animales. escala mundial de los datos relativos al uso de los agentes antimicrobianos en los animales, bajo la forma del Tema técnico 2 y la adopción de la Resolución No. 36. Paris: OIE, Asamblea Mundial de Delegados; 2016. Report No.: sin.
89. Ramón-Pardo P. <https://www.aemps.gob.es/>. [Online]. Madrid: WHO; 2016 [cited 2017 febrero 16. Available from: <https://www.aemps.gob.es/en/laAEMPS/eventos/AEMPS/2016/J-dia->

europeo-uso-prudente-antibioticos-2016.htm.

90. Consejo General de Colegios oficiales de Farmaceuticos. Evolucion de la resistencia bacteriana. Punto Farmacologico. 2014;; p. 1-18.
91. Rasha-M EB, Heba A, Maysa-Al A, Rasha M, Abeer AEG, Mahmoud-A A. Occurrence, Virulence Factors, Antimicrobial Resistance, and Genotyping of Staphylococcus aureus Strains Isolated from Chicken Products and Humans. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2016;; p. 157-164.
92. Hormeño Garcia L. <http://dehesa.unex.es>. [Online].; 2016. Available from: <http://dehesa.unex.es/handle/10662/3925>.
93. Fuentes M, Valladares J, Grass G, Pico Y. Microbiota de interés para la salud pública de Oreochromis spp. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras. 2011 Julio-diciembre; 28(2).
94. Li X, Ringo E, Hossein-Hoseinifar S, Lauzon H, Birkbeck H, Yang D. The adherence and colonization of microorganisms in fish gastrointestinal tract. Reviews in aquaculture. 2018 marzo; Reviews in Aquaculture, 1–16(1-16).
95. INS. Perfil de riesgo Salmonella spp. (no tifoideas) en pollo entero y en piezas Colombia INd, editor. Bogota D.C.: Imprenta Nacional de Colombia; 2011.
96. Coloe PJ, Hao Van TT, Kha Nguyen HN, Smooker PM. The antibiotic resistance characteristics of non-typhoidal Salmonella enterica isolated from food-producing animals, retail meat and humans in South East Asia. International Journal of Food Microbiology. 2012;; p. (154) 98–106.
97. Afema AJ. Salmonella and Antimicrobial Resistance in humans, Livestock and Wild Birds. Washington;; 2015.
98. Popoff M, Veron M. A Taxonomic Study of the Aeromonas hydrophila-Aeromonas punctata Group. Journal of General Microbiology. 1976;; p. 11-22.
99. Sánchez-C J, Delgado-P M. Aislamiento e identificación de Aeromonas spp. β -hemolíticas y Vibrio spp. potencialmente virulentos, en pescados y mariscos comercializados en Bogota, Colombia. Revista Alimentos Hoy. 2016; 24(39): p. 40-72.
100. Alaa AEDO, Moustafa M E, Zayed MM. Identification and Characterization of

Virulence-Associated Genes from Pathogenic *Aeromonas Hydrophila* Strains. *World's Veterinary Journal*. 2016 Diciembre 25; 6(4): p. 185-192.

101. OPS. Bacteriosis y Micosis. In Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington, DC: OPS-OMS; 2001. p. 7-14.
102. OMS. <http://www.who.int/>. [Online].; 2016. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>.
103. Varela Y, Millán B, Araque M. Diversidad genética de cepas extraintestinales de *Escherichia coli* productoras de las betalactamasas TEM, SHV y CTX-M asociadas a la atención en salud. *Biomédica*. 2017;; p. 209-217.
104. FoodSafety. [foodsafety.gov](https://espanol.foodsafety.gov/intoxicaci%C3%B3n/cause/bacteriasvirus/coli/2g59/). [Online].; 2017. Available from: <https://espanol.foodsafety.gov/intoxicaci%C3%B3n/cause/bacteriasvirus/coli/2g59/>.
105. Adenaike O, Olonitola OS, Ameh JB, Whong CMZ. Multidrug Resistance and Multiple Antibiotic Resistance Index of *Escherichia coli* Strains Isolated from Retailed Smoked Fish. *Journal of Natural Sciences Research*. 2016;; p. 7-10.
106. Boss R, Overesch G, Baumgartner A. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*, Enterococci, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* from Raw Fish and Seafood Imported into Switzerland. *Journal of Food Protection*. 2016;; p. 1240–1246.
107. Falcón N, Ortega C, Gorniak S, Villamil L, Ríos C, Simón M. El problema de la resistencia a antibióticos en salud pública. *Revista Sapuvet de Salud Pública*. 2010 Enero-junio;(1).
108. WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva, Switzerland;; 2014.
109. Phillips I, Casewell M, Cox T, De-Groot B, Friis C, Jones R. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004 December 4; 53(1): p. 28–52.
110. OMS. <http://www.who.int/drugresistance/surveillance/es/>. [Online].; 2016. Available from: <http://www.who.int/drugresistance/surveillance/es/>.
111. Acar J, Moulin G. Integrating animal health surveillance and food safety: the

- issue of antimicrobial resistance. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2013. 2013;: p. 383-392.
112. Chang Q, Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M, Hanage W. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evolutionary Applications*. Volume 8. 2015;: p. 240–247.
 113. Davis MF, Price LB, Silbergeld EK, Meng Hsing Liu C. An ecological perspective on U.S. industrial poultry production: the role of anthropogenic ecosystems on the emergence of drug-resistant bacteria from agricultural environments. *ScienceDirect*. 2011 junio 1; 14(3): p. 14:244–250.
 114. Hecho H, Venkatesan A. Does the Recent Growth of Aquaculture Create Antibiotic Resistance Threats Different from those Associated with Land Animal Production in Agriculture? *The AAPS Journal*. 2015;: p. 513-524.
 115. Novais C, Freitas A, Silveira E, Antunes P, Silva R, Coque T, et al. Spread of multidrug-resistant *Enterococcus* to animals and humans: an underestimated role for the pig farm environment. *Oxford Journals Medicine & Health Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Volume 68. 2013;: p. 2746-2754.
 116. DANMAP. DANMAP 2015 - Use of antimicrobial agents and occurrence. Copenhagen;: 2016.
 117. DANMAP. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Official. Copenhagen: Danish Veterinary Institute, the Danish Veterinary and Food Administration, the Danish Medicines Agency and Statens Serum Institut.; 2002. Report No.: ISSN 1600-2032.
 118. Varma J, Marcus R, Stenzel S, Hanna S, Gettner S, Anderson B, et al. Highly Resistant *Salmonella* Newport-MDRampC Transmitted through the Domestic US Food Supply: A FoodNet Case-Control Study of Sporadic *Salmonella* Newport Infections, 2002–2003. *The Journal of Infectious Diseases*. 2006;: p. 222-230.
 119. Baynes RE, Dedonder K, Kissell L, Mzyk D, Marmulak T, Smith G, et al. Health concerns and management of select veterinary drug residues. *Food and Chemical Toxicology*. 2016;: p. 112-122.
 120. Köck R, Werner P, Friedrich A, Fegeler C, Becker K. Persistence of nasal colonization with human pathogenic bacteria and associated antimicrobial resistance in the German general population. *New Microbes and New*

- Infections. 2016;; p. 24-34.
121. Gaona deHernandez A. Portadores de Staphylococcus aureus como factor de riesgo en la infección intrahospitalaria. Editorial. Revista Ciencias de la Salud. 2016;; p. 5-7.
 122. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. In Gomez JRT. Temas de bacteriología y virología médica. Montevideo: Oficina del libro FEFMUR Universidad de la Republica, Facultad de medicina; 2006. p. 664-671.
 123. OIE. Manual de la OIE sobre animales terrestres. In OIE. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Paris: OIE; 2008. p. 1-11.
 124. Valgas C, Machado-de-Souza S, Smânia E, Smânia A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. Brazilian Journal of Microbiology. 2007;; p. 369-380.
 125. Ramirez LS, Marin-Castaño D. Methodologies for evaluating the In vitro antibacterial. Scientia et Technica. 2009 Agosto; Año XV(42): p. 263-268.
 126. Hervè B. New technologies in microbiology: Automatización and some applications in microbial identification and susceptibility tests. Revista de medicina clínica CONDES. 2015;; p. 26(6) 753-763.
 127. OMS. Metodos basicos de laboratorio en bacteriología clínica. 1993rd ed. OMS , editor. Ginebra: OMS; 1993.
 128. Cavalieri S, Harbeck R, McCarter Y, Ortez J, Rankin I, Sautter R, et al. <http://www.paho.org/>. [Online].; 2005 [cited 2016 junio 12. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22691&Itemid=270.
 129. Malbran C. antimicrobianos.com.ar. [Online].; 2012 [cited 2018 mayo 29. Available from: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/02-METODO DE DETERMINACION DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR DIFUSION 2012.pdf>.
 130. GREBO. <http://www.saludcapital.gov.co/>. [Online].; 2011. Available from: http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/SiteCollectionDocuments/Manual_Resistencia_SDS_2010.pdf.

131. UNEP. Resumen del estado de los conocimientos: Vinculos entre prioridades mundiales: Diversidad biologica y salud humana. Montreal; 2015.
132. Charron DF. La investigación de ecosalud en la práctica México, D. F.: Plaza y Valdés, S. A. de C. V.; 2014.
133. Blanco Becerra L, Pinzon Flores C, Idrovo A. Estudios ecológicos en salud ambiental: más allá de la epidemiología. Biomédica. 2015 Julio; 35: p. 35(Supl.2):191-206.
134. One Health Initiative. <http://www.onehealthinitiative.com>. [Online].; 2017 [cited 2017 mayo 30. Available from: <http://www.onehealthinitiative.com/about.php>.
135. OIE. Estrategia de la OIE sobre la resistencia a los agentes antimicrobianos y su uso prudente. Unica ed. OIE , editor. Pris: OIE; 2016.
136. Diez Roux AV. La necesidad de un enfoque multinivel en epidemiología. Región y sociedad. 2008 enero ; 20(2).
137. Setia SM. Metodología módulo serie 7: Los estudios ecológicos y experimentos naturales. Indian Journal of Dermatology. 2017;; p. 62: 25-8.
138. Galindo-buitrago JI. Evaluacion del impcto de las estrategias de promocion, prevencion y control de la malaria Nariño - Colombia, 2003 - 2012 - Tesis de maestria. 2014 julio..
139. Borja-Aburto VH. Estudios ecológicos. salud pública de méxico. vol.42, no.6. 2000;; p. 534-538.
140. Villa A, Moreno L, Garcia G. Epidemiologia y estadistica en salud publica Mexico: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.; 2012.
141. Londoño JL. Metodología de la investigación epidemiológica. Cuarta ed. Gutierrez AJ, editor. Bogotá: El Manual Moderno; 2010.
142. INVIMA. <https://www.invima.gov.co/>. [Online]. Bogota: Invima; 2016. Available from: https://www.invima.gov.co/images/pdf/inspeccion_y_vigilancia/direccion-alimentos/subsectoriales/Documento-tecnico-Acuicultura-2016.pdf.
143. Aguilar-Barojas S. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones

de salud. Salud en Tabasco. 2005;: p. vol. 11, núm. 1-2, pp. 333-338.

144. Bustamante G. Aproximación al muestreo estadístico en investigaciones científicas. Revista de Actualización Clínica Investiga. 2011 Julio; 10.
145. Fagundo-Sierra R, Cerros-Santos M, Pérez-Jáuregui J. www.medigraphic.com. [Online].; 2008. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq-2008/bq083b.pdf>.
146. Kruperman P. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of Escherichia coli to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. Applied and environmental microbiology. 1983 julio; 46(1 p. 165-170).
147. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator R. Acinetobacter baumannii An emerging opportunistic pathogen. Virulence. 2012 Mayo-June 2012; 3(3).
148. Jain S, Shamma Arora RS, Kaur IR. Serratia plymuthica: A community-acquired uropathogen. Indian Journal of medical sciences. 2017 junio; 69(1).
149. Ingeborg Lederer 1 KT1,FA1,SF, Spina A, Springer B, Schmid D. Shigellosis in refugees, Austria, July to November 2015. Euro Surveill. 2015 Diciembre; 20(48).
150. Wilson F, Bailly H, Utria M, Lismay DiazMolina OR. La relación degradación en los ecosistemas - aumento de la resistencia antimicrobiana como problema de salud. Revista Informacion Cientifica. 2018 May-Jun; 97(3).
151. Hernández-Barrera J, Angarita-Merchán M, Prada-Quiroga CF. Impacto del uso de antimicrobianos en medicina Veterinaria. Revista Ciencia y Agricultura. 2017 Julio-diciembre; 14(2).
152. Soo Y, Kyung Y, Ho Y, Taek K. Probable secondary transmission of antimicrobial-resistant Escherichia coli between people living with and without pets. Journal of Veterinary Medical Science. 2017 febrero; 79(3).
153. Wilson F, Bailly H, Utria M, Diaz L, Reye O. La relación degradación en los ecosistemas - aumento de la resistencia antimicrobiana como problema de salud. Revista informacion cientifica. 2018 mayo junio; 97(3).
154. Soumia B, Abdelaziz T, Catherine DR, Albert S, Alix P, Jean-Philippe L. Alta prevalencia de entero bacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en peces silvestres del mar mediterraneo. Epidemiologia. 2018

abril; 24(3).

155. Cabello F, Godfrey H, Tomova A, Ivanova L, Dölz H, Millanao A, et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environmental Microbiology*. 2013 Febrero.
156. PenadaCosta A, FreitasdoNascimento J, DaSilva A. Perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* aislados de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada em feira pública. *PubVet*. 2018 mayo; 12(5).
157. Sarter S, Kha-Nguyen HN, Hung LT, Lazard J, Montet D. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control*. 2007 November ; Volume 18(11 Pp 1391-1396).
158. Guzmán I, Zambrano J. Conocimientos del uso de antibióticos en prácticas ganaderas por pequeños y medianos productores de los municipios de Arbeláez, Fusagasugá, Pasca y Silvania. Tesis de grado. Fusagasuga: Universidad de Cundinamarca, Cundinamarca; 2017.
159. Quiñones D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud". *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2017 diciembre; 69(3).
160. Migliorati M. "Sin animales sanos, la salud del hombre no es posible. Actualidad en I+D. 2017 abril; 43(1).
161. Muñoz E, FloresDorado M, Martínez F. Grado de conocimiento del antibiótico prescrito en pacientes ambulatorios. *Atencion primaria*. 2015 agosto; 47(4).
162. Afema Azikuru J. *Salmonella and Antimicrobial Resistance in humans, Livestock and Wild Birds*. Washington; 2015.
163. Saucedo JA. Caracterización e identificación fenotípica, molecular y patogénica de bacterias aisladas de tilapias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas en Sinaloa. Tesis. Sinaloa: CENTRO DE INVESTIGACION EN ALIMENTACION Y DESARROLLO A.C., Sinaloa; 2010.
164. Ligthner D, Redman R, Mohny L, Dickenson G. *agris.fao.org*. [Online].; 1988 [cited 2018 marzo 15. Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH8912326>.

165. Parrado M, Salas M, Hernández-Arévalo G, Ortega P, Yossa M. Variedad bacteriana en cultivos piscícolas y su resistencia a antibacterianos. Orinoquia. 2014 diciembre; 18(1).
166. JS, Delgado M. Aislamiento e identificación de *Aeromonas* spp. β -hemolíticas y *Vibrio* spp. potencialmente virulentos, en pescados y mariscos comercializados en Bogotá, Colombia. Alimentos Hoy. 2016 diciembre; Vol 24(39).
167. Rubio M, Cabrera A, Silveira R, Soto YA. Suplementación Variabilidad bacteriana en *Oreochromis* sp durante las estaciones de lluvia y seca, cultivadas en ambiente dulceacuícola en diferentes regiones de Cuba. Red Vet. 2010 julio; 11(7).
168. Agoba E, Adu F, Christian Agyare VB, Boakye YD. Antibiotic resistance patterns of bacterial isolates from hatcheries and selected fish farms in the Ashanti region of Ghana. Journal of Microbiology and Antimicrobials. 2017 Agosto; Vol. 9(4).
169. Amarante JF, Kolling L, Ferronato A, Vargas AC, Costa MM, Amarante TB. Resistencia aos antimicrobianos de bactérias obtidas de carpas (*Cyprinus carpio*) cultivadas em sistema semi-intensivo. Ciencia animal brasileira. 2018 enero; 19(1).
170. Usui M, Tagaki C, Fukuda A, Okubo T, Boonla C, Suzuk S, et al. Use of *Aeromonas* spp. as General Indicators of Antimicrobial Susceptibility among Bacteria in Aquatic Environments in Thailand. Frontiers in Microbiology. 2016 mayo; 7(67).
171. Álvarez NT. Resistencia antimicrobiana de *pseudomonas aeruginosa* aislada en pacientes de la Clínica D.A.M.E. en el periodo agosto 2013-agosto 2014. Tesis de grado. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2014.
172. Leguizamón M, Samudio M, Aguilar G. Sensibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en infecciones urinarias de pacientes ambulatorios y hospitalizados del Hospital Central del IPS. Memoria del Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud.. 2017 noviembre; 15(3).

ANEXOS

Anexo A. Consentimiento informado para participar en el estudio

Perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Streptococcus agalactiae* y *Aeromonas hydrophila* en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja (*Oreochromis sp*) cultivadas en el embalse de Betania

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Carlos Mario Rocha Baquero
SITIO DEL ESTUDIO: Embalse de Betania
ESTABLECIMIENTO PISCÍCOLA:

Respetado señor piscicultor: Al predio bajo su responsabilidad se le está invitando a participar en el estudio de investigación científica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez haya comprendido el estudio y si es su voluntad, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. Objetivo del estudio: Determinar los perfiles de resistencia antibacteriana de las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Streptococcus spp* y *Aeromonas* presentes en jaulones de establecimientos acuícolas cultivados con tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja (*Oreochromis sp*) en el embalse de Betania.
2. Justificación del estudio: La Organización Mundial de la Salud- OMS, ha expresado que la resistencia bacteriana a los antimicrobianos se considera un problema grave, complejo y de dimensión internacional que requiere un sistema global de vigilancia. La vigilancia es la estrategia fundamental propuesta para contener y controlar la Resistencia a los antimicrobianos ya que provee información sobre su magnitud, tendencias y monitoreo para la toma de decisiones.
3. Beneficios del estudio: El proyecto ofrece a los piscicultores, a la comunidad y a las autoridades de salud pública y científicas el conocimiento del perfil de resistencia a los antimicrobianos de cuatro especies bacterianas presentes en peces de cultivo en el embalse de Betania, principal sitio de producción acuícola Colombiana, dos de las cuales revisten cabal importancia directa en la salud humana y los otros dos en la salud de los peces como especies de cultivo. El conocimiento de este perfil es requerido para formular planes de acción y diseñar el marco de inspección, vigilancia y control que proponga estrategias efectivas para combatir la resistencia a los antimicrobianos de la mayor fuente de la

producción de carne de pescado Colombiana en aras de promover el conocimiento integral del cultivo de peces en Betania.

4. Procedimientos del estudio: Se realizara un muestreo en los jaulones con tilapias plateadas o rojas en los establecimientos acuícolas que se seleccionen al azar. Debido a que los peces internamente en el jaulón son homogéneos y que es probable que sean diferentes entre jaulones y establecimientos, se establecerá una distribución proporcional al tamaño del predio, que va de mínimo 1 hasta máximo de 6 jaulones muestreados por especie de donde se obtendrán aleatoriamente 5 peces de cada jaulón seleccionado. La variable que se determinara es la presencia y medición de la RAM en las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Streptococo agalactiae* y *Aeromona hydrophila* en los peces muestreados. El tamaño de la muestra corresponderá a 66 jaulones de tilapia roja y 34 de tilapia plateada. Los resultados no corresponderán a cada predio y a cada jaulón si no al embalse de Betania en general
5. Riesgos asociados al estudio: Considerando que esta investigación empleara técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y en el que no se realizara ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, sicológicas o sociales de personas, no se identificara individualmente al establecimiento, ni se trataran aspectos sensitivos de su conducta, de acuerdo con artículo 11 de la resolución 008430 del 4 de 1993 esta investigación se clasifican en la categoría de Investigación sin riesgo.
6. Aclaraciones: La decisión de que su establecimiento participe en el estudio es completamente voluntaria. No habrá ninguna consecuencia desfavorable para su establecimiento, en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad. No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio. No recibirá pago por su participación. En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable. La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación del predio, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Si tiene alguna pregunta o si desea alguna aclaración por favor comunicarse con el Dr. CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO al teléfono 3157910947 o al Dr. McAllister Tafur Garzón al teléfono 3102042689. Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si así lo desea, firmar el consentimiento informado que forma parte de este documento.

Anexo B. Consentimiento informado

Yo, _____ c.c No. _____ de _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria por el investigador que me entrevisto. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, por lo tanto deseo participar voluntariamente en el proyecto de investigación.

Participante

Testigo

Nombres y Apellidos

Nombre y apellidos

Firma
C.C No.

Firma
C.C No.

Esta parte debe ser completada por el investigador (o su responsable)

He explicado al Sr. (a) _____ el propósito de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implican su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella (Resolución 8430 de 1993) una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del Investigador

Fecha

Anexo C. Acuerdo de confidencialidad

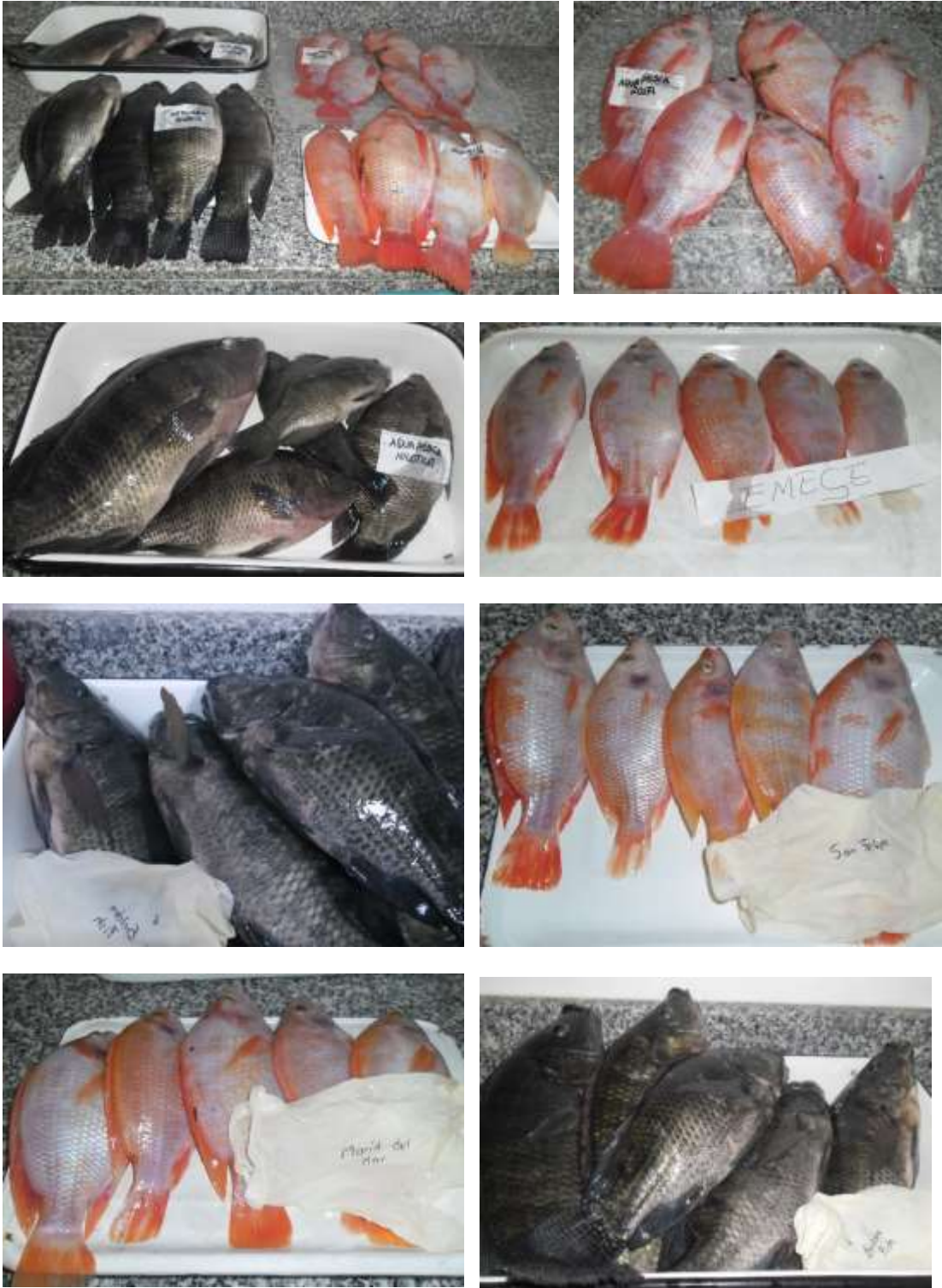
Yo, CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO, identificado con cedula de ciudadanía N° 14.236.709 de Ibagué como Investigador principal del proyecto “Perfiles de resistencia antimicrobiana de Escherichia coli, Salmonella, Streptococo agalactiae y Aeromona hydrophila en tilapia nilótica (Oreochromis niloticus) y tilapia roja (Oreochromis sp) cultivadas en el embalse de Betania” me comprometo a:

1. Mantener la confidencialidad del resultado de los análisis en la presente investigación.
2. No divulgar información personal de los propietarios de los establecimientos acuícolas
3. Conducirme con total imparcialidad y objetividad en los análisis y los resultados del estudio.
4. Mantener total confidencialidad de la información que sea revisada sobre los establecimientos que aporten peces para el análisis de laboratorio.
5. Velar porque las demás personal de apoyo a la investigación guarden total confidencialidad de los análisis de los casos presentados en el estudio.
6. Obtener solamente la información necesaria para el análisis del estudio a desarrollar.
7. Conducirme con responsabilidad, honestidad y profesionalismo en el desarrollo de mis actos.
8. Considerar a los peces como seres sensibles y presumir que los procedimientos que causan dolor en los seres humanos también causan dolor a ellos y por lo tanto los procedimientos que se les realizaran será realizados de acuerdo con las buenas prácticas de bienestar animal y su sacrificio se realizara sin mayor grado de sufrimiento en un estado de insensibilidad.

Este acuerdo de confidencialidad seguirá en vigor a un después de terminado la investigación como investigador principal. Por la presente acepto y estoy de acuerdo con las condiciones y provisiones contenidas en este documento. En prueba de ello, se firma a los 12 días, del mes de noviembre del año 2016

CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO
Investigador principal.

Anexo D. Reporte fotográfico







Anexo E. Formulario encuesta

Información general							
1. Establecimiento				2. Coordenadas			
3. Especie		T. roja		T. nilótica			
4. I.D. Jaulón		5. Día de siembra		6. No. jaulones			
7. Peso de siembra (gr)		8. Procedencia de los alevinos					
9. Numero de operarios		10. Médico Veterinario					
11. Nivel académico del administrador		Primaria		Secundaria		Tecnólogo Profesional	
Si es tecnólogo o profesional cual es el titulo							
Utilización de medicamentos, químicos o productos biológicos en los peces							
12. Desinfectantes		si		no			
13. Antibióticos		si		no		Oxitetraciclina Florfenicol Estreptomicina Rifampicina	
14. Probioticos		si		no			
15. Otros		Cuales					

2. Utilización de antibióticos en los peces							
16. ¿Cuándo utilizan antibióticos?							
Siempre que hay enfermedad		Cuando hay mortalidad elevada		En algunas etapas del cultivo		Por orden del técnico	
Permanente mente		Para prevenir		Nunca			
17. ¿Se ha diagnosticado alguna enfermedad por laboratorio?				Si		No	
18. Etapa en la que se encontraban los peces tratados				Alevinos		precria levante ceba	
19. Cuanto tiempo hace que utilizo antibióticos en el establecimiento							
Actualmente		< 2 meses		2 a 4 meses		4 a 6 meses	
6 a 12 meses		1 a 2 años		+ de 2 años		Nunca	
20. Por quien fue formulado o recomendado							
Médico veterinario		Biólogo		Un amigo		Observó otros	
Iniciativa propia		Vendedor insumos					
21. Como lo dio o aplico a los peces							
Alimento medicado		Lo adiciono al alimento		Sumergió los peces		Otra forma	
						¿Cuál?	
22. Según su concepto a los peces el antibiótico				23. ¿Lo volvería a utilizar?			
Le sirvió mucho		Algo le sirvió		No le sirvió		Le perjudico	
si		No					

3. Utilización de probioticos en los peces							
24. ¿Cuándo utilizan Probióticos?							
Siempre que hay enfermedad		Cuando hay mortalidad elevada		En algunas etapas del cultivo		Por orden del técnico	
Permanente mente		Para prevenir		Nunca			
25. Etapa en la que se encontraban los peces tratados				Alevinos		precria levante ceba	
26. Cuanto tiempo hace que utilizo probioticos en el establecimiento							
Actualmente		< 2 meses		2 a 4 meses		4 a 6 meses	
6 a 12 meses		1 a 2 años		+ de 2 años		Nunca	
27. Por quien fue formulado o recomendado							
Médico veterinario		Biólogo		Un amigo		Observo otros	
Iniciativa propia		Vendedor insumos					
28. Como lo dio o aplico a los peces							
Alimento medicado		Lo adiciono al alimento		Sumergió los peces		Otra forma	
						¿Cuál?	
29. Según su concepto a los peces el Probióticos				30. ¿Lo volvería a utilizar?			
Le sirvió mucho		Algo le sirvió		No le sirvió		Le perjudico	
Si		No					

4. Utilización de desinfectantes en el predio							
31. ¿Cuándo utilizan desinfectantes?							
Siempre que hay enfermedad	Cuando hay mortalidad elevada	En algunas etapas del cultivo	Por orden del técnico	Permanente mente	Para prevenir	Nunca	
32. Etapa en la que se encontraban los peces tratados			Alevinos	precia	levante	ceba	
33. Cuanto tiempo hace que utiliza desinfectantes en el establecimiento							
Actualmente	< 2 meses	2 a 4 meses	4 a 6 meses	6 a 12 meses	1 a 2 años	+ de 2 años	Nunca
34. Por quien fue recomendado							
Médico veterinario	Biólogo	Un amigo	Observo otros	Iniciativa propia	Vendedor insumos		
35. Como lo aplica							
Sumergiendo elementos	Mediante fumigación	Los envía a empresa que desinfecta	Otra forma	¿Cuál?			
36. Según su concepto a los peces el desinfectante					37. ¿Lo volvería a utilizar?		
Le sirvió mucho	Algo le sirvió	No le sirvió	Le perjudico	Si	No		

5. Conocimiento, percepciones y actitudes de los piscicultores								
38. ¿Conoce cuales antibióticos se pueden usar en peces?				Si	No			
39. Cual considera que es el mejor antibiótico que ha utilizado en peces								
Oxitetraciclina	Florfenicol	Estreptomina	Rifampicina	Otro				
40. ¿Sabe si los productores de peces para exportar deben registrarse?							Si	No
En caso afirmativo ¿ante quién o cual registro?								
41. ¿Ha asistido a un evento de capacitación sobre sanidad en piscicultura en el último año?							Si	No
En caso afirmativo ¿cuál?								
42. ¿Su empresa es socia o miembro de una asociación u organización de acuicultura?							Si	No
En caso afirmativo ¿Cuál?								
43. ¿Mantiene los registros de los productos y/o medicamentos que usa en el predio?							Si	No
En caso afirmativo ¿de cuáles?								
44. ¿Cuánto tiempo antes de la cosecha suspende el tratamiento con antibióticos?								
>1 semana	Entre 1 y 2 semanas	Entre 3 y 4 semanas	Entre 5 y 8 semanas	Mínimo 2 meses				

6. Investigación acción local								
45. ¿Qué piensa que pasaría si no se utilizaran antibióticos en los peces en los cultivos de peces en Betania?								
No sabe	No pasaría nada	Se incrementa la mortalidad	Sería imposible cultivar peces					
46. ¿Qué cambios o acciones en los cultivos de peces serán necesarios para mejorar la sobrevivencia de los peces?								
Aplicar medicamentos	Aplicar oxigeno	Disminuir densidad	Vacunar	Utilizar probioticos				
47. ¿Considera que se necesitan más antibióticos para utilizar en piscicultura?							Si	No
Le han dicho alguna vez que sus peces tienen		Sabor extraño	Olor extraño	Color extraño				
48. ¿Considera que su pescado es de buena calidad (sanitaria o inocuidad)?							Si	No
En caso afirmativo ¿qué es lo mejor de su pescado?								
49. ¿En alguna oportunidad le han rechazado el pescado a su empresa?					Si	No	No sabe	
50. Sobre las especies que se están cultivando en Betania cree que:								
Son las apropiadas	Solo las plateadas son apropiadas	Solo las rojas son apropiadas	Ninguna es apropiada					
¿Porque?								

Anexo F. Aspectos éticos

De acuerdo con los principios internacionales fundamentales para la guía en la investigación biomédica que involucra el uso de animales, la Declaración de Helsinki sobre el Diseño científico y experiencias previas en animales, la Ley 84 del 27 de diciembre de 1989, por la cual se adopta el Estatuto Nacional de Protección de los Animales y la resolución 008430 del 4 de 1993, considerando que en esta investigación empleara técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y en el que no se realizara ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de personas que participen en el estudio, no se le identificara personalmente, ni se trataran aspectos sensitivos de su conducta, de acuerdo con artículo 11 de la resolución 008430 del 4 de 1993 se clasifican en la categoría: a) Investigación sin riesgo. En cumplimiento con los aspectos mencionados con el Artículo 6 de la resolución mencionada, este estudio se desarrollará conforme a los siguientes criterios:

1. Los peces seleccionados para este estudio han sido cultivados con destino al consumo humano y al finalizar su ciclo productivo antes de ser cosechados para ser dispuestos en plantas de beneficio como alimentos serán objeto de una selección aleatoria para conformar una muestra de la que se obtendrán sus órganos que serán analizados para determinar condiciones de inocuidad relacionada con la resistencia a los antimicrobianos de cepas bacterianas presentes en ellos, como fenómeno que se considera de importancia y relevancia para la salud pública y el avance del conocimiento.
2. Los peces muestreados no corresponden a lotes de animales mantenidos como animales de experimentación.
3. Los investigadores involucrados consideraran a los peces como seres sensibles y presumen que los procedimientos que causan dolor en los seres humanos también causan dolor en estas especies.
4. Los procedimientos que se realizaran a los peces podrán causar un dolor momentáneo mínimo que será realizado bajo un estado de analgesia por hipotermia y de acuerdo con las buenas prácticas de bienestar animal en el sacrificio de animales para consumo humano y prácticas veterinarias usualmente aceptadas.
5. En el momento de su captura se procuraran las mejores condiciones de habitabilidad en condiciones de oxigenación artificial apropiada antes del sacrificio de los peces.

6. El manejo y sacrificio de los peces será realizado por un médico veterinario con tarjeta profesional otorgado por el consejo profesional de medicina veterinaria y zootecnia en Colombia – COMVEZCOL.
7. Investigaciones similares han sido realizadas en peces y otras especies aviares o mamíferas destinadas al consumo humano en otros países y el conocimiento que se pretende producir no puede obtenerse con la calidad requerida por otro medio idóneo y su objetivo sanitario es el diagnóstico de un problema de salud pública para tomar decisiones que conlleven a su prevención y control.
8. Se contará con el consentimiento Informado y por escrito del propietario, administrador o representante legal del establecimiento piscícola sujeto de investigación, conservando en todo momento confidencialidad de las distintas fuentes de información. (Ver anexo 1 y 2)
9. Los investigadores cuentan con experiencia profesional y son maestrandos de epidemiología de la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana.
10. La investigación se llevará a cabo cuando se obtenga la autorización del coordinador de la maestría en epidemiología de la universidad Surcolombiana; el consentimiento Informado de los propietarios o administradores y la aprobación del proyecto por parte del Comité de Ética en Investigación de la Facultad de salud de la Universidad Surcolombiana. (Ver anexo 1 y 2)
11. Los investigadores minimizarán los riesgos derivados de la captura y navegación acuática para la obtención de las muestras y la manipulación de los peces para lo cual contarán con elementos de protección personal.

La información privada y personal de los establecimientos no será divulgada por ningún medio a terceros.

Anexo G. Codificación de muestras en el laboratorio ICA Neiva

Código	ID	Especie fuente	Código	ID	Especie fuente
0052	1	Tilapia roja	0063	3	Tilapia nilótica
0054	2	Tilapia roja	0066	35	Tilapia nilótica
0060	3	Tilapia roja	0194	16	Tilapia nilótica
0062	4	Tilapia roja	0195	16	Tilapia nilótica
0064	5	Tilapia roja	0225	18	Tilapia nilótica
0065	6	Tilapia roja	0226	18	Tilapia nilótica
0067	7	Tilapia roja	0227	18	Tilapia nilótica
0070	8	Tilapia roja	0228	18	Tilapia nilótica
0071	8	Tilapia roja	0229	18	Tilapia nilótica
0072	9	Tilapia roja	0230	18	Tilapia nilótica
0162	10	Tilapia roja	0232	36	Tilapia nilótica
0163	10	Tilapia roja	0233	36	Tilapia nilótica
0164	11	Tilapia roja	0234	36	Tilapia nilótica
0165	12	Tilapia roja	0235	36	Tilapia nilótica
0167	13	Tilapia roja	0236	36	Tilapia nilótica
0168	13	Tilapia roja	0250	19	Tilapia nilótica
0169	14	Tilapia roja	0251	19	Tilapia nilótica
0191	15	Tilapia roja	0253	37	Tilapia nilótica
0192	16	Tilapia roja	0254	37	Tilapia nilótica
0193	17	Tilapia roja	0255	37	Tilapia nilótica
0224	18	Tilapia roja	0276	21	Tilapia nilótica
0252	19	Tilapia roja	0277	21	Tilapia nilótica
0275	20	Tilapia roja	0279	21	Tilapia nilótica
0278	21	Tilapia roja	0289	38	Tilapia nilótica
0358	22	Tilapia roja	0290	38	Tilapia nilótica
0359	22	Tilapia roja	0291	38	Tilapia nilótica
0361	23	Tilapia roja	0292	38	Tilapia nilótica
0403	24	Tilapia roja	0293	38	Tilapia nilótica
0404	24	Tilapia roja	0294	38	Tilapia nilótica
0406	25	Tilapia roja	0360	23	Tilapia nilótica
0407	25	Tilapia roja	0393	39	Tilapia nilótica
0477	26	Tilapia roja	0394	39	Tilapia nilótica
0479	27	Tilapia roja	0405	25	Tilapia nilótica
0480	28	Tilapia roja	0410	35	Tilapia nilótica
0481	28	Tilapia roja	0411	40	Tilapia nilótica
0502	29	Tilapia roja	0412	41	Tilapia nilótica
0503	29	Tilapia roja	0413	41	Tilapia nilótica
0504	30	Tilapia roja	0476	27	Tilapia nilótica
0505	30	Tilapia roja	0478	26	Tilapia nilótica
0506	31	Tilapia roja	0510	42	Tilapia nilótica
0537	33	Tilapia roja	0511	43	Tilapia nilótica
0538	33	Tilapia roja	0512	42	Tilapia nilótica
0051	1	Tilapia nilótica	0513	43	Tilapia nilótica
0053	2	Tilapia nilótica	0514	44	Tilapia nilótica
0061	34	Tilapia nilótica	0515	44	Tilapia nilótica

Anexo H. Codificación de muestras en el LANIP ICA Mosquera

Código de laboratorio	Órgano	Jaulón/Lote	Código de laboratorio	Órgano	Jaulón/Lote
RAM-17-0112	Branquia	Jaulón 9 lote 258	RAM-17-0523	Branquia	
RAM-17-0113	Branquia	Jaulón 9 lote 258	RAM-17-0524		RVG 4
RAM-17-0114	Branquia	Jaulón 9 lote 258	RAM-17-0525		RVG 6 lote 117
RAM-17-0116	Branquia	Jaulón 8 Lote 256	RAM-17-0526	Branquia	RVG 6 lote 117
RAM-17-0117	Hígado	Jaulón 8 Lote 256	RAM-17-0527	Branquia	RVG 7 I
RAM-17-0118	Branquia	Jaulón 8 Lote 256	RAM-17-0528	Branquia	RVG 7
RAM-17-0120	Branquia	Jaulón 175	RAM-17-0529	Branquia	
RAM-17-0121	Bazo	Jaulón 175	RAM-17-0530	Hígado	
RAM-17-0125	Branquia		RAM-17-0531	Branquia	
RAM-17-0126	Hígado		RAM-17-0532	Bazo	
RAM-17-0128	Ojo		RAM-17-0533	Branquia	
RAM-17-0129	Branquia		RAM-17-0534	Branquia	
RAM-17-0130	Branquia		RAM-17-0535	Bazo	
RAM-17-0131	Branquia		RAM-17-0536	Hígado	
RAM-17-0132	Hígado		RAM-17-0537	Acuícola	
RAM-17-0136	Branquia		RAM-17-0539	Branquia	
RAM-17-0137	Branquia		RAM-17-0540	Acuícola	
RAM-17-0138	Branquia		RAM-17-0542	Branquia	
RAM-17-0139	Hígado		RAM-17-0543	Branquia	
RAM-17-0140	Ojo		RAM-17-0544	Branquia	
RAM-17-0141	Ojo		RAM-17-0545	Hígado	
RAM-17-0143	Bazo		RAM-17-0546	Branquia	
RAM-17-0144	Ojo		RAM-17-0548	NR	NR
RAM-17-0145	Hígado		RAM-17-0549	NR	NR
RAM-17-0266	Branquia	Jaulón 13	RAM-17-0550		acuícola
RAM-17-0267	Hígado	Jaulón 14	RAM-17-0551	NR	NR
RAM-17-0268	Ojo	Jaulón 15	RAM-17-0552	NR	NR
RAM-17-0269	Branquia	Jaulón 4	RAM-17-0553	NR	NR
RAM-17-0270	Branquia	Jaulón 5	RAM-17-0808	Branquia	jaulón 3
RAM-17-0271	Bazo	Jaulón 6	RAM-17-0810	Branquia	jaulón 2e
RAM-17-0272	Bazo	Jaulón 7	RAM-17-0811	Branquia	
RAM-17-0273	branquia		RAM-17-0812	Branquia	
RAM-17-0275	Branquia		RAM-17-0814	Branquia	jaulón 21
RAM-17-0276	Branquia		RAM-17-0815	Branquia	
RAM-17-0277	Branquia		RAM-17-0816	Branquia	jaulón 79
RAM-17-0278	Bazo		RAM-17-0817	Branquia	jaulón 79
RAM-17-0279	Branquia	Jaulón 70	RAM-17-0818	Branquia	jaulón 9
RAM-17-0281	Branquia		RAM-17-0820	Branquia	jaulón 6
RAM-17-0282	Bazo		RAM-17-0827	Branquia	jaulón 7
RAM-17-0283	Branquia		RAM-17-0830	Branquia	jaulón 3
RAM-17-0285		jaulón 13	RAM-17-0832	Branquia	
RAM-17-0441	Branquia	Jaulón 9	RAM-17-0833	Branquia	jaulón 1
RAM-17-0442	Bazo	Jaulón 10	RAM-17-0834	Branquia	jaulón 1
RAM-17-0443	Hígado	Jaulón 10	RAM-17-0835	Bazo	
RAM-17-0444	Branquias	Jaulón 11	RAM-17-0836	Branquia	
RAM-17-0445	Bazo	Jaulón 33	RAM-17-0837	hígado	

RAM-17-0446	Hígado	Jaulón 34	RAM-17-0838	Branquia	
RAM-17-0447	Branquias	Jaulón 33 Lac -	RAM-17-1066	Branquia	Jaulón 11-9
RAM-17-0448	Branquias	Jaulón 33 Lac +	RAM-17-1068	Branquia	Jaulón 3-5
RAM-17-0449	Bazo	Jaulón 34	RAM-17-1069	Ojo	
RAM-17-0450	Branquias	Jaulón 39	RAM-17-1070	Branquia	
Código de laboratorio	Órgano	Jaulón/Lote	Código de laboratorio	Órgano	Jaulón/Lote
RAM-17-0452	Branquias	Jaulón 29	RAM-17-1071	Branquia	
RAM-17-0454	Branquias	Jaulón 30	RAM-17-1072	Branquia	
RAM-17-0455	Bazo	Jaulón 31	RAM-17-1073	Branquia	
RAM-17-0457	Branquias	Jaulón 32	RAM-17-1074	Branquia	Jaulón 2
RAM-17-0458	Branquias	Jaulón 18	RAM-17-1075	Bazo	
RAM-17-0459	Bazo	Jaulón 19	RAM-17-1076	Branquia	
RAM-17-0461	Ojo	Jaulón 18	RAM-17-1077	Hígado	Jaulón 2
RAM-17-0462	Branquias	Jaulón 4	RAM-17-1078	Branquia	Jaulón 1
RAM-17-0464	Bazo	Jaulón 5	RAM-17-1079	Ojo	
RAM-17-0465	Hígado	Jaulón 5	RAM-17-1080	hígado	
RAM-17-0467	Hígado	Jaulón 7	RAM-17-1082	hígado	
RAM-17-0468	Bazo	Jaulón 6	RAM-17-1083	Branquia	
RAM-17-0469	Branquias	Jaulón 9	RAM-17-1084	Hígado	
RAM-17-0471	Branquias	Jaulón 11	RAM-17-1085	Hígado	
RAM-17-0472	Branquias		RAM-17-1086	Branquia	Jaulón 6
RAM-17-0473	Bazo	Jaulón 29	RAM-17-1086	Hígado	Jaulón 6
RAM-17-0514	Branquia		RAM-17-1087	Branquia	
RAM-17-0515	Branquia		RAM-17-1089	Branquia	
RAM-17-0516	Ojo		RAM-17-1090	Branquia	
RAM-17-0517	Branquia		RAM-17-1093	Branquia	
RAM-17-0518	Branquia	Jaulón 271 *	RAM-17-1094	Branquia	
RAM-17-0519	Ojo	Jaulón 295*	RAM-17-1095	Branquia	
RAM-17-0519	Branquia	Jaulón 295*	RAM-17-1096	Branquia	
RAM-17-0520	Branquia		RAM-17-1097	Branquia	Jaulón 6
RAM-17-0521	Branquia		RAM-17-1099	Branquia	Jaulón 6
RAM-17-0522	Branquia				

Anexo I. Órganos de origen de las cepas bacterianas

PREDIO	T. Roja	T. nilótica	Branquias	Bazo	Hígado	Ojo	Totales
1	1	1	8				8
2	2		4	1			5
3	1		1		1	1	3
4	1		3				3
5		1	2				2
6	1		3		1		4
7	1	1	1		2	1	4
8	1			1	2	1	4
9	2					1	1
10	2		3	2	1	1	7
11	1		2	1			3
12	1		3				3
13	1						0
14	2						0
15	2	1	3				3
16	1	1	2			1	3
17	1	1	2			2	4
18	1	6	7	6	4	1	18
19		5	6	4	2	2	14
20	1	2	6	1			7
21		3	5	1			6
22	1	3	4	2	2		8
23	1						0
24		6	7	2	1		10
25		2	3				3
26	2		1				1
27	2	1	3				3
28		1					0
29		1	1	1	1		3
30		2	2				2
31	2		3	2			5
32	1	1	2	1			3
33	2		2			1	3
34	1	1	2				2
35	1	1	1				1
36	2		3	1	1	1	6
37	1		1	2			3
38	2		2			1	3
39		2	1		2		3
40		2	3	1			4
41		2	3		1		4
42	2		2				2
Total	43	46	106	29	21	14	170

Anexo J. Regresión logística

. logistic Antibióticos Volumen

```

Logistic regression                               Number of obs   =           72
                                                  LR chi2(1)      =           3.24
                                                  Prob > chi2     =           0.0718
Log likelihood = -47.281532                    Pseudo R2      =           0.0331
  
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Volumen	1.000836	.0005699	1.47	0.142	.9997195 1.001954
_cons	.5652194	.1579214	-2.04	0.041	.3268832 .9773305

. xi:logistic UsaAntibióticos i.CategoriaVolumenton
i.CategoriaV~on _ICategoria_50-600 (naturally coded; _ICategoria_50 omitted)

```

Logistic regression                               Number of obs   =           72
                                                  LR chi2(4)      =           10.14
                                                  Prob > chi2     =           0.0381
Log likelihood = -44.390292                    Pseudo R2      =           0.1025
  
```

UsaAntibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_ICategoria_100	5.833333	6.717686	1.53	0.126	.6104782 55.73954
_ICategoria_150	15	18.47295	2.20	0.028	1.34218 167.6377
_ICategoria_300	11.11111	12.72264	2.10	0.035	1.177876 104.813
_ICategoria_600	16	19.09974	2.32	0.020	1.541743 166.0458
_cons	.1	.1048809	-2.20	0.028	.0128012 .7811739

. xi:logistic UsaAntibióticos i.CategoriaVolumenton
i.CategoriaV~on _ICategoria_99-600 (naturally coded; _ICategoria_99 omitted)

```

Logistic regression                               Number of obs   =           72
                                                  LR chi2(3)      =           7.06
                                                  Prob > chi2     =           0.0701
Log likelihood = -45.93266                    Pseudo R2      =           0.0713
  
```

UsaAntibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_ICategoria_150	4.124999	3.160732	1.85	0.064	.9187568 18.52026
_ICategoria_300	3.055555	1.887447	1.81	0.071	.9105302 10.25382
_ICategoria_600	4.399999	3.097095	2.10	0.035	1.107399 17.48239
_cons	.3636365	.1501315	-2.45	0.014	.1618971 .8167623

. logistic Antibióticos Niveleduc

```

Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(1)         =           1.94
                                   Prob > chi2        =           0.1640
Log likelihood = -47.93361         Pseudo R2       =           0.0198

```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
Niveleduc	1.348425	.292011	1.38	0.167	.88205	2.061392
_cons	.3803999	.1978605	-1.86	0.063	.1372455	1.054345

. . xi:logistic Antibióticos i.catenivelest
i.catenivelest _Icatenivel_1-4 (naturally coded; _Icatenivel_1 omitted)

```

Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(3)         =          10.18
                                   Prob > chi2        =           0.0171
Log likelihood = -43.813253         Pseudo R2       =           0.1041

```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Icatenivel_2	.3036437	.1911319	-1.89	0.058	.0884232	1.042708
_Icatenivel_3	.5769231	.5453647	-0.58	0.561	.0904645	3.679236
_Icatenivel_4	2.884615	2.026614	1.51	0.132	.7278942	11.43161
_cons	.8666667	.3284081	-0.38	0.706	.4123863	1.821377

. logistic Antibióticos jaulones

```

Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(1)         =           0.89
                                   Prob > chi2        =           0.3454
Log likelihood = -48.456699         Pseudo R2       =           0.0091

```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
jaulones	1.023363	.0255234	0.93	0.354	.9745415	1.074631
_cons	.5428859	.2068613	-1.60	0.109	.2572567	1.145646


```
. xi:logistic Antibióticos i.catejaulones3
i.catejaulones3 _Icatejaulo_5-40 (naturally coded; _Icatejaulo_5 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(4)         =           2.83
                                   Prob > chi2         =          0.5875
Log likelihood = -47.48926          Pseudo R2        =          0.0289
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Icatejaulo_10	2.125	1.497067	1.07	0.285	.5341773	8.453419
_Icatejaulo_15	.8888889	.7626393	-0.14	0.891	.1654028	4.776966
_Icatejaulo_20	.8	.8294577	-0.22	0.830	.1048445	6.104281
_Icatejaulo_40	1.5	1.468418	0.41	0.679	.2201972	10.21811
_cons	.5	.3061862	-1.13	0.258	.1505628	1.660437

```
. xi:logistic Antibióticos i.catejaulones3
i.catejaulones3 _Icatejaulo_5-40 (naturally coded; _Icatejaulo_10 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(4)         =           2.83
                                   Prob > chi2         =          0.5875
Log likelihood = -47.48926          Pseudo R2        =          0.0289
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Icatejaulo_5	.4705882	.3315305	-1.07	0.285	.1182953	1.872037
_Icatejaulo_15	.4183007	.2905412	-1.25	0.210	.1072174	1.631969
_Icatejaulo_20	.3764706	.3411836	-1.08	0.281	.0637255	2.224071
_Icatejaulo_40	.7058824	.5925448	-0.41	0.678	.1362075	3.658168
_cons	1.0625	.370085	0.17	0.862	.536837	2.102885

```
. logistic Antibióticos bacterianadiagnosticada
```

```
Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(1)         =           1.69
                                   Prob > chi2         =          0.1936
Log likelihood = -48.056792          Pseudo R2        =          0.0173
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
bacterianadiagnosticada	2.181818	1.317968	1.29	0.197	.6677814	7.128576
_cons	.6111111	.1653757	-1.82	0.069	.3595609	1.038647

```
. xi:logistic Antibióticos i.EspecieN
i.EspecieN      _IEspecieN_1-3      (_IEspecieN_2 for EspecieN==1 omitted)
```

```
Logistic regression      Number of obs      =      72
                        LR chi2(2)      =      0.63
                        Prob > chi2     =      0.7291
Log likelihood = -48.586039      Pseudo R2      =      0.0065
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_IEspecieN_1	.96	.7689993	-0.05	0.959	.1997211 4.614435
_IEspecieN_3	1.476923	.7654249	0.75	0.452	.5348318 4.078482
_cons	.625	.2057127	-1.43	0.153	.3278803 1.191365

```
. xi:logistic Antibióticos i.Mvet
i.Mvet          _IMvet_1-2          (_IMvet_1 for Mvet==0 omitted)
```

```
Logistic regression      Number of obs      =      72
                        LR chi2(1)     =      0.19
                        Prob > chi2     =      0.6600
Log likelihood = -48.805147      Pseudo R2      =      0.0020
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_IMvet_2	1.293478	.7550492	0.44	0.659	.4119861 4.061025
_cons	.6764706	.1826346	-1.45	0.148	.3985109 1.148306

```
. xi:logistic Antibióticos i.Desinfecta
i.Desinfecta    _IDesinfect_0-1    (naturally coded; _IDesinfect_0 omitted)
```

```
Logistic regression      Number of obs      =      72
                        LR chi2(1)     =      5.80
                        Prob > chi2     =      0.0160
Log likelihood = -46.000938      Pseudo R2      =      0.0593
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_IDesinfect_1	3.25	1.628122	2.35	0.019	1.217489 8.675645
_cons	.3846154	.143117	-2.57	0.010	.1854774 .7975581

```
. xi:logistic Antibióticos i.capacitacionSi
i.capacitacio~i _Icapacitac_1-2 (_Icapacitac_1 for capacita~i==0 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(1)         =           1.62
                                   Prob > chi2        =           0.2027
Log likelihood = -48.090663         Pseudo R2       =           0.0166
```

Antibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Icapacitac_2	2.252174	1.447996	1.26	0.207	.6387584 7.940854
_cons	.6216216	.1650581	-1.79	0.073	.3694094 1.04603

```
. logistic Antib VolDic50 Desinf
```

```
Logistic regression                Number of obs    =          72
                                   LR chi2(2)         =          10.84
                                   Prob > chi2        =           0.0044
Log likelihood = -43.4835         Pseudo R2       =           0.1108
```

Antib	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
VolDic50	.1338184	.1465223	-1.84	0.066	.0156497 1.144261
Desinf	2.823593	1.461704	2.01	0.045	1.023662 7.788393
_cons	.5124206	.2011878	-1.70	0.089	.23737 1.106184

```
. logistic Resistencia Desinf
```

```
Logistic regression                Number of obs    =          37
                                   LR chi2(1)         =           0.09
                                   Prob > chi2        =           0.7684
Log likelihood = -25.481353         Pseudo R2       =           0.0017
```

Resistencia	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Desinf	.8181819	.5584708	-0.29	0.769	.2147043 3.117877
_cons	1.333333	.7200823	0.53	0.594	.4626338 3.842732

```
. xi:logistic UsaAntibióticos i.Recomendador_02
i.Recomendada~02   _IRecomenda_0-2   (naturally coded; _IRecomenda_0 omitted)
```

```
Logistic regression           Number of obs   =           72
                             LR chi2(2)           =           29.93
                             Prob > chi2           =           0.0000
Log likelihood = -33.93918     Pseudo R2       =           0.3060
```

UsaAntibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_IRecomenda_1	27.75	31.86654	2.89	0.004	2.922745	263.4724
_IRecomenda_2	18.5	12.6089	4.28	0.000	4.864351	70.35882
_cons	.2162162	.0843041	-3.93	0.000	.100693	.4642771

```
. logistic Resistencia Usoantibiot
```

```
Logistic regression           Number of obs   =           37
                             LR chi2(1)           =           0.29
                             Prob > chi2           =           0.5911
Log likelihood = -25.380348     Pseudo R2       =           0.0057
```

Resistencia	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
Usoantibiot	1.428571	.9506788	0.54	0.592	.3876578	5.264479
_cons	1	.4472136	0.00	1.000	.4162278	2.40253

```
. logistic Resistencia Usoantibiot
```

```
Logistic regression           Number of obs   =           37
                             LR chi2(1)           =           0.29
                             Prob > chi2           =           0.5911
Log likelihood = -25.380348     Pseudo R2       =           0.0057
```

Resistencia	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
Usoantibiot	1.428571	.9506788	0.54	0.592	.3876578	5.264479
_cons	1	.4472136	0.00	1.000	.4162278	2.40253

Logistic regression

Number of obs = 72

LR chi2(6) = 15.93

Prob > chi2 = 0.0141

Pseudo R2 = 0.1629

Log likelihood = -40.935653

UsaAntibióticos	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
Conoceantibióticos	4.417278	3.6792	1.78	0.074	.8633355	22.60112
Escolaridad_01	2.720007	2.417062	1.13	0.260	.47662	15.52272
Especie_01	2.990004	2.052406	1.60	0.111	.7787318	11.48037
capacitacionSi	1.36104	1.111131	0.38	0.706	.2747669	6.741828
bacterianadiagnosticada	1.150532	.8566925	0.19	0.851	.2673557	4.951172
Escolaridad_02	3.008314	1.859299	1.78	0.075	.8958495	10.10209
_cons	.2036177	.1018995	-3.18	0.001	.0763547	.5429943

Anexo K. Operacionalización de las variables

Tipo de tilapia:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento cultiva tilapia nilótica y toma el valor 0 si es tilapia roja o si cultiva ambos tipos de tilapia.
Volumen de producción:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento tiene menos de 50 toneladas de producción y toma el valor 0 si tiene más de 50 toneladas de producción. Se intenta ver si el hecho de tener más volumen autorizado es un factor determinante en el suministro de antibióticos.
Numero de Jaulones:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento posee menos de 5 jaulones y toma el valor 0 si posee más de 5 jaulones. Esta variable nos suministra información sobre tamaño del establecimiento y se intenta ver si se demandan más antibióticos cuando se dispone de más jaulones.
Peso del alevín:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el peso del alevín sembrado en el establecimiento es menor de 2,5 gramos y toma el valor 0 en caso contrario. Se intenta captar si el peso de siembra incide en el uso de antibióticos.
Numero de operarios:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el número de operarios es hasta de 3 operarios; toma el valor 0 en caso contrario.
Asistencia del médico veterinario:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento tiene asistencia del médico veterinario y toma el valor 0 en caso contrario.
Nivel de escolaridad:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el responsable del establecimiento posee nivel educativo hasta quinto año de enseñanza primaria y toma el valor 0 en caso contrario.
Diagnóstico de enfermedad bacteriana:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento posee diagnósticos de enfermedades bacterianas y toma el valor 0 en caso contrario. Esta variable ayuda a comprender si los antibióticos se utilizan para lo que están hechos.
Tipo de antibiótico:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento aplica un antibiótico tipo enrofloxacin y toma el valor 0 en caso contrario. Esta variable complementa al uso de antibióticos como indicadora de uso de antibióticos autorizados para peces.
Cuando se aplican antibióticos:	Variable explicativa que toma el valor 1 si el establecimiento aplica antibióticos actualmente y toma el valor 0 en caso contrario. Esta variable complementa al uso de antibióticos como indicadora de uso de antibióticos.

Anexo L. Aprobación por el comité de ética en investigación



Universidad Surcolombiana
Nº 891.150.084 2



FACULTAD DE SALUD
COMITÉ DE ETICA EN INVESTIGACIÓN
5-037

Neiva, 16 de Noviembre de 2016

Estudiante
CARLOS MARIO ROCHA BAQUERO
Maestría en Epidemiología
Universidad Surcolombiana
Ciudad

El comité de Ética en Investigación de la Facultad de Salud en sesión del 15 de Noviembre de 2016 y según consta en el acta No. 10 de la fecha, se permite informar que el proyecto de investigación "PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE ESCHERICHIA COLLI, SALMONELLA, ESTREPTOCOCCO AGALACTIAE Y AEROMONA HYDROPHILA EN TILAPIAS NILÓTICAS (ORLOCHROMIS NILOTICUS) Y TILAPIAS ROJAS (OREOCHROMIS SP) CULTIVADAS EN EL EMBALSE DE BETANIA". Fue aprobado.

Alentamente,

ESPERANZA CABRERA DIAZ
Coordinadora

AV. Pastrana Borrero - Cra 1a. PBX: 8754753 FAX: 8758890 - 8759124
Edificio Administrativo Cra. 5 No. 23 - 46 PBX: 8753686
Línea Gratuita Nacional: 018000968722
www.usco.edu.co Neiva - Huila