

**Sensibilidad antimicrobiana y genes BLEE en enterobacterias de la microbiota intestinal de niños
atendidos en el Centro de Salud de Llapa, Provincia de San Miguel, Cajamarca – 2023**

**Antimicrobial sensitivity and BLEE gene in gut microbiota enterobacteria from children treated at Llapa
health center, San Miguel, Cajamarca – 2023**

Marco Rivera-Jacinto^{1*}, D. Uriol Valverde¹, N. Carbajal-Caballero¹, M. Chávez Huingo¹

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca, Av. Atahualpa 1050, C.P. 06003, Cajamarca, Perú

*Autor de correspondencia: mrivera@unc.edu.pe

Resumen

Con el objetivo de determinar el estado de sensibilidad/resistencia de la microbiota intestinal de niños de Llapa – Cajamarca, 30 aislamientos bacterianos procedentes de heces fueron analizados por métodos microbiológicos y moleculares. La sensibilidad a cefuroxima, cefotaxima o ciprofloxacino (3,3 %, cada una) fue la menos frecuente, y la sensibilidad a ampicilina fue nula. La resistencia a ampicilina (90 %), cefotaxima (80 %) y sulfametoxazol-trimetropima (77 %) fue la más frecuente. *E. coli* fue la especie más abundante. El gen blaCTX-M fue el más frecuente, que se relaciona en parte con los resultados fenotípicos.

Palabras clave: RAM, antibiótico, fenotipo, genotipo, PCR

Abstract

To determining the sensitivity/resistance status of the intestinal microbiota of children from Llapa - Cajamarca, 30 bacterial isolates from feces were analyzed by microbiological and molecular methods. Sensitivity to cefuroxime, cefotaxime or ciprofloxacin (3.3 %, each) was the least common; sensitivity to ampicillin was null. Resistance to ampicillin (90 %), cefotaxime (80 %) and sulphamethoxazole-trimetropime (77 %) was the most common. *E. coli* was the most abundant species. The blaCTX-M gene was the most frequent, which is partly related to the phenotypic results.

Key words: AMR, antibiotic, phenotype, genotype, PCR

Introducción

La resistencia antimicrobiana es un riesgo latente en la salud de las personas, con proyección a convertirse en una de las principales causas de muerte a mediano plazo (O'Neill, 2016). La presencia y expresión de genes de resistencia a antibióticos es un mecanismo natural propio de los microorganismos (Perry et al., 2016), pero la

exposición a antibióticos y su mal uso (automedicación, uso como promotor de crecimiento) generan la selección de bacterias resistentes y el incremento de la resistencia antibiótica.

Muchas bacterias son en la actualidad resistentes a más de un antibiótico, y algunas presentan resistencia a diferentes clases de antibióticos. Estos niveles de resistencia se presentan también en la microbiota intestinal de personas adultas sanas y de recién nacidos (Sina et al., 2022). De este modo, la microbiota intestinal normal, cuyos beneficios abarcan aspectos gastrointestinales, inmunológicos e, incluso, neurológico, se torna en un riesgo, al convertirse en un reservorio de genes de resistencia (Aira et al., 2019).

Muchas investigaciones han sido realizadas con el objetivo de caracterizar o monitorear el estado de la resistencia antibiótica en bacterias causantes de infecciones. Este tipo de estudios en la microbiota intestinal han sido menos frecuentes, particularmente en el Perú y Cajamarca. Sin embargo, las técnicas moleculares, metagenómicas y de estudio de genomas completos permiten estudiar el microbioma asociado a la resistencia antimicrobiana, por ejemplo, en niños (Bag et al., 2019; Zhang et al., 2011; Gallacher et al., 2023; Gosalbes et al., 2016).

Luego de haber caracterizado perfiles de resistencia en enterobacterias patógenas asociadas a pacientes con infecciones en Cajamarca, nuestro grupo de investigación busca en este nuevo estudio caracterizar estos perfiles de resistencia en bacterias aisladas de heces de niños y niñas sin infección bacteriana aparente, como una aproximación a la microbiota intestinal normal.

Materiales y métodos

Muestras de heces y aislamientos bacterianos

Las muestras de heces fueron obtenidas en el estudio y control de infecciones intestinales en el centro de salud de Llapa, San Miguel - Cajamarca. Una porción pequeña de cada muestra fue enviada en caldo BHI con 20 % de glicerol bajo cadena de frío al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca. Diluciones en caldo BHI fueron inoculadas en placas con agar MacConkey, agar EMB y/o agar XLD, por el método de estriado. Las placas fueron incubadas a 37 °C, de 18 a 24 horas. Subcultivos diferentes fueron preservados por separado en agar TSA. La coloración Gram se aplicó para verificar la pureza del cultivo. Pruebas de identificación fueron aplicadas con medios de diferenciación bioquímica (TSI, LIA, MIO, Citrato de Simmons, agar urea y SIM). Prueba de catalasa y citocromo-oxidasa fueron también aplicadas. Con el programa ABIS Online se determinó el género y/o especie de Enterobacteria aislada. Los cultivos puros identificados fueron crio-preservados en caldo BHI con glicerol al 20 % a -86°C.

Evaluación de sensibilidad a los antimicrobianos

Pruebas de antibiograma fueron aplicadas a los aislamientos, con un pool de discos antimicrobianos, según la especie bacteriana y el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), que rige los puntos de corte y el tipo de antimicrobianos a emplear. El procedimiento descrito por el Instituto Nacional de Salud del Perú fue utilizado, por lo que se consideró aislamiento resistente a aquellos que presentaron sensibilidad disminuida a los betalactámicos, según los puntos de corte del CLSI. Los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos con los diferentes antimicrobianos, en agar Mueller Hinton fueron medidos con vernier y comparados con los puntos de corte descritos por el CLSI.

Identificación molecular de las betalactamasas

Quince aislamientos de enterobacterias que presentaron resistencia a alguno de los antimicrobianos fueron seleccionados al azar, para identificar el gen del tipo de betalactamasa presente mediante la técnica de PCR. La extracción de ADN de cada bacteria fue realizada por shock térmico. Los iniciadores de PCR fueron: a) blaTEM, 5'-ATAAAATTCCTGAAGACGAAA-3', 5'-GACAGTTACCAATGCTTAATC-3' (Weill et al., 2004); b) blaSHV, 5'-ATGCGTTATATTCGCCTGTG-3', 5'-GTTAGCGTTGCCAGTGCTCG-3' (Galván et al., 2016), y c) blaCTX-M, 5'-CGATGTGCAGTACCAGTAA-3', (R) 5'-TTAGTGACCAGAATCAGCGG-3' (Aleem et al., 2021), con tamaños de amplicón de 1080 pb, 865 pb y 585 pb, respectivamente. Las condiciones de amplificación fueron las descritas para la enzima KOD Hot DNAPolymerase, según proveedor. La electroforesis se realizó a 100 V por 45 minutos en gel de agarosa 1 % con SybrSafe. Los productos de amplificación fueron visualizados con un transiluminador de luz UV.

Análisis estadístico de los datos

El programa JASP (<https://jasp-stats.org/>) fue utilizado para el análisis de datos; en la preparación de tablas y gráficos también se utilizó el programa Excel de Office. Las frecuencias de resistencia por tipo de antimicrobiano y según la presencia de los genes, por especie bacteriana o según el sexo y grupo etario de los niños, fueron comparadas aplicando la prueba no paramétrica chi cuadrado. La significancia estadística fue considerada con un nivel de confianza del 95 % y un p-valor de 0,05.

Resultados y discusión

Un total de 30 muestras de heces de infantes fueron utilizadas en el presente estudio. El 30 % de los infantes procedían del caserío Llapa; el resto, de otros 11 caseríos del distrito. La edad de los infantes estuvo comprendida entre 0 y 11 años; 16 fueron niñas (53,3 %) y 14 fueron niños (46,7 %).

Las enterobacterias aisladas (n=30) a partir de las muestras de heces fueron de siete especies diferentes, según sus características bioquímicas (Figura 1). El 70 % (n=21) de los aislamientos fueron *E. coli*. Esta bacteria es una de las especies de establecimiento temprano en la microbiota intestinal de recién nacidos; no es la más abundante (Sina et al., 2022), pero es bastante común aislarla en muestras de heces. Como comensal, genera beneficios a sus hospederos, tanto humanos como en otros animales, sin embargo, puede incluir representantes menos beneficiosos y patógenos (Ramos et al., 2020).

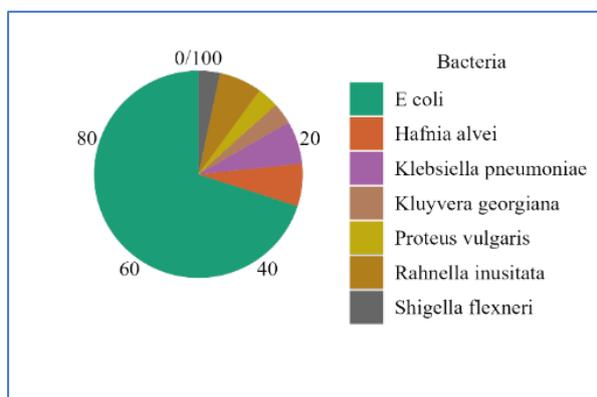


Figura 16. Especies de enterobacterias en muestras de heces de niños de Llapa, San Miguel-Cajamarca

Las especies *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae* y *Rahnella inusitata* estuvieron representadas por dos aislamientos (6,7 %) cada una, y el resto de especies solo por uno. Con *K. pneumoniae* y *R. inusitata* encontramos dos condiciones contrarias; la primera especie es altamente conocida, es habitante común de la cavidad oral, y también una de las bacterias clínicamente más relevantes (Wang et al., 2020); por el contrario *R. inusitata* es una especie poco conocida y no hay registro de su presencia en la microbiota humana. Por otro lado, *H. alvei*, es una bacteria común en el tracto, pero considerada también como patógeno oportunista; se le ha encontrado con frecuencia en heces de niños con diarrea y se le ha asociado a cuadro infecciosos (Ramos-Vivas, 2020), por lo que su presencia en las muestras de los niños en Llapa es intrigante.

Caracterización fenotípica

Los antibióticos con los que se detectó sensibilidad en mayor frecuencia fueron cefoxitina (90 %), amoxicilina+sulbactam (86,7 %) y amoxicilina+ácido clavulánico (66,77 %), fosfomicina (93,3 %), cloranfenicol (83,3 %), tetraciclina (70,0 %) y azitromicina (66,7 %) (Tabla 1). Por el contrario, la sensibilidad a cefuroxima, cefotaxima o ciprofloxacino (3,3 %, cada una) fue la menos frecuente, y la sensibilidad a ampicilina fue nula. Los antibióticos contra los que se detectó resistencia en mayor proporción fueron ampicilina, cefotaxima y sulfametoxazol-trimetoprima, con frecuencias de 90 %, 80 % y 76,7 %, respectivamente. Tales proporciones son semejantes a lo reportado por Gonzales-Rodríguez y colaboradores (Gonzales-Rodríguez et al., 2023), en muestras de heces de lactantes en Piura – Perú.

Existen microorganismos resistentes en alimentos de origen animal (Rajaei et al., 2021) y vegetal (Olake et al., 2024), en el agua de río y lagunas (Crettels et al., 2023) y en el suelo, tanto urbano como rural (Osiston et al., 2020), y más aún si es fertilizado con estiércol (Udikovic-Kolic et al., 2014). Los infantes cuyas muestras fueron procesadas en el presente estudio habitan en zonas rurales de Cajamarca (Tabla 1), cuyas actividades diarias incluyen el cultivo de plantas y crianza de animales, incluso en la misma vivienda; además, no cuentan con sistemas de agua y alcantarillado adecuados, y por ende hacen uso de los cuerpos de agua disponibles. El escenario descrito podría incluir las causas de la alta resistencia antibiótica observada.

Los betalactámicos son los antibióticos más consumidos a nivel mundial (WHO, 2018). La inevitable presión de selección que significa el uso de antibióticos por prescripción médica es aumentada por el consumo inapropiado de antibióticos. Ecker y colaboradores (Ecker et al., 2016) señalan que 13 % de la venta de antibióticos para administrar en niños menores de cinco años ocurre sin receta médica en zonas periurbanas de Lima-Perú, siendo los más comprados amoxicilina y sulfametoxazol/trimetoprima. Tal frecuencia puede ser mayor en la sierra del país (Rojas-Adrianzén et al., 2016). La automedicación también es una práctica común también en Cajamarca (Llanos et al., 2001). Por tanto, el consumo de antibióticos para tratar infecciones basada en la automedicación es también una probable causa de la resistencia antibiótica encontrada.

Los antibióticos contra los que se encontró resistencia en menor frecuencia fueron cefepime, amoxicilina-sulbactam y los amiglucósidos gentamicina y amikacina, con 3,3 % cada uno, seguidos de ceftioxitina, amoxicilina-clavulanato, cloranfenicol y colistina, con 6,7 % cada uno (Tabla 1). En cierto modo, este patrón de sensibilidad podría ser semejante al de bacterias patógenas en la zona, por lo que es necesario establecer adecuadamente los tratamientos antibióticos teniendo en cuenta esta información para tratar de evitar la disminución de la sensibilidad a estos antibióticos.

Tabla 1. Perfil de sensibilidad antimicrobiana en bacterias de la microbiota intestinal de niños del distrito de Llapa

BL	AMP		FOX		CXM		CAZ		CRO		CTX		FEP		ATM		IMP		AMC		SAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
R	27	90,0	2	6,7	5	16,7	9	30,0	5	16,7	24	80,0	1	3,3	6	20,0	3	10,0	2	6,7	1	3,3
S	0	0,0	27	90,0	1	3,3	5	16,7	6	20,0	1	3,3	2	6,7	9	30,0	13	43,3	20	66,7	26	86,7
I	3	10,0	1	3,3	24	80,0	16	53,3	19	63,3	5	16,7	27	90,0	15	50,0	14	46,7	8	26,7	3	10,0
NBL	SXT		CIP		NA		GN		AK		C		FOS		TE		AZM		CT		-	-
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	-	-
R	23	76,7	7	23,3	10	33,3	1	3,3	1	3,3	2	6,7	2	6,7	9	30,0	10	33,3	2	6,7	-	-
S	5	16,7	1	3,3	16	53,3	17	56,7	12	40,0	25	83,3	28	93,3	21	70,0	20	66,7	8	26,7	-	-
I	2	6,7	22	73,3	4	13,3	12	40,0	17	56,7	3	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	66,7	-	-
I	2	6,7	22	73,3	4	13,3	12	40,0	17	56,7	3	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	20	66,7	-	-

AMP= ampicilina, FOX= cefoxitina, CXM= cefuroxima, CAZ= ceftazidima, CRO= ceftriaxona, CTX= cefotaxima, FEP= cefepime, ATM= aztreonam, IMP= imipenem, AMC= amoxicilina+clavulanato, SAM= amoxicilina+sulbactam.

SXT= sulfametoxazol-trimetoprima, CIP= ciprofloxacina, NA= ácido nalidíxico, GN=gentamicina, AK= amikacina, C= cloramfenicol, FOS= fosfomicina, TE= tetraciclina, AZM= azitromicina, CT= colistina.

Ninguno de los aislamientos de las siete especies identificadas fue sensible a ampicilina (Figura 2). Por otro lado, todas las especies (pero no todos los aislamientos) presentaron sensibilidad a cefoxitina, amoxicilina+sulbactam

y amoxicilina+clavulanato. Respecto a los no betalactámicos, al menos un aislamiento bacteriano presentó sensibilidad a alguno de los 10 antibióticos; la sensibilidad a ciprofloxacino fue la menos frecuente.

Debido a su abundancia en las muestras, el patrón de sensibilidad/resistencia de *E. coli* representa en gran medida el patrón general de la microbiota evaluada (Figura 2). Esta especie fue sensible con mayor frecuencia a los betalactámicos cefoxitina (66,7 %) y amoxicilina+sulbactam (63,3 %), y a fosfomicina (70,0 %) y cloranfenicol (63,3 %). No fueron detectados aislamientos de *E. coli* sensibles a ampicilina, cefuroxima, cefotaxima, cefepime ni a ciprofloxacino. Respecto a la resistencia (Figura 3), *E. coli* fue resistente más frecuentemente a ampicilina (95,2 %), cefotaxima (85,7 %) y sulfametoxazol+trimetropima (76,2 %). *E. coli* no mostró resistencia contra amoxicilina+sulbactam, fosfomicina ni colistina.

Respecto a la sensibilidad/resistencia de *E. coli*, Li et al. (Li et al., 2021) señalan que la magnitud del resistoma de la microbiota del infante se correlaciona con *E. coli* debido a su abundancia. Al igual que en el presente estudio, Bag et al. (2019) encontraron resistencia a cefotaxime y cefepime en la microbiota intestinal de personas adultas sanas, aunque en especies anaerobias (*P. copri* y *F. prausnitzii*). Los resultados son preocupantes debido al papel de *E. coli* en la transferencia horizontal de genes (Ramos et al., 2020; Moore et al., 2013) y al hecho de que algunos de estos antibióticos son prescritos cuando el paciente no responde al tratamiento antibiótico inicial.

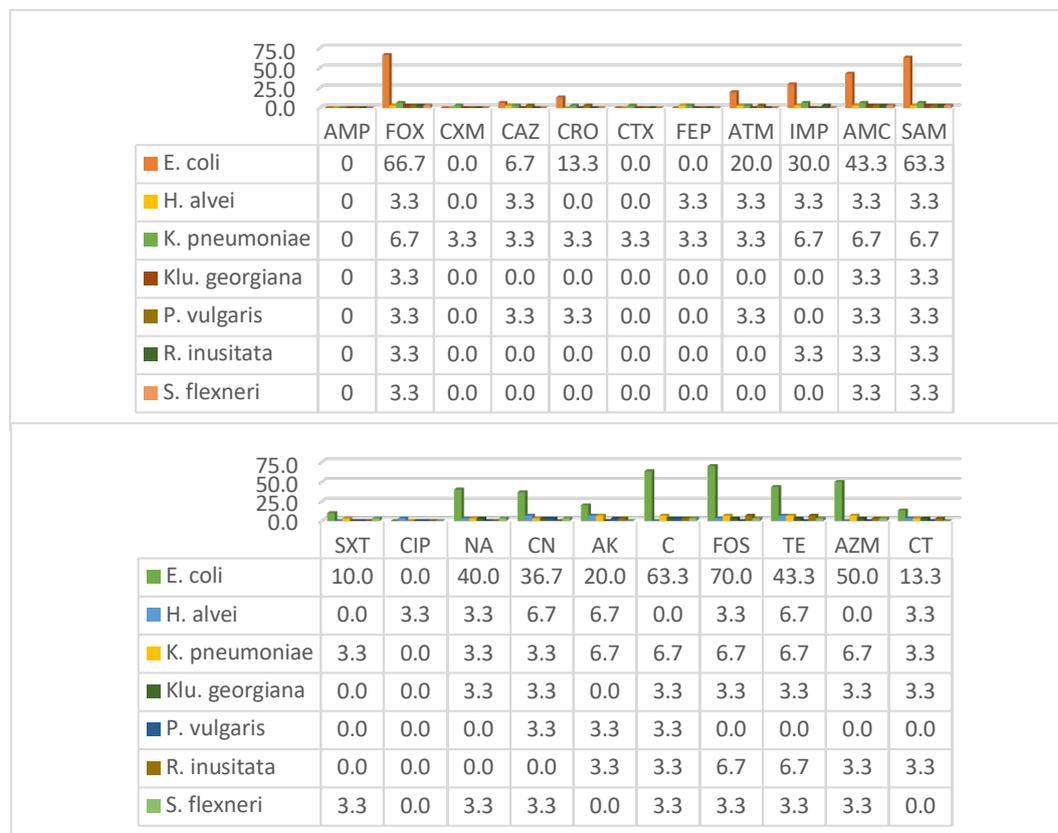


Figura 17. Patrón de sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de la microbiota intestinal de niños del distrito de Llapa, respecto a antibióticos BL (a) y NBL (b). Los nombres de los antibióticos se encuentran en la descripción de la Tabla 1

Análisis genotípico de la resistencia bacteriana

Quince aislamientos fueron seleccionados al azar para verificar la presencia o ausencia de tres genes de betalactamasas: bla^{TEM}, bla^{CTX-M} y bla^{SHV}. Las especies incluidas en el análisis genotípico fueron *E. coli*, con 12 aislamientos, y *H. alvei*, *P. vulgaris* y *S. flexneri*, con 1 aislamiento cada una (Anexo1). El gen bla^{CTX-M} fue el más frecuente, con 80 %, seguido de bla^{TEM}, con 33,3 % (Tabla 2).

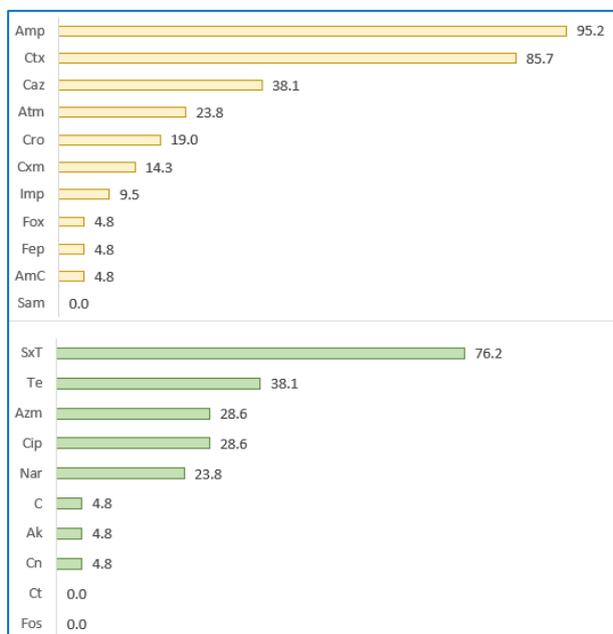


Figura 18. Patrón de resistencia a antibióticos BL (a) y NBL (b) en *E. coli* aislada de la microbiota intestinal de niños de Llapa. Los nombres de los antibióticos se encuentran en la descripción de la Tabla 1

Este porcentaje es sorprendentemente alto, considerando un origen no infeccioso de las muestras; incluso es mucho más alto que el detectado en un trabajo previo realizado con muestras de origen hospitalario (bla^{CTX-M} frecuencia= 26,7 %). Sin embargo, Llontop y colaboradores (Llontop & Hilario, 2021) reportaron que en muestras clínicas de unidades de cuidados intensivos en hospitales de Cajamarca bla^{CTX-M} y los otros dos genes presentaban frecuencias de alrededor de 90 %. Aunque existen diferencias en las frecuencias de estos genes entre poblaciones humanas diferentes, con patrones difíciles de establecer, bla^{CTX-M} puede ser uno de los genes codificantes de BLEE más frecuentes en enterobacterias asociadas a infecciones (Rossolini et al., 2008). Su alta frecuencia podría asociarse con la ausencia de sensibilidad de *E. coli* a cefotaxima y otros betalactámicos.

El genotipo más común fue +/-/-, para bla^{TEM}, bla^{CTX-M} y bla^{SHV}, respectivamente, con una frecuencia de 40 %; en *E. coli*, el 50 % de los aislamientos presentó este genotipo. Debido al bajo número de muestras analizadas, no se pudo establecer estadísticamente relaciones entre genotipos y fenotipos.

Tabla 1. Genotipo basado en genes de resistencia a antibióticos BL en la microbiota intestinal de niños de Llapa

Bacteria	bla ^{TEM}	bla ^{CTX-M}	bla ^{SHV}
<i>E. coli</i>	+	+	-
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>E. coli</i>	+	+	-
<i>E. coli</i>	+	+	-
<i>E. coli</i>	-	+	-
<i>E. coli</i>	-	+	-
<i>E. coli</i>	+	+	-
<i>E. coli</i>	-	-	+
<i>E. coli</i>	-	+	-
<i>E. coli</i>	-	+	-
<i>E. coli</i>	-	+	-
<i>H. alvei</i>	+	+	-
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-
<i>S. flexneri</i>	-	+	+
%	33,3	80,0	13,3
% en <i>E. coli</i>	33,3	83,3	8,3

Conclusiones

En la microbiota aislada a partir de heces de niños del distrito de Llapa – Cajamarca es frecuente encontrar bacterias resistentes a antibióticos, posiblemente debido a condiciones ambientales y al consumo de antibióticos. La sensibilidad a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y al ciprofloxacino fue poco frecuente, y la sensibilidad a ampicilina fue nula. Específicamente, la frecuencia de resistencia a ampicilina, cefotaxima y sulfametoxazol-trimetropima fue la más alta. Los patrones de resistencia antibiótica en la microbiota estudiada son modulados por la condición de sensibilidad/resistencia de *E. coli*. La alta frecuencia del gen bla^{CTX-M} concuerda, en parte, con los resultados fenotípicos de resistencia a betalactámicos. La resistencia antimicrobiana no solo está asociada a bacterias causantes de infecciones, sino que ahora es parte de la microbiota desde temprana edad.

Referencias

- Aira, A., Fehér, C., Rubio, E., & Soriano, A. (2019). The intestinal microbiota as a reservoir and a therapeutic target to fight multi-drug-resistant bacteria: A narrative review of the literature. *Infectious Diseases and Therapy*, *8*(4), 469–482. <https://doi.org/10.1007/s40121-019-0235-0>
- Aleem, M., Azeem, A. R., Rahmatullah, S., Vohra, S., Nasir, S., Andleeb, S., et al. (2021). Prevalence of bacteria and antimicrobial resistance genes in hospital water and surfaces. *Cureus*, *13*(10). <https://doi.org/10.7759/cureus.18414>
- Bag, S., Ghosh, T. S., Banerjee, S., Mehta, O., Verma, J., Dayal, M., et al. (2019). Molecular insights into antimicrobial resistance traits of commensal human gut microbiota. *Microbial Ecology*, *77*(2), 546–557. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1391-3>

- Crettels, L., Champon, L., Burlion, N., Delrée, E., Saegerman, C., & Thiry, D. (2023). Antimicrobial resistant *Escherichia coli* prevalence in freshwaters in Belgium and human exposure risk assessment. *Heliyon*, *9*(6), e16538. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16538>
- Ecker, L., Ruiz, J., Vargas, M., Del Valle, L. J., & Ochoa, T. J. (2016). Prevalencia de compra sin receta y recomendación de antibióticos para niños menores de 5 años en farmacias privadas de zonas periurbanas en Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *33*(2), 215–223. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.33.2.2103>
- Gallacher, D. J., Zhang, L., Aboklaish, A. F., Mitchell, E., Wach, R., Marchesi, J. R., et al. (2023). Baseline azithromycin resistance in the gut microbiota of preterm born infants. *Pediatric Research*, *1–8*. <https://doi.org/10.1038/s41574-023-00891-x>
- Gonzales-Rodríguez, A. O., Horna, J. I. C., & Escalante, E. G. (2023). Identificación de enterobacterias multirresistentes a antibióticos en muestras de heces de lactantes residentes en Talara, Piura, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *39*(4), 456–462. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.39.4.12808>
- Gosalbes, M. J., Vallès, Y., Jiménez-Hernández, N., Balle, C., Riva, P., Miravet-Verde, S., et al. (2016). High frequencies of antibiotic resistance genes in infants' meconium and early fecal samples. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, *7*(1), 35–44. <https://doi.org/10.1017/S2040174415001317>
- Li, X., Stokholm, J., Brejnrod, A., Vestergaard, G. A., Russel, J., Trivedi, U., et al. (2021). The infant gut resistome associates with *E. coli*, environmental exposures, gut microbiome maturity, and asthma-associated bacterial composition. *Cell Host & Microbe*, *29*(6), 975–987.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.04.010>
- Llontop Cornejo, V., & Hilario-Vargas, J. (2021). Genotipificación por PCR convencional de genes de resistencia en *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE aisladas de muestras clínicas del servicio de UCI de dos hospitales de Cajamarca. *Revista Ciencia y Tecnología*, *17*(3), 11–22. <https://doi.org/10.21830/rct.v17i3.228>
- Moore, A. M., Patel, S., Forsberg, K. J., Wang, B., Bentley, G., Razia, Y., et al. (2013). Pediatric fecal microbiota harbor diverse and novel antibiotic resistance genes. *PLoS One*, *8*(11), e78822. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078822>
- Osbiston, K., Oxbrough, A., & Fernández-Martínez, L. T. (2020). Antibiotic resistance levels in soils from urban and rural land uses in Great Britain. *Access Microbiology*, *3*(1), 000181. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000181>
- Perry, J., Waglechner, N., & Wright, G. (2016). The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *6*(6), a025197. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025197>

- Ramos, S., Silva, V., de Lurdes Enes Dapkevicius, M., Caniça, M., Tejedor-Junco, M. T., Igrejas, G., et al. (2020). *Escherichia coli* as commensal and pathogenic bacteria among food-producing animals: Health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. *Animals*, *10*(12), 2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>
- Ramos-Vivas, J. (2020). Microbiología de *Hafnia alvei*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *38*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.01.002>
- Rajaei, M., Moosavy, M. H., Gharajalar, S. N., & Khatibi, S. A. (2021). Antibiotic resistance in the pathogenic foodborne bacteria isolated from raw kebab and hamburger: Phenotypic and genotypic study. *BMC Microbiology*, *21*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02101-4>
- Rossolini, G. M., D'Andrea, M. M., & Mugnaioli, C. (2008). The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, *14*(Suppl. 1), 33–41. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.01972.x>
- Rojas-Adrianzén, C., Pereyra-Eliás, R., & Mayta-Tristán, P. (2018). Prevalencia y factores asociados a la compra de antimicrobianos sin receta médica, Perú 2016. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *35*(3), 400–408. <https://doi.org/10.17843/rpmpesp.35.3.3139>
- Sina, H., Dah-Nouvlessounon, D., Adjobimey, T., Boya, B., Dohoue, G. M. C., N'tcha, C., et al. (2022). Characteristics of *Escherichia coli* isolated from intestinal microbiota children of 0–5 years old in the commune of Abomey-Calavi. *Journal of Pathogens*, *2022*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2022/1236590>
- Udikovic-Kolic, N., Wichmann, F., Broderick, N. A., & Handelsman, J. (2014). Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(42), 15202–15207. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400038111>
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(17), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176218>
- Weill, F. X., Demartin, M., Tandé, D., Espié, E., Rakotoarivony, I., & Grimont, P. A. D. (2004). SHV-12-like extended-spectrum- β -lactamase-producing strains of *Salmonella enterica* serotypes Babelsberg and Enteritidis isolated in France among infants adopted from Mali. *Journal of Clinical Microbiology*, *42*(6), 2432–2437. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2432-2437.2004>
- World Health Organization. (2018). *WHO report on surveillance of antibiotic consumption* (Report No. 128). Recuperado el 20 de marzo de 2024, de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277359/9789241514880-eng.pdf>

Zhang, L., Kinkelaar, D., Huang, Y., Li, Y., Li, X., & Wang, H. H. (2011). Acquired antibiotic resistance: Are we born with it? *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(20), 7134–7141. <https://doi.org/10.1128/AEM.05147-11>