

REVISIÓN / REVIEW

RIESGOS ASOCIADOS CON LA PRESENCIA DE GENES DE RESISTENCIA A COMPUESTOS ANTIMICROBIANOS EN HORTALIZAS FERTILIZADAS CON ENMIENDAS DE CERDO

Risks associated with the presence of antimicrobial resistance genes in vegetables fertilized with pig manures

Natalia CORREA-CABRERA¹, Katherine GARCÍA², Felipe OLIVARES-VERA³, Alejandro ZÚÑIGA⁴, Francisco ALTIMIRAS⁵, Victor JAÑA⁶, Victor CASTRO⁶, Cecilia OPAZO^{6,7}, Miguel ÁVILA^{6,7}, Talía DEL POZO⁶ y Leonardo PAVEZ^{6,7*}

¹ Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias de Ingeniería y Tecnología, Universidad Mayor, Santiago, CP 8580745, Región Metropolitana. Chile.

² Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, CP 8910060, Región Metropolitana. Chile.

³ Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación la Platina, Santiago, CP 8831314, Región Metropolitana. Chile.

⁴ Departamento de Ciencias Humanas, Universidad Bernardo O'Higgins, Santiago, CP 8370854, Región Metropolitana. Chile.

⁵ Facultad de Ingeniería y Negocios, Universidad de Las Américas, Santiago, CP 7500972, Región Metropolitana. Chile.

⁶ Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de Las Américas, Santiago, CP 7500972, Región Metropolitana. Chile.

⁷ Núcleo de Investigaciones en Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de Las Américas, Santiago, CP 7500972, Región Metropolitana. Chile.

*Autor para correspondencia: leopavez@gmail.com

(Recibido: octubre 2023; aceptado: julio 2024)

Palabras clave: resistoma, contaminación de hortalizas, estiércol de cerdos, resistencia antimicrobiana.

RESUMEN

La producción intensiva de cerdos es un sistema para criar grandes cantidades de animales en instalaciones cerradas y controladas para maximizar el rendimiento y reducir los costos. Sin embargo, este enfoque ha sido criticado debido a preocupaciones sobre el bienestar animal, la sostenibilidad ambiental y el uso excesivo de antibióticos. Considerando la relevancia de este último punto, la presente revisión tuvo como objetivo evaluar la evidencia disponible sobre la presencia de genes de resistencia a compuestos antimicrobianos en cultivos de hortalizas destinadas al consumo humano, que fueron previamente fertilizadas con enmiendas de cerdo. Para ello, se analizó una selección de artículos científicos obtenidos de la base de datos “Web of Science”, los cuales proporcionaron información sobre quince especies vegetales examinadas y la presencia de genes de resistencia a antibióticos (GRA). Estos genes se clasificaron según la familia de antibióticos a los que presentan resistencia y el mecanismo de resistencia involucrado. Los análisis revelaron que las hortalizas *Brassica rapa* subsp. *chinensis* y *Allium tuberosum* exhibieron una mayor abundancia de genes de resistencia relacionados con diversas familias de antibióticos, identificándose un total de siete. En específico, los genes se asociaron principalmente con los grupos de las tetraciclinas, sulfonamidas, cloranfenicos, aminoglucósidos y betalactámicos. En cuanto a los mecanismos

de resistencia identificados prevaleció el de expulsión por bombas de eflujo. Estos resultados sugieren que el consumo de hortalizas fertilizadas con enmiendas de cerdo tiene el potencial de convertirse en una vía para la propagación de genes de resistencia a compuestos antimicrobianos, con el consiguiente riesgo potencial para la salud de los consumidores. En consecuencia, es crucial implementar medidas adecuadas de manejo y tratamiento de las enmiendas utilizadas en la agricultura, junto con regular el uso excesivo de antibióticos en la industria animal.

Key words: Resitome, vegetable contamination, pig manure, antimicrobial resistance.

ABSTRACT

Intensive pig production is a farming system aimed at raising large numbers of animals in enclosed and controlled facilities to maximize performance and reduce costs. However, this approach has been criticized due to concerns about animal welfare, environmental sustainability, and overuse of antibiotics. Considering the relevance of the latter, this bibliographic review aimed to evaluate the available evidence on antimicrobial resistance genes in vegetables intended for human consumption, which were previously fertilized with organic amendments from pig manure. For this purpose, a selection of scientific articles obtained from the “Web of Science” website was analyzed, which provided information on fifteen vegetables, and the presence of antibiotic resistance genes. These genes were classified according to the family of antibiotics to which they present resistance to, and the resistance mechanism involved. The analyses revealed that the vegetables *Brassica rapa* subsp. *chinensis* and *Allium tuberosum* showed a higher abundance of resistance genes related to various families of antibiotics, identifying a total of seven. In particular, the genes were mainly associated with the groups of tetracyclines, sulfonamides, chloramphenicols, aminoglycosides, and beta-lactams. Regarding the identified resistance mechanisms, the expulsion by efflux bombs were the most prevalent. These results suggest that the consumption of vegetables fertilized with organic amendments from pig manure could become a route for the propagation of antimicrobial resistance genes, representing a potential risk to consumer health. Consequently, it is crucial to implement adequate management and treatment measures for organic amendments used in agriculture, along with regulating the overuse of antibiotics in the animal industry.

INTRODUCCIÓN

Para cumplir con la creciente demanda mundial de carne de cerdo, es necesario un sistema de crianza de los animales en instalaciones intensivas, cerradas y controladas. Este tipo de procesos ha sido cuestionado debido a consideraciones éticas sobre el bienestar animal, la sostenibilidad ambiental y el uso excesivo de antibióticos (Kanis et al. 2003). Respecto a este último punto, si bien los antimicrobianos son esenciales para combatir enfermedades infecciosas, su uso indiscriminado en la producción intensiva animal es motivo de creciente preocupación (Ngangom et al. 2019). El problema radica en la baja absorción de los antibióticos en el intestino animal. Se estima que alrededor del 10 al 90 % son liberados a través de la orina y las heces en una forma estable

(Zaffar 2017) creando nuevas formas de resistencia antimicrobiana, tales como bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) y los genes de resistencia a los antibióticos (Zalewska et al. 2021). Los antibióticos utilizados más frecuentemente incluyen a las tetraciclinas, penicilinas y macrólidos (Zhao et al. 2010). Las tetraciclinas son antibióticos que impiden la producción de proteínas en las bacterias al unirse a la subunidad 30S del ribosoma, impidiendo la síntesis proteica. Las penicilinas, en contraste, afectan la formación de la pared celular al bloquear enzimas esenciales de esta, lo que conduce a la lisis y muerte bacteriana. Los macrólidos actúan de manera similar a las tetraciclinas, bloqueando la síntesis proteica al unirse a la subunidad 50S del ribosoma, frenando el crecimiento y la reproducción bacteriana (Uddin et al. 2021).

Existen dos formas principales de resistencia a los antimicrobianos (RAM): la resistencia natural que puede ser innata o mediada por genes, y la resistencia adquirida, originada por la adquisición de material genético o mutaciones en el ADN bacteriano (Kaviani Rad et al. 2022). Los mecanismos de la RAM se pueden categorizar en cuatro tipos: limitación de la captación del fármaco; modificación del blanco del fármaco; inactivación del fármaco y flujo del fármaco (Kapoor et al. 2017).

Debido a diferencias estructurales, las bacterias Gram negativas pueden emplear los cuatro mecanismos de resistencia, mientras que las Gram positivas tienden a usar menos la limitación de captación del fármaco y el flujo del mismo a causa de la ausencia de lipopolisacáridos en su membrana externa (Culyba et al. 2015). Así, la aplicación frecuente de antibióticos utilizados en la industria porcina, causa una presión de selección en las bacterias de la microbiota de los cerdos, favoreciendo la adquisición de GRA. A su vez, son estas mismas nuevas bacterias resistentes las que facilitan la dispersión y el aumento de la resistencia a través de la transferencia horizontal de genes, proceso en el cual elementos genéticos móviles (EGM) transfieren genes entre bacterias resistentes a bacterias que no lo son (Sultan et al. 2018). Como parte de los antimicrobianos ingeridos por los animales no se metabolizan, se terminan concentrando en las heces (Álvarez et al. 2010). De esta forma, el estiércol animal y sus productos se han convertido en importantes reservorios de genes de resistencia debido al uso excesivo de antibióticos en la industria animal (Zhu et al. 2013). En otro orden, estas heces son consideradas un subproducto de la actividad agropecuaria y su reutilización contribuye además al uso eficiente del carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y otros nutrientes. Las enmiendas aportan nutrientes esenciales a los suelos agrícolas (Hizel and Salazar 2016), aumentan la fertilidad del suelo, mejoran la productividad de los cultivos y reducen la contaminación ambiental. Son enmiendas efectivas que favorecen la producción de hortalizas que además son utilizadas para mejorar la calidad del suelo y proporcionar nutrientes para el crecimiento vegetal a un costo relativamente bajo. Sin embargo, después de la aplicación de abonos animales ricos en GRA, se ha observado que el nivel de bacterias con resistencia a los antibióticos aumenta en el suelo y, por lo tanto, su uso presenta riesgos para la salud humana, ya que las plantas podrían incorporarlos (Chen et al. 2019), transformándose en una vía de diseminación de GRA a través del consumo, en especial para el caso de hortalizas que son ingeridas crudas (Chen et al. 2019). Así, los GRA constituyen contaminantes

emergentes tanto para el ambiente como para la salud humana (Engemann et al. 2008). Por otro lado, algunas investigaciones sugieren que, durante el proceso de descomposición y degradación de las enmiendas, es posible que las bacterias resistentes a los antibióticos pierdan su capacidad de sobrevivir en el suelo (Chee-Sanford et al. 2009). Además, la persistencia real de éstas en el suelo podría depender de diversos factores ambientales, tales como la temperatura, la humedad y la presencia de otros microorganismos competidores (Jamieson et al. 2002).

A la luz de estos antecedentes, el objetivo de esta revisión bibliográfica fue establecer si existe una correlación positiva entre el uso de enmiendas de cerdo y la presencia de GRA en cultivos de hortalizas destinadas al consumo humano. Para ello realizamos una extensa revisión de los artículos que reportan el uso de enmiendas, presencia de GRA y cultivo de especies vegetales. La cuantificación de la abundancia relativa (presencia) de GRA en quince cultivos, permitió evidenciar que el uso de enmiendas de cerdo constituye una ruta funcional para la propagación de mecanismos de resistencia antimicrobiana hacia las plantas y enfatiza, una vez más, la necesidad de poner atención en mecanismos efectivos de control y uso regulado de los antibióticos en la producción animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estrategia de búsqueda

Se realizó una revisión sistemática de artículos científicos publicados hasta el 18 de mayo de 2021, utilizando como bases de datos los sitios web Web of Science (WoS), Pubmed y Scopus, en donde se buscaron los términos: *pig manure*, *vegetables*, *antimicrobial resistance genes*, *compost*, *horizontal gene transfer* y *animal manure*, y también su traducción al español con el operador booleano “AND” en combinaciones de tres términos entre los años 2000 al 2021. Los artículos seleccionados fueron tabulados utilizando la herramienta Excel de Microsoft Office (**Cuadro I**).

Criterios de inclusión

Se incluyeron las publicaciones donde se describen y cuantifican genes de resistencia a antimicrobianos presentes en cultivos de hortalizas fertilizadas con enmiendas de cerdo.

Criterios de exclusión

Se utilizó como criterio de exclusión la ausencia de genes de resistencia a antibióticos en cultivos de hortalizas en los estudios.

CUADRO I. NÚMERO DE ARTÍCULOS ENCONTRADOS EN LAS BASES DE DATOS UTILIZANDO DOS TÉRMINOS CLAVE Y EL OPERADOR BOOLEANO “AND”, LOS TÉRMINOS BUSCADOS FUERON LOS SIGUIENTES: ESTIÉRCOL DE CERDO (PIG MANURE), HORTALIZAS (VEGETABLES), GENES DE RESISTENCIA AANTIMICROBIANOS (ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES), COMPOST, TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE GENES (HORIZONTAL GENE TRANSFER) Y ESTIÉRCOL ANIMAL (ANIMAL MANURE).

	Pig Manure	Vegetables	Antimicrobial Resistance Genes	Compost	Horizontal Gene Transfer	Horizontal Gene Transfer
Pig Manure		271	95	1322	29	1495
Vegetables			246	1713	48	341
Antimicrobial Resistance Genes				61	1341	215
Compost					27	1210
Horizontal Gene Transfer						47
Animal Manure						

RESULTADOS

Al utilizar el término booleano “AND” para cada combinación de dos términos de palabras clave, obtuvimos la cantidad de 8461 artículos, el **cuadro I** resume el número de artículos identificados para cada combinación de términos. Así, es posible observar que los términos “*Compost*” AND “*Hortalizas*” (“*Vegetables*”) detectaron la mayor cantidad de publicaciones, en este caso 1713 artículos (**Cuadro I**)

y por otro lado, la combinatoria de “Transferencia horizontal de genes” (*Horizontal gene transfer*) más “*Compost*” arrojó la menor cantidad de artículos (27) como se observa en el **cuadro I**.

Para hacer más específica la búsqueda, se agregó una tercera palabra clave, generando una combinación de tres términos usando el operador booleano “AND”, los artículos identificados están resumidos en el **cuadro II**, donde se muestra la cantidad de artículos encontrados para cada combinación de palabras clave.

CUADRO II. NÚMERO DE ARTÍCULOS ENCONTRADOS EN LAS BASES DE DATOS UTILIZANDO TRES TÉRMINOS CLAVE Y EL OPERADOR BOOLEANO “AND”, LOS TÉRMINOS BUSCADOS FUERON LOS SIGUIENTES: ESTIÉRCOL DE CERCO (PIG MANURE), HORTALIZAS (VEGETABLES), GENES DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS (ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES), COMPOST, TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE GENES (HORIZONTAL GENE TRANSFER) Y ESTIÉRCOLANIMAL (ANIMAL MANURE).

Términos claves utilizados con el operador booleano ‘AND’	N.º de artículos
Pig manure AND Vegetables AND Antimicrobial resistance genes	5
Pig manure AND Vegetables AND Compost	49
Pig manure AND Vegetables AND Horizontal gene transfer	1
Pig manure AND Vegetables AND Animal manure	41
Pig manure AND Antimicrobial resistance genes AND Compost	4
Pig manure AND Antimicrobial resistance genes AND horizontal gene transfer	11
Pig manure AND Antimicrobial resistance genes AND Animal manure	50
Pig manure AND Compost AND Horizontal gene transfer	3
Pig manure AND Compost AND Animal manure	197
Pig manure AND Horizontal gene transfer AND Animal manure	11
Vegetables AND Antimicrobial resistance genes AND Compost	8
Vegetables AND Antimicrobial resistance genes AND Horizontal gene transfer	12
Vegetables AND Antimicrobial resistance genes AND Animal manure	15
Vegetables AND Compost AND Horizontal gene transfer	3
Vegetables AND Compost AND Animal manure	83
Vegetables AND Horizontal gene transfer AND Animal manure	3
Antimicrobial resistance genes AND Compost AND Horizontal gene transfer	3
Antimicrobial resistance genes AND Compost AND Animal manure	20
Antimicrobial resistance genes AND Horizontal gene transfer AND Animal manure	27

Se realizó una revisión crítica de los artículos y fueron excluidos aquellos que no contenían información sobre GRA en hortalizas enmendadas con estiércol de cerdo y aquellos artículos de segunda fuente (revisiones). Con base en estos filtros (**Fig. 1**), se realizó el análisis sobre la base de seis artículos en particular.

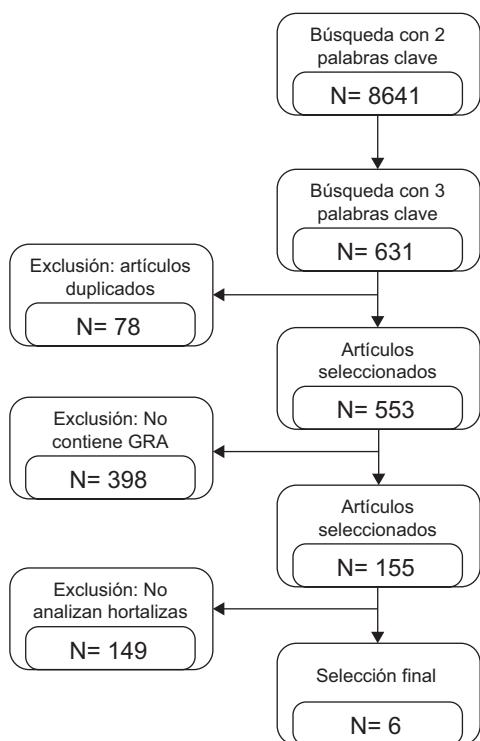


Fig. 1. Diagrama de flujo del proceso de búsqueda y selección de artículos. Se realizó una búsqueda con dos y tres términos clave en las diferentes bases de datos, posteriormente se excluyeron los artículos duplicados, los que no contenían genes de resistencia a antibióticos y también aquellos que no analizaban hortalizas, finalmente seis artículos fueron seleccionados para la revisión final.

Para extraer y sistematizar los datos de los artículos seleccionados, la información se organizó en columnas que se muestran en el **cuadro III**. En él se describe el año de publicación de los artículos, autores, identificador de objetos digitales (DOI, por su sigla en inglés), el país en donde se realizó el estudio, las especies vegetales analizadas, el microorganismo patógeno, los genes de resistencias encontrados en cada variedad, y por último, la familia de antibióticos respecto de los cuales se generan las resistencias.

Todos los artículos relevantes fueron revisados y resumidos utilizando una tabla de extracción de datos estandarizada en una hoja de cálculo de Excel.

Se identificaron 15 especies vegetales que contienen GRA, a saber: *Brassica rapa* (BR); *Lactuca sativa* (LS); *Allium tuberosum* (AT); *Brassica napus* (BN); *Brassica oleracea* (BO) var. *capitata rubra*; *Phaseolus vulgaris* (PV); *Phaseolus vulgaris* L. var. *vulgaris* (PVv); *Cucumis melo* (CM); *Cucumis sativus* (CS); *Solanum lycopersicum* (SL); *Brassica pekinensis* (BP); *Daucus carota* (DC); *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (SLc); *Allium fistulosum* (AF) e *Ipomoea aquatica* (AI).

Por su parte, los GRA encontrados en las especies precedentes se asociaron a las siguientes familias de antibióticos: aminoglucósidos, betalactámicos, fenicoles, glicopéptidos, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, colistinas y macrólidos (**Fig. 2**).

En la **figura 2** podemos observar una distribución homogénea de las familias de antibióticos en las diferentes especies vegetales. Con todo, las familias con mayor presencia son las tetraciclinas, sulfonamidas y los betalactámicos. Por otro lado, tanto *Brassica rapa* subsp. *chinensis* (BR) como *Allium tuberosum* (AT) son las especies con mayor presencia de familias de antibióticos, encontrando siete de estos en sus raíces.

A su vez, la mayoría de los cultivos presenta genes de más de cinco familias, las cuales están estrechamente relacionadas con los antibióticos utilizados en la industria porcina como betalactámicos y cloranfénicoles. Para mejorar la caracterización de los GRA detectados en cada especie vegetal, cada uno de éstos fue clasificado de acuerdo con los mecanismos de resistencia descritos que otorgan a las bacterias. Para esto nos basamos en la anotación del gen para el que codifican, y esto se ilustra en la **figura 3**.

En efecto, la expulsión por bombas de eflujo es el mecanismo de resistencia común presente entre todos los genes de resistencia encontrados (**Fig. 3**). Además, el bloqueo de transporte, producción de vías alternas y la modificación enzimática son los otros mecanismos identificados, siendo este último el que se encuentra representado en la mayoría de los cultivos. Cabe destacar que los GRA detectados en *Lactuca sativa* (LS) presentan un único mecanismo de resistencia, mientras que en los otros cultivos, se detectaron GRA con cuatro o más mecanismos de resistencia.

DISCUSIÓN

Los cultivos agrícolas son probablemente una ruta importante para la diseminación de la denominada resistencia a los antibióticos, ya que las plantas son capaces de absorber antibióticos y GRA desde el suelo que ha recibido enmiendas. El tracto digestivo

CUADRO III. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS INCLUIDOS EN LA REVISIÓN DE LITERATURA QUE REPORTAN LA PRESENCIA DE GENES DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN CULTIVOS DE HORTALIZAS ENMENDADAS CON ABONOS PORCINOS.

Año ¹	Ref. ²	DOI ³	País ⁴	Hortaliza ⁵	Microorganismo(s) identificado(s) ⁶	Genes de Resistencia a Antimicrobianos ⁷	Familia de antibióticos ⁸
2019	Pu et al.	10.1016/j.scitenv.2019.06.081	China	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>chinensis</i>	Terrisporobacter	tetO, tetW, ermB, mexF, vgb, vanSC,	Aminoglucósidos, Betalactámicos, Glucopéptidos, Sulfonamidas, Tetraclinas, Quinolonas, Macrólidos, complejo MLSB
2019	Zhou et al.	10.1007/s11270-019-4113-1	China	<i>Lactuca sativa</i>	Bacterias endófitas	qnrB, qnrS, qepA, aac(6')-Ib, oqxB	Quinolonas
2018	Pu et al.	10.1016/j.jhazmat.2017.10.031	China	<i>Allium tuberosum</i>	Endobacterias y e bacteroides	sul2, dfrA1, strB, aadA5, tetR, blaOXA1, catB8, blaOXA10, ermX, tetA, aac(6')-Ib, aac(6')-II, aphaA1, catB3, Imub, ereA, matA/mel, cm1A1, aadA9, cmx(A), aacC2, tetT, tetQ, tetX, ermB, tet(32), aphaA3, tetW, tetM, flor, aadA, aadA1, aadA2, sat4, tetG, qacE1, ermF, tetH, ereB, tetL, aadD, aph(2')-IId, ermA, blaTEM, mexF, imiR, vatE	Aminoglucósidos, Betalactámicos, Cloranfénicos, Macrólidos, Quinolonas, Sulfonamidas, Tetracíclica
				<i>Brassica napus</i>			
				<i>Brassica oleracea</i> var: <i>capitata f. rubra</i>			
				<i>Phaseolus vulgaris</i>			
				<i>Phaseolus vulgaris</i> L. var: <i>vulgaris</i>	<i>Escherichia coli</i>	blaCMY, blaTEM, terZABCDE, terABC, terBCD	Aminoglucósidos, Betalactámicos, Cloranfénicos, Macrólidos, Quinolonas, Sulfonamidas, Tetracíclica
				<i>Cucumis melo</i>			
				<i>Cucumis sativus</i>			
				<i>Solanum lycopersicum</i> ,			
				<i>Brassica pekinensis</i> .			
				<i>Lactuca sativa</i>			
				<i>Nasturtium officinale</i>			
				<i>Daucus carota</i>			
				<i>subspecie sativus.</i>			
				<i>Solanum lycopersicum</i> ,..			
				<i>Solanum lycopersicum</i> var: <i>cerasiforme</i>			
				<i>Allium fistulosum</i> .			
				<i>Ipomoea aquatica</i>			
2019	Xiong et al.	10.1016/j.foodcont.2019.05.004	China		NA	tetA, aadA, aph-1, florR, sulI, intI1, qacE, sullII, tetB, tetM, cm1A, ermB	sulfonamidas
2016	He et al.	10.1016/j.environ.2016.03.023	China		NA	emrE, emrC, tetA, tetB, tetH, tetT, tetX, florR, fexA, sulI, sul3, cm1A	Aminoglucósidos, Betalactámicos, Anfénicos, Sulfonamidas, Tetraclinas

Año¹ Año de publicación del artículo, Ref² Cita de cada artículo seleccionado, DOI³ Identificador de objetos digitales, País⁴ País donde se realizó el estudio, Hortaliza⁵ vegetal donde se detectaron los GRAs, Microorganismo(s) identificado(s)⁶, Genes de Resistencia a Antimicrobianos⁷ Anotación de los GRAs detectados, Familia de antibióticos⁸ Familia de antibióticos para la que se tiene resistencia.

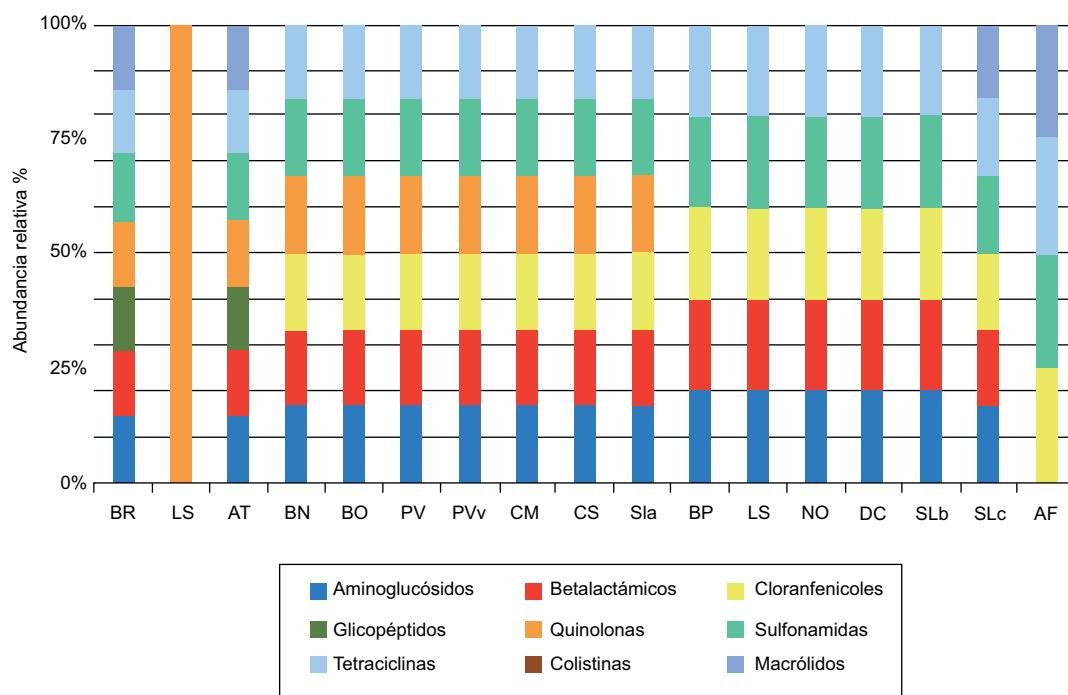


Fig. 2. Familias de antibióticos representadas por especie vegetal. Se realizó un conteo manual de los GRA detectados para cada especie y se clasificaron de acuerdo con la familia de antibióticos que presentan resistencia. *Brassica rapa* (BR); *Lactuca sativa* (LS); *Allium tuberosum* (AT); *Brassica napus* (BN); *Brassica oleracea* (BO) var. *capitata rubra*; *Phaseolus vulgaris* (PV); *Phaseolus vulgaris L.* var. *vulgaris* (PVv); *Cucumis melo* (CM); *Cucumis sativus* (CS); *Solanum lycopersicum* (SL); *Brassica pekinensis* (BP); *Daucus carota* (DC); *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (SLc); *Allium fistulosum* (AF) e *Ipomoea aquatica* (AI).

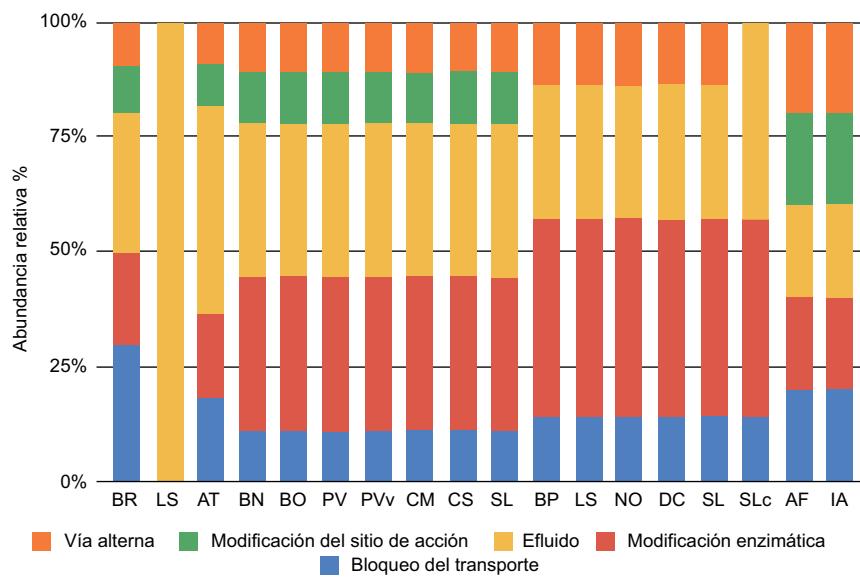


Fig. 3. Abundancia de los mecanismos de resistencia encontrados en los diferentes genes de resistencia presentes en las hortalizas analizadas. *Brassica rapa* (BR); *Lactuca sativa* (LS); *Allium tuberosum* (AT); *Brassica napus* (BN); *Brassica oleracea* (BO) var. *capitata rubra*; *Phaseolus vulgaris* (PV); *Phaseolus vulgaris L.* var. *vulgaris* (PVv); *Cucumis melo* (CM); *Cucumis sativus* (CS); *Solanum lycopersicum* (SL); *Brassica pekinensis* (BP); *Daucus carota* (DC); *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (SLc); *Allium fistulosum* (AF) e *Ipomoea aquatica* (AI).

humano reúne condiciones ideales para favorecer una concentración extremadamente alta de microorganismos, en donde uno de los principales factores de adaptación radica en la transferencia horizontal de genes (Huddleston 2014, Lerner et al. 2017). Considerando que los productos frescos fertilizados con estas enmiendas a menudo se consumen crudos, su ingestión podría dar lugar a la presencia de bacterias resistentes y suponer una amenaza para la salud humana (Chen et al. 2019). También es necesario señalar que existen antecedentes de posibles casos de transferencia lateral de genes entre comunidades bacterianas y células somáticas humanas y se ha llegado incluso a señalar que la integración de genes bacterianos en células de ciertos tejidos podría tener un rol en la carcinogénesis (Riley et al. 2013, Akimova et al. 2022). Por esta razón, no resulta aventurado considerar la posibilidad de que, a lo largo de su paso por el tracto digestivo, el consumo de hortalizas fertilizadas con estiércol pueda estar favoreciendo la incorporación de GRA tanto en microorganismos presentes en el microbioma como en células humanas no germinales.

Desde 1998, el foro internacional de la Asamblea Mundial de la Salud comenzó un debate sobre planes de optimización para el uso de antibióticos en la producción de carne (da Silva et al. 2020) con el objetivo de disminuir las bacterias resistentes a los antibióticos y dispersión de los GRA. En el 2022, 86 países han aprobado planes de acción nacionales sobre la resistencia a los compuestos antimicrobianos, lo que representa el 44 % de los 194 países del mundo (Willemsen et al. 2022). La legislación de los países sudamericanos avanza hacia los objetivos fijados por los organismos multilaterales de la ONU; por ejemplo, algunos no permiten el uso de antibióticos como promotores del crecimiento. Sin embargo es necesario seguir avanzando en aspectos relacionados al uso, distribución y eliminación de antibióticos y de esta manera acercarse a normas propuestas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (da Silva et al. 2023).

El análisis realizado en este trabajo demostró que los GRA encontrados en las hortalizas cultivadas en suelos enmendados con estiércol de cerdo están principalmente asociados a grupos de antibióticos tales como las tetraciclinas, sulfonamidas, cloranfenicos, aminoglucósidos y betalactámicos. Estos antibióticos son de uso frecuente en la industria porcina para tratar enfermedades, pero su excesivo uso podría promover el desarrollo de bacterias resistentes en el ambiente (Culyba et al. 2015). Tomando en cuenta

que probablemente se seguirá utilizando enmiendas de animales en la agricultura, se hace necesario identificar estrategias para disminuir la concentración de GRA en las enmiendas preparadas con estiércoles de animales. Por ejemplo, controlar las condiciones del compostaje o modificar las técnicas de estabilización podrían ser medidas efectivas para evitar el daño ambiental y a la salud humana.

Dentro de estas técnicas de compostaje se encuentra el vermicompostaje, que utiliza lombrices de tierra para estabilizar los residuos. Mediante este proceso, las lombrices convierten la materia orgánica en un producto estabilizado tanto nutricional como bioquímicamente (Aira y Domínguez 2009). El vermicompostaje ha sido objeto de estudio para compostar las enmiendas de cerdo, ya que los procesos intestinales de estas lombrices podrían proporcionar una alternativa sostenible para controlar los genes de resistencia dada su capacidad para reducir significativamente el número y la abundancia relativa de GRA en la vermicomposta. Algunas especies que podrían ser utilizadas como biorremediadores son *Eisenia andrei*, *Amyntas robustus* y *Amyntas hupeiensis* (Zhu et al. 2021). Otra técnica para disminuir la presencia de genes de resistencia en los suelos de cultivo es incluir biorreactores desnitrificantes de aserrín, que si bien se han diseñado para mitigar la escorrentía de nitrógeno, se ha demostrado que también pueden retener entre 70 a 90 % de algunos antibióticos transmitidos por el estiércol (Zhang et al. 2019). Además, se requiere mayor estudio para entender el efecto de la rizósfera y su potencial como receptor de genes de resistencia, así como las apariciones de resistencias, vías de transferencia, condiciones de atenuación y los mecanismos subyacentes que las fomentan (Lima et al. 2020, Oliver et al. 2020). Otros investigadores han abordado el uso de aditivos como zeolita, superfosfato de calcio y sulfato ferroso, los cuales fueron evaluados para analizar sus efectos en el compostaje de estiércol de pollo, especialmente en la disminución de los GRA y en las comunidades bacterianas presentes (Peng et al. 2018). Después del proceso de compostaje se han observado reducciones significativas de los GRA en el estiércol: un 86.5 % para zeolita, un 68.6 % para superfosfato y un 72.2 % para la combinación de zeolita con sulfato ferroso, siendo la zeolita un aditivo prometedor, al lograr el mayor porcentaje de reducción de GRA, además se demostró que impidió la recuperación de los GRA en los días posteriores al compostaje (Peng et al. 2018). Estos antecedentes sugieren que el uso de aditivos adecuados en el compostaje de estiércol puede ser una estrategia efectiva para mitigar el

riesgo de propagación de la resistencia a los antibióticos y promover una gestión más responsable y sostenible de los desechos orgánicos. Adicionalmente, la adición de agentes de carga es común durante el compostaje de estiércol animal, ya que ajusta la humedad y la proporción de carbono/nitrógeno del estiércol a una condición óptima para el compostaje, lo que generalmente provoca un rápido aumento de la temperatura del compost (Zhang et al. 2019). Como la mayoría de los antibióticos son inestables en condiciones termofílicas, sobre 60 °C (Mitchell et al. 2015, Zhang et al. 2019), la inclusión de un agente de carga durante el proceso de compostaje podría ser un método para potenciar la descomposición de antibióticos y frenar la propagación de GRA en el estiércol. Esta estrategia aprovecha el aumento o retención de temperaturas elevadas, lo cual contribuye a la descomposición efectiva de antibióticos y a la eliminación de GRA durante el compostaje (Li et al. 2017). Los agentes de carga pueden ser de distinto origen y generalmente son residuos agrícolas debido a su bajo costo y la necesidad de reciclaje, como por ejemplo paja de arroz, carbón vegetal o barro rojo. En el estudio de Zhang et al. (2019) se utilizó aserrín, cáscara de arroz y residuos de hongos como agentes de carga durante el compostaje de estiércol de cerdo evaluando su potencial para mejorar la eliminación de antibióticos y GRA en condiciones de temperatura de 30 °C de manera constante. Los resultados indicaron que la adición de todos los agentes de carga de abono aumentó la eliminación de antibióticos con tasas crecientes de 14.9 % a 33.4 % en el estiércol de cerdo. Entre las tres opciones analizadas, el aserrín resultó ser el mejor aditivo para la eliminación de antibióticos y el control de la diseminación de GRA en estiércol de cerdo, ya que puede promover la degradación de antibióticos a través del aumento en el número de proteobacterias, como por ejemplo Xanthomonadaceae. Una estrategia de manejo integral de los GRA en el estiércol que involucre tanto la digestión anaeróbica como el compostaje aeróbico podrían ser eficientes para reducir los residuos de antibióticos y los GRA en los productos a base de estiércol, antes de su uso en el suelo (Sun et al. 2016, Lu y Lu 2019).

Adicionalmente, la digestión anaeróbica termofílica puede ser muy eficaz para eliminar varios genes de resistencia a los antibióticos, lo que debería conducir a una disminución sustancial del número de bacterias resistentes que se introducen en el ambiente (Diehl y LaPara 2010). Otros estudios han demostrado que el tiempo de tratamiento y la temperatura son factores claves que influyen en la abundancia de

GRA durante la digestión de residuos orgánicos, por lo que se podría proponer un tiempo de compostaje de 30 días a temperaturas de 50 °C con un contenido de humedad al 50 % y un pH = 9.0 como factores fundamentales para disminuir la concentración de los GRA (Peak et al. 2007). Por otro lado, algunos estudios indican que la luz es beneficiosa para eliminar GRA (Engemann et al. 2008, Peak et al. 2010) existiendo algunos fotosensibilizadores naturales en el ambiente, como la materia orgánica disuelta y las porfirinas. Cuando éstas absorben la luz, producen oxígeno singlete con un fuerte poder de oxidación para promover la conversión de los antibióticos, lo que favorece la mitigación de los GRA (Lu y Lu 2019). En efecto, estas estrategias en conjunto y los biorreactores mencionados anteriormente, aditivos y agentes de cargas, podrían ser una forma de mitigar eficazmente la presencia de GRA y antibióticos en el estiércol porcino (Lu y Lu 2019). De todas formas, es necesario conocer los patrones de resistencia antimicrobiana del suelo y localidad antes de elegir qué técnica de compostaje utilizar. Las eficiencias de eliminación de los GRA en el estiércol varían notablemente entre los diferentes abonos animales, los diferentes procesos de tratamiento e incluso los diferentes sitios. Esto es especialmente evidente en casos como el estiércol de gallinas, que puede tener 10 veces más fluroquinolonas que el estiércol de vacas (Zhao et al. 2010, Zhu et al. 2013).

Finalmente, un monitoreo y análisis efectivo de las enmiendas puede llevarse a cabo mediante pruebas de PCR, que identifican fragmentos de genes sin depender de la viabilidad del hospedero o la funcionalidad del gen en ese hospedero. Este enfoque es beneficioso para investigar la resistencia a los antibióticos, ya que se centra en el genotipo, susceptible de ser compartido entre bacterias a través de la transferencia lateral de genes. Sin embargo, esta transferencia puede ser problemática si afecta a bacterias patogénicas (Diehl y LaPara 2010).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de ANID fondecyt #3130660 a LP y a los Fondos Internos UDLA DI- 23/23 a LP y DI- 40/23 a TDP.

REFERENCIAS

Aira M. y Domínguez J. (2009). Microbial and nutrient stabilization of two animal manures after the

- transit through the gut of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). Journal of Hazardous Materials 161 (2-3), 1234-1238. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.073>
- Akimova E., Gassner F. J., Greil R., Zaborsky N. y Geisberger R. (2022). Detecting bacterial-human lateral gene transfer in chronic lymphocytic leukemia. International Journal of Molecular Sciences 23 (3), 1094. <https://doi.org/10.3390/ijms23031094>
- Álvarez J. A., Otero L., Lema J. M. y Omil F. (2010). The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. Bioresource Technology 101 (22), 8581-8586. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.075>
- Chee-Sanford J. C., Mackie R. I., Koike S., Krapac I. G., Lin Y. F., Yannarell A. C., Maxwell S. y Aminov R. I. (2009). Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste. Journal of Environmental Quality 38 (3), 1086-1108. <https://doi.org/10.2134/jeq2008.0128>
- Chen Q. L., Cui H. L., Su J. Q., Penuelas J. y Zhu Y. G. (2019). Antibiotic resistomes in plant microbiomes. Trends in Plant Science 24 (6), 530-541. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.02.010>
- Culyba M. J., Mo C. Y. y Kohli R. M. (2015). Targets for combating the evolution of acquired antibiotic resistance. Biochemistry 54 (23), 3573-3582. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00109>
- Silva R. A. D., Oliveira B. N. L. D., Silva L. P. A. D., Oliveira M. A. y Chaves G. C. (2020). Resistência a antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. Saúde em Debate 44, 607-623.
- da Silva R. A., Arenas N. E., Luiza V. L., Bermudez J. A. Z. y Clarke S. E. (2023). Regulations on the use of antibiotics in livestock production in South America: A comparative literature analysis. Antibiotics 12 (8), 1303. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081303>
- Diehl D. L. y LaPara T. M. (2010). Effect of temperature on the fate of genes encoding tetracycline resistance and the integrase of class 1 integrons within anaerobic and aerobic digesters treating municipal wastewater solids. Environmental Science and Technology 44 (23), 9128-9133. <https://doi.org/10.1021/es102765a>
- Engemann C. A., Keen P. L., Knapp C. W., Hall K. J. y Graham D. W. (2008). Fate of tetracycline resistance genes in aquatic systems: Migration from the water column to peripheral biofilms. Environmental Science and Technology 42 (14), 5131-5136. <https://doi.org/10.1021/es800238e>
- Hirzel C. y Salazar F. (2016). Guía de manejo y buenas prácticas de aplicación de enmiendas orgánicas en agricultura. 1a. ed., Boletín INIA, Chillán, Chile, 325 pp.
- Huddleston J. R. (2014). Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: Potential spread of antibiotic resistance genes. Infection and Drug Resistance 167-176. <https://doi.org/10.2147/IDR.S48820>
- Jamieson R. C., Gordon R. J., Sharples K. E., Stratton G. W. y Madani A. (2002). Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: A review. Canadian Biosystems Engineering 44 (1), 1-9.
- Kanis E., Groen A. F. y De Greef K. H. (2003). Societal concerns about pork and pork production and their relationships to the production system. Journal of Agricultural and Environmental Ethics 16, 137-162. <https://doi.org/10.1023/A:1022985913847>
- Kaviani Rad A., Balasundram S. K., Azizi S., Afsharyzad Y., Zarei M., Etesami H. y Shamshiri R. R. (2022). An overview of antibiotic resistance and abiotic stresses affecting antimicrobial resistance in agricultural soils. International Journal of Environmental Research and Public Health 19 (8), 4666. <https://doi.org/10.3390/ijerph19084666>
- Kapoor G., Saigal S. y Elongavan A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology 33 (3), 300. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15
- Lerner A., Matthias T. y Aminov R. (2017). Potential effects of horizontal gene exchange in the human gut. Frontiers in Immunology 8, 1630. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01630>
- Li J., Xin Z., Zhang Y., Chen J., Yan J., Li H. y Hu H. (2017). Long-term manure application increased the levels of antibiotics and antibiotic resistance genes in a greenhouse soil. Applied Soil Ecology 121, 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.10.007>
- Lima T., Domingues S. y Da Silva G. J. (2020). Manure as a potential hotspot for antibiotic resistance dissemination by horizontal gene transfer events. Veterinary Sciences 7 (3), 110. <https://doi.org/10.3390/vetsci7030110>
- Lu X. M. y Lu P. Z. (2019). Synergistic effects of key parameters on the fate of antibiotic resistance genes during swine manure composting. Environmental Pollution 252, 1277-1287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.073>
- Mitchell S. M., Ullman J. L., Bary A., Cogger C. G., Teel A. L. y Watts R. J. (2015). Antibiotic degradation during thermophilic composting. Water, Air, and Soil Pollution 226, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2288-z>
- Ngangom B. L., Tamunoh S. S. A. y Boyom F. F. (2019). Antibiotic residues in food animals: Public health concern. Acta Ecologica Sinica 39 (5), 411-415. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.10.004>

- Oliver J. P., Gooch C. A., Lansing S., Schueler J., Hurst J. J., Sassoubre L., Crossette E. M. y Aga D. S. (2020). Invited review: Fate of antibiotic residues, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes in US dairy manure management systems. *Journal of Dairy Science* 103 (2), 1051-1071. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16778>
- Peak N., Knapp C. W., Yang R. K., Hanfelt M. M., Smith M. S., Aga D. S. y Graham D. W. (2007). Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies. *Environmental Microbiology* 9 (1), 143-151. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01123.x>
- Peng S., Li H., Song D., Lin X. y Wang Y. (2018). Influence of zeolite and superphosphate as additives on antibiotic resistance genes and bacterial communities during factory-scale chicken manure composting. *Bioresource Technology* 263, 393-401. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.107>
- Riley D. R., Sieber K. B., Robinson K. M., White J. R., Ganesan A., Nourbakhsh S. y Dunning Hotopp J. C. (2013). Bacteria-human somatic cell lateral gene transfer is enriched in cancer samples. *PLoS Computational Biology* 9 (6), e1003107. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003107>
- Sultan I., Rahman S., Jan A. T., Siddiqui M. T., Mondal A. H. y Haq Q. M. R. (2018). Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: A bacterial perspective. *Frontiers in Microbiology* 9, 2066. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02066>
- Sun W., Qian X., Gu J., Wang X. J. y Duan M. L. (2016). Mechanism and effect of temperature on variations in antibiotic resistance genes during anaerobic digestion of dairy manure. *Scientific Reports* 6 (1), 30237. <https://doi.org/10.1038/srep30237>
- Uddin T. M., Chakraborty A., Khusro A., Zidan B. R. M., Mitra S., Emran T. B., Dhama K., Ripon K. H., Gajdács M., Sahibzada M. U. K., Hossain M. J. y Koirala N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health* 14 (12), 1750-1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>
- Xiong L., Sun Y., Shi L. y Yan H. (2019). Characterization of antimicrobial resistance genes and class 1 integrase gene in raw meat and aquatic product, fresh vegetable and fruit, and swine manure in southern China. *Food Control* 104, 240-246. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.004>
- Willemse A., Reid S. y Assefa Y. (2022). A review of national action plans on antimicrobial resistance: Strengths and weaknesses. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 11 (1), 90. <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01130-x>
- Zalewska M., Błażejewska A., Czapko A. y Popowska M. (2021). Antibiotics and antibiotic resistance genes in animal manure—consequences of its application in agriculture. *Frontiers in Microbiology* 12, 640. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.610656>
- Zhang J., Lin H., Ma J., Sun W., Yang Y. y Zhang X. (2019). Compost-bulking agents reduce the reservoir of antibiotics and antibiotic resistance genes in manures by modifying bacterial microbiota. *Science of the Total Environment* 649, 396-404. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.212>
- Zhao L., Dong Y. H. y Wang H. (2010). Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Science of the Total Environment* 408 (5), 1069-1075. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.014>
- Zhu D., Delgado-Baquerizo M., Su J. Q., Ding J., Li H., Gillings M. R., Penuelas J. y Zhu Y. G. (2021). Deciphering potential roles of earthworms in mitigation of antibiotic resistance in the soils from diverse ecosystems. *Environmental Science and Technology* 55 (11), 7445-7455. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c00811>
- Zhu Y. G., Johnson T. A., Su J. Q., Qiao M., Guo G. X., Stedfeld R. D., Hashsham S. A. y Tiedje J. M. (2013). Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (9), 3435-3440. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222743110>