

## **Determinación del perfil de sensibilidad antibiótica en *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.**

**aisladas de carne aviar en el Ecuador**

## **Determination of antibiotic sensitivity profiles in *Escherichia coli* and *Salmonella* spp.**

**isolated from chicken meat in Ecuador**

**Karla Villacís-Jara<sup>1</sup>, Elena Granda<sup>1</sup> y Jorge Irazabal<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Quito, Ecuador

<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología, Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro – AGROCALIDAD, Av. Interoceánica Km. 14, La Granja MAGAP, Tumbaco, Ecuador

kwillacis447@puce.edu.ec

### **RESUMEN.-**

En este estudio, 383 muestras de carne de pollo provenientes de plantas de faenamiento de 18 provincias del Ecuador durante el año 2019 fueron receptadas y analizadas para la detección de *Salmonella* spp. y *E. coli*, además de su sensibilidad o resistencia a 12 antibióticos por el método Kirby-Bauer y Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) para colistina. Del total de muestras, se aislaron 20 cepas de *Salmonella* spp. y 148 de *E. coli*. Todos los aislados presentaron resistencia a al menos a un antibiótico. En su mayoría, las cepas de *Salmonella* spp. mostraron resistencia a cloranfenicol, gentamicina, amoxicilina, ampicilina, ceftriaxona, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclina; mientras que *E. coli* a tetraciclina, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol, ampicilina y amoxicilina. El 77,2% de *E. coli* y 75% de *Salmonella* spp. fueron multirresistentes. La detección de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) por disco combinado indicó 33 cepas productoras de BLEE. No se detectó cepas de *E.coli* Enterohemorrágica (EHEC).

**PALABRAS CLAVE.-** *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., carne de pollo, multirresistencia, BLEE.

### **ABSTRACT.-**

In this study, 383 samples of chicken meat taken from slaughter plants in 18 provinces from Ecuador during 2019 were receipted and analyzed for the detection of *Salmonella* spp., *E. coli* and its sensibility or resistance profile to 12 antibiotics by the Kirby-Bauer method and Minimal Inhibitory Concentration (MIC) for colistin. Of the total samples, 20 strains of *Salmonella* spp. and 148 strains of *E. coli* were isolated. All the bacterial isolates were found to be resistant to at least one antibiotic. Mostly, the strains of *Salmonella* spp. showed resistance to chloramphenicol, gentamicin, amoxicillin, ampicillin, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole and tetracycline, whereas strains of *E. coli* showed resistance to tetracycline, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin and amoxicillin. 77,2% of *E. coli* strains and 75% of *Salmonella* spp. strains were multiresistant. The detection of Extended Spectrum Betalactamases

(ESBL) by combination disc showed that 33 isolates were ESBL-producing bacteria. No Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) strains were founded.

**KEYWORDS.-** *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., chicken meat, multiresistant, ESBL.

## **INTRODUCCIÓN.-**

El mercado cárnico en el Ecuador está basado en la producción aviar, bovina y porcina; sin embargo, la carne de mayor relevancia a nivel nacional es la aviar. Acorde con datos obtenidos por varias instituciones como: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), Censo Avícola, Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE), entre otros, el consumo per cápita oscila entre los 30 y 32 kg al año (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2013; Gutiérrez, 2017), concentrándose su producción y distribución en las regiones Costa y Sierra, principalmente en las provincias de Guayas y Pichincha (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2013).

La alta demanda de carne aviar en el país es una importante fuente de ingresos económicos; de modo que, los productores avícolas se ven en la necesidad de acelerar su crecimiento y procesamiento, sin que esto implique mayores gastos económicos. Para lograrlo, emplean antibióticos como promotores de crecimiento (APC) o para el tratamiento y prevención de enfermedades (León, 2010; Estrada, Pilataxi y Burgos, 2017). Estos han sido utilizados como aditivos en la nutrición animal desde la década de los 40 en el siglo XX, donde se extendió su comercialización principalmente por Europa. Además de mejorar el rendimiento animal, permiten controlar enfermedades que pueden originar una disminución en la producción de carne, baja calidad e inclusive que deje de ser apta para el consumo humano (Astaíza, Benavides, López y Portilla, 2014; Costa et al., 2017; Estrada et al., 2017).

La microbiota intestinal normal de las aves destinadas a consumo humano está compuesta de ciertas enterobacterias que, en condiciones normales y asépticas, no generan alteraciones en la productividad y calidad de carne (Matté, 2017; Schippers, 2019). Sin embargo, el uso de APC conduce a la adquisición de resistencias por parte de la microbiota de los pollos, sean estos saprófitos o patógenos (Islam, Sultana, Das, Sharmin y Hasan, 2008). A su vez, las malas prácticas sanitarias durante el cuidado y faenamiento de los pollos, granjas avícolas con presencia de roedores, alimento contaminado, aguas residuales y/o contaminación humana, provocan infecciones secundarias que alteran dicha microbiota, debilitan el sistema inmunológico de las aves, facilitan el apareamiento de nuevas enfermedades y favorecen la dispersión de las bacterias en el galpón (Guard-Peter, 2001; World Health Organization, 2002; Stromberg et al., 2017; Schippers, 2019).

Estudios demuestran que las enterobacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. se pueden encontrar de forma saprófita o patógena en la microbiota intestinal de los pollos; por esto, son utilizadas como indicadores microbiológicos para evaluar la calidad de la carne, asimismo de las condiciones de limpieza, faenamiento y procesamiento de los pollos (Amit-Romach, Sklan y Uni, 2004; Bueno et al., 2016; Braojos, 2014; Matté, 2017; Liu et al., 2018; Pérez, 2015). Además, en caso de ser patógenas, ambas enterobacterias dan lugar a las infecciones más frecuentes en la industria avícola a nivel mundial, la colibacilosis y la salmonelosis, que pueden ser transmitidas a los humanos (Kabir, 2010; Pattison, McMullin, Bradbury y Alexander, 2008).

*E. coli*, es una bacteria de forma bacilar, Gram negativa, mótil por flagelos peritricos, aerobio o anaerobio facultativo, no productora de esporas, oxidasa negativo, catalasa positivo (Cabello, 2007;

Manning, 2010). Esta bacteria es considerada como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la industria avícola, lo que conlleva a grandes pérdidas económicas (Kabir, 2010). Así como en las aves, *E. coli* también puede encontrarse como parte de la microbiota humana normal; no obstante, algunas cepas pueden provocar enfermedades intestinales. Existen seis tipos de *E. coli* enterovirulenta relacionadas con enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs): enteropatógena (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), difusamente adherente (DAEC) y enterohemorrágica (EHEC), siendo esta última altamente patógena y causante de infecciones intestinales graves con complicaciones neurológicas y renales. Sin embargo, la EHEC aún no ha sido reportada en el Ecuador (Tapia, 2016; Pascual y Calderón, 1999; Berg, 2008; Nordqvist, 2017).

*Salmonella* spp. es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, con especies móviles y no móviles, no esporulado, oxidasa negativo, catalasa positivo y ampliamente distribuido en la naturaleza (Pascual y Calderón, 1999). Las aves son infectadas por esta bacteria de forma aguda o crónica e inclusive pueden ser portadoras asintomáticas; sin embargo, pueden transmitirla a otras aves a través de sus heces y también causar salmonelosis al ser humano por medio de la cadena alimenticia (Alcocer, 1999; Bueno et al., 2016; Mayo Clinic, 2019). La salmonelosis aviar, al igual que la colibacilosis, provoca pérdidas económicas al reducir la producción y aumentar la mortalidad de los pollos (Kabir, 2010).

Tanto para la promoción del crecimiento de las aves como para el tratamiento y profilaxis de los géneros bacterianos mencionados anteriormente, se emplean casi todos los grupos antibióticos existentes, inclusive aquellos pertenecientes a la lista de la OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica de Alta Prioridad, como: cefalosporinas, quinolonas, macrólidos, anfenicoles, polimixinas, entre otros. Estos antimicrobianos deben ser usados con moderación, dado que forman parte de las pocas alternativas terapéuticas que existen contra bacterias multirresistentes causantes de infecciones en humanos (Marshall y Levy, 2011; Roth et al., 2018; World Health Organization, 2019).

Acorde con la OMS (World Health Organization, 2019), el uso prolongado de antimicrobianos en animales destinados para el consumo es uno de los factores determinantes para el aumento y dispersión de bacterias resistentes a antibióticos (Fajardo et al., 2011). Estudios han descrito que la suplementación excesiva de APC en los animales inclusive ha fomentado el apareamiento de multirresistencias microbianas, es decir, resistencia a más de tres antibióticos (Jiang et al., 2011; Phillips, 2007). En el caso de aislados de *E. coli* de aves de corral, investigaciones revelan una alta prevalencia de multirresistencias a grupos antibióticos como: tetraciclinas, anfenicoles, sulfonamidas, aminoglucósidos, betalactámicos e inclusive a fluoroquinolonas (Egervärn et al., 2014; Kabir, 2010; Li et al., 2007; Ogunleye, Oyekunle y Sonibare, 2008). De igual forma, ciertas cepas de *Salmonella* spp. aisladas de pollos han presentado resistencia a varios grupos antibióticos como: tetraciclinas, penicilinas, sulfonamidas y aminoglucósidos (Islam et al., 2008, Jiang et al., 2011; Kabir, 2010; Manie et al., 1998; M'ikanatha et al., 2010; Parveen et al., 2007; Rajashekara et al., 2000). Según los patrones de resistencia expuestos, es posible que las cepas sean productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Las BLEE son enzimas producidas por bacilos Gram negativos de la familia Enterobacteriaceae, con mayor frecuencia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*; pero, pueden encontrarse en cualquier enterobacteria, como *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp., etc. (Morejón, 2013). Las BLEE están codificadas en largos plásmidos que tienen la capacidad de inactivar a la mayoría de

betalactámicos: penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos; a su vez, pueden contar con más genes de resistencia a otros antibióticos como: sulfonamidas, trimetoprim, aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfonamidas, anfenicoles e inclusive fluoroquinolonas (Paterson, 2000; Paterson y Bonomo, 2005; Rawat y Nair, 2010).

En resumen, el principal propósito de este proyecto de investigación es el aporte de información confiable y actualizada sobre los niveles de resistencia a diferentes antimicrobianos empleados tanto en la parte clínica como veterinaria en *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas de carne de pollo proveniente del Ecuador.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Muestreo.-**

Se receptaron 383 muestras de carne de pollo, sin incluir vísceras ni huesos, provenientes de plantas faenadoras de 18 provincias del Ecuador: Chimborazo, Azuay, Bolívar, Cotopaxi, Guayas, Imbabura, Loja, Los Ríos, Manabí, Morona Santiago, Napo, Orellana, Pastaza, Pichincha, Santa Elena, Santo Domingo, Sucumbíos y Tungurahua. Estas fueron tomadas de forma mensual por el personal de inocuidad de alimentos de Agrocalidad, durante las inspecciones realizadas en el año 2019 acorde a la metodología establecida por la institución según la Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 776. Cada una de las bolsas con muestras etiquetadas fueron transportadas en refrigeración a una temperatura entre 0 y 2°C y receptadas en el laboratorio de microbiología de Agrocalidad para su análisis respectivo.

### **Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.-**

Se cortaron pequeñas piezas de pollo de cada muestra y se pesaron 25 g en una balanza digital calibrada y fueron colocadas en bolsas resellables estériles con 225 ml de agua peptonada buferada e incubadas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas (Méndez, Badillo, Parra y Faccini, 2011; Food and Drug Administration, 2017). Luego, se sembró 100 µl de la muestra previamente agitada en tubos de 10 ml de caldo Rappaport Vassiliadis (RPV) y se incubó a  $41^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas (Food and Drug Administration, 2017; Oxoid, 2019; Vandevenne, 2002). La purificación se realizó a través de la siembra por agotamiento de un inóculo del tubo de RPV incubado en cajas bipetri con medios Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y Hecktoen, y se incubó a  $41^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas (Food and Drug Administration, 2017; Méndez et al., 2011; Oxoid, 2019; Vandevenne, 2002).

Finalmente se realizó una tinción de Gram para evidenciar la morfología de bacilos Gram negativos y la prueba de oxidasa. Para la identificación bioquímica se utilizó el kit colorimétrico Bacterial Identification System; Gram negative (Bis-Neg) de Cypress Diagnostics. Se usó a *S. enterica* subespecie enterica serotipo Choleraesuis American Type Culture Collection (ATCC) 10708 como control de calidad del kit. Los resultados obtenidos fueron ingresados en el software de identificación de la misma casa comercial (Cypress Diagnostics, 2015).

### **Aislamiento e identificación de *E. coli*.-**

Se pesaron 10 g de piezas de pollo, se colocaron en bolsas resellables estériles etiquetadas con 90 ml de agua peptonada buferada y fueron incubadas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas (AGROCALIDAD,

2019). Tras homogenizar las bolsas, se sembró 50 µl con asa de Drigralsky en una placa Petri con Eosina Azul de Metileno (EMB) y se incubó a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas. La purificación se hizo a través de resiembras por agotamiento en medio EMB (AGROCALIDAD, 2019).

Adicionalmente, las cepas presuntivas de *E. coli* en EMB fueron sembradas en el medio cromogénico Cromokit EE Agar y se incubaron a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas (AGROCALIDAD, 2019; Laboratorios Microkit, 2019). Finalmente, se realizó el mismo protocolo de identificación bioquímica especificada en la sección de *Salmonella* spp. *E. coli* ATCC 25922 fue empleada como control de calidad del kit. Los resultados obtenidos fueron ingresados en el software de identificación de la misma casa comercial (Cypress Diagnostics, 2015).

### **Identificación de *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC).-**

Las cepas identificadas como *E. coli* fueron sembradas en el agar Fluorocult *E. coli* O157:H7 e incubadas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1$  por 24 horas para corroborar la ausencia de este serotipo en Ecuador.

### **Conservación de cepas.-**

Las cepas confirmadas como *Salmonella* spp. y *E. coli* a través del kit BIS-Neg fueron conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  según la metodología de Sánchez y Corral (2005). Se preparó una dilución de turbidez entre 2 a 4 McFarland (McF) en 4 ml de caldo BHI a partir de un cultivo puro de 24 horas en XLD, en el caso de *Salmonella* spp., y EMB para *E. coli*. Luego, se colocó 1 ml de glicerol estéril y se homogenizó con un vórtex. Finalmente, se hicieron cuatro alícuotas de 1 ml de la dilución en microtubos de 2 ml correctamente rotulados y se procedió a congelarlos a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **Pruebas de sensibilidad a antibióticos.-**

Se reactivó en caldo TSA una alícuota de cada cepa bacteriana congelada y se incubó a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$  por 24 horas. A su vez, se realizó una tinción de Gram y una bioquímica de una cepa reactivada por lote al azar. A continuación, se sembró por agotamiento en una caja bipetri con agar XLD y Hecktoen para *Salmonella* spp. y agar EMB para *E. coli* con la finalidad de verificar su pureza (AGROCALIDAD, 2019). Después, se tomó una colonia aislada del medio específico y se la resembró en un medio nutritivo por 24 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ . De ese cultivo, se preparó un inóculo 0.5McF en 4 ml de solución salina estéril y se lo sembró en césped en el medio Müller Hinton acorde al método Kirby-Bauer (Cona, 2002), con los siguientes discos: gentamicina (GN -10µg), cloranfenicol (CL - 30µg), ceftriaxona (CRO - 30µg), eritromicina (E - 15µg) ampicilina (AM - 10µg), amoxicilina (AM - 30µg), ampicilina – sulbactam (SAM - 30µg), amoxicilina – ácido clavulánico (AUG - 30µg), ciprofloxacina (CIP - 5µg), trimetoprim – sulfametoxazol (STX - 25µg), meropenem (MEM - 10µg) y tetraciclina (TE - 30µg). Finalmente, los halos fueron medidos e interpretados según los criterios especificados por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019). De igual forma, se empleó la cepa *S. enterica* subespecie enterica serotipo Choleraesuis ATCC 10708 y *E. coli* ATCC 25922 como control de calidad.

### **Determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE).-**

Se realizó la prueba de combinación de discos en placas de agar Müller Hinton sembradas con un inóculo bacteriano 0.5McF y cuatro discos de antibióticos: ceftazidima (CAZ - 30 µg), ceftazidima – ácido clavulánico (CAZ - 30 µg / CLA - 10 µg), cefotaxima (CTX - 30 µg) y cefotaxima – ácido clavulánico (CTX - 30 µg / CLA - 10 µg) de aquellas bacterias que presentaron halos irregulares

en el antibiograma (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019; Lezameta, Gonzáles y Tamariz, 2010). La interpretación es positiva cuando la resta entre el halo de inhibición entre los discos CAZ / CLA y CAZ y/o CTX / CLA y CTX es mayor o igual a 5 mm (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019; Lezameta, Gonzáles y Tamariz, 2010).

### **Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) para colistina (COL).-**

Tras preparar la solución stock del antibiótico en concentración 4 µg/mL, se realizaron microdiluciones seriadas dobladas desde 1:2 hasta 1:64 en placas de 96 pocillos con un volumen final de 100 µL (Malbrán, 2017). Para ajustar el inóculo bacteriano a 0.5 McF, se pasaron tres colonias del medio nutritivo a 6 mL de TSA y se incubó durante una hora. Luego, se realizaron tres diluciones consecutivas de 1:10 para obtener un inóculo final ajustado de  $5 \times 10^5$  (The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2012; Wiegand, Hilpert y Hancock, 2008). Se inoculó 100 µL de la suspensión bacteriana en cada pocillo con las diluciones seriadas del antibiótico. Los controles fueron, positivo: 100 µL de una suspensión bacteriana de *Morganella morganii* con 100 µL del stock de antibiótico) y tres blancos: 100 µL de agua destilada estéril, 100 µL de colistina y 100 µL de TSA. Al finalizar, las placas se incubaron a  $35^\circ\text{C} \pm 2$  por 24 horas (The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2012).

Se interpretaron los resultados con el uso de una plantilla negra y se observó la presencia o ausencia de turbidez en cada pocillo. Los pocillos que no presentaron turbidez fueron sembrados en medio nutritivo para confirmar la presencia o ausencia de carga microbiana remanente. En base a los resultados obtenidos, se interpretó la concentración mínima inhibitoria.

### **Análisis estadístico de resultados.-**

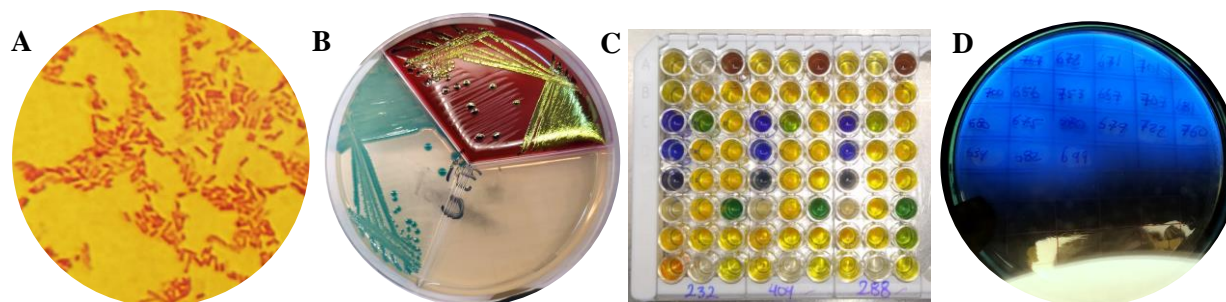
Se empleó WHONET 2020 para la tabulación de los datos obtenidos sobre la sensibilidad o resistencia a cada antibiótico y presencia de BLEE con estadística descriptiva. Se determinó la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. y *E. coli* en la carne aviar de varias provincias del Ecuador.

## **RESULTADOS**

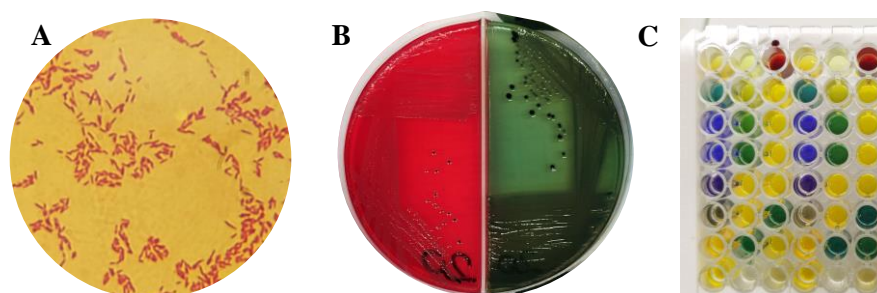
### **Aislamiento e identificación.-**

Se obtuvieron 148 (38,6%) aislados de *E. coli* y 20 (5,2%) de *Salmonella* spp. a través de la caracterización fenotípica y bioquímica. *E. coli* presentó una morfología microscópica de bacilos cortos Gram negativos, no esporulados, oxidasa negativos. A nivel macroscópico, en agar EMB se evidenciaron colonias cremosas de color verde brillante, bordes regulares y convexas. En agar EE, las colonias fueron de color azul celeste, cremosas, bordes regulares y convexas (Figura 1).

A su vez, *Salmonella* spp. también presentó una morfología bacilar Gram negativa corta, no esporulada y oxidasa negativa (Tabla 2). Macroscópicamente, en agar XLD se observaron colonias cremosas negras, bordes regulares, convexas y pequeñas. En agar Hecktoen se evidenciaron colonias verde azuladas, con o sin centro negro, bordes regulares, convexas y pequeñas (Figura 2).



**Figura 1. Caracterización fenotípica y bioquímica de aislados de *E. coli*.** A) Visualización microscópica a 100X, B) Morfología colonial en agar EMB y EE, C) Pruebas bioquímicas del kit Bis Beg, D) Resultados negativos para EHEC en agar Fluorocult *E. coli* O:157H:7.



**Figura 2. Caracterización fenotípica y bioquímica de aislados de *Salmonella* spp.** A) Visualización microscópica a 100X, B) Morfología colonial en agar XLD y Hecktoen C) Pruebas bioquímicas del kit Bis Beg.

La caracterización bioquímica se realizó con el kit Bis Neg de Cypress Diagnostics, que consta de un panel de 24 tests bioquímicos para bacterias Gram negativas: urea, glucosa, ácido sulfídrico, arginina, ornitina, lisina, citrato de Simmons,  $\beta$ -glucosidasa, fenilalanina, indol, N-acetilglucosamina, sucrosa, trehalosa, manitol, lactosa, celobiosa, malonato,  $\gamma$ -glutamyl transferasa, fosfatasa alcalina,  $\beta$ -glucuronidasa, esculina, dulcitol, adonitol, sorbitol, ramnosa, rafinosa, inositol,  $\beta$ -galactosidasa y reducción de nitratos (Figura 1 y 2). Este kit determinó que 148 aislados correspondían a *E. coli* y 20 a *Salmonella* spp. No se encontraron aislados presuntivos de EHEC con el agar Fluorocult *E. coli* O:157H:7 (Figura 1).

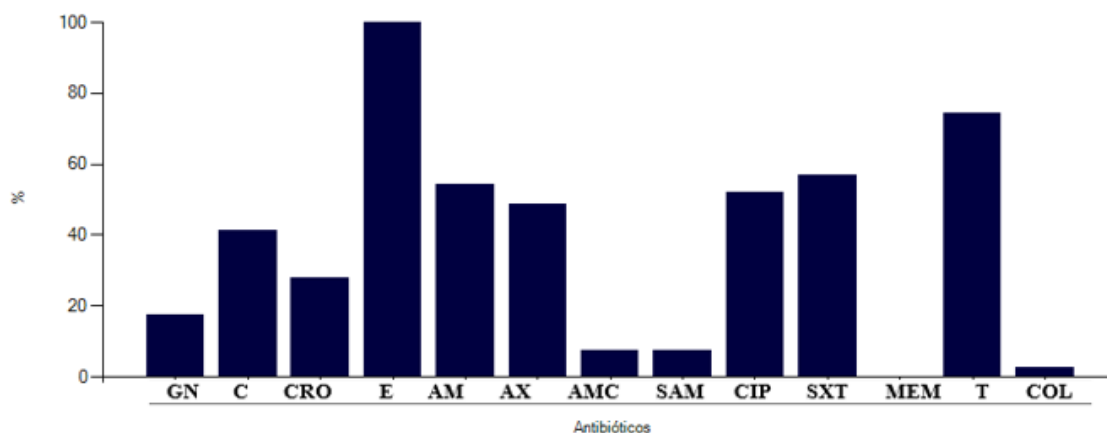
### Pruebas de sensibilidad a antibióticos y CIM.-

De los 148 aislados de *E. coli*, 114 (77,2%) fueron multirresistentes, sobre todo a eritromicina (100%), tetraciclina (74,3%) y trimetoprim-sulfametoxazol (56,8%), seguidos por ampicilina (54,4%), ciprofloxacina (52%), amoxicilina (48,6%), cloranfenicol (41,2%), ceftriaxona (27,7%) y gentamicina (17,6%). En menor proporción, se obtuvo resistencia a antibióticos combinados con inhibidores de betalactamasas: amoxicilina-ácido clavulánico y ampicilina-sulbactam (7,4% cada uno). Además, 4 aislados (2,7%) presentaron un CIM de 4 $\mu$ g/ml, lo que indica resistencia a colistina (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentajes de resistencia antibiótica obtenidos de 148 aislados de *E. coli* (n=148).

Antibióticos <sup>1</sup>	Porcentaje de resistencia
GN	17,6
C	41,2
CRO	27,7
E	100
AM	54,4
AX	48,6
AMC	7,4
SAM	7,4
CIP	52
SXT	56,8
MEM	0
T	74,3
COL	2,7

<sup>1</sup>GN: gentamicina, C: cloranfenicol, CRO: ceftriaxona, E: eritromicina, AM: ampicilina, AX: amoxicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, SAM: ampicilina-sulbactam, CIP: ciprofloxacina, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, MEM: meropenem, T: tetraciclina, COL: colistina.

**Figura 3.** Porcentajes de resistencia antibiótica obtenidos en *E. coli*.

Dentro de los patrones de resistencia que presentaron un mayor número de aislados, están: E - T (15), E (13), E - CIP - SXT - T (7), E - C - CIP - SXT - T (7), E - AM - AX - C - CRO - CIP - SXT - T (6), E - AM - AX - C - AMC - SAM - CRO - CIP - SXT - T (5), E - GN (4), E - GN - CIP (4), E - C - SXT - T (4), E - AM - AX - CIP - SXT - T (4), E - AM - AX - CIP - SXT - CRO (4) y E - AM - AX - GN - C - CIP - SXT - T (4) (Tabla 2).



**Tabla 2.** Perfil de resistencia de los aislados de *E. coli*.

<b>Perfil de resistencia<sup>1</sup></b>	<b>N° de muestras</b>	<b>% de muestras</b>	<b>MDR<sup>2</sup></b>
<b>E - T</b>	15	10.1	-
<b>E</b>	13	8.8	-
<b>E - CIP - SXT - T</b>	7	4.7	+
<b>E - C - STX - T - CIP</b>	7	4.7	+
<b>E - AM - AX - C - SXT - CRO - CIP - T</b>	6	4.1	+
<b>E - AM - AX - C - AMC - SAM - CRO - CIP - SXT - T</b>	5	3.4	+
<b>E - GN</b>	4	2.7	-
<b>E - T - CIP</b>	4	2.7	-
<b>E - SXT - T - C</b>	4	2.7	+
<b>E - AM - AX - CIP - SXT - T</b>	4	2.7	+
<b>E - AM - AX - CIP - SXT - CRO</b>	4	2.7	+
<b>E - AM - AX - GN - C - CIP - SXT - T</b>	4	2.7	+
<b>E - T - SXT</b>	3	2	-
<b>E - AM - AX - SXT - T</b>	3	2	+
<b>E - AM - C - CIP - SXT - T</b>	3	2	+
<b>E - AM - AX - SXT - C - T</b>	3	2	+
<b>E - AM - AX - C - SXT - CIP - T</b>	3	2	+
<b>E - T - GN</b>	2	1.4	-
<b>E - CIP - SXT</b>	2	1.4	-
<b>E - AM - GN</b>	2	1.4	-
<b>E - AM - AX - T</b>	2	1.4	+
<b>E - AM - AX - GN - SXT - T</b>	2	1.4	+
<b>E - AM - AX - GN - CRO - CIP - SXT - T</b>	2	1.4	+
<b>E - AM - AX - C - SAM - CRO - CIP - SXT - T</b>	2	1.4	+
<b>E - AM - AX - C - GN - CRO - CIP - SXT - T</b>	2	1.4	+
<b>E - AM - AX - GN - C - AMC - SAM - CRO - CIP - SXT - T</b>	2	1.4	+
<b>E - CIP</b>	1	0.7	-
<b>E - AM</b>	1	0.7	-
<b>E - T - C</b>	1	0.7	-
<b>E - AM - CIP</b>	1	0.7	-
<b>E - AM - CRO</b>	1	0.7	-
<b>E - AM - AX - SXT</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CRO</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - T - C</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - CIP - SXT - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - SXT - CRO</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CRO - AMC</b>	1	0.7	+

<b>E - C - STX - T - COL</b>	1	0.7	+
<b>E - C - AM - T - CIP</b>	1	0.7	+
<b>E - C - AM - AX - T</b>	1	0.7	+
<b>E - C - AM - AX - CIP</b>	1	0.7	+
<b>E - C - STX - T - CRO</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - GN - CRO</b>	1	0.7	+
<b>E - C - GN - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - SXT - CRO - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CIP - CRO - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CIP - C - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - CRO - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CRO - GN - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - SXT - CRO - GN</b>	1	0.7	+
<b>E - AX - C - SXT - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - CRO - SXT - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - SXT - SAM - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - CRO - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - CRO - SXT - CIP</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - GN - SXT - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - GN - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - AMC - SAM - SXT - T - COL</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - AMC - SAM - CRO - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - SAM - SXT - CIP - T</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - CRO - SAM - CIP - SXT - T - COL</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - AMC - SAM - CRO - CIP - SXT - T - COL</b>	1	0.7	+
<b>E - AM - AX - C - AMC - SAM - CRO</b>	1	0.7	+

<sup>1</sup>GN: gentamicina, C: cloranfenicol, CRO: ceftriaxona, E: eritromicina, AM: ampicilina, AX: amoxicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, SAM: ampicilina-sulbactam, CIP: ciprofloxacina, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, MEM: meropenem, T: tetraciclina, COL: colistina.

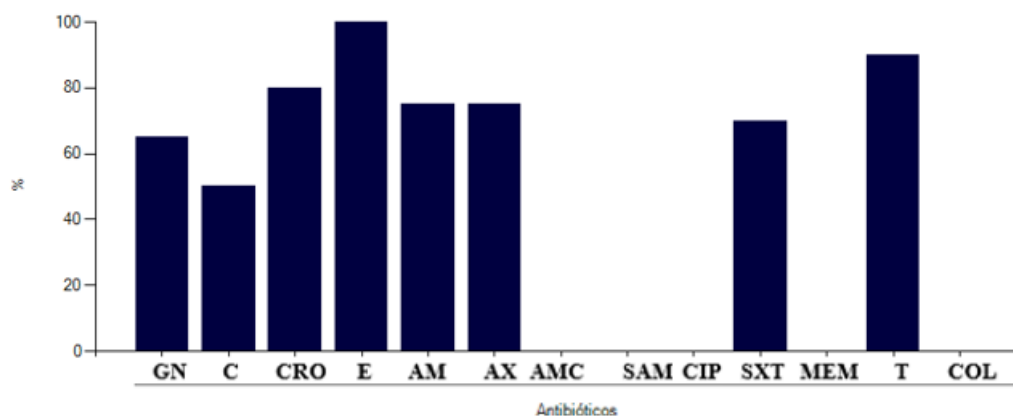
<sup>2</sup>MDR: Multidrogoresistencia.

Por otra parte, de los 20 aislados de *Salmonella* spp., 15 (75%) presentaron multirresistencia a mínimo tres de doce antibióticos empleados (Tabla 7). Los porcentajes de resistencia más altos fueron: eritromicina (100%), tetraciclina (90%), ceftriaxona (80%), ampicilina (75%), amoxicilina (75%), trimetoprim-sulfametoxazol (70%); seguidos de gentamicina (65%) y cloranfenicol (50%). Ningún aislado tuvo resistencia a antibióticos combinados con inhibidores de betalactamasas, fluoroquinolonas (ciprofloxacina), carbapenémicos (meropenem) ni a polipéptidos (colistina) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Porcentajes de resistencia antibiótica obtenidos de *Salmonella* spp. (n=20).

Antibióticos <sup>1</sup>	Porcentaje de resistencia (%)
<b>GN</b>	65
<b>C</b>	50
<b>CRO</b>	80
<b>E</b>	100
<b>AM</b>	75
<b>AX</b>	75
<b>AMC</b>	0
<b>SAM</b>	0
<b>CIP</b>	0
<b>SXT</b>	70
<b>MEM</b>	0
<b>T</b>	90
<b>COL</b>	0

<sup>1</sup>GN: gentamicina, C: cloranfenicol, CRO: ceftriaxona, E: eritromicina, AM: ampicilina, AX: amoxicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, SAM: ampicilina-sulbactam, CIP: ciprofloxacina, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, MEM: meropenem, T: tetraciclina, COL: colistina.

**Figura 4.** Porcentajes de resistencia antibiótica en *Salmonella* spp.

A su vez, los patrones de resistencia con mayor número de cepas fueron: E - C - GN - AM - AX - CRO - SXT - T (7), E - GN - AM - AX - CRO - SXT - T (4) y E - T (2) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Patrones de resistencia de los aislados de *Salmonella* spp.

Perfil de resistencia <sup>1</sup>	N° de muestras	% de muestras	MDR <sup>2</sup>
<b>E - C - GN - AM - AX - CRO - SXT - T</b>	8	40	+
<b>E - GN - AM - AX - CRO - SXT - T</b>	4	20	+
<b>E - T</b>	2	10	-
<b>E</b>	1	5	-
<b>E - CRO</b>	1	5	-

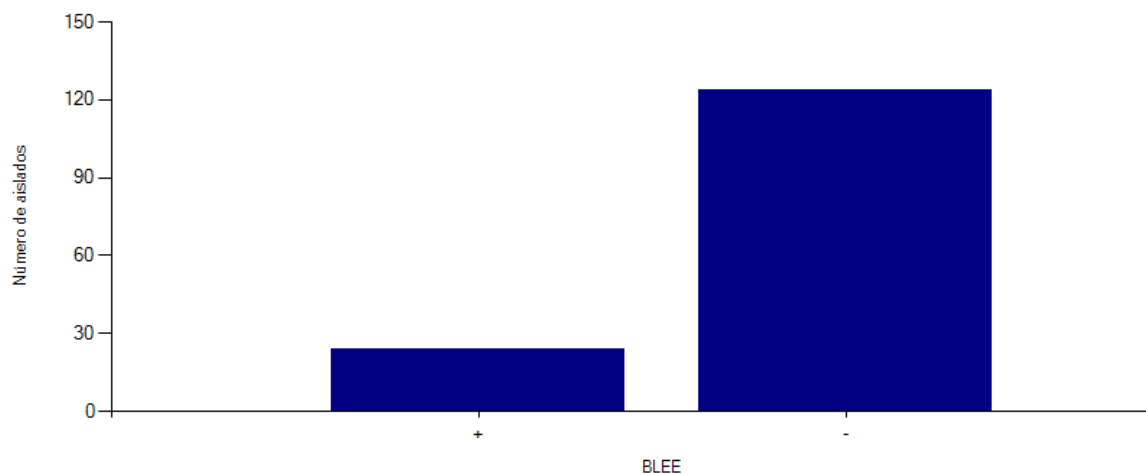
<b>E - SXT - T</b>	1	5	-
<b>E - AM - AX - CRO - T</b>	1	5	+
<b>E - C - AM - AX - CRO - SXT - T</b>	1	5	+
<b>E - C - GN - AM - AX - CRO - T</b>	1	5	+

<sup>1</sup>GN: gentamicina, C: cloranfenicol, CRO: ceftriaxona, E: eritromicina, AM: ampicilina, AX: amoxicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, SAM: ampicilina-sulbactam, CIP: ciprofloxacina, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, MEM: meropenem, T: tetraciclina, COL: colistina.

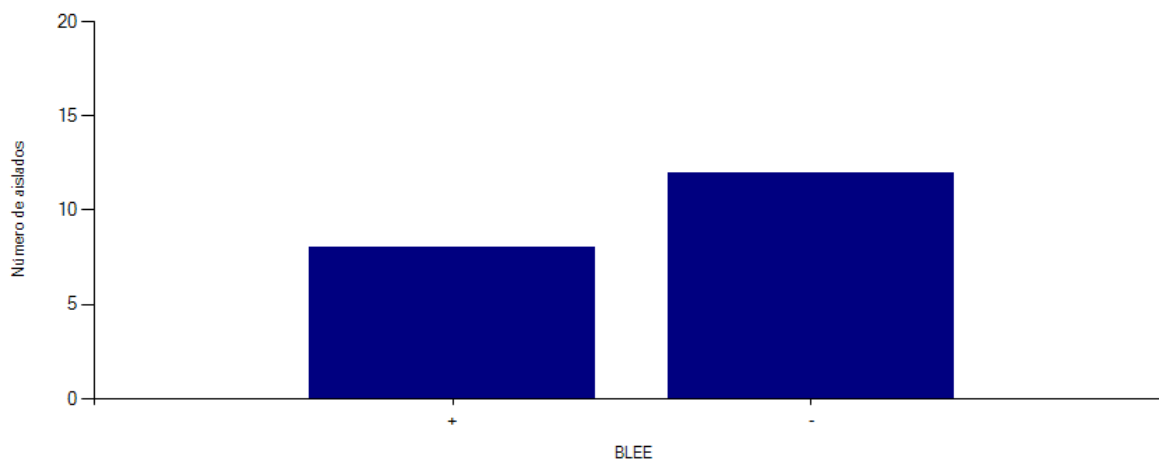
<sup>2</sup>MDR: Multidrogoresistencia.

### Determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE).-

Del total de cepas de ambas bacterias, 48 presentaron irregularidades en los halos, por lo que se realizó la prueba de doble disco en 39 aislados de *E. coli* y nueve de *Salmonella* spp. Como resultado 24 (16,2%) fueron positivos para *E. coli* y ocho (40%) para *Salmonella* spp. (Figura 5 y 6). Todos los productores de BLEE fueron multirresistentes; sin embargo, ninguno tuvo resistencia a carbapenémicos.



**Figura 5.** Presencia de *E. coli* productora de BLEE.



**Figura 6.** Presencia de *Salmonella* spp. productora de BLEE.

## DISCUSIÓN

### *Escherichia coli*

En el estudio realizado se identificó la presencia de *E. coli* en 148 (38,6%) de las 383 muestras recolectadas en faenadoras de 18 provincias del Ecuador. Acorde a estudios de nivel internacional, la carne de pollo cuenta con los rangos de contaminación más altos de esta bacteria en comparación con otras fuentes de carne (Miranda et al., 2010; Kilonzo-Nthenge et al., 2013; Gutiérrez y Sánchez, 2017; Ruíz-Roldán et al., 2018); generalmente esto se debe a la ruptura del intestino del pollo durante el faenamamiento y mala manipulación, lo que causa la contaminación de la carne con materia fecal (Meldrum et al., 2005; Wong et al., 2007; Kilonzo-Nthenge et al., 2013; Saliu, Vahjen y Zentek; 2017). Estudios realizados en otras provincias del país, respaldan los datos obtenidos (Pérez, 2015; Reinoso, 2015; Orellana, 2019).

### *Salmonella* spp.

En contraste, *Salmonella* spp. se encontró únicamente en el 5,22% del total de muestras de carne. En una empresa avícola del Ecuador, se identificó un 79,2% (n=48) de *Salmonella* spp. en carcasas de pollo en la planta de faenamamiento (Estrada, Pilataxi y Burgos, 2017), este resultado probablemente se debe al bajo número de muestras analizadas. En países latinoamericanos como Colombia, Chile y México se ha reportado la presencia de esta bacteria en 27% (n=1003), 24% (n=361) y 29,7% (n=511) en carne de pollo (Donado-Godoy et al., 2012; Villalpando et al., 2017; Lapierre et al., 2020). La contaminación con heces fecales de animales infectados, agua no potabilizada, presencia de plagas, contaminación durante el procesamiento y/o faenamamiento del pollo y mal manejo de comederos son algunos factores predisponentes para el apareamiento y propagación de esta bacteria en granjas de pollos (Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015; Pulido-Landínez, 2016). A pesar de que varios alimentos pueden contener *Salmonella* spp., los derivados de aves de corral son la principal fuente de contaminación a humanos (Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015).

### Eritromicina

El 66,2% de *E. coli* y 75% de *Salmonella* spp. presentaron multirresistencia. El 100% de aislados fue resistente a eritromicina, lo que concuerda con Brunton, Lazo y Parker (2007), quienes mencionan que los macrólidos no actúan sobre bacilos Gram negativos entéricos aerobios, ya que poseen resistencia intrínseca a este medicamento y resistencia cruzada a todos los macrólidos. En un estudio realizado en Corea del Sur, se analizaron los impactos de la tilosina en el perfil de resistencia de bacterias Gram negativas, al ser el macrólido más usado en animales de granja para controlar infecciones respiratorias y especies de *Mycoplasma* y concluye que la exposición a dosis profilácticas por largo tiempo genera mutaciones genéticas que aumentan la resistencia de estas bacterias a otros antibióticos como fenicoles y tetraciclinas (Mechesso y Park, 2020).

### Penicilinas y tetraciclinas

El 74,3% de *E. coli* fue resistente a tetraciclinas, y en penicilinas se obtuvieron resistencias semejantes para ampicilina y amoxicilina con 54,4% y 48,6% respectivamente. De igual forma, la resistencia en *Salmonella* spp. para tetraciclinas fue del 90% y ampicilina y amoxicilina 75%. Esto puede deberse a que las tetraciclinas y penicilinas son la principal línea antibiótica empleada de forma rutinaria como profilaxis y promotores de crecimiento para aves de corral por su costo

relativamente bajo y disponibilidad (Kilonzo-Nthenge et al., 2013; Ljubojević et al., 2016). Reportes de Apolo (2015) y Parra (2019) mencionan la resistencia a tetraciclina en aproximadamente el 80% de aislados de *E. coli* en órganos y carne de pollo procedente de varias provincias del país; sin embargo, indican una elevada resistencia a penicilinas, siendo superior al 80%. Asimismo, Estados Unidos reporta resistencias entre 50% para tetraciclinas y 30% (n=2494) para ampicilina (Zhao et al., 2020); en contraste, China registra un 96,4% para tetraciclinas, 99,2% para ampicilina y 53,7% (n=389) para amoxicilina (Jiang et al., 2011). Acorde con CLSI (2019), la resistencia a tetraciclina indica posible sensibilidad a doxiciclina, minoxiciclina o ambas.

A su vez, para *Salmonella* spp., en una planta de faenamiento avícola del país, se obtuvo 100% y 89,5% (n=48) de resistencia a tetraciclinas y penicilinas (amoxicilina y ampicilina), respectivamente (Estrada, Pilataxi y Burgos, 2017). Los altos niveles de resistencia concuerdan con otros estudios realizados en Chile, con 95% para tetraciclinas y 64,3% para ampicilina (n=87) y en Colombia, con 57,1% para tetraciclina y 46,4% para amoxicilina (n=51) (Donado-Godoy et al., 2014; Lapierre et al., 2020)

#### Gentamicina

La resistencia a gentamicina fue del 17,6% para *E. coli*. Dichos datos son similares a los obtenidos en el país, donde se reportan resistencias cerca del 17% (n=204) para *E. coli* en órganos de pollos broiler (Apolo, 2015). Los resultados concuerdan con India, donde el 15,4% (n=13) de aislados de *E. coli* fueron resistentes a gentamicina (Jana y Mondal, 2013). En contraste, *Salmonella* spp. presentó un 65% de resistencia frente al antimicrobiano; datos que discrepan de países como Vietnam y Colombia, donde se han registrado valores de 5,6% (n=18) y 4% (n=110), respectivamente (Van et al., 2007; Donado-Godoy et al., 2014). Según la OIE (World Organization for Animal Health), los aminoglucósidos son útiles para el tratamiento de septicemias e infecciones de tracto respiratorio y digestivo; a su vez, la gentamicina es el fármaco de elección para infecciones complicadas causadas por *Pseudomonas aeruginosa* en aves (OIE, 2015).

#### Trimetoprim-sulfametoxazol

Para trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol) se obtuvo un 56,8% de resistencia en *E. coli* y 70% en *Salmonella* spp. En el país, las sulfonamidas son empleadas en aves para tratar enfermedades del tracto digestivo, respiratorio y urinario debido a su amplio espectro de acción (Estrella, 2017). Esto concuerda con estudios realizados en otras provincias del Ecuador, donde se obtuvo una tendencia de resistencia de *E. coli* entre 50% (n=116) a 70% (n=204) a este antibiótico (Apolo, 2015; Parra, 2019). Sin embargo, en otros países como Colombia y Perú, los niveles de resistencia a sulfonamidas varían entre el 70% (n=46) en bolsas de Fabricio de aves de engorde y 100% (n=159) en carne de pollo, respectivamente (Ruíz-Roldán et al., 2018; Carvajal et al., 2019). A su vez, países como España y China reportan resistencias del 65% (n=40) y 79% (n=644), sobre todo por el uso indiscriminado de sulfonamidas como tratamiento y profilaxis de enfermedades (Sáenz et al., 2001; Yassin et al., 2017).

En cuanto a *Salmonella* spp., los resultados son similares a los obtenidos en Irán y Colombia, con un 61,2% (n=200) y 54,2% (n=378) (Donado-Godoy et al., 2015; Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015). En contraste, México reporta un muy bajo porcentaje de resistencia 5,8% (n=244) a cotrimoxazol. Las sulfonamidas no generan resistencia cruzada a otros antimicrobianos (Brunton, Lazo y Parker, 2007).

### Cloranfenicol

Se observó una resistencia del 41,2% y 50% para cloranfenicol en *E. coli* y *Salmonella* spp. respectivamente, a pesar de que su uso está prohibido en animales destinados a consumo humano (AGROCALIDAD, 2006). En algunos casos, esto se debe a la resistencia cruzada con florfenicol, antibiótico empleado en pollos de engorde (White et al., 2000; Li et al., 2007).

En el país, se ha reportado resistencias del 34,3% (n=204) en cepas de *E. coli* aisladas de órganos de pollos y un 97,35% (n=48) en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de carne de pollo (Apolo, 2015; Estrada, Pilataxi y Burgos, 2017). En Chile, se presentó un 64,37% (n=87) en *Salmonella* spp., y en Colombia, un 7,8% (n=51) en *Salmonella* spp. y 59,3% en *E. coli* (n=165) en carcasas de pollo (Donado-Godoy et al., 2012; Lapierre et al., 2020).

Por el contrario, estudios realizados fuera de Latinoamérica informan resistencias muy bajas (2 - 3%) al cloranfenicol tanto para *E. coli* como para *Salmonella* spp., debido al uso restringido en animales; sobre todo en la Unión Europea, quienes cuentan con un protocolo de cero tolerancia a la presencia de este antibiótico (Hanekamp, Frapporti y Olieman; 2003; Kilonzo-Nthenge et al., 2013; Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015).

### Ceftriaxona

Para ceftriaxona, se evidenció una resistencia relativamente baja (27,7%) para *E. coli* y alta (90%) para *Salmonella* spp. En aves comerciales, Parra (2019), reporta un 33,1% (n=116) de resistencia en *E. coli* en varias provincias del país. Para *E. coli*, datos similares se observan en Colombia, con un 17% (n=165), a diferencia de China, con 2,8% (n=389) de resistencia a esta cefalosporina (Jiang et al., 2011; Donado-Godoy et al., 2015).

En Colombia, la resistencia en *Salmonella* spp. es mucho más baja (31,4% n=51) (Donado-Godoy et al., 2014). En Estados Unidos y México se registra un 8,6% (n=2494) y 7,2% (n=244) de resistencia en cepas aisladas de pechugas y carne molida de pollo (Villalpando-Guzmán, 2017). No obstante, en países como Canadá, China, Estados Unidos e Irán reportan valores de resistencia en inferiores o nulos, 12,6% (n=193), 7,6%, <5% (n=2494) y 0% (n=111), respectivamente (Sheikh et al., 2012; Zhao et al., 2012; Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015; Yassin et al., 2017).

En 2012, la FDA (Food and Drug Administration) prohibió el uso de cefalosporinas con fines profilácticos en animales productores de alimento, al ser antimicrobianos clínicamente importantes en humanos y la resistencia a los mismos conlleva al uso de carbapenémicos, medicamentos costosos y de limitada disponibilidad (Schmidt, 2012; Collignon et al., 2013; Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015; Zhang et al., 2017; US Food and Drug Administration, 2020).

### Ciprofloxacina

Hubo un 52% de resistencia en *E. coli* para ciprofloxacino. Este resultado discrepa con Parra (2015) quien informa aproximadamente un 30% (n=116) de resistencia en aves comerciales del Ecuador. Acorde con los estudios investigados, la resistencia a fluoroquinolonas varía según el país; en Perú y Colombia oscila entre el 70% (n=159) y 84% (n=56) (Ruíz-Roldán et al., 2018; Carvajal et al., 2019); en Japón y China entre 30% (n=69) y 35% (n=389) (Ahmed, Shimabukuro y Shimamoto, 2009; Jiang et al., 2011); mientras que en países como Canadá y Estados Unidos la resistencia es casi nula (0% n=193, 0,3% n=2494) (Sheikh et al., 2012; Zhao et al., 2012). El elevado porcentaje

obtenido puede deberse a la aplicación de dosis subterapéuticas como medida de prevención en pollos (Sáenz et al., 2001; Moniri y Dastehgoli, 2005; Ahmed, Shimabukuro y Shimamoto, 2009). Por otro lado, la FDA afirma que en la actualidad, el uso de fluoroquinolonas en aves de corral es ilegal en Estados Unidos (FDA, 2020).

Por el contrario, los aislados de *Salmonella* spp. no presentaron resistencia al antibiótico. Lo que coincide con Irán, quienes mencionan que probablemente se deba a la baja disponibilidad y alto costo de estos medicamentos en veterinaria (Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015). De igual manera, en Chile se observa baja resistencia (2,30% n=87) (Lapierre et al., 2020). En contraste, China y Colombia reportan un 25,7% (n=105) y 41,2% (n=165) de resistencia en aislados de esta bacteria proveniente de hisopados cloacales y carne de pollo, respectivamente (Donado-Godoy et al., 2014; Hui, 2015).

#### Betalactámicos con inhibidores de betalactamasas

En cuanto a betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, se reportó un 7,4% de resistencia para amoxicilina-ácido clavulánico y para ampicilina-sulbactam en *E. coli*, siendo estos los niveles más bajos junto con colistina y meropenem; resultados que concuerdan con Colombia, con un 8,5% (n=165) de resistencia en aislados de carne de pollo (Donado-Godoy et al., 2014). En Estados Unidos, se han reportado resistencias entre 7 y 11% (n=2494) a este tipo de antibióticos en carne de pollo (Zhao et al., 2012; FDA, 2012). Por otro lado, en China se registra una baja resistencia de 3,3% (n=644) (Yassin et al., 2017) a pesar de que era elevada hasta antes del 2011, ya que se recetaba amoxicilina con ácido clavulánico para la profilaxis de enfermedades intestinales en pollos y cerdos; sin embargo, en el 2011 empezó el auge de la colistina como principal antibiótico de prevención. Por ello, la resistencia a inhibidores de betalactamasas ha descendido con el tiempo (Zhang et al., 2017).

En cambio, *Salmonella* spp. no presentó resistencia a ningún betalactámico con inhibidor de betalactamasas. China, Irán y Chile reportan bajos niveles de resistencia (2,9% n=105, 5,4% n=111 y 3,5% n=87); mientras que Colombia reporta un 30,8% (n=378) en aislados de carcasas de pollo (Donado-Godoy et al., 2015; Hui, 2015; Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015).

Acorde a la OIE, las aminopenicilinas con inhibidores de betalactamasas son críticamente importantes en veterinaria, ya que sirven para el tratamiento de septicemias y enfermedades de tracto urinario y respiratorio en aves; además, al igual que las penicilinas, son de las pocas alternativas económicamente rentables (OIE, 2015). La adición de un inhibidor de betalactamasa incrementa el espectro de acción de las penicilinas, sobre todo para combatir bacterias productoras de betalactamasas (Brunton, Lazo y Parker, 2007).

#### Meropenem

*E. coli* y *Salmonella* spp. no presentaron resistencia a meropenem. En varios países como Estados Unidos, Perú, Irán, China, Colombia, Argentina y Japón, estas enterobacterias aisladas de carne de pollo todavía permanecen sensibles a carbapenémicos (Ahmed, Shimabukuro y Shimamoto, 2009; Donado-Godoy et al., 2015; Hui, 2015; Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015; Domínguez et al., 2018; Ruíz-Roldán et al., 2018; Zhao et al., 2020). Los carbapenémicos son utilizados para el tratamiento de bacterias multirresistentes en humanos y no son empleados en animales destinados a producción de alimentos (Hui, 2015).



## Colistina

El menor porcentaje de resistencia fue para colistina con 2.7% en *E. coli* y 0% en *Salmonella* spp. En un estudio realizado en el país se afirma que dentro de los medicamentos más vendidos se encontraban algunos cuyo principio activo era la colistina, los que eran empleados para el tratamiento de infecciones por enterobacterias, sobre todo *E. coli* y *Salmonella* spp., además de ser conocido por su uso como promotor de crecimiento de animales (Dota, 2017; Zheng et al., 2017). En el 2015, Apolo (2015), reporta un 29.3% (n=204) de resistencia a colistina en *E. coli* por el método Kirby - Bauer; no obstante, los resultados no son confiables, ya que la metodología correcta para este antimicrobiano es el CIM, dada la escasa difusión de la colistina en un medio sólido al ser una molécula grande (CLSI, 2019; Uwizeyimana et al., 2020).

En Ecuador, la colistina estaba aprobada para su uso en animales productores de alimento; no obstante, el 15 de enero del 2019 fue prohibido por AGROCALIDAD. (Paredes, Barba y Zurita; 2016; AGROCALIDAD, 2019). Domínguez et al. (2018) reportó la presencia de 31 (n=304) aislados de *E. coli* resistentes a colistina por el método CIM y confirmados con PCR en dos provincias de Argentina. Estudios de vigilancia microbiana en China mencionan el aumento progresivo de la resistencia a colistina, desde un 9.13% en el 2008 hasta un 25,31% en 2015; sin embargo, en el 2016 se prohibió su empleo a causa de la predominancia de resistencia al antibiótico en granjas y ganado (Walsh y Wu, 2016; Zhang et al., 2017).

En los Países Bajos, se prohibió el uso de cefalosporinas de III y IV generación, fluoroquinolonas y colistina; de igual manera, en Dinamarca y Holanda se eliminó el uso profiláctico de antibióticos en el 2011 (Speksnijder et al., 2015; More, 2020). A su vez, la Unión Europea planteó la Resolución 2019/6 a efectuarse en enero del 2022, donde establece la prohibición total de antibióticos preventivos y promotores de crecimiento en animales y el registro obligatorio de compra y uso de antibióticos para el tratamiento de enfermedades (More, 2020).

## Patrones de resistencia

Según los datos obtenidos, se puede observar que el fenotipo más común de resistencia en *Salmonella* spp. fue C-GN-AM-AX-CRO-SXT-T (8/20). Por lo tanto, se determina que a pesar de que se obtuvo un bajo número de aislados positivos, existe un excesivo nivel de multiresistencia. Para *Salmonella* spp., se han reportado resistencias frecuentes a ácido nalidíxico, C, CIP, CRO, AM, T en varios países latinoamericanos (Quesada et al., 2016). Además, existen registros a nivel mundial de cepas multidrogoresistentes, sobre todo a penicilinas, cefalosporinas, tetraciclinas, aminoglucósidos y sulfonamidas (Khan et al., 2010; Álvarez-Fernández et al., 2012; Hui, 2015; Villalpando et al., 2017). En contraste con *E. coli*, la cual se recuperó en casi la mitad de las muestras (148/383); sin embargo, el fenotipo más común fue la resistencia solo a T (15/148), seguido de CIP-SXT-T (7/148), siendo este último fenotipo multiresistente. En Perú, el perfil común de resistencia en enterobacterias fue C-CIP-AM-SXT-T (Ruíz-Roldán et al., 2018).

En América Latina se frecuente el uso veterinario de tetraciclinas, penicilinas y trimetoprim-sulfametoxazol; a su vez, países como Colombia, Ecuador, Perú y Argentina han restringido el empleo de cloranfenicol, nitroimidazol y nitrofuranos (AGROCALIDAD, 2006; Quesada et al., 2016). El uso prolongado de los mismos provoca la multiresistencia de las enterobacterias presentes en los pollos que contaminan las carcasas durante el faenamiento y pueden llegar a infectar al ser humano a través de la cadena alimenticia (Sodagari, Mashak y Ghadimianazar, 2015;

Saliu, Vahjen y Zentek, 2017; Ruíz-Roldán et al., 2018). Cabe recalcar que antimicrobianos como cefalosporinas y fluoroquinolonas son muy utilizados en la medicina humana para tratar infecciones complicadas, por lo que la excesiva resistencia en carne de pollo puede llevar a tratamientos más agresivos con carbapenémicos (Kilonzo et al., 2013; Zhang et al., 2017).

#### Determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE)

39 aislados (nueve de *Salmonella* spp. y 30 de *E. coli*) presentaron irregularidades en los halos del antibiograma, por lo que se realizó la prueba de doble disco para identificar la presencia de BLEE. Ocho aislados de *Salmonella* spp. (40% n=20) y 24 de *E. coli* (16,2% n=148) fueron positivos para BLEE. Todos los aislados positivos fueron multirresistentes. Estos datos contrastan con estudios realizados en Ecuador, donde el 70,1% (n=124) y 86,9% (n=145) de *E. coli* aisladas de ciegos de pollos faenados fueron positivas a través del método de doble disco (Vásconez-Paucar, 2014; De Janon, 2016). Igualmente, un 84% (n=108) de muestras de carne de pollo de percha fueron positivas para *E. coli* BLEE y 77,3% (n=44) positivas para *Salmonella* spp. BLEE en ciegos y carcasas de pollo (Vinueza-Burgos, 2017; Moral, 2018).

El apareamiento de bacterias productoras de BLEE en alimentos derivados de animales es un grave problema para la salud pública, ya que, pueden inactivar varios grupos antibióticos, como penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos (Hui, 2015). La mayoría de enterobacterias productoras de BLEE en aves de corral son *E. coli* y *Salmonella* spp. (Saliu, Vahjen y Zentek, 2017). A nivel mundial se aprecia una alta prevalencia de ambas bacterias en carne de pollo. Para *Salmonella*, China registra un 65% (n=890), Suecia 44,1% (n=133) en aislados de plantas faenadoras de pollos y Brasil 45% (n=98) (Ziech et al., 2016; Qiao et al., 2017). Por otro lado, se ha reportado *E. coli* en carne de pollo: Dinamarca con 98% (n=94), Países Bajos en un 76,8% (n=89), Inglaterra con 54,5% (n=388) y Perú con 59,4% (n=32), (Overdevest et al., 2011; de Janon, 2016; Ruíz-Roldán, 2018).

#### CONCLUSIONES.-

- Se obtuvieron 148 cepas puras de *E. coli* y 20 de *Salmonella* spp. a partir de 383 muestras de carne de pollo faenada mediante análisis fenotípicos y bioquímicos. El 77,2% de *E. coli* y 75% de *Salmonella* spp. presentaron multirresistencia a los antibióticos probados.
- Los porcentajes más altos de resistencia para *E. coli* fueron para eritromicina (100%), tetraciclina (74,3%), cotrimoxazol (56,8%), ampicilina (54,4%), ciprofloxacino (52%), amoxicilina (48,6%), cloranfenicol (41,2%).
- *Salmonella* spp. presentó altas resistencias para eritromicina (100%), tetraciclina (90%), ceftriaxona (80%), amoxicilina (75%), ampicilina (75%), cotrimoxazol (70%), gentamicina (65%) y cloranfenicol (50%).
- Según los resultados obtenidos por CIM, únicamente cuatro aislados de *E. coli* presentaron resistencia a colistina, mientras que *Salmonella* spp. fue sensible.
- Se identificaron como positivos para la producción de BLEE a 24 aislados de *E. coli* y ocho de *Salmonella* spp.; todos fueron multirresistentes, pero sensibles a carbapenémicos.
- La elevada resistencia a varios grupos antibióticos es una clara evidencia de su uso excesivo en pollos, sobre todo tetraciclinas, betalactámicos, fenicoles, cotrimoxazol, cefalosporinas y aminoglucósidos; además, el hecho de que todos los antimicrobianos utilizados, tanto en

veterinaria como en humanos, pertenezcan a las mismas clasificaciones antibióticas, favorece el apareamiento de resistencias cruzadas.

- En Latinoamérica existen prohibiciones para el expendio de determinados antibióticos; sin embargo, no son suficientes para controlar el aumento constante de resistencia a fármacos por parte de enterobacterias en cárnicos.

## RECOMENDACIONES.-

- En base a los resultados obtenidos, es evidente la necesidad de controlar la compra y venta de antibióticos con fines profilácticos en el sector avícola.
- Mejorar la sanitización de las plantas faenadoras para reducir la contaminación de los cárnicos y garantizar su inocuidad.
- La implementación de un sistema de monitoreo constante dedicado a la identificación bacteriana y sensibilidad a antibióticos en cárnicos.
- En cuanto a la investigación realizada, se recomienda analizar a nivel molecular los genes de resistencia de los aislados positivos para BLEE.
- Serotipificar las cepas de *Salmonella* spp. para determinar serovares frecuentes en el país y sus diferentes resistencias a antimicrobianos.

## AGRADECIMIENTOS

A la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro – AGROCALIDAD por haber financiado y facilitado el laboratorio de Microbiología de alimentos para la realización de este estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROCALIDAD. (2006). Registro Oficial N° 420. Recuperado de: <http://web.agrocalidad.gob.ec/documentos/registros/drip/resolucion-034-cancelacion-cloranfenicol-y-nitrofuranos.pdf>

AGROCALIDAD. (2019). *Procedimiento específico de ensayo PEE/B-MB/01: Aislamiento e identificación de Escherichia coli en cárnicos.*

AGROCALIDAD. (2019). *Procedimiento específico de ensayo PEE/B-MB/19: Antibiograma para Salmonella spp. y Escherichia coli aisladas de alimentos.*

AGROCALIDAD. (2019). Resolución 0003. Recuperado de: <http://web.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/daj-201973-0201.0003.pdf>

Ahmed, A. M., Shimabukuro, H., & Shimamoto, T. (2009). Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant strains of *Escherichia coli* and *Salmonella* from retail chicken meat in Japan. *Journal of food science*, 74(7), M405-M410.

Ahmed, A. M., Shimabukuro, H., & Shimamoto, T. (2009). *Isolation and Molecular Characterization of Multidrug-Resistant Strains of Escherichia coli and Salmonella from Retail Chicken Meat in Japan. Journal of Food Science, 74(7), M405–M410.*

Alcocer, I. (1999). *Salmonella spp. Padronização de ensaio imunoenzimático para detecção em alimentos* (Tesis de pregrado).

Álvarez-Fernández, E., Alonso-Calleja, C., García-Fernández, C., & Capita, R. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: comparison between 1993 and 2006. *International journal of food microbiology, 153(3), 281-287.*

Amit-Romach, E., Sklan, D. y Uni, Z. (2004). Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poultry science, 83(7), 1093-1098.*

Apolo, J. (2015). Aislamiento de *Escherichia coli* en pollos de engorde con afección respiratoria y determinación de la sensibilidad frente a los antibióticos utilizados en el cantón balsas.

Astaíza, J. M., Benavides, C. J., López, M. J. y Portilla, J. P. (2014). Diagnóstico de los principales antibióticos recomendados para pollo de engorde (broiler) por los centros agropecuarios del municipio de Pasto, Nariño, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria, 1(27), 99-110.*

Berg, H. C. (2008). *E. coli in Motion*. Springer Science & Business Media.

Braojos, S. G. (2014). *Interacciones ecológicas aves-bacterias: implicaciones durante el desarrollo de los pollos en el nido* (p. 1). Universidad Complutense de Madrid.

Brunton, L. L., Lazo, J. S. y Parker, K. L. (2007). *Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw-Hill.

Bueno, D., Soria, M., Genta, G., Procura, F. y Rodríguez, F. (2016). *Salmonella* sp. en cama de aves. *Cama de pollo en Entre Ríos: Aportes para su uso y manejo*. Ediciones INTA.

Cabello, R. R. (2007). *Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*. Ed. Médica Panamericana.

Carvajal, E., Hernández, W., Torres, M., López, D., Rueda, E., & Vásquez, M. (2019). Resistencia antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* aisladas de contenidos de bursa de Fabricio de aves para engorde. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 30(1), 430-437.*

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2019). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 29° ed. Wayne, Pennsylvania.

Collignon, P., Aarestrup, F. M., Irwin, R., & McEwen, S. (2013). Human deaths and third-generation cephalosporin use in poultry, Europe.

Cona, T. (2002). Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Revista chilena de infectología, 19, 77-81.*

Costa, M. C., Bessegatto, J. A., Alfieri, A. A., Weese, J. S., João Filho, A. B. y Oba, A. (2017). Different antibiotic growth promoters induce specific changes in the cecal microbiota membership of broiler chicken. *PLoS One*, 12(2).

Cypress Diagnostics. (2015). *Bacterial Identification System: Gram Negative*. Bélgica.

De Janon, S. (2016). *Determinación fenotípica de cepas de Escherichia coli resistente a betalactámicos, por la técnica de doble disco, en pollos faenados en seis camales industriales de la provincia de Pichincha* (Bachelor's thesis, Quito: UCE.).

Dhanji, H., Murphy, N. M., Doumith, M., Durmus, S., Surman Lee, S., Hope, R., ... & Livermore, D. M. (2010). Cephalosporin resistance mechanisms in *Escherichia coli* isolated from raw chicken imported into the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(12), 2534-2537.

Dominguez, J. E., Redondo, L. M., Figueroa Espinosa, R. A., Cejas, D., Gutkind, G. O., Chacana, P. A., ... & Fernández Miyakawa, M. E. (2018). Simultaneous carriage of mcr-1 and other antimicrobial resistance determinants in *Escherichia coli* from poultry. *Frontiers in microbiology*, 9, 1679.

Donado-Godoy, P., Byrne, B. A., Leon, M., Castellanos, R., Vanegas, C., Coral, A., ... & Tafur, M. (2015). Prevalence, resistance patterns, and risk factors for antimicrobial resistance in bacteria from retail chicken meat in Colombia. *Journal of Food Protection*, 78(4), 751-759.

Donado-Godoy, P., Clavijo, V., Leon, M., Arevalo, A., Castellanos, R., Bernal, J., ... & Romero-Zuñiga, J. J. (2014). Counts, serovars, and antimicrobial resistance phenotypes of *Salmonella* on raw chicken meat at retail in Colombia. *Journal of food protection*, 77(2), 227-235.

Dota, C. S. (2017). *Resistencia a antibióticos de uso veterinario en Enterobacterias y Campylobacter aisladas de pollos faenados expendidos en el Mercado "El Arenal" de Cuenca* (Bachelor's thesis, Univesidad del Azuay).

Egas, R. D. (2018). *Aislamiento e identificación de Salmonella y Escherichia coli productor de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en granjas avícolas de reproductoras pesadas en las provincias de Napo y Pastaza, Ecuador* (Master's thesis, Quito: UCE).

Egervärn, M., Börjesson, S., Byfors, S., Finn, M., Kaibe, C., Englund, S., & Lindblad, M. (2014). *Escherichia coli* with extended-spectrum beta-lactamases or transferable AmpC beta-lactamases and *Salmonella* on meat imported into Sweden. *International journal of food microbiology*, 171, 8-14.

Estrada, S. V., Pilataxi, M. L., & Burgos, C. V. (2017). Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de *Salmonella enterica* aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas: REMCB*, 38(1), 11-24.

Estrella, V. P. (2017). *Estudio piloto sobre el análisis de residuos de antibióticos en pechuga de pollos comercializados en la ciudad de Ambato* (Bachelor's thesis).

Fajardo, Á., Méndez, F. y Molina, L. (2011). Residuos de fármacos anabolizantes en carnes destinadas al consumo humano. *Universitas Scientiarum*, 16(1), 77-91.

FDA. (2012). *National Antimicrobial Resistant Monitoring System - Retail Meat Report*. Recuperado de: <https://www.fda.gov/media/91498/download>

FDA. (2017). *BAM: Salmonella*. Recuperado de: <https://www.fda.gov/media/83330/download>

FDA. (2020). *Extralabel use and Antimicrobials*. Recuperado de: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/antimicrobial-resistance/extralabel-use-and-antimicrobials#:~:text=Therefore%2C%20the%20Agency%20issued%20the,currently%20illegal%20in%20the%20U.S.>

Guard-Petter, J. (2001). The chicken, the egg and *Salmonella Enteritidis*. *Environmental microbiology*, 3(7), 421-430.

Gutiérrez, M. F., & Sánchez Ortiz, C. A. (2017). Detección y caracterización de *Escherichia coli* patógeno en carne de pollo por reacción en cadena de la polimerasa.

Gutiérrez, M. (2017). *Ecuador: Avicultura provee la mayor fuente de proteína animal*. Recuperado de: <https://avicultura.info/ecuador-avicultura-provee-la-mayor-fuente-de-proteina-animal/>

Hanekamp, J. C., Frapporti, G., & Olieman, K. (2003). Chloramphenicol, food safety and precautionary thinking in Europe. *Environmental Liability*, 11(6), 209-219.

Hui, Y. Z. (2015). Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from farm animals in China. *Frontiers in microbiology*, 6, 602.

Islam, M. J., Sultana, S., Das, K. K., Sharmin, N., & Hasan, M. N. (2008). Isolation of plasmid-mediated multidrug resistant *Escherichia coli* from poultry. *International Journal of Sustainable Crop Production*, 3(5), 46-50.

Jana, A., & Mondal, A. (2013). Serotyping, pathogenicity and antibiogram of *Escherichia coli* isolated from raw poultry meat in West Bengal, India. *Vet Ital*, 49(4), 361-365.

Jiang, H.-X., Lü, D.-H., Chen, Z.-L., Wang, X.-M., Chen, J.-R., Liu, Y.-H., ... Zeng, Z.-L. (2011). *High prevalence and widespread distribution of multi-resistant Escherichia coli isolates in pigs and poultry in China*. *The Veterinary Journal*, 187(1), 99-103.

Kabir, S. M. (2010). Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International journal of environmental research and public health*, 7(1), 89-114.

Khan, M., Suryanarayan, P., Ahmed, M. M., Vaswani, R. B., & Faheem, S. M. (2010). Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates from chicken meat samples in Dubai, United Arab Emirates. *International Journal of Food, Nutrition and Public Health*, 3(2), 149-159.

Kilonzo-Nthenge, A., Rotich, E., & Nahashon, S. N. (2013). Evaluation of drug-resistant Enterobacteriaceae in retail poultry and beef. *Poultry science*, 92(4), 1098-1107.

Laboratorios Microkit. (2019). *Medios de cultivo deshidratados, suplementos y materias primas*. Recuperado de: <https://www.microkit.es/pdf/catalogo-productos-microkit-2019.pdf>

Lapierre, L., Cornejo, J., Zavala, S., Galarce, N., Sánchez, F., Benavides, M. B., ... & Sáenz, L. (2020). Phenotypic and Genotypic Characterization of Virulence Factors and Susceptibility to Antibiotics in *Salmonella Infantis* Strains Isolated from Chicken Meat: First Findings in Chile. *Animals*, 10(6), 1049.

León, M. (2010). *Evaluación del efecto de dos promotores de crecimiento en el agua de bebida, durante la etapa de levante en pollos broiler* (Tesis de pregrado).

Leverstein-van Hall, M. A., Dierikx, C. M., Cohen Stuart, J., Voets, G. M., Van Den Munckhof, M. P., van Essen-Zandbergen, A., ... & Bonten, M. J. M. (2011). Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(6), 873-880.

Lezameta, L., Gonzáles, E. y Tamariz, J. (2010). Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27, 345-351.

Li, X. S., Wang, G. Q., Du, X. D., Cui, B. A., Zhang, S. M., & Shen, J. Z. (2007). Antimicrobial susceptibility and molecular detection of chloramphenicol and florfenicol resistance among *Escherichia coli* isolates from diseased chickens. *Journal of Veterinary Science*, 8(3), 243-247.

Liu, L., Lin, L., Zheng, L., Tang, H., Fan, X., Xue, N. y Li, X. (2018). Cecal microbiome profile altered by *Salmonella enterica*, serovar Enteritidis inoculation in chicken. *Gut pathogens*, 10(1), 34.

Ljubojević, D., Velhner, M., Todorović, D., Pajić, M., & Milanov, D. (2016). Tetracycline resistance in *Escherichia coli* isolates from poultry. *Arh. Vet. Med.*, 9(1), 61-81.

Malbrán, C. (2017). *Protocolo para la determinación de Concentración Inhibitoria Mínima por el Método de Microdilución. Aplicación para determinar la sensibilidad a Colistín*. Recuperado de: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-CIM-microdiluci%C3%B3n-COL-version1-Julio-2017.pdf>

Manie, T., Khan, S., Brözel, V., Veith, W. y Gouws, P. (1998). Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South Africa. *Letters in applied microbiology*, 26(4), 253-258.

Manning, S. D. (2010). *Escherichia coli infections*. Infobase Publishing.

Mantilla, J. G. (2019). *Tipificación fenotípica y molecular de resistencias a los antimicrobianos en Escherichia coli BLEE/AmpC aislados de ciegos y carcasas de pollos broiler* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Marshall, B. M. y Levy, S. B. (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical microbiology reviews*, 24(4), 718-733.

Matté, F. (2017). Influencia de la microflora sobre la salud intestinal de las aves. *Vetanco*.

Mayo Clinic. (2019). *Infección por Salmonella*. Recuperado de: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/salmonella/symptoms-causes/syc-20355329>

Mechesso, A. F., & Park, S. C. (2020). Tylosin exposure reduces the susceptibility of *Salmonella Typhimurium* to florfenicol and tetracycline. *BMC veterinary research*, 16(1), 22.

Meldrum, R. J., Tucker, D., Smith, R. M. M., & Edwards, C. (2005). Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *Journal of food protection*, 68(7), 1447-1449.

Méndez, I. A., Badillo, C. A., Parra, G. O. y Faccini, Á. A. (2011). Caracterización microbiológica de *Salmonella* en alimentos de venta callejera en un sector universitario de Bogotá, Colombia. Julio a octubre de 2010. *Revista Médicas UIS*, 24(1).

M'ikanatha, N. M., Sandt, C. H., Localio, A. R., Tewari, D., Rankin, S. C., Whichard, J. M. y Chiller, T. M. (2010). Multidrug-resistant *Salmonella* isolates from retail chicken meat compared with human clinical isolates. *Foodborne pathogens and disease*, 7(8), 929-934.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2013). *Estudio de Cadenas Pecuarias de Ecuador*. Recuperado de: [https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/bovinos/informacion\\_interes/informes\\_historicos/archivos/000002=Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador/000008-Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador.pdf](https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/bovinos/informacion_interes/informes_historicos/archivos/000002=Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador/000008-Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador.pdf)

Miranda, J. M., Mondragón, A., Rodríguez, J. A., Guarddon, M., Nebot, C. G., Galán-Vidal, C. A., & Coronel-Olivares, C. (2010). Presence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from foodstuffs in Hidalgo State (Mexico) *CyTA—Journal of Food*, 8(1), 15-21.

Moniri, R., & Dastehgoli, K. (2005). Fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolated from healthy broilers with previous exposure to fluoroquinolones: Is there a link? *Microbial ecology in health and disease*, 17(2), 69-74.

Moral, M. A. (2018). *Cuantificación de cepas de Escherichia coli y Escherichia coli BLEE aisladas de carcasas de pollo en percha en el cantón Quito* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

More, S. J. (2020). European perspectives on efforts to reduce antimicrobial usage in food animal production. *Irish Veterinary Journal*, 73(1), 2.

Morejón, M. (2013). Extended spectrum Beta-lactamase (ESBL). *Revista Cubana de Medicina*, 52(4), 272-280.



National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2012). *MIC Testing*. Vol. 32. Recuperado de: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

Nordqvist, C. (2017). *E. coli infection: Symptoms, causes, and treatment*. Recuperado de: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/68511.php>

Ogunleye, A. O., Oyekunle, M. A. y Sonibare, A. O. (2008). Multidrug resistant *Escherichia coli* isolates of poultry origin in Abeokuta, South Western Nigeria. *Veterinarski Arhiv*, 78(6), 501-509.

OIE. (2015). Resolution N° XXVIII - List of antimicrobial agents of veterinary importance. Recuperado de: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our\\_scientific\\_expertise/docs/pdf/AMR/A\\_OIE\\_List\\_antimicrobials\\_May2018.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/A_OIE_List_antimicrobials_May2018.pdf)

Orellana, D. L. (2019). *Meta-análisis de la prevalencia de Enterobacterias en diferentes tipos de alimentos* (Bachelor's thesis, Universidad del Azuay).

Ortega-Paredes, D., Barba, P., & Zurita, J. (2016). Colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolate harbouring the mcr-1 gene in Ecuador. *Epidemiology & Infection*, 144(14), 2967-2970.

Overdevest, I., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, L., Hawkey, P., ... & Huijsdens, X. (2011). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerging infectious diseases*, 17(7), 1216.

Oxoid. (2019). *Rappaport Vassiliadis (RV) Enrichment Broth*. Recuperado de: [http://www.oxoid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0669&org=124&c=UK&lang=EN](http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0669&org=124&c=UK&lang=EN)

Parra, P. C. (2019). *Estudio retrospectivo de los principales agentes bacterianos aislados en aves comerciales y determinación de perfiles de resistencia de Escherichia coli y Salmonella spp. desde el 2013 al 2018* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Parveen, S., Taabodi, M., Schwarz, J. G., Oscar, T. P., Harter-Dennis, J. y White, D. G. (2007). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* recovered from processed poultry. *Journal of food protection*, 70(11), 2466-2472.

Pascual, M. y Calderón, V. (1999). *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas*. Ediciones Diaz de Santos.

Paterson, D. L. (2000). Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs). *Clinical Microbiology and Infection*, 6(9), 460-463.

Paterson, D. L. y Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum B-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology*, 18(14), 657-686.

Pattison, M., McMullin, P., Bradbury, J. M. y Alexander, D. (2008). *Poultry diseases*. Elsevier Health Sciences.

Pérez, E. A. (2015). *Cuantificación de Escherichia coli productor de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en puntos críticos de control en camales industriales de la Provincia de Pichincha* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Pérez, I. (2015). *Calidad y seguridad microbiológica de la carne de pollo: con especial referencia a la incidencia de Salmonella, Campylobacter y Listeria monocytogenes, en las distintas etapas de producción y procesado* [Tesis doctoral]. Logroño: Universidad De La Rioja, Facultad De Ciencias Estudios Agroalimentarios e Informática.

Phillips, I. (2007). Withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health. *International journal of antimicrobial agents*, 30(2), 101-107.

Pulido-Landínez, M. (2016). Disminuir la presencia de *Salmonella* en carne de pollo. Recuperado de: <https://avicultura.info/intervenciones-disminuir-la-presencia-salmonella-carne-pollo/>

Qiao, J., Zhang, Q., Alali, W. Q., Wang, J., Meng, L., Xiao, Y., ... & Yang, B. (2017). Characterization of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs)-producing *Salmonella* in retail raw chicken carcasses. *International journal of food microbiology*, 248, 72-81.

Quesada, A., Reginatto, G. A., Ruiz, A. E., Colantonio, L. D., & Burrone, M. S. (2016). Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated animal food for human consumption. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*, 33(1), 32-44.

Rajashekara, G., Haverly, E., Halvorson, D., Ferris, K., Lauer, D. y Nagaraja, K. (2000). Multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 in poultry. *Journal of food protection*, 63(2), 155-161.

Randall, L. P., Clouting, C., Horton, R. A., Coldham, N. G., Wu, G., Clifton-Hadley, F. A., ... & Teale, C. J. (2011). Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended-spectrum β-lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(1), 86-95.

Rawat, D. y Nair, D. (2010). Extended-spectrum β-lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of global infectious diseases*, 2(3), 263.

Reinoso, J. L. (2015). *Determinar la presencia de enterobacterias en pollo no refrigerado que se expende en el Mercado 27 de febrero de la ciudad de Cuenca* (Master's thesis, Universidad del Azuay).

Roth, N., Käsbohrer, A., Mayrhofer, S., Zitz, U., Hofacre, C. y Domig, K. J. (2018). The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry science*, 98(4), 1791-1804.

Ruiz-Roldán, L., Martínez-Puchol, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., ... & Pons, M. J. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos

en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35, 425-432.

Sáenz, Y., Zarazaga, M., Briñas, L., Lantero, M., Ruiz-Larrea, F., & Torres, C. (2001). *Antibiotic resistance in Escherichia coli isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. International Journal of Antimicrobial Agents*, 18(4), 353–358.

Saliu, E. M., Vahjen, W., & Zentek, J. (2017). Types and prevalence of extended–spectrum beta–lactamase producing Enterobacteriaceae in poultry. *Animal health research reviews*, 18(1), 46-57.

Sánchez, L. y Corral, L. (2005). Evaluación de la congelación para conservación de especies autóctonas bacterianas. *Nova*, 3(4), 21-29.

Schmidt, C. W. (2012). FDA proposes to ban cephalosporins from livestock feed.

Sheikh, A. A., Checkley, S., Avery, B., Chalmers, G., Bohaychuk, V., Boerlin, P., ... & Aslam, M. (2012). Antimicrobial resistance and resistance genes in *Escherichia coli* isolated from retail meat purchased in Alberta, Canada. *Foodborne pathogens and disease*, 9(7), 625-631.

Shippers. (2019). *E. coli*. Recuperado de: <https://www.shippersweb.com/themes/aves-de-corral/e-coli-t3001/>

Sodagari, H. R., Mashak, Z., & Ghadimianazar, A. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from retail chicken meat and giblets in Iran. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(05), 463-469.

Speksnijder, D. C., Mevius, D. J., Brusckhe, C. J. M., & Wagenaar, J. A. (2015). Reduction of veterinary antimicrobial use in the Netherlands. The Dutch success model. *Zoonoses and public health*, 62, 79-87.

Stromberg, Z., Johnson, J., Fairbrother, J., Kilbourne, J., Van Goor, A., Curtiss 3rd, R. y Mellata, M. (2017). Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *PloS one*, 12(7), e0180599.

Tapia, F. V. (2016). *Determinación de Escherichia Coli O157: H7 (EHEC) en la carne molida que se vende en el mercado el Arenal de la ciudad de Cuenca* (Tesis de maestría, Universidad del Azuay).

US Food and Drug Administration. (2020). Cephalosporin order of prohibition. Recuperado de: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/antimicrobial-resistance/cephalosporin-order-prohibition-questions-and-answers>

Uwizeyimana, J. D., Kim, D., Lee, H., Byun, J. H., & Yong, D. (2020). Determination of Colistin Resistance by Simple Disk Diffusion Test Using Modified Mueller-Hinton Agar. *Annals of laboratory medicine*, 40(4), 306-311.

Van, T. T. H., Moutafis, G., Istivan, T., Tran, L. T., & Coloe, P. J. (2007). Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance. *Applied and environmental microbiology*, 73(21), 6885-6890.

Vandevenne, C. A. (2002). *Métodos de análisis microbiológicos de alimentos*. Ediciones Díaz de Santos.

Vásconez-Paucar, D. C. (2014). *Aislamiento e identificación de Escherichia coli BLEE en ciegos de pollos faenados en camales industriales en la provincia de Pichincha* (Tesis de grado).

Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2017). Frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo, res y cerdo de la Ciudad de México. *Revista chilena de infectología*, 34(5), 458-466.

Vinueza Burgos, C. V. (2017). *Salmonella and Campylobacter in broilers at slaughter age: a possible source for carcasses contamination in Ecuador* (Doctoral dissertation, Ghent University).

Walsh, T. R., & Wu, Y. (2016). China bans colistin as a feed additive for animals. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(10), 1102–1103. doi:10.1016/s1473-3099(16)30329-2

Warren, R. E., Ensor, V. M., O'Neill, P., Butler, V., Taylor, J., Nye, K., ... & Hawkey, P. M. (2008). Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(3), 504-508.

White, D. G., Hudson, C., Maurer, J. J., Ayers, S., Zhao, S., Lee, M. D., ... & Sherwood, J. (2000). Characterization of chloramphenicol and florfenicol resistance in *Escherichia coli* associated with bovine diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(12), 4593-4598.

Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, 3(2), 163.

Wong, T., Whyte, R. J., Cornelius, A. J., & Hudson, J. A. (2004). Enumeration of *Campylobacter* and *Salmonella* on chicken packs. *British Food Journal*.

World Health Organization. (2002). *Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens* (Vol. 2). Food & Agriculture Org.

World Health Organization. (2019). *Highest Priority Critically Important Antimicrobials*. Recuperado de: <https://www.who.int/foodsafety/cia/en/>

Yassin, A. K., Gong, J., Kelly, P., Lu, G., Guardabassi, L., Wei, L., ... & Wang, C. (2017). Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China. *PloS one*, 12(9), e0185326.

Zhang, P., Shen, Z., Zhang, C., Song, L., Wang, B., Shang, J., ... & Zheng, Y. (2017). Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from chicken and swine, China, 2008–2015. *Veterinary microbiology*, *203*, 49-55.

Zhao, S., Blickenstaff, K., Bodeis-Jones, S., Gaines, S. A., Tong, E., & McDermott, P. F. (2012). Comparison of the prevalences and antimicrobial resistances of *Escherichia coli* isolates from different retail meats in the United States, 2002 to 2008. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(6), 1701-1707.

Ziech, R. E., Lampugnani, C., Perin, A. P., Sereno, M. J., Sfaciotte, R. A., Viana, C., ... & dos Santos, L. (2016). Multidrug resistance and ESBL-producing *Salmonella* spp. isolated from broiler processing plants. *Brazilian journal of microbiology*, *47*(1), 191-195.