



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**UTILIZACIÓN DE BACTERIAS INDICADORAS
PARA EL ESTUDIO DE LA RESISTENCIA BACTERIANA EN
AVES DE CONSUMO HUMANO**

LORENZO ARTURO CAMPOS AGUIRRE

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico
Veterinario Departamento de
Ciencias Clínicas

PROFESOR GUIA: DRA. BETTY SAN MARTÍN, MV; DMV

**SANTIAGO, CHILE
2005**



UNIVERSIDAD DE CHILE
 FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
 ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**UTILIZACIÓN DE BACTERIAS INDICADORAS
 PARA EL ESTUDIO DE LA RESISTENCIA BACTERIANA EN
 AVES DE CONSUMO HUMANO**

LORENZO ARTURO CAMPOS AGUIRRE

Memoria para optar al Título
 Profesional de Médico
 Veterinario Departamento de
 Ciencias Clínicas

NOTA FINAL: _____

FIRMA

NOTA

PROFESOR GUIA: DRA. BETTY SAN MARTÍN, MV; DMV _____

PROFESOR CONSEJERO: DRA. CONSUELO BORIE, MV; M.SC. _____

PROFESOR CONSEJERO: DANIELA IRAGÜEN, MV. _____

**SANTIAGO, CHILE
 2005**

Dedicada a mi familia que siempre me apoyó en todo durante mi paso por la carrera.

AGRADECIMIENTOS

Debo empezar por dar gracias a mis padres, Eduardo Campos e Iris Aguirre, mi hermana Sylvia Campos y mi sobrina Paloma Torres por todo el apoyo que me brindaron para sacar adelante la carrera. También a mi profesora guía Betty San Martín y mis profesoras consejeras Consuelo Borie y Daniela Iragüen, que me guiaron durante todo el desarrollo de la memoria. Especial mención merecen los profesores María Sanchez, María Antonieta Jara y Héctor Hidalgo, que siempre estuvieron dispuestos a brindarme su ayuda frente a cualquier consulta. No puedo dejar de lado la crucial colaboración de las doctoras Irma Acevedo y Amelia Morales de los Departamentos de Bacteriología y de Microbiología de los Alimentos del Servicio Agrícola y Ganadero, respectivamente, y también la ayuda de Melissa Pérez, sin las cuales no hubiera sido posible la realización de esta memoria.

Cómo olvidar al personal del laboratorio de microbiología, Patricio Toledo, Carlos Campos, Humberto Antilef y Pamela Muñoz que me tendieron siempre una mano amiga y una conversación agradable al momento de la preparación de los medios de cultivo. Y también a las secretarias Odette, Patricia y Daniela del departamento de Ciencias Clínicas por su invaluable cooperación al momento de sacar fotocopias.

Con mucho énfasis también quiero agradecer a Alfredo Escobar, Jorge Estrada, Bernardino Camousseigt, Paulina Caroca, Hernán Torres, Felipe Hernández, Carlos Feliú, Enzo Fuentes, Mauricio Fernández, Miguel Adasme, Paola Villalobos, Carolina Gallardo, Katherine Feliú, Paola Correa, Sandra Díaz, Verónica Bravo, Esteban Carreño, Margarita Adasme, Karen Torres, Oscar Egnen, Daniel Marabolí, Germán Henríquez y Oscar Cornejo, que de una u otra manera siempre me brindaron su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos.

Finalmente me queda agradecer a la facultad de Medicina Veterinaria y a todas las personas que en ella trabajan por la buena acogida que me brindaron y que hicieron más placentero el sacar adelante la carrera.

INDICE

I.-	Introducción.....	1
II.-	Revisión Bibliográfica.....	2
	1.- Antimicrobianos.....	2
	2.- Resistencia bacteriana.....	3
	2.1.- Definición.....	3
	2.2.- Bases de la resistencia bacteriana.....	3
	2.3.- Mecanismos de resistencia bacteriana.....	4
	3.- Aumento de la resistencia bacteriana a nivel mundial.....	6
	4.- Causas del incremento de la resistencia bacteriana.....	8
	5.- Transferencia de resistencia desde animales al ser humano.....	13
	6.- Programas de vigilancia de resistencia bacteriana a nivel internacional.....	18
	6.1.- Bacterias patógenas.....	21
	6.2.- Bacterias zoonóticas.....	21
	6.3.- Bacterias indicadoras.....	22
	7.- Situación Nacional.....	23
III.-	Objetivos.....	24
IV.-	Material y métodos.....	25
V.-	Resultados.....	28
VI.-	Discusión.....	38
VII.-	Conclusiones.....	44
VIII.-	Bibliografía.....	45

RESUMEN

Durante muchos años, los antimicrobianos han sido un componente crucial en la terapia de enfermedades infecciosas bacterianas tanto en medicina humana como veterinaria. Sin embargo, con el paso del tiempo se ha observado la aparición de mecanismos de resistencia, pudiendo llevar al surgimiento de cepas bacterianas multiresistentes, lo que ha provocado una creciente preocupación a nivel mundial y la adopción de medidas que permitan disminuir el alarmante aumento de la resistencia.

El objetivo de este trabajo fue realizar una vigilancia de la resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos de uso más frecuente en aves de consumo humano, utilizando para ello a *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp. como bacterias indicadoras y definir los niveles de resistencia y los perfiles de multiresistencia de las cepas aisladas, además de buscar la posible aparición de cepas resistentes a vancomicina en cepas de *Enterococcus*, el cual es un antimicrobiano de uso exclusivo en medicina humana.

Para la evaluación de los niveles de resistencia, se utilizó el Método de Dilución en Placa para definir la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de cada cepa bacteriana aislada. Se recolectaron un total de 110 muestras de heces de pollos broiler, gallinas de postura y pavos de engorda provenientes de la zona central de Chile, de las cuales se aislaron e identificaron 98 cepas de *E. coli* y 96 de *Enterococcus* spp.

Los mayores niveles de resistencia se observaron frente a oxitetraciclina, alcanzando alrededor del 80% en ambos grupos de bacterias indicadoras y frente a fluoroquinolonas (enrofloxacino y ciprofloxacino) con alrededor de 77% de cepas de *Enterococcus* spp. No se encontraron cepas de *Enterococcus* resistentes a vancomicina.

Sobre el 75% de las cepas de *E. coli* y sobre el 85% de las de *Enterococcus* spp. presentaron resistencia a 2 o más antimicrobianos. En el caso de *E. coli*, el perfil más frecuente (10%) fue enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina / estreptomina / flumequina / ácido oxolínico / ácido nalidíxico. Para *Enterococcus* spp. el perfil más frecuente (25%) fue enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina / eritromicina.

De estos resultados se concluye que los sistemas de producción de aves de consumo presentan elevados niveles de resistencia y multiresistencia, por lo que nuestro país no

queda exento del problema de resistencia bacteriana que se presenta también a nivel internacional. Se hace necesaria entonces la instauración de programas permanentes de vigilancia nacional de la resistencia bacteriana que permitan conocer los niveles de resistencia, siendo recomendable que la venta de antimicrobianos se realice a través de receta médica veterinaria para disminuir el uso masivo de estos fármacos.

ABSTRACT

During years, antimicrobials drugs have been crucial in bacterial diseases therapy, in human and veterinary medicines. The appearance of resistance mechanisms that could lead to multidrug resistant strains has been observed. This situation has aroused a worldwide concern leading to the adoption of measures to reduce the alarming increase of the bacterial resistance.

The objective of this study was to monitor the bacterial resistance against the antimicrobials more frequently used in poultry, using *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. as indicator bacteria, in order to define the resistance levels and multiresistance profiles of the isolated strains. In addition, the *Enterococcus* spp. strains were tested for vancomycin, an antimicrobial used only in human medicine.

The Plaque Dilution Method was used to determine the MIC of the isolated strains. 110 fecal samples were collected from broilers, laying hens and fattening turkeys from the central zone of Chile; 98 *E. coli* and 96 *Enterococcus* spp. strains were isolated and identified.

There were high levels of resistance. 90% of *E. coli* and 93% of *Enterococcus* spp. strains showed resistance, with the highest values against oxytetracycline (80%). For fluoroquinolones (enrofloxacin and ciprofloxacin), 77% of *Enterococcus* spp. strains showed resistance. There was no resistance against vancomycin in *Enterococcus* spp. strains.

77,5% of *E. coli* and 86,4% of the *Enterococcus* spp. strains showed resistant against two or more antimicrobials. Enrofloxacin / ciprofloxacin / oxytetracycline / streptomycin / flumequine / oxolinic acid / nalidixic acid was the most frequent profile showed by *E. coli* strains (10%). Enrofloxacin / ciprofloxacin / oxytetracycline / erythromycin was the most common for *Enterococcus* spp. strains (25%).

From these results we concluded that there are high resistance and multiresistance levels in poultry. Our country is not far from the international bacterial resistance problem. It is necessary the implementation of national permanent surveillance programs that allow collecting data of the existing resistance levels, and also it would be recommendable that

antimicrobials might be purchased only with veterinary prescription, in order to control the massive use of antimicrobial agents.

I.- INTRODUCCIÓN

Los antimicrobianos son, actualmente, la principal herramienta terapéutica para tratar las infecciones bacterianas tanto en el ser humano como en los animales. Sin embargo, ya a pocos años desde los inicios de su utilización comercial, se comenzó a observar que éstos permitían la aparición de bacterias resistentes en los ecosistemas bacterianos que eran sometidos a la acción de dichos fármacos. El uso masivo de los antimicrobianos, ya sea para la terapia, control y prevención de enfermedades, o su uso como promotores del crecimiento en animales de producción, ha propiciado un gran incremento de los niveles de resistencia tanto en la medicina humana como en la práctica veterinaria.

Las investigaciones han demostrado que cada vez son menos las barreras para el traspaso de genes de resistencia entre distintas poblaciones bacterianas. Así, bacterias resistentes a la acción de un determinado antimicrobiano pueden transferir esta cualidad a bacterias de otro animal, del medio ambiente o incluso del ser humano, pudiendo generar poblaciones bacterianas resistentes a los antimicrobianos disponibles, ya sean éstas comensales, patógenas y/o zoonóticas.

Diversos organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), señalan que deben realizarse esfuerzos conjuntos por parte de los médicos humanos y veterinarios para abordar el problema de la resistencia bacteriana de manera integral, adoptando medidas que permitan controlarla. Algunas de estas medidas son la utilización de fármacos bajo receta médico veterinaria, disminución del uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento en animales de producción y la instauración de programas de vigilancia de la resistencia bacteriana a nivel nacional frente a los antimicrobianos utilizados en la práctica veterinaria, los cuales deberían comprender siempre tres grupos de bacterias: zoonóticas, patógenas e indicadoras.

El objetivo de este trabajo fue realizar una vigilancia de la resistencia en bacterias indicadoras aisladas de aves, frente a los antimicrobianos más utilizados en producción aviar, incluyendo vancomicina y ciprofloxacino, antimicrobianos de uso exclusivo en medicina humana, con el fin de dar a conocer los niveles de resistencia existentes en la zona central de Chile, que permitan instaurar a futuro programas permanentes de vigilancia nacional.

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.- Antimicrobianos

Los antimicrobianos son productos químicos naturales, semi sintéticos o sintéticos que matan o enlentecen el crecimiento de los microorganismos (CDC, 2000).

Los antibióticos (del griego: *anti*, ‘contra’; *bios*, ‘vida’) son sustancias químicas producidas por diferentes especies de microorganismos (como bacterias y hongos) o sintetizados por métodos de laboratorio, que suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden eventualmente destruirlos. Estos compuestos difieren marcadamente en sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, así como en su mecanismo de acción y espectro antimicrobiano (Cordies *et al.*, 1998).

Los mecanismos de acción de los antimicrobianos se pueden clasificar básicamente en (Zamudio, 2003; Mateos, 2003; Hosein, 2003):

a.- Inhibición de la síntesis de la pared celular: La pared celular proporciona, entre otras cosas, protección ante la gran presión osmótica en el interior de la célula, por lo que al ser inhibida o encontrarse defectuosa, la célula sufrirá lisis. Las penicilinas y cefalosporinas son antimicrobianos que utilizan este mecanismo, siendo efectivos contra bacterias grampositivas por la alta presión osmótica en el interior de este tipo de bacterias, a diferencia de los bacilos gramnegativos que, además de tener baja presión osmótica, poseen estructuras en la pared que los protegen de estos antimicrobianos.

b.- Alteración de la membrana celular: las sustancias que alteran esta estructura, como las polimixinas, modifican la permeabilidad, permitiendo la salida de iones K y macromoléculas, con el consiguiente efecto lítico.

c.- Inhibición de la síntesis proteica: por ejemplo, los aminoglucósidos se unen a subunidades ribosómicas lo que lleva a una síntesis de proteínas errónea.

d.- Alteración de la síntesis de ácidos nucleicos: producen inhibición de enzimas que son necesarias para la replicación, recombinación y reparación del DNA. Por ejemplo, las quinolonas y fluoroquinolonas inhiben la enzima girasa, lo que trae como consecuencia la fragmentación del DNA bacteriano y la consiguiente muerte celular.

e.- *Inhibidores del metabolismo intermediario*: como las sulfonamidas, que compiten con el ácido p-amino benzoico, un metabolito necesario para la síntesis de DNA.

La utilización de antimicrobianos para el tratamiento o prevención de enfermedades inevitablemente permite la selección de bacterias resistentes.

2.- **Resistencia Bacteriana**

2.1.- **Definición:**

Históricamente, la resistencia bacteriana a los antimicrobianos se definía como la infección bacteriana persistente, a pesar de la administración de una dosis adecuada de un antimicrobiano específico. Más tarde, se modificó esta definición al relacionar la resistencia con la concentración del antimicrobiano en el sitio de acción; así, la resistencia podría ser parcial o relativa. Actualmente, una bacteria se considera resistente cuando las concentraciones de un antimicrobiano necesarias para inhibir el crecimiento de una bacteria *in vitro*, son mayores que las concentraciones alcanzadas en suero o en tejidos, medidos por la concentración inhibitoria mínima (MIC) (Sussmann *et al.*, 2004).

2.2.- **Bases de la resistencia bacteriana:**

Todo fenómeno de resistencia tiene una base genética, ya sea por mutaciones, por adquisición de genes de resistencia que se transfieren entre bacterias, o una combinación de ambos mecanismos. Los genes de resistencia pueden estar presentes en bacterias patógenas, comensales o zoonóticas, pero la incidencia de estos genes varía considerablemente entre las especies bacterianas e incluso entre subespecies. Por ejemplo, las bacterias grampositivas, exceptuando a los estafilococos y enterococos, a menudo carecen de la habilidad de adquirir plásmidos que contengan genes de resistencia (plásmidos-R) (EMEA, 1999).

La resistencia bacteriana puede ser intrínseca o adquirida. La resistencia intrínseca es una característica de algunas especies bacterianas que son resistentes a un antimicrobiano en forma natural, ya sea porque carecen de los mecanismos celulares en los

cuales ese fármaco en particular ejerce su acción o porque la pared celular bacteriana es impermeable a esa droga. Los enterococos, por ejemplo, poseen resistencia intrínseca a una amplia variedad de antimicrobianos como las lincosamidas, sulfametoxazol + trimetoprim y a bajas concentraciones de aminoglucósidos. Además, presentan sensibilidad intermedia a penicilinas (Ayats, 2003).

La resistencia adquirida se puede originar mediante mutación o por la transferencia de material genético que codifique resistencia a un determinado antimicrobiano. Las mutaciones pueden ser transferidas verticalmente a las células hijas, mientras que la transferencia horizontal, que permite la transferencia de material genético entre bacterias de la misma especie o de especies distintas, se da a través de los mecanismos de conjugación, transducción y transformación. Dentro de éstas, la conjugación es la forma de transferencia más común, y consiste en el traspaso de material genético gracias a la presencia de pilis sexuales. La conjugación se presenta principalmente en bacterias gramnegativas, en especial entre Enterobacterias, otorgando resistencia frente a algunos antimicrobianos, como por ejemplo, tetraciclina, cloranfenicol, sulfonamidas, penicilinas y aminoglucósidos (Errecalde, 2004).

2.3.- Mecanismos de resistencia bacteriana:

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede desarrollar resistencia al efecto de un antimicrobiano, siendo importante mencionar que pueden operar en forma simultánea en la misma bacteria (Sussmann *et al.*, 2004; Quintana, 2002):

- Destrucción e inactivación del antimicrobiano.
- Barreras de permeabilidad.
- Alteración del sitio blanco u objetivo del antimicrobiano.

2.3.1.- Destrucción e inactivación del antimicrobiano:

Este mecanismo de resistencia consiste en la producción de enzimas que destruyen el antimicrobiano mediante hidrólisis, como por ejemplo las β -lactamasas producidas por una gran variedad de bacterias gramnegativas y algunas grampositivas como estafilococos y estreptococos. Por otro lado, algunas bacterias tienen la capacidad de producir enzimas

que modifican la estructura de los antimicrobianos, como es el caso de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos, las que se han detectado principalmente en bacilos gramnegativos del grupo de las enterobacterias.

2.3.2.- Barreras de permeabilidad:

La célula bacteriana puede ser capaz de impedir que un antimicrobiano alcance una concentración adecuada en el sitio de acción evitando su entrada al medio intracelular o promoviendo la salida de este hacia el medio extracelular, mediante un mecanismo activo de eflujo del antibiótico.

a. Disminución de la entrada del fármaco a la bacteria:

a.- Permeabilidad de la membrana externa: claramente definida en los microorganismos gramnegativos que poseen una membrana externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de algunas drogas antimicrobianas.

b.- Permeabilidad de la membrana interna: otra forma de resistencia de la bacteria consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antimicrobiano hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos.

c.- Porinas: son canales de difusión presentes en la membrana externa de las bacterias grampositivas. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antimicrobiano.

b. Aumento del eflujo de antimicrobianos:

Este mecanismo ha sido descrito como el responsable de la resistencia a tetraciclina entre bacilos gramnegativos y también en cocos grampositivos del género *Staphylococcus*. Consiste en un mecanismo de membrana que elimina hacia el medio externo de la célula bacteriana el fármaco que ha podido entrar, evitando así que éste alcance su sitio de acción. Confiere resistencia a fluoroquinolonas, cloranfenicol, β -lactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario.

2.3.3.- Alteración del sitio blanco del antimicrobiano: Este mecanismo de resistencia bacteriana consiste en la modificación del sitio de acción del fármaco, como por ejemplo las subunidades 50S y 30S ribosomales, con lo cual los antimicrobianos ya no podrán ejercer su acción.

Los microorganismos resistentes a un cierto antimicrobiano pueden también adquirir resistencia a otros antimicrobianos que comparten un mecanismo de unión o de acción. Tales relaciones, conocidas como resistencia cruzada, ocurren frente a agentes que están estrechamente relacionados en su fórmula química (por ejemplo neomicina-kanamicina), pero pueden existir también entre químicos no relacionados (como eritromicina-lincomicina). La resistencia cruzada, junto a la posibilidad de adquisición de material genético que confiera resistencia a más de un tipo de antimicrobiano, posibilita la aparición de bacterias multiresistentes, frente a las cuales se reduce la cantidad de antimicrobianos efectivos (Borneman, 2002).

3.- Aumento de la resistencia bacteriana a nivel mundial

Cuando la penicilina se hizo ampliamente disponible durante la segunda guerra mundial, se convirtió en un verdadero milagro médico al poder controlar las infecciones producidas durante la guerra que antes solían ser letales. Pero ya a sólo cuatro años después de que las compañías farmacéuticas comenzaran la producción en masa de la penicilina en 1943, comenzaron a aparecer microorganismos que podían resistir la acción de este antibiótico.

La resistencia bacteriana se comienza a observar en la década del 40 cuando se aisló y se caracterizó una enzima de *E. coli* capaz de hidrolizar la penicilina. En 1959, se observó la resistencia a múltiples drogas en cepas de *Shigella dysenteriae* en Japón, descubriéndose después que esta resistencia se podía transferir a una cepa de *E. coli*, vía célula-célula (Akiba *et al.*, 1960).

El primer microorganismo en combatir la penicilina fue *Staphylococcus aureus*, el que puede producir diversas enfermedades como neumonía. En 1967, otro tipo de neumonía resistente a la penicilina, causada por *Streptococcus pneumoniae*, surgió en una remota villa de Papua, Nueva Guinea. Casi al mismo tiempo, el personal militar de Estados

Unidos de Norteamérica (USA) que estaba en Asia contrajo una forma de gonorrea resistente a la penicilina. En 1976, cuando los soldados regresaron a USA llevaban las nuevas cepas resistentes consigo, y los médicos tuvieron que hallar nuevas drogas para su tratamiento. En 1983, una infección intestinal intra-hospitalaria, causada por *Enterococcus faecium* se incorporó a la lista de microorganismos que podían resistir la acción de la penicilina.

La resistencia a los antimicrobianos se expande rápidamente. Por ejemplo, entre 1979 y 1987, sólo el 0,02% de las cepas de pneumococos examinadas por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de USA (CDC) eran resistentes a la penicilina. Este estudio incluyó 13 hospitales en 12 estados de USA. Para 1994, el 6,6 % de las cepas de pneumococos eran resistentes de acuerdo al reporte del “Journal of the American Medical Association”. También se observó que en 1992, 13.300 pacientes de hospitales murieron de infecciones bacterianas que eran resistentes a las terapias con antimicrobianos (Lewis, 1995). En diciembre del 2000, el “National Nosocomial Infections Surveillance System” informó que un 26,3% de los enterococos aislados en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) de USA era resistente a vancomicina, valor que aumentó en un 31% comparado con el promedio del período 1995-1998 (DeLisle y Perl, 2003).

Desde la década de 1950, y paralelamente al desarrollo del uso de antimicrobianos para el control de enfermedades en el ser humano, el uso de estas drogas en medicina veterinaria ha provisto un control similar en animales de producción y en mascotas, al mejorar el estado de salud de los animales e incrementar notoriamente la productividad del ganado destinado al consumo humano. En las décadas de 1950 y 1960, algunos antimicrobianos como las tetraciclinas y las penicilinas, aparte de ser usadas para la terapia de enfermedades, eran también administradas en varios países en dosis sub-terapéuticas para mejorar el crecimiento de los animales, sin prescripción veterinaria. Durante la década de los 60 surgió preocupación sobre el aumento de la resistencia bacteriana en cepas de *Salmonella* asociadas con enfermedades en terneros.

Uno de los hechos más inquietantes, tanto en la utilización de antimicrobianos en medicina humana como veterinaria, es la aparición de bacterias multiresistentes. Ya en 1961 se detectó en Gran Bretaña una cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA), y con el paso de los años se han encontrado cepas de *Enterococcus* spp. resistentes a

glucopéptidos (GRE) y un fagotipo de *Salmonella* que presentaba pentaresistencia: *Salmonella typhimurium* DT104. Para 1997 esta variedad de *Salmonella* alcanzaba proporciones epidémicas en Gran Bretaña, matando a cerca del 40% del ganado infectado y provocando la hospitalización del 36% de las personas que se enfermaban. La aparición de bacterias multiresistentes a los antimicrobianos llevó a la creación en el Reino Unido del “Joint Committee on the Use of Antibiotics in Animal Husbandry and Veterinary Medicine”, el cual reconoció en 1969, que la administración de antimicrobianos, particularmente en dosis subterapéuticas, planteaban riesgos para la salud humana y animal. A partir de las recomendaciones de dicho comité, se instauró en la Unión Europea el principio de utilizar antimicrobianos distintos a los utilizados en humanos para la terapia de enfermedades o para la mejora del crecimiento de los animales (EMEA, 1999).

Es un hecho que la resistencia a los antimicrobianos, ya sea en medicina humana o veterinaria, ha aumentado a niveles preocupantes, lo que ha generado en los últimos años un intenso debate a nivel mundial de cómo deberían manejarse estos fármacos para seguir contando con herramientas útiles para el tratamiento de las infecciones bacterianas.

4.- Causas del incremento de la resistencia bacteriana

El desarrollo de resistencia bacteriana está basado, principalmente, en la prevalencia de genes de resistencia y en la presión selectiva debido al extensivo uso de antimicrobianos (Shojaee AliAbadi y Lees, 2000), es decir, los medicamentos antimicrobianos no generan resistencia, pero sí favorecen la supervivencia de microorganismos resistentes por un proceso de selección natural. Cualquier utilización de antimicrobianos (apropiada o no) aplica una presión selectiva sobre las poblaciones bacterianas. Sin embargo, cuantos más antimicrobianos se empleen, mayor será esa presión. Por ello, es decisivo alcanzar el beneficio máximo del efecto curativo de los antimicrobianos, en particular en los países en desarrollo, en donde no sólo se utilizan mal sino que con frecuencia se emplean de modo insuficiente a causa de las limitaciones financieras. Al mismo tiempo, es también indispensable reducir al mínimo las oportunidades de que surja la resistencia. En la práctica, ello significa el uso inteligente de los antimicrobianos. Las prácticas inapropiadas de prescripción, que incluyen la elección errónea del medicamento y la dosificación o

duración del tratamiento incorrectas, la mala observación del tratamiento y el empleo de medicamentos de baja calidad (a veces falsificados), son elementos que contribuyen todos a la aparición de resistencia. Además, las investigaciones y desarrollo de nuevas drogas antimicrobianas tarda en promedio entre 10 y 20 años (OMS, 2000a), factor que, sumándose a los anteriores, puede llevar a que en un futuro cercano no existan moléculas nuevas eficaces para contrarrestar enfermedades causadas por bacterias patógenas multiresistentes, las que podrían causar estragos en la población.

Para disminuir el abuso de los antimicrobianos, la prioridad principal es prevenir la infección. Dado que el uso de antimicrobianos impulsa la aparición de resistencia, el enfoque principal de cualquier estrategia de contención debe ser reducir al mínimo cualquier uso innecesario, inadecuado o irracional de medicamentos antimicrobianos. Según la OMS (2000), entre las principales causas que influyen en que se prescriban antimicrobianos con demasiada frecuencia e innecesariamente se cuentan (OMS, 2000b):

- Falta de conocimientos o información, que conduce a incertidumbres sobre el diagnóstico y el medicamento o los medicamentos más apropiados, y a temor por la mala evolución del paciente.
- Instauración de terapias antimicrobianas sin poseer un diagnóstico definitivo sobre cuál es el agente causante de la enfermedad, es decir, terapias de base empírica, en las que se administran antimicrobianos que pueden no ser efectivos contra los microorganismos causantes de la patología.
- Obtención de ganancias por la venta de medicamentos: existen incentivos económicos perversos para prescribir antimicrobianos; por ejemplo, el problema de los prescriptores dispensadores que ganan más vendiendo antibióticos que otros medicamentos.
- Demanda del paciente: incluso si los prescriptores están seguros de su diagnóstico (y ninguno de ellos lo estará siempre) están todavía muy influenciados por las demandas de los pacientes. Por ejemplo, en Tanzania, el 60% del personal de salud admitió que prescribía medicamentos inapropiados pedidos por pacientes socialmente influyentes, para evitar que se les tachara de “difíciles”, y en Europa, más del 50% de las madres entrevistadas en un estudio esperaban recibir antibióticos para la mayoría de las infecciones de las vías respiratorias.

Todas estas causas conducen a un uso excesivo de antimicrobianos en medicina humana, lo que incide en una mayor presión selectiva y un aumento en los índices de resistencia.

De la misma manera, en medicina veterinaria existe sobre utilización de los antimicrobianos. Los principales factores que contribuyen a esta situación según la OMS son (OMS, 2000b):

- La enseñanza sobre la resistencia bacteriana y el uso prudente de los antimicrobianos, es insuficiente en los dispensadores y prescriptores de medicamentos y, en muchos países, los distribuyen personas con una formación insuficiente. Un estudio señaló que más del 90% de los medicamentos utilizados en animales en USA, en 1987, eran administrados sin consultar a veterinarios, utilizándose frecuentemente dosis y combinaciones de medicamentos inapropiadas. Los antimicrobianos administrados al ganado en el alimento causan problemas de dosis inapropiadas, con el consiguiente tratamiento de todos los animales, cualquiera que sea su estado de salud.
- Predomina el tratamiento empírico debido a la extendida ausencia de servicios de diagnóstico, en particular en los países en desarrollo. En muchos lugares, es raro que se envíen muestras clínicas de animales enfermos, debido a los costos implicados, la falta de tiempo y el número limitado de laboratorios.
- En algunos países, las ventas de medicamentos constituyen una parte significativa de los ingresos de los veterinarios, lo que puede conducir a la prescripción innecesaria.
- En muchos países, incluidos varios desarrollados, los antimicrobianos son de venta libre y pueden adquirirse sin receta.
- Son importantes factores contribuyentes los sistemas reglamentarios ineficaces o mal aplicados, con ausencia de garantía de la calidad y comercialización de medicamentos inferiores a las normas. Las discrepancias entre los requisitos reglamentarios y las realidades de la prescripción y la dispensación son con frecuencia más amplias que en la medicina humana.
- Los antimicrobianos promotores del crecimiento no se consideran medicamentos y están autorizados, si llega el caso, como aditivos de los piensos.
- Igual que en medicina humana, la comercialización de antimicrobianos por la industria farmacéutica influye en el comportamiento prescriptor y en los tipos de uso de veterinarios

y agricultores. En la actualidad hay pocos países con códigos de la industria o reglamentos estatales que vigilen la publicidad de antimicrobianos para el uso veterinario.

- Se observa un aumento significativo de la ganadería intensiva, en particular en los países con economías en transición, en donde se hallan todos los factores enunciados. Cuando la producción animal parece beneficiarse del uso de antimicrobianos, los incentivos económicos pueden ponerse por delante de la posible transferencia de resistencia a las personas y del potencial efecto negativo en la salud humana.

Los factores anteriormente mencionados contribuyen a que en medicina veterinaria se haga un uso excesivo de los antimicrobianos, ya sea que se usen de manera profiláctica para la prevención de enfermedades (por ejemplo, después de mezclar animales provenientes de distintos predios o granjas), para el tratamiento de infecciones o como aditivos alimentarios (promotores del crecimiento). Por ejemplo, entre 1992 y 1996 en Austria se importó un promedio de 582 kg/año de vancomicina para tratamientos de enfermedades en medicina humana, mientras que durante el mismo periodo se importaron 62.642 kg/año de avoparcina (un glucopéptido que eventualmente podría generar resistencia cruzada con vancomicina) para crianza de animales de producción (Wegener *et al.*, 1999). Según datos del “Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme” en el año 2003, el consumo de antimicrobianos para uso sistémico en humanos fue de alrededor de 1.542 kg de compuesto activo de tetraciclina y 28 kg de aminoglucósidos, mientras que en el mismo año, se utilizaron para el tratamiento de animales 27.100 kg de compuesto activo de tetraciclina y 11.600 kg de aminoglucósidos (DANMAP, 2003). El elevado uso de antimicrobianos en animales de producción, especialmente su administración en dosis subclínicas para mejorar las tasas de crecimiento de los animales ha sido fuertemente debatido por la posibilidad de incrementar la prevalencia de la resistencia bacteriana (OMS, 1997). En Chile no se tienen datos exactos sobre la cantidad de antimicrobianos que se administran a los animales de producción, pero definitivamente existe una amplia gama de fármacos disponibles. En el Cuadro N°1 se presentan algunas patologías de origen bacteriano, y sus respectivos tratamientos con antimicrobianos en Chile (Álvarez y García, 2003).

Cuadro N°1: Enfermedades bacterianas en sistemas de producción aviar.

Enfermedad	Agente etiológico	Tratamiento
Mycoplasmosis	<i>Mycoplasma gallisepticum</i> o <i>M. sinoviae</i>	Clortetraciclina, enrofloxacino, norfloxacino, oxitetraciclina, tiamulina, tilosina.
Coriza Infeccioso	<i>Haemophilus paragallinarum</i>	Clortetraciclina, flumequina, enrofloxacino, oxitetraciclina, tiamulina, sulfonamidas.
Cólera Aviar	<i>Pasteurella multocida</i>	Clortetraciclina, flumequina, enrofloxacino, norfloxacino, sulfonamidas.
Enteritis necrótica	<i>Clostridium perfringens</i> tipos A y C	Bacitracina-zinc, oxitetraciclina, penicilina, lincomicina.
Enteritis ulcerativa	<i>Clostridium colinum</i>	Bacitracina-zinc, oxitetraciclina, penicilina.
Dermatitis gangrenosa	Multicausal	Norfloxacino, penicilina, tetraciclinas.
Colibacilosis	<i>E. coli</i>	Neomicina, clortetraciclina, enrofloxacino, estreptomina, flumequina, norfloxacino, sulfonamidas.
Erisipela	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Enrofloxacino, penicilina.

La propiedad de los antimicrobianos de mejorar las tasas de crecimiento animal se conoce desde finales de los años cuarenta, cuando se observó que las aves alimentadas con productos de la fermentación de *Streptomyces aureofaciens* mejoraban su desarrollo. Se identificó el factor de crecimiento en dichos extractos como residuos de clortetraciclina. Posteriormente se confirmó esta propiedad en múltiples antimicrobianos y para diversas especies animales. Los antimicrobianos como promotores del crecimiento se han empleado en dosis subterapéuticas durante largos períodos de la vida del animal, produciendo una ganancia de peso estimada alrededor del 5%. El mecanismo por el cual los antimicrobianos favorecen el crecimiento no se conoce con exactitud. Básicamente actuarían modificando cuantitativa y cualitativamente la microflora microbiana intestinal, provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas. También reducirían la microflora normal que compete con el huésped por los nutrientes, conduciendo a una mejora en la productividad y disminuyendo la tasa de mortalidad de los animales (Torres y Zarazaga, 2002).

Desde la década de los cincuenta, la utilización de promotores del crecimiento en los animales de abasto, ha sido una práctica habitual para mejorar los índices productivos. En aquel entonces, no se tuvo en cuenta el efecto que el consumo de estos “factores nutritivos” (como se les consideraba en un principio) podían tener sobre la resistencia bacteriana. A finales de los sesenta, surgieron las primeras voces de preocupación sobre el incremento de la resistencia y la posible relación con la utilización de antibióticos como promotores del crecimiento. Siguiendo esta línea, se publicó en 1969 el informe británico del “Swann Committee”, el cual recomendaba que no se debían usar antimicrobianos en los animales como promotores del crecimiento que pudieran ser empleados en humanos o que pudieran generar resistencia cruzada (Torres y Zarazaga, 2002).

El incremento en la resistencia causado por el uso de antimicrobianos en producción animal, tiene varias consecuencias. Cada vez son menos los fármacos efectivos contra las infecciones bacterianas. Además, esta situación tiene graves repercusiones en la salud humana, ya que muchas de las bacterias que se hacen resistentes en los animales pueden transferirse al ser humano.

5.- Transferencia de resistencia desde animales al ser humano

Las bacterias con determinantes resistentes a los antimicrobianos pueden transmitirse desde los animales a la población humana. Así por ejemplo, durante los procesos de faenamiento de aves, una persona puede contaminarse con *E. coli* multiresistente de origen fecal. Levy, en el año 1992, demostró que una cepa de *E. coli*, marcada bioquímicamente e inoculada en un animal, podía encontrarse posteriormente en el intestino de otros animales e incluso en personas, demostrando que, a pesar de que existe cierta especificidad de huésped, las bacterias pueden transferirse entre animales y el hombre, ya sea por contacto directo o bien, por el consumo de alimentos de origen animal. La transferencia de bacterias resistentes hacia el ser humano puede darse por vía directa, es decir, por el consumo de carnes contaminadas con bacterias que posean genes de resistencia, o por vía indirecta, como puede ser la manipulación de carnes contaminadas o también la adquisición de bacterias por parte del personal que trabaja en los planteles de producción animal (Levy, 1992).

Por otro lado, actualmente existe suficiente información epidemiológica y clínica que demuestra que los genes de resistencia de las bacterias, pueden ser transferidos desde la flora bacteriana de los animales a microorganismos saprófitos del intestino del hombre o a posibles patógenos que podrían ser diseminados a otros individuos (Van den Bogaard y Stobberingh, 2000).

La resistencia desarrollada frente a algunos antimicrobianos es más crítica que a otros. Así, la resistencia a las fluoroquinolonas es altamente indeseable, dado que estos antimicrobianos son eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades graves producidas por bacterias multiresistentes en humanos. Las fluoroquinolonas son utilizadas en humanos para el tratamiento de una amplia variedad de infecciones, tales como las del tracto urinario, gastrointestinales, respiratorias, enfermedades de transmisión sexual, y osteomielitis crónica (Orden y de la Fuente, 2001). Al respecto, en el año 2001, la “European Agency for the Evaluation of Medicinal Products” (EMA) publicó un informe basado en estudios del “Committee for Veterinary Medicinal Products” (CVMP) en el cual se concluyó que la utilización de fluoroquinolonas en producción aviar es una causa significativa del aumento de la resistencia en bacterias del género *Campylobacter* en carcasas de aves y, por lo tanto, una causa importante de infecciones por *Campylobacter* resistentes a fluoroquinolonas en humanos. De hecho, se considera que las aves son la principal fuente de infecciones por *Campylobacter jejuni* resistentes a fluoroquinolonas en humanos en Europa. Según una evaluación de riesgo realizada por el CVMP para el año 1999, una media estimada de 11.477 personas estarían infectadas con *Campylobacter* resistente a fluoroquinolonas, producto del uso de estos antimicrobianos en pollos (EMA, 2001). Por otro lado, en USA también se encontraron altos niveles de resistencia a las fluoroquinolonas, como los hallados el año 2003 por Hayes *et al.* en Iowa, donde cepas de *E. faecium* aisladas de 227 muestras de pavos y 237 muestras de pollos, presentaron un 41% y un 22% de resistencia a ciprofloxacino en pavos y pollos, respectivamente (Hayes *et al.*, 2003).

El caso más paradigmático del riesgo que implica el uso de antimicrobianos en producción animal, como promotores del crecimiento, se ha evidenciado por la aparición de *E. faecium* resistentes al glicopéptido vancomicina. Estas cepas aparecieron primero en animales y luego afectaron a los segmentos más vulnerables de la población humana (OMS,

2000a). Estudios posteriores asociaron estas cepas resistentes con el uso del antimicrobiano avoparcina, utilizado como aditivo en los alimentos para animales, el cual induce resistencia a glicopéptidos. La resistencia de *Enterococcus* a vancomicina se ha observado en diversas partes del mundo. En Costa Rica, donde hasta el año 2000 se utilizaba avoparcina, en un estudio realizado el año 2003 se encontró un 14,8% de cepas de *Enterococcus* resistentes a vancomicina (VRE) aisladas a partir de 413 muestras de aves de consumo, un 10,9% en cepas aisladas de 350 muestras de cerdos y un 13,1% en cepas aisladas de 130 muestras de ganado vacuno (Bustamante *et al.*, 2003). En Italia, estudios realizados previos a la prohibición del uso de avoparcina indicaron porcentajes de cepas de VRE aisladas a partir de muestras obtenidas de cerdos y broilers, de 36% y 24,6%, respectivamente (Del Grosso *et al.*, 2000). La importancia de la vancomicina y la teicoplanina radica en que ambos antimicrobianos se suelen mantener en reserva en medicina humana, para la terapia de infecciones causadas por enterococos resistentes a beta-lactámicos y para estafilococos con multiresistencia a antimicrobianos (Anadón *et al.*, 1999).

Los enterococos representan la tercera causa más común de infecciones nosocomiales humanas en pacientes de UCI, siendo *E. faecium* y *E. faecalis* las principales especies involucradas. Estas dos especies poseen genes de resistencia que pueden ser transferidos a bacterias patógenas más agresivas, como por ejemplo *S. aureus* (DeLisle y Perl, 2003). A partir de 1999, se aprobó en USA la utilización de la estreptogramina quinupristina-dalfopristina para el tratamiento de cepas de *E. faecium* resistentes a vancomicina, pero nuevamente se alzó una voz de alarma por el uso, durante años, de la estreptogramina virginiamicina como promotor del crecimiento en animales. En un estudio realizado por Welton *et al.* (1997) en USA, en 125 cultivos de muestras cloacales de pavos de distintas edades que recibían virginiamicina, encontraron que efectivamente existían cepas de *E. faecium* resistentes a quinupristina-dalfopristina, y que a medida que la edad de los pavos aumentaba, también aumentaban los niveles de resistencia, llegando a un 100% en el grupo de mayor edad, presumiblemente por haber estado expuestos por más tiempo al antimicrobiano (Welton *et al.*, 1997). El año 2003 Smith *et al.* evaluaron la relación entre el riesgo del uso de virginiamicina y la aparición de cepas de *E. faecium* resistentes a quinupristina-dalfopristina en medicina humana, concluyendo que la emergencia de estas

cepas se debía a la interacción entre el uso de quinupristina-dalfopristina en medicina humana y el prolongado uso de virginiamicina como promotor del crecimiento (Smith *et al.*, 2003).

A raíz de las advertencias de la comunidad científica internacional, la Unión Europea (UE) decidió retirar la autorización para el uso de avoparcina mediante la Directiva 97/6/CE de la Comisión, del 30 de enero de 1997. Esta medida fue ratificada posteriormente en el Reglamento (CE) N° 2821/98 del Consejo, del 17 de diciembre de 1998, incluyendo además a los aditivos alimentarios fosfato de tilosina, espiramicina, virginiamicina y bacitracina-zinc, debido al posible riesgo de transferencia de los determinantes de resistencia antimicrobiana de los microorganismos de los animales a los patógenos humanos (Unión Europea, 1997; Unión Europea, 1998). Todas estas decisiones han estado acompañadas de una gran polémica y controversia. Hay grupos que opinan que las decisiones de prohibición adoptadas han sido muy precipitadas, y que no existe certeza absoluta de la relación causa-efecto en lo que respecta al uso de antimicrobianos como promotores en animales y el incremento de resistencia en cepas patógenas de humanos. Por ejemplo, el Ministerio de agricultura y alimentación de Canadá publicó el año 2003 un artículo en cual postula que en el presente no es económicamente viable criar aves de consumo sin antimicrobianos, ya que al confinar a estas aves, se han incrementado los riesgos de transmisión de enfermedades. Aunque se estén aplicando varias medidas preventivas y de control, como la erradicación de enfermedades, vacunaciones, medidas de bioseguridad, entre otras, los antimicrobianos siguen siendo parte importante de los programas de prevención de enfermedades. Sin esta herramienta terapéutica, se estaría exponiendo a las aves susceptibles a agentes infecciosos letales que rápidamente se diseminarían por toda la población de aves eliminando la posibilidad de contar con una fuente proteica de bajo costo. Respecto a la prohibición del uso de ciertos promotores del crecimiento, en la Unión Europea se postula que a consecuencia de esta prohibición, han aumentado los casos de enteritis necrótica, por lo que a su vez, podría aumentar la dependencia del uso de antimicrobianos en dosis más elevadas (Boulianne, 2003).

Por el contrario, numerosas publicaciones aparecidas en los últimos años, destacan el elevado porcentaje de resistencia a antimicrobianos utilizados como promotores de crecimiento en cepas de origen animal (y la resistencia conjunta a otros antimicrobianos

relacionados, de uso en humanos). Además, se han publicado datos que demuestran que, tras la prohibición en Dinamarca de cuatro antibacterianos utilizados como promotores del crecimiento (avoparcina, tilosina, avilamicina y virginiamicina), se observó una espectacular disminución de las tasas de resistencia a dichos antibióticos y otros relacionados de uso en humanos en cepas de *Enterococcus* procedentes de aves y cerdos. En este estudio también se demuestra que los cambios en los patrones de uso de estos antimicrobianos, desde 1995 hasta su prohibición, se han correlacionado directamente con la disminución en las tasas de resistencia (Torres y Zarazaga, 2002).

Aparte de las consecuencias en la salud humana y en el medio ambiente, son importantes las repercusiones en la salud animal en conjunto con las pérdidas económicas asociadas a los sistemas de producción. De acuerdo a esto, el realizar una terapia antimicrobiana en animales de producción requiere criterio clínico y conocimiento detallado de los factores farmacológicos y microbiológicos, incluyendo en estos últimos, datos actualizados de sensibilidad (Hardman *et al.*, 1996). El uso de un antimicrobiano, frente al cual la bacteria en cuestión es resistente, lleva al fracaso terapéutico y a pérdidas económicas para el productor, por la necesidad de instaurar nuevas terapias, lo que finalmente se traduce en periodos de resguardo más prolongados para la carne y los huevos.

Existe consenso mundial que indica la necesidad de disminuir la cantidad de antimicrobianos empleados en animales de producción, debiendo considerarse, en la prevención de enfermedades infecciosas bacterianas, diferentes estrategias como son: vacunas, optimización de la higiene, manejo del medio ambiente, alimentación equilibrada y manejo del estrés, entre otras. Los antimicrobianos deben usarse cuando estas medidas han fallado y no como un reemplazo de ellas. Sólo cuando se manifiesta un cuadro clínico de origen bacteriano, la terapia antimicrobiana es, efectivamente, el primer método de elección (Wierup, 2000).

6.- Programas de vigilancia de resistencia bacteriana a nivel internacional

Como se ha mencionado en los puntos anteriores la utilización de antimicrobianos trae implícito el riesgo de inducir resistencia en las bacterias expuestas, por lo que se hace necesario tomar las medidas necesarias que permitan disminuir la aparición de resistencia. Sin embargo, para que estas medidas sean eficientes, son necesarios estudios previos en lo que se refiere al tipo y cantidad de antimicrobianos utilizados en los sistemas productivos y además conocer los niveles de resistencia bacteriana frente a fármacos específicos, lo que finalmente se traduce en un sistema de vigilancia.

En la actualidad, los sistemas integrados de vigilancia de resistencia bacteriana en animales son todavía escasos. De hecho, el modelo más avanzado, tanto por la amplitud de sus objetivos, como por el tiempo que lleva en marcha, es el sistema DANMAP (“Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme”), instaurado en Dinamarca en 1995 y que contempla cinco aspectos en la vigilancia: aislados procedentes de animales enfermos, aislados procedentes de animales sanos, aislados procedentes de alimentos de origen animal, aislados bacterianos de origen humano y consumo de antibacterianos en personas y animales. DANMAP realiza informes anuales de los niveles de resistencia a antimicrobianos en bacterias zoonóticas, indicadoras y patógenas que estén presentes en animales, en el alimento o en seres humanos. La información es publicada anualmente por el “Zoonosis Centre”. (DFVF, 2004). Similar a DANMAP es el programa sueco SVARM (“Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring”), operativo desde el año 2000. Otro sistema es el desarrollado en USA conjuntamente por la “Food and Drug Administration” (FDA), el Departamento de Agricultura (USDA) y el CDC, que se puso en marcha en 1996 para controlar los cambios en la susceptibilidad a los antibacterianos de las bacterias zoonóticas, utilizando como bacterias centinelas salmonelas no tifoideas. En España, se creó en 1997, la red de vigilancia veterinaria de resistencia a antibióticos (VAV), donde se evalúa la evolución de la resistencia a distintos antibióticos en bacterias de origen animal. La Red VAV comprende en realidad tres programas de vigilancia que se ocupan respectivamente de bacterias procedentes de animales sanos, enfermos y de alimentos de origen animal. Las bacterias incluidas en los programas de vigilancia en la actualidad son las bacterias zoonóticas, que se transmiten por alimentos de

origen animal como *Salmonella enterica* y *C. jejuni*; las bacterias intestinales indicadoras *E. coli*, *E. faecium* y VRE, y las bacterias patógenas de los animales, como *S. aureus*. (Moreno *et al.* 1997).

A nivel internacional existen organizaciones que se dedican a difundir recomendaciones sobre cómo deberían utilizarse adecuadamente los antimicrobianos, como la Asociación para el Uso Prudente de los Antibióticos (APUA). Ésta es una organización creada en 1981 por Stuart Levy (Profesor de la Universidad de Tufts, de Boston, USA), sin fines de lucro, dedicada a preservar la efectividad de los antimicrobianos mediante medidas de educación, investigación y sistemas de red internacionales que promuevan un uso apropiado de los antibacterianos en el mundo. Cuenta con miembros provenientes de más de 100 países y mantiene estrechos contactos científicos con instituciones dedicadas a la preservación de la salud, como la Organización Mundial de la Salud, la Oficina Panamericana de la Salud, el CDC, la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América (FDA) y los Ministerios de Salud de varios países. En la actualidad está implementando el “Global surveillance project” (GAARD), el que busca integrar la información de los principales sistemas de vigilancia para crear una base de datos mundial que ayude a detectar las tendencias de la resistencia bacteriana. (APUA, 2004). También mantiene en curso el proyecto ROAR II (“Reservoirs of Antibiotic Resistance”), el cual busca recopilar y publicar información sobre los genotipos y fenotipos de bacterias comensales que puedan actuar como potenciales reservorios de genes de resistencia (ROAR, 2004).

Una de las organizaciones internacionales que más se ha esmerado en difundir el uso adecuado de los antimicrobianos ha sido la OMS, que en 1997 realizó un informe entregando una serie de recomendaciones que deberían cumplir los países para controlar el fenómeno de la resistencia bacteriana en medicina veterinaria, entre las cuales son importantes de mencionar (OMS, 1997; House of Lords, 1998):

- Educación sobre el uso apropiado de antimicrobianos para el profesional de la salud.
- Uso de antimicrobianos sólo bajo receta médico veterinaria.
- Detener el uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento si:
 - i.- Esos antimicrobianos también se usan en el tratamiento de enfermedades en los seres humanos.

ii.- Se sabe que inducen selección, mediante resistencia cruzada, a antimicrobianos usados en medicina humana.

- Las autoridades nacionales deberían definir niveles umbrales de resistencia bacteriana en los cuales deben aplicarse medidas de control y, si esas medidas no son exitosas, definir cuándo debe suspender la aprobación para el uso de los antimicrobianos en cuestión.

- No se deberían administrar antimicrobianos a animales de producción a menos que hayan sido evaluados y autorizados por autoridades nacionales competentes. La evaluación debe considerar:

i.- Estudios detallados sobre el riesgo que conlleva el desarrollo de resistencia y su impacto en salud pública.

ii.- Programas de vigilancia que detecten aumentos de resistencia significativos en salud pública.

- Los médicos veterinarios deben tomar medidas para disminuir el sobre uso de antimicrobianos potentes y de importancia en medicina humana, como las fluoroquinolonas. Está bien utilizarlos en animales en forma individual y en terapias de corto plazo, pero los tratamientos en masa en cerdos y aves no son la mejor práctica desde un punto de vista de salud pública.

- Medidas alternativas al uso de promotores del crecimiento.

- Las autoridades nacionales deberían mantener registros de los volúmenes de importación y exportación de productos químicos con potencial uso como antimicrobianos.

- Estandarización de los niveles de residuos máximos permitidos.

- Las autoridades nacionales deben vigilar los niveles de residuos de antimicrobianos en alimentos de origen animal y asegurar la conformidad con estándares nacionales.

La instauración de programas nacionales permanentes de vigilancia de los niveles de resistencia bacteriana resulta entonces fundamental, ya que son esenciales para recopilar información sobre la prevalencia de la resistencia bacteriana por droga y especie animal y de los cambios que ocurren a través del tiempo, con lo cual un país puede establecer líneas de trabajo orientadas a controlar y disminuir este problema. Al respecto, Aarestrup (1999) señala que los mayores porcentajes de resistencia se observan en países donde no existen políticas de restricción en el uso de estos fármacos (Aarestrup, 1999).

En noviembre de 1999, la Agencia Francesa de Seguridad Sanitaria de los Alimentos organizó un simposio sobre “Resistencia Bacteriana en Animales de Producción” en el cual participaron todos los países de la Comunidad Europea, con el fin de definir estrategias comunes para el control de la resistencia bacteriana en las especies de producción. Dado que, tanto en animales como en humanos, el uso de antimicrobianos no sólo causa incremento de resistencia en bacterias patógenas, sino también en la flora endógena intestinal, uno de los principales acuerdos tomados en esa reunión, fue que los programas de detección de resistencia deberían involucrar siempre tres grandes grupos de bacterias en aves, cerdos y bovinos: bacterias zoonóticas, bacterias patógenas y bacterias indicadoras. Además, enfatizó que los resultados deberían ser permanentemente informados a las autoridades y veterinarios, ya que son una herramienta de gran utilidad para desarrollar líneas de trabajo orientadas al uso prudente de estos fármacos en medicina veterinaria (Sanders, 1999). Siguiendo las recomendaciones planteadas en este simposio es que la mayoría de los programas que actualmente vigilan los niveles de resistencia bacteriana, con el fin de ayudar a evitar el constante aumento del número de cepas resistentes, incorporan en sus mediciones a los siguientes grupos de bacterias:

6.1.- Bacterias patógenas: el conocer los niveles de resistencia que presentan las bacterias patógenas, como *Staphylococcus* spp., permite tener a los médicos un mejor criterio de selección de los antibacterianos adecuados para el tratamiento de las patologías, disminuyendo con esto la sobreutilización de determinadas drogas.

6.2.- Bacterias zoonóticas: la detección de los niveles de resistencia en bacterias que sean patógenas para animales y seres humanos, como por ejemplo *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp., le permite conocer a los médicos veterinarios cuáles antimicrobianos usados en medicina veterinaria y de importancia en medicina humana están generando resistencia, con el fin de evitar la utilización de éstos en los animales de producción.

6.3.- Bacterias indicadoras: la importancia de las bacterias indicadoras, como *E. coli* y *Enterococcus* spp., se debe al aumento que experimentan los niveles de resistencia de la

microflora entérica normal como resultado de la exposición a antimicrobianos. Este hecho es considerado un buen indicador de la presión de selección ejercida por estos fármacos en la población que los consume y de los problemas de resistencia que se pueden esperar en las bacterias patógenas. Además, la microflora entérica normal es considerada un enorme reservorio de genes de resistencia, que podrían ser transmitidos a bacterias patógenas y zoonóticas (Van den Bogaard y Stobberingh, 2000).

E. coli es un bacilo gramnegativo habitante normal del intestino de seres humanos y animales. La mayoría de las cepas no son patógenas, siendo incluso una fuente importante de vitamina K y del complejo B en algunas especies animales, existiendo cepas patógenas que tienen la capacidad de producir toxinas y generar diarreas.

Los enterococos son cocáceas grampositivas, integrantes normales de la microflora intestinal de varias especies animales. Suelen ser patógenos oportunistas más que primarios en el ser humano, provocando infecciones nosocomiales en pacientes de unidades de cuidados intensivos. En Chile, durante 1999, fueron responsables de un 2,8% de las infecciones intrahospitalarias notificadas y un 2,7% de las infecciones al tracto urinario. Los enterococos presentan resistencia natural a cefalosporinas, oxacilinas, lincomicina y cotrimoxazol, y adquieren fácilmente resistencia a otros antibacterianos (Juliet, 2002).

Las dos especies bacterianas recién mencionadas son consideradas bacterias indicadoras, gracias a su relativa facilidad de aislamiento, elevada exposición a antimicrobianos y alta capacidad de transferencia de genes de resistencia, siendo además estudiadas en forma permanente en los programas de vigilancia de resistencia bacteriana.

7.- Situación Nacional

En Chile, aunque a partir del año 1995 las exigencias para el registro farmacéutico han aumentado por parte del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) (Chile, 1995), no existen actualmente, programas gubernamentales en el ámbito de medicina veterinaria para el control sistemático de la resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos que se ofrecen en el mercado nacional. Tampoco existe restricción del uso de estos fármacos por especies o sistemas de producción, pudiendo adquirirse y emplearse, en muchos casos, sin la supervisión de un médico veterinario.

Por otro lado, aún cuando existe información que indica que bacterias patógenas aisladas de ganado bovino lechero son resistentes y multiresistentes a diferentes antimicrobianos (Borie *et al.*, 2000; San Martín *et al.*, 2002; San Martín *et al.*, 2003), no existe información sobre este factor de riesgo en bacterias indicadoras.

En vista del riesgo que trae consigo el aumento de la resistencia bacteriana, la ausencia de programas permanentes de vigilancia y el elevado uso que se hace de los antimicrobianos en nuestro país, este estudio pretende describir el nivel de resistencia que pueda existir en el área de producción aviar. Para ello, se utilizaron las bacterias *E. coli* y *Enterococcus* spp. como indicadoras de resistencia en gallinas de postura, pollos broiler y pavos de engorda.

III.- OBJETIVOS

Objetivo General

Realizar un estudio de la resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos de mayor uso en producción aviar y también a vancomicina, teicoplanina y ciprofloxacino, mediante el uso de bacterias indicadoras aisladas de aves.

Objetivos específicos

- 1.- Realizar estudios de sensibilidad a cada cepa aislada frente a los antimicrobianos de mayor uso en producción aviar.
- 2.- Realizar estudios de sensibilidad a vancomicina en cepas de *Enterococcus* spp. resistentes a beta-lactámicos.
- 3.- Establecer perfiles de multiresistencia de las cepas aisladas frente a los antimicrobianos en estudio.

IV.- MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Animales:

Gallinas de postura, pollos broiler y pavos de engorda pertenecientes a distintos planteles de producción avícola de la zona central de Chile.

2.- Bacterias:

Se aislaron *E. coli* y *Enterococcus* spp. de aves, realizándose identificación de *E. faecium* y *E. faecalis*.

3.- Tamaño muestral:

Para establecer el tamaño muestral se utilizaron valores estimados de porcentajes de resistencia nacionales (32.9% para *E. coli*) e internacionales (55.2% para *Enterococcus* spp.), con un nivel de confianza del 95% y un error máximo estimado en +/- 0,10 (Moreno *et al.*, 2000; Quednau *et al.*, 1998; Wegener *et al.*, 1999; Aarestrup *et al.*, 2000). Se consideró, además, una eficiencia de aislamiento para *E. coli* de un 80% y para *Enterococcus* spp. de un 50% a partir de muestras cloacales. De acuerdo a estos datos, para *E. coli*, se necesitan 106 muestras, para aislar al menos 85 cepas; para *Enterococcus* spp. se necesitan 192 muestras, para aislar al menos 96 cepas.

4.- Obtención, aislamiento y caracterización de las cepas bacterianas:

Se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Durante los meses de abril hasta noviembre del 2003 se tomaron muestras de heces y de contenido intestinal, las que se transportaron refrigeradas en un medio de transporte Cary-Blair (DIFCO®) y fueron analizadas en el laboratorio dentro de las 24 horas de tomadas las muestras.

El aislamiento y caracterización bacteriana se realizó según el Manual de Sistemática Bacteriana de Bergey's (Orskov, 1984; Mundt, 1986). Las muestras se sembraron en agar Mc Conkey (BBL®) y agar m-Enterococcus (DIFCO®), y se incubaron a 37°C por 24-48 hrs. Para la identificación de las colonias sospechosas de *E. coli*, se realizó una batería estándar de pruebas bioquímicas y la identificación de *Enterococcus* spp. se basó en tinción Gram, prueba de catalasa, hidrólisis de esculina y crecimiento en presencia de 6,5 % de NaCl; las especies *E. faecium* y *E. faecalis* se identificaron mediante la capacidad de fermentación de azúcares. Una vez identificadas, todas las cepas fueron clasificadas según la especie aviar de origen y mantenidas en cepario refrigeradas y congeladas, para su posterior análisis de sensibilidad.

5.- Prueba de sensibilidad *in vitro*:

Todas las cepas aisladas fueron sometidas al método de dilución en placa, el cual se realizó en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, bajo las normas del “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS, 1999).

Método de Dilución en Placa: Con este método oficial se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC).

Los estándares de antimicrobianos (droga pura) se obtuvieron directamente de los laboratorios proveedores, los cuales señalaron su pureza. Para cada uno de ellos, se prepararon soluciones stock de 2000 µg/ml, refrigerándose a 4°C hasta por una semana. A partir de ellas, se prepararon diluciones a la mitad en el momento del análisis y se mezclaron con agar Mueller-Hinton en una proporción de 1:10. Las cepas bacterianas se sembraron en caldo común y la concentración de bacterias se ajustó con agua ultrapura estéril a un equivalente al 0,5 del nefelómetro de Mc Farland. A partir de ésta, se diluyeron los inóculos en una relación de 1:10. Para inocular las placas se utilizó el inóculo-replicador de Steers, comenzando por la placa control sin antimicrobiano, continuando con las placas de menor a mayor concentración de antimicrobiano. Las placas se incubaron a 37°C por 18 horas.

Las determinaciones de MIC se realizaron por duplicado. Como cepas control se utilizaron *E. faecalis* ATCC29212 y *E. coli* ATCC25922. Las MIC se expresaron en valores absolutos ($\mu\text{g/ml}$) y se definió la MIC₅₀ y la MIC₉₀ (concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento del 50% y del 90% de los organismos testeados, respectivamente) para cada especie bacteriana frente a los antimicrobianos.

Los antibacterianos analizados fueron:

Para *E. coli*: ácido nalidíxico, ácido oxolínico, cefotaxima, cefazolina, ciprofloxacino, enrofloxacino, estreptomina, gentamicina, flumequina, oxitetraciclina, sulfametoxazol + trimetoprim.

Para *Enterococcus* spp.: amoxicilina + ácido clavulánico, cloranfenicol, enrofloxacino, eritromicina, estreptomina de alta carga, gentamicina de alta carga, oxitetraciclina, penicilina, ciprofloxacino, teicoplanina, vancomicina (estos últimos tres fármacos están restringidos a medicina humana).

V.- RESULTADOS

Se recolectaron un total de 100 muestras cloacales para *E. coli*, de las cuales se aislaron 98 cepas, por lo que el porcentaje de aislamiento fue de un 98%. En el caso de *Enterococcus* spp. se recolectaron un total de 110 muestras cloacales, aislándose 96 cepas, con un porcentaje de aislamiento del 87%. Dentro de las especies de *Enterococcus*, un 29% correspondieron a *E. faecium* y un 32% a *E. faecalis*.

1.- Estudio de sensibilidad.

En el Gráfico 1 se detallan los porcentajes de resistencia de las cepas de *E. coli* para cada antimicrobiano. Se encontraron altos niveles de resistencia a oxitetraciclina (80%), mientras que para estreptomycin, si bien el nivel de resistencia fue menor, sigue siendo un valor elevado (57%). En el caso de las quinolonas y fluoroquinolonas (ácido oxolínico, flumequina, ácido nalidíxico, enrofloxacin y ciprofloxacino), la mayor resistencia se concentró en las quinolonas de primera generación, con porcentajes que rodean el 58%. Para el caso de enrofloxacin y ciprofloxacino la resistencia fue más baja, con un 28% y un 20%, respectivamente. Menores niveles de resistencia presentó sulfametoxazol + trimetoprim, con un 16%. Sólo el 1% de las cepas fue resistente a gentamicina, mientras que todas las cepas fueron sensibles a las cefalosporinas analizadas (cefotaxima, cefazolina).

En el Gráfico 2 se observan los niveles de resistencia de las cepas de *Enterococcus* spp. a cada antimicrobiano en estudio. El mayor nivel de resistencia se observó frente a oxitetraciclina (81%). Altos niveles de resistencia se encontraron también para las fluoroquinolonas (enrofloxacin y ciprofloxacino), cuyos porcentajes bordean el 77%. El macrólido eritromicina también tuvo un porcentaje elevado (64%) y más distantes se encuentran los aminoglucósidos, con un 22% para estreptomycin y un 5% para gentamicina. En el caso de los betalactámicos, el mayor porcentaje de resistencia se observó frente a penicilina G (17%), siendo todas las cepas sensibles amoxicilina + ácido clavulánico, vancomicina y teicoplanina. Todas las cepas resultaron sensibles a cloranfenicol.

Dentro de las cepas de *Enterococcus* aisladas se identificaron las especies *E. faecium* y *E. faecalis*, cuyos porcentajes de resistencia se detallan en el Cuadro 1. Los más altos niveles de resistencia se encontraron en las cepas de *E. faecium*, con niveles del orden del 88% para oxitetraciclina, 36% para estreptomina (alta carga) y 52% para penicilina G. Todas las cepas de *E. faecium* aisladas fueron resistentes a enrofloxacino y ciprofloxacino. En el caso de *E. faecalis* los niveles de resistencia fueron menores a los de *E. faecium* excepto para eritromicina, que alcanzó un 93% de resistencia contra un 52% de *E. faecium*.

En el Cuadro 2 se señalan las determinaciones de las MIC como valores absolutos para cada cepa aislada y su respectiva determinación de MIC₅₀ y MIC₉₀ para *E. coli*.

La MIC₅₀ tuvo un rango entre ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ hasta $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$, en el siguiente orden decreciente: ácido nalidíxico con ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$, oxitetraciclina con 64 $\mu\text{g/ml}$, estreptomina con 32 $\mu\text{g/ml}$, flumequina con 8 $\mu\text{g/ml}$, ácido oxolínico con 2 $\mu\text{g/ml}$ y el resto de los antimicrobianos con $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$.

Para la MIC₉₀ el rango estuvo entre ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ hasta $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$ y los resultados en orden decreciente fueron los siguientes: oxitetraciclina, estreptomina, flumequina, ácido oxolínico y ácido nalidíxico ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$, enrofloxacino con 8 $\mu\text{g/ml}$, ciprofloxacino con 4 $\mu\text{g/ml}$ y sulfametoxazol + trimetoprim con 2 $\mu\text{g/ml}$. El resto de los antimicrobianos tuvo una MIC₉₀ de $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$.

El análisis de MIC₅₀ y MIC₉₀ para *E. coli* demuestra que los mejores antimicrobianos son las cefalosporinas cefotaxima y cefazolina.

Para el caso de *Enterococcus* spp. los valores de MIC₅₀ y MIC₉₀ se detallan en el Cuadro 3. La MIC₅₀ varió entre 64 y $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$, en el siguiente orden decreciente: oxitetraciclina con 64 $\mu\text{g/ml}$, eritromicina con 16 $\mu\text{g/ml}$, enrofloxacino y ciprofloxacino con 8 $\mu\text{g/ml}$ cada uno, y el resto de los antimicrobianos con $\leq 0,125$.

La MIC₉₀ tuvo un rango entre ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ y $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$, en el orden decreciente que se detalla a continuación: oxitetraciclina, estreptomina y eritromicina con ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$, enrofloxacino con 64 $\mu\text{g/ml}$, ciprofloxacino con 32 $\mu\text{g/ml}$, penicilina con 16 $\mu\text{g/ml}$ y el resto de los antimicrobianos con $\leq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$.

El análisis de MIC₅₀ y MIC₉₀ para *Enterococcus* spp. demuestra que el mejor antimicrobiano es amoxicilina + ácido clavulánico, seguido de gentamicina.

2.- Perfiles de multiresistencia:

Sobre el 77% del total de las cepas de *E. coli* y *Enterococcus* spp. presentaron resistencia a 2 o más antimicrobianos. En los gráficos 3 y 4 se aprecian los porcentajes de mono y multiresistencia de las cepas de *E. coli* y *Enterococcus* spp. respectivamente. De ambas bacterias indicadoras, la que presentó mayores niveles de multiresistencia, independiente del tipo de droga, fue *Enterococcus* spp., con un 86,46%, a diferencia de las cepas de *E. coli*, de las cuales un 77,56% fueron multiresistentes.

Para *E. coli* se detectaron 27 perfiles de multiresistencia distintos. El análisis del Cuadro 4 permite observar que el perfil más frecuente (10%) fue enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina / estreptomicina / flumequina / ácido oxolínico / ácido nalidíxico. Otros perfiles comunes fueron oxitetraciclina / estreptomicina y oxitetraciclina / estreptomicina / flumequina / ácido oxolínico / ácido nalidíxico con un 9% cada uno.

Las cepas de *Enterococcus* spp. multiresistentes se agruparon en 20 perfiles diferentes. En el Cuadro 5 se aprecia que el perfil más recurrente fue enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina / eritromicina con un 25%, seguido lejanamente por enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina con un 14%.

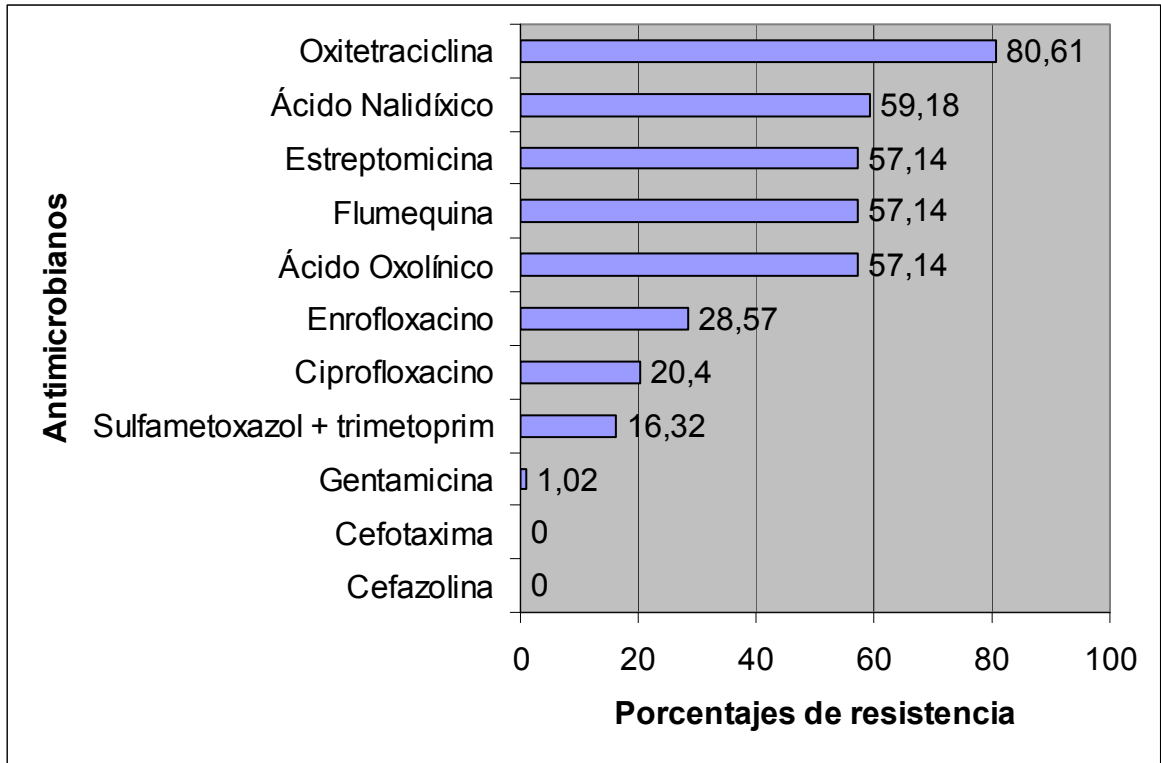


Gráfico 1: Porcentajes de resistencia de las cepas de *E. coli* aisladas de aves.

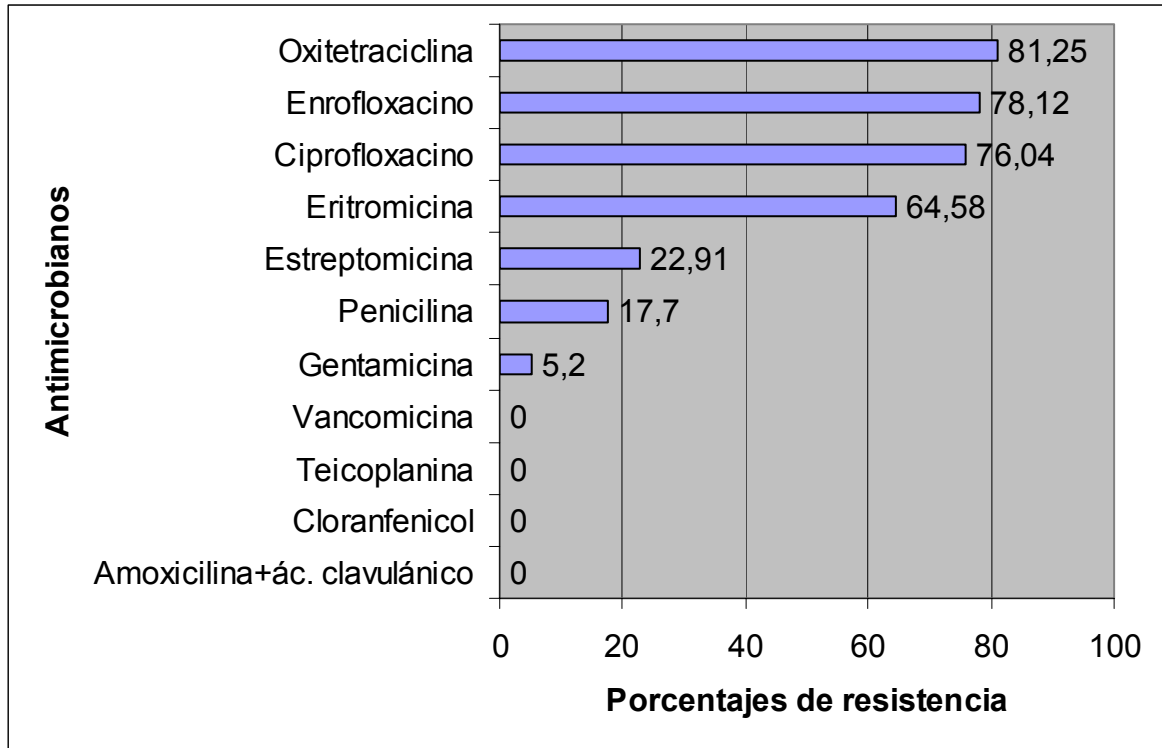


Gráfico 2: Porcentajes de resistencia de las cepas de *Enterococcus spp.* aisladas de aves.

Cuadro 1: Porcentajes de resistencia de las cepas de *E. faecium* y *E. faecalis* de origen aviar.

	P	V	Enr	Cip	Tm	Amc	E	Teic	G	S	C
<i>E. faecium</i>	52	0	100	100	88	0	52	0	0	36	0
<i>E. faecalis</i>	6,25	0	62,5	56,25	75	0	93,75	0	0	0	0

Leyenda

- P: penicilina G
- V: vancomicina
- Enr: enrofloxacino
- Cip: ciprofloxacino
- Tm: oxitetraciclina
- Amc: amoxicilina + ácido clavulánico
- E: eritromicina
- Teic: teicoplanina
- G: gentamicina
- S: estreptomina
- C: cloranfenicol

Cuadro 2: Valores de MIC para las 98 cepas de *E. coli* aisladas de aves.

Ab	n	Concentración µg/ml											MIC ₅₀	MIC ₉₀
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	µg/ml	µg/ml
Enr	98	64		2	4	5	5	12	3	2	1		≤0,125	8
Sxt	98	82				16							≤0,125	2
Cft	98	98											≤0,125	≤0,125
Tm	98	19								2	45	32	64	≥128
G	98	96						1		1			≤0,125	≤0,125
Cip	98	70		3	4	1	13	7					≤0,125	4
S	98	22			18		2	3	1	3	17	32	32	≥128
Fo	98	38			4	1	3	20	3		2	27	8	≥128
Cfz	98	98											≤0,125	≤0,125
OA	98	38	2		2	9	2	9	6	3	5	22	2	≥128
N	98	29			1		2	8		1	7	50	≥128	≥128

Leyenda:

- Ab:** Antimicrobiano
- n:** Tamaño muestral
- Enr:** enrofloxacino
- Sxt:** sulfametoxazol + trimetoprim
- Cft:** cefotaxima
- Tm:** oxitetraciclina
- G:** gentamicina
- Cip:** ciprofloxacino
- S:** estreptomina
- Fo:** flumequina
- Cfz:** cefazolina
- OA:** ácido oxolínico
- N:** ácido nalidíxico

Cuadro 3: Valores de MIC para las 96 cepas de *Enterococcus* spp. aisladas de aves.

Ab	n	Concentración µg/ml											MIC ₅₀	MIC ₉₀
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	µg/ml	µg/ml
P	96	78					1		14	3			≤0,125	16
V	96	96											≤0,125	≤0,125
Enr	96	18		1	2	4	12	27	16	4	8	4	8	64
Cip	96	19			4		11	40	10	6	5	1	8	32
Tm	96	16			1			1	6	14	28	30	64	≥128
Amc	96	96											≤0,125	≤0,125
E	96	30			2	1	1	6	8	19	9	20	16	≥128
Teic	96	96											≤0,125	≤0,125
G	96	91										5	≤0,125	≤0,125
S	96	74										22	≤0,125	≥128
C	96	94						2					≤0,125	≤0,125

Leyenda

- Ab:** Antimicrobiano
- n:** Tamaño muestral
- P:** penicilina G
- V:** vancomicina
- Enr:** enrofloxacino
- Cip:** ciprofloxacino
- Tm:** oxitetraciclina
- Amc:** amoxicilina + ácido clavulánico
- E:** eritromicina
- Teic:** teicoplanina
- G:** gentamicina
- S:** estreptomycinina
- C:** cloranfenicol

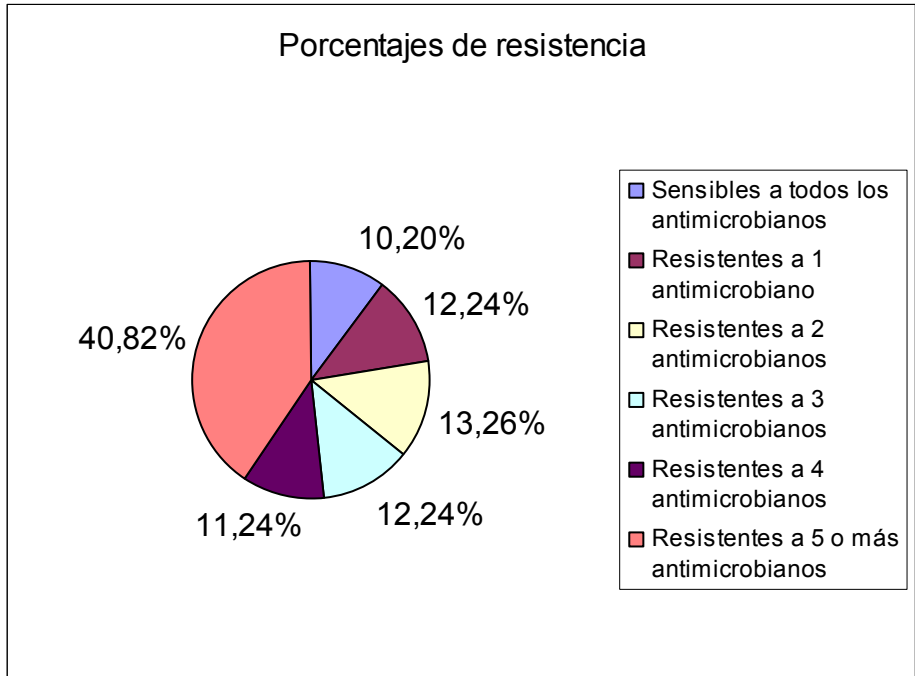


Gráfico 3: Porcentajes de mono y multiresistencia para las cepas de *E. coli* de origen aviar.

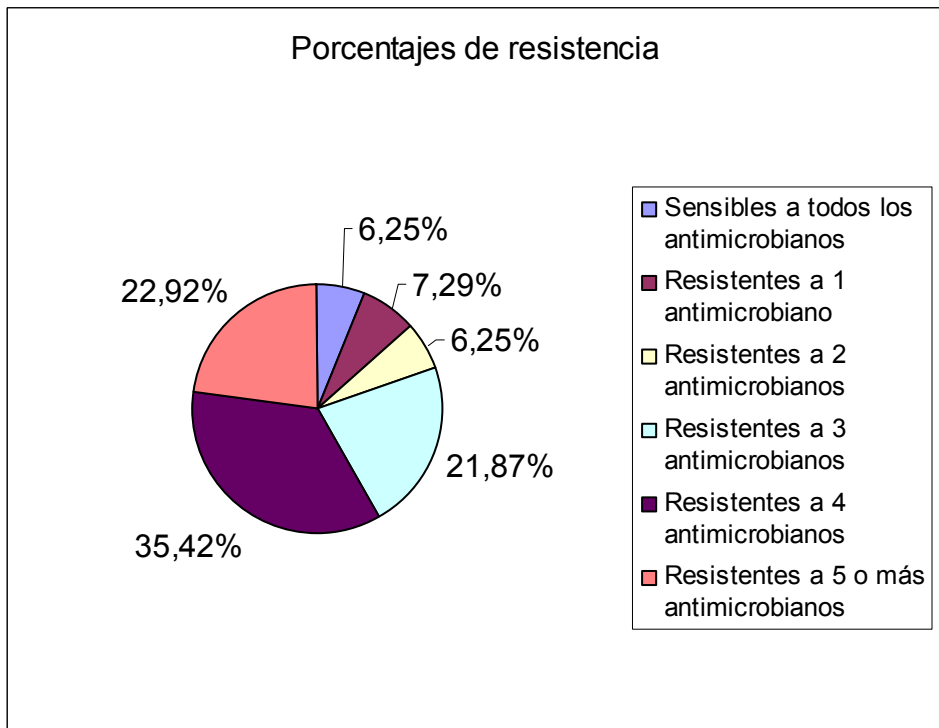


Gráfico 4: Porcentajes de mono y multiresistencia para las cepas de *Enterococcus* spp. de origen aviar.

Cuadro 4: Perfiles de multiresistencia para las cepas de *E. coli* de origen aviar.

Perfiles de multi-resistencia	Cepas de aves (%)
Enr Tm Cip S Fo Oa N	10.20
Tm S Fo Oa N	9.18
Tm S	9.18
Tm Fo Oa N	7.14
Enr Sxt Tm Cip S Fo Oa N	4.08
Enr Tm Cip Fo Oa N	4.08
Enr Sxt Tm S Fo Oa N	3.06
Enr Tm S Fo Oa N	3.06
Tm S Oa N	3.06
Tm S Oa	3.06
Tm Fo N	3.06
Sxt Tm S Fo Oa N	2.04
Tm Oa	2.04
Enr Tm G Cip S Fo Oa N	1.02
Enr Sxt Tm Cip Fo Oa N	1.02
Sxt Tm Fo Oa N	1.02
Enr Tm Fo Oa N	1.02
Sxt S Fo Oa N	1.02
Tm S Fo N	1.02
Fo Oa N	1.02
Sxt Tm S	1.02
S Fo N	1.02
Tm S Fo	1.02
Tm Fo Oa	1.02
Enr Tm S	1.02
Sxt Tm	1.02
Fo N	1.02

Leyenda:

- Enr:** enrofloxacino
- Sxt:** sulfametoxazol + trimetoprim
- Cft:** cefotaxima
- Tm:** oxitetraciclina
- G:** gentamicina
- Cip:** ciprofloxacino
- S:** estreptomina
- Fo:** flumequina
- Cfz:** cefazolina
- OA:** ácido oxolínico
- N:** ácido nalidíxico

Cuadro 5: Perfiles de multiresistencia para las cepas de *Enterococcus* spp. de origen aviar.

Perfiles de multi-resistencia	Cepas de aves (%)
Enr Cip Tm E	25.0
Enr Cip Tm	14.58
Enr Cip Tm E S	9.37
P Enr Cip Tm	5.2
P Enr Cip Tm E S	4.16
Tm E	4.16
P Enr Cip Tm E	3.12
Enr Tm E	3.12
Enr Cip Tm E G S	2.08
P Enr Cip Tm S	2.08
Tm E G S	2.08
Enr Cip E	2.08
Enr Cip	2.08
P Enr Cip E S	1.04
Enr Cip Tm E G	1.04
P Enr Cip E	1.04
Enr Tm E S	1.04
Enr Cip Tm S	1.04
P Enr Cip	1.04
Cip Tm E	1.04

Leyenda:

- P:** penicilina G
- V:** vancomicina
- Enr:** enrofloxacino
- Cip:** ciprofloxacino
- Tm:** oxitetraciclina
- Amc:** amoxicilina + ácido clavulánico
- E:** eritromicina
- Teic:** teicoplanina
- G:** gentamicina
- S:** estreptomina
- C:** cloranfenicol

VI.- DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos, se puede apreciar que en los sistemas de producción aviar en Chile existen altos niveles de resistencia para la mayoría de los antimicrobianos estudiados, por lo que el país no está ajeno al problema mundial del aumento de la resistencia bacteriana.

Para la determinación de los niveles de resistencia de las cepas estudiadas se utilizó el Método de Dilución en Placa, el cual es reconocido a nivel internacional como oficial y, por ser un método cuantitativo, permite determinar la concentración en la cual un antimicrobiano inhibe el crecimiento bacteriano.

Al analizar la resistencia del total de las cepas aisladas destaca el alto porcentaje de resistencia a oxitetraciclina en ambas bacterias indicadoras, lo que es similar a estudios internacionales. En un estudio español de resistencia de *E. coli* aisladas de 167 pollos broilers sanos y 301 con síntomas de septicemia, se encontró que el 95% de las cepas aisladas de pollos sanos y el 94% de los septicémicos eran resistentes a tetraciclina (Blanco *et al.*, 1997). En otro estudio en pavos de Minnesota, que se extendió entre los años 1998 a 2002, los niveles promedios de resistencia de *E. coli* a tetraciclina fluctuaron entre 88% y 100% (Malik *et al.*, 2003). También fue frecuente la alta resistencia de *Enterococcus* spp. a las tetraciclinas, por ejemplo en un estudio realizado el año 2002 en USA, donde se analizaron las carcasas de 50 pollos broilers y 51 pavos, encontrando un 70 y un 92% de cepas resistentes, respectivamente (Consumers Union, 2002). En el informe del año 2003 del “Programa Danés de Vigilancia”, se encontraron niveles de resistencia a tetraciclina del orden del 45% para *E. faecalis* en 66 pollos broilers (DANMAP, 2003). Aarestrup *et al.* (1998) señalan que es frecuente encontrar resistencia en bacterias patógenas, zoonóticas e indicadoras, lo que sería consecuencia de la presión de selección a la que están sometidas estas poblaciones bacterianas como resultado del uso masivo de antimicrobianos (Aarestrup *et al.*, 1998). A pesar que en Chile no existen datos formales sobre el consumo total de oxitetraciclina, es factible pensar que la resistencia a ésta puede atribuirse a lo ya señalado, ya que ha sido utilizada por años como antimicrobiano de amplio espectro frente a diferentes patologías y también como promotor del crecimiento. El mismo hecho podría justificar la resistencia encontrada en las cepas de *E. coli* para estreptomina y

sulfametoxazol + trimetoprim, y en las cepas de *Enterococcus* spp. frente a eritromicina. En el caso puntual de eritromicina, el elevado porcentaje de resistencia se podría deber a la resistencia cruzada que puede generarse con otro macrólido como puede ser la tilosina, un antimicrobiano de uso frecuente para el control de enfermedades infecciosas en producción aviar (SCAN, 1998).

Los altos niveles de resistencia a quinolonas, que variaron entre el 25% y el 70% para *E. coli* y *Enterococcus* spp., respectivamente, puede explicarse por la situación endémica de *Salmonella* declarada en la última década a nivel nacional (Fica *et al.*, 1997). Esto condujo a la implementación de medidas rápidas de control y prevención entre las que figuran el uso de antimicrobianos. El desarrollo de los niveles de resistencia encontrados para las fluoroquinolonas no es una situación nueva a nivel internacional. Ya hace algunos años en diversos lugares se han informado incrementos de resistencia preocupantes frente a las quinolonas, mereciendo especial interés la resistencia a enrofloxacin y ciprofloxacino, que son antimicrobianos de aparición relativamente reciente. En un trabajo realizado en 1996 por Blanco *et al.*, se encontró que de 468 muestras de *E. coli* tomadas de aves sanas y con síntomas de septicemia, un 44% era resistente a ácido nalidíxico, un 19% a flumequina y un 13% a ciprofloxacino (Blanco *et al.*, 1997). En Iowa, USA, Hayes *et al.* (2003) encontraron que de un total de 227 muestras de pavos y 237 de pollos, las cepas de *E. faecium* presentaban un 41 y un 22% de resistencia a ciprofloxacino, respectivamente (Hayes *et al.*, 2003). En otro estudio realizado en 1999 por Garau *et al.* en Barcelona, encontraron que de 105 muestras de aves de matadero, de las que se aisló *E. coli*, un 97% de ellas fue resistente a ácido nalidíxico, y un 95% a ciprofloxacino. El elevado nivel de resistencia se atribuyó al uso indiscriminado de antimicrobianos como enrofloxacin ya sea en forma profiláctica o como terapia (Garau *et al.*, 1999). Anteriormente se había documentado que no existía resistencia cruzada entre quinolonas, sin embargo, un estudio realizado en 1994 por Jacobs-Reistma *et al.*, demostró que cepas de *Campylobacter* desarrollaban resistencia a ciprofloxacino luego de tratamientos con enrofloxacin. La aparición de resistencia a ciprofloxacino en los animales se relaciona entonces a la capacidad de las bacterias de adquirir resistencia cruzada a los antimicrobianos pertenecientes a una misma familia, en este caso las fluoroquinolonas (Jacobs-Reistma *et al.*, 1994). Así, Van den Bogaard y Stobberingh (2000), relacionaron el consumo de

fluoroquinolonas en pavos, con el desarrollo de resistencia a ciprofloxacino en cepas de *E. coli* aisladas de estas aves y de las aisladas de personas asociadas a su producción, corroborando así que las cepas resistentes se transmiten desde los animales al hombre y sus genes de resistencia podían conferir resistencia a antibacterianos que sólo son utilizados en medicina humana (Van den Bogaard y Stobberingh, 2000).

Esta situación ha originado a escala mundial una fuerte controversia sobre el uso de las fluoroquinolonas en medicina veterinaria, por lo que diversas organizaciones internacionales han propuesto medidas restrictivas sobre el uso de estos fármacos en animales, ya que ciprofloxacino y las nuevas fluoroquinolonas como levofloxacino, trovafloxacino y clinofloxacino, entre otras, son todavía altamente eficaces en el tratamiento de algunas enfermedades graves producidas por bacterias multiresistentes en humanos.

Al analizar la resistencia por especie, se observa que las cepas de *E. faecium* tuvieron niveles de resistencia más altos que las de *E. faecalis*, lo que era esperable, ya que por lo general *E. faecium* se ha caracterizado por tener niveles más altos de resistencia a una amplia de antimicrobianos en diversos estudios tanto en animales como en seres humanos. En un estudio realizado por Hayes *et al.* en el año 2003, en USA en carnes de aves para consumo, los niveles de resistencia encontrados para *E. faecium* fueron mayores que para *E. faecalis* en varios antimicrobianos, como ciprofloxacino (41% en *E. faecium* contra 0% en *E. faecalis* aislados de pavos), penicilina (54% para *E. faecium* de pavos y 23% en broilers contra 0% para *E. faecalis* en ambas especies) y bacitracina (96% en *E. faecium* contra 84% de *E. faecalis* en pavos) (Hayes *et al.*, 2003).

La baja resistencia encontrada en las cepas de *E. coli* frente a las cefalosporinas y gentamicina, y en las cepas de *Enterococcus* spp. frente a amoxicilina + ácido clavulánico y gentamicina, todos ellos con niveles de MIC₅₀ y MIC₉₀ menores o iguales a 0,125 µg/ml, indica que estos antimicrobianos aún son eficaces para el tratamiento de bacterias patógenas de importancia en producción aviar en Chile, pero deben tomarse las medidas necesarias para que sean utilizadas de manera responsable para evitar la aparición o aumento de cepas resistentes a estos fármacos. También se encontraron bajos niveles de

resistencia a cloranfenicol en *Enterococcus*, pero la utilización de este fármaco se encuentra actualmente prohibida por el SAG por sus potenciales efectos tóxicos (SAG, 2004).

Debido a que son muchos los estudios internacionales que señalan que algunos antimicrobianos utilizados como promotores del crecimiento en animales pueden generar resistencia cruzada con antibacterianos de uso exclusivo de medicina humana (Aarestrup *et al.*, 2001; DANMAP, 2003), se incluyó en este estudio un análisis de resistencia de cepas de *Enterococcus* spp. a vancomicina, las que representan un serio problema en salud pública. Cabe mencionar que dicho antimicrobiano está restringido a infecciones específicas en humanos. Afortunadamente no se encontró resistencia a vancomicina en las 96 cepas de *Enterococcus* spp. aisladas, pero esto no significa que estas bacterias no deban ser controladas en forma periódica por el posible surgimiento futuro de cepas resistentes.

Sobre el 77% de las cepas de *E. coli* y sobre el 86% de las cepas de *Enterococcus* spp. fueron resistentes a dos o más antimicrobianos, lo que indica que Chile no está exento de la preocupación mundial de la multiresistencia bacteriana, en que bacterias como *Salmonella typhimurium* DT104 pentaresistente, *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) y *Enterococcus* resistentes a glucopéptidos (GRE) producen serios problemas en salud pública. Uno de los principales problemas asociados a la multiresistencia en bacterias indicadoras es la posibilidad de que éstas transfieran sus genes a bacterias patógenas, además de que dificulta el tratamiento de enfermedades producidas por estas bacterias, especialmente en las unidades de cuidados intensivos de los hospitales (Dennessen *et al.*, 1998).

El perfil más frecuente en cepas de *E. coli* fue enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina / estreptomina / flumequina / ácido oxolínico / ácido nalidíxico, encontrado en 10 cepas (10,2%), siendo para *Enterococcus* spp. enrofloxacino / ciprofloxacino / oxitetraciclina / eritromicina, encontrado en 24 cepas (25%). En un estudio de sensibilidad realizado por Guerra *et al.* (2003) en Alemania, en cepas de *E. coli* aisladas de cerdos, bovinos y aves, en donde un 32% de las cepas fueron multiresistentes; de los 75 fenotipos de resistencia, los patrones más frecuentes fueron estreptomina / sulfametoxazol / tetraciclina (Guerra *et al.*, 2003). En otro trabajo realizado en Chile por Figueroa (2004) se encontró que de un total de 50 cepas de *E. coli* aisladas de ganado lechero, 23 de ellas (46%)

presentaron un perfil de resistencia común a cuatro antimicrobianos, los que fueron oxitetraciclina / enrofloxacino / ciprofloxacino / ceftiofur (Figueroa, 2004).

Resulta preocupante la amplia variedad de antimicrobianos que se encontraron en el presente estudio en los perfiles de multiresistencia, especialmente por incluir a fluoroquinolonas de aparición relativamente reciente, lo que disminuye el espectro de fármacos útiles para el tratamiento de enfermedades.

En relación a la resistencia bacteriana por especie aviar, los mayores porcentajes se observaron en cepas aisladas de pollos broilers, seguidas por las aisladas a partir de pavos y finalmente las de gallinas de postura. Esta situación se podría explicar por las características de los distintos sistemas productivos, ya que en el caso de animales de engorda se hace necesaria la utilización de antimicrobianos en mayor cantidad para asegurar un buen estado sanitario que permita el óptimo crecimiento de las aves (Reid, 2002).

Al comparar los resultados obtenidos en este estudio con datos de programas de vigilancia de otros países se aprecia que estos últimos presentan niveles menores de resistencia. En Suecia, el programa de vigilancia SVARM informó que el año 2002, de 306 cepas de *E. coli* aisladas de pollos, un 3% de ellas presentó resistencia a enrofloxacino, un 5% a ácido nalidíxico y sólo un 6% a tetraciclina. Por otro lado, de 332 cepas de *Enterococcus* spp., un 20% fueron resistentes a eritromicina y un 27% a tetraciclina (SVARM, 2003). En Dinamarca, el año 2003 el programa de vigilancia DANMAP informó que de 138 cepas de *E. coli* aisladas de pollos broilers, un 14% fue resistente a tetraciclina, un 4% a estreptomicina, un 10% a ciprofloxacino y un 10% a ácido nalidíxico. En el caso de *E. faecium*, de 92 cepas aisladas, un 10% fue resistente a tetraciclina, un 2% a estreptomicina y un 21% a eritromicina (DANMAP, 2003). En ambos informes se observó que en general los niveles de resistencia disminuyeron a lo largo de los años, desde que se instauraron los programas de vigilancia, lo que evidencia la importancia de contar con estudios permanentes que permitan orientar las medidas para controlar la resistencia bacteriana.

Finalmente, los altos niveles de resistencia encontrados en el presente estudio en cepas de *E. coli* y *Enterococcus* spp. deben ser considerados como un llamado de atención

para que se tomen las medidas correspondientes que permitan reducir el masivo uso de antimicrobianos para contar a futuro con fármacos eficaces para el control de las enfermedades bacterianas. Chile debe tener presentes las recomendaciones de organismos internacionales como la OMS sobre la correcta utilización de antimicrobianos en producción animal. De vital importancia es la implementación de programas permanentes de vigilancia, cuyos datos sean debidamente informados a la comunidad científica y a los profesionales de terreno, con el fin de elegir correctamente el antimicrobiano más adecuado para el tratamiento de sus pacientes.

VII.- CONCLUSIONES

- 1.- Existen altos niveles de resistencia bacteriana en las bacterias indicadoras *E. coli* y *Enterococcus* spp. aisladas de aves de consumo, especialmente frente a oxitetraciclina y a las fluoroquinolonas enrofloxacino y ciprofloxacino.
- 2.- No se observó resistencia a vancomicina en las 96 cepas de *Enterococcus* spp.
- 3.- Elevada multiresistencia tanto en *E. coli* como en *Enterococcus* spp., presentando ambas bacterias indicadoras un número considerable de perfiles de multiresistencia.

VIII.- BIBLIOGRAFÍA

AARESTRUP, F.; BAGER, F.; JENSEN, N.; MADSEN, M; MEYLING, A.; WEGENER, H. 1998. Resistance to antimicrobial agents used for animal therapy in pathogenic-bacteria, zoonotic-bacteria and indicator bacteria isolated from different food animals in Denmark – a base-line study for the Danish integrated antimicrobial resistance monitoring program (Danmap). *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. 106: 745–770.

AARESTRUP, F.M. 1999. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 12: 279-285.

AARESTRUP, F.; AGERSO, Y.; GERNER-SMIDT, P.; MADSEN, M.; JENSEN, L. 2000. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagnosis of Microbiological Infectious Diseases*. 37: 127-137.

AARESTRUP, F.; SEYFARTH, A.; EMBORG, H.; PEDERSEN, K.; HENDRIKSEN, R.; BAGER, F. 2001. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Anticrobials Agents and Chemotherapy*. 45: 2054-2059.

AKIBA, T.; KOYAMA, K.; ISHIKI Y. 1960. On the mechanism of the development of multiple drug resistant clones of *Shigella*. *Japan Journal of Microbiology*. 4: 219-222.

ÁLVAREZ, P.; GARCÍA, R. 2003. Antiinfecciosos. *Recipe Vademécum Veterinario*. Editorial Recipe Consultora Científica Ltda. Santiago, Chile. 7: 187-230.

ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M.R.; FREJO, M.T. 1999. Problemática actual de los antibióticos como promotores del crecimiento (revista ANAPORC). Universidad Complutense. Madrid, España. 52 p.

APUA (Alliance for the Prudent Use of Antibiotics). 2004. Research & Surveillance. [en línea] <<http://www.tufts.edu/med/apua/>> [consulta: 05-08-2004]

AYATS, J. 2003. Resistencia a la vancomicina en el género *Enterococcus*. [en línea] <http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/envancor.html> [consulta: 26-06-2004]

BLANCO, J.; BLANCO, M.; MORA, A.; BLANCO J. 1997. Prevalence of Bacterial Resistance to Quinolones and Other Antimicrobials among Avian *Escherichia coli* Strains Isolated from Septicemic and Healthy Chickens in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*. 35: 2184-2185.

BORIE, C.; HERNÁNDEZ, P.; SIERRA, G.; SAN MARTÍN, B. 2000. Patógenos mastitogénicos: etiología bacteriana y monitoreo de resistencia en lecherías de las regiones V y Metropolitana. **In:** XXII Congreso Chileno de Microbiología. Olmué, Chile. 5-7 de Diciembre. 3: 58.

BORNEMAN, E. 2002. Bacterial infections: a response to recent reef notes columns. [en línea] <<http://www.reefkeeping.com/translations/spanish/2002-05/eb/>> [consulta: 25-07-2004]

BOULIANNE, M. 2003. Can we farm poultry without antimicrobial? Ministry of agriculture and food. Canadá. 10 p.

BUSTAMANTE, W.; ALPIZAR, A.; HERNANDEZ, S.; PACHECO, A.; VARGAS, N.; HERRERA, M.; VARGAS, A.; CABALLERO, M.; GARCIA, F. 2003. Predominance of *vanA* Genotype among Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Isolates from

Poultry and Swine in Costa Rica. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 7414-7419.

CDC (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). 2000. Antimicrobial Resistance: Glossary. [en línea]
<<http://www.cdc.gov/drugresistance/miscellaneous/glossary.htm>> [consulta: 23-07-2004]

CHILE. SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. 1995. Decreto supremo n° 139: aprueba reglamento de productos farmacéuticos de uso exclusivamente veterinario. 25 septiembre 1995.

Consumers Union. 2002. Presence of antimicrobial resistant pathogens in retail poultry products: a report on tests by CI members in Australia and the United States. [en línea] <<http://www.consumersunion.org/food/bac-paper303.htm>> [consulta: 26-09-2004]

CORDIÉS, L; MACHADO, L.; HAMILTON, M. 1998. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. [en línea]
<http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act03198.htm> [consulta: 15-07-2004]

DANMAP (Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme). 2003. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. 83 p.

DEL GROSSO, M.; CAPRIOLI, A.; CHINZARI, P.; FONTANA, M.; PEZZOTI, G.; MANFRIN, A.; GIANNATALE, E.; GOFFREDO, E.; PANTOSTI, A. 2000. Detection and characterization of vancomycin-resistant enterococci in farm animals and raw meat products in Italy. *Microbiology Drug Resistance*. 6: 313-318.

DELISLE, S.; PERL, T. 2003. Vancomycin-resistant enterococci: A road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. *American College of Chest Physicians*. 17 p.

DENNESEN, P.; BONTEN, M.; WEINSTEIN, R. 1998. Multiresistant bacteria as a hospital epidemic problem. [en línea]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=9667796&dopt=Abstract> [consulta: 28-09-2004]

DFVF (Danish Institute for Food and Veterinary Research). 2004. DANMAP. [en línea] <<http://www.dfvf.dk/Default.asp?ID=10044>> [consulta: 20-08-2004]

EMEA (European Medicines Agency). 1999. Antibiotic Resistance in the European Union Associated with Therapeutic Use of Veterinary Medicines: Report and Qualitative Risk Assessment by the Committee for Veterinary Medicinal Products. London. 79 p.

EMEA (European Medicines Agency). 2001. Reflection by the CVMP within a European context on the intention of the FDA to withdraw the use of the fluoroquinolone enrofloxacin in poultry. London. 10 p.

ERRECALDE, J. 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo, desarrollo de resistencias, su incidencia en salud pública.

[en línea] <<http://www.worldvet.org/docs/Usodeanti1.doc>> [consulta: 10-07-2004]

FICA, A., FERNANDEZ, A.; PRAT, S.; FIGUEROA, O.; GAMBOA, R.; TSUNEKAWA, I.; HEITMANN, I. 1997. *Salmonella enteritidis*, an emergent pathogen in Chile. Revista Médica de Chile. 125: 544-551.

FIGUEROA, M. 2004. *Escherichia coli* como bacteria indicadora en el monitoreo de la resistencia a antimicrobianos de uso en ganado bovino. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Medicina Veterinaria. 68 p.

GARAU, J.; XERCAVINS, M.; RODRIGUEZ-CARBALLEIRA, M.; GOMEZ-VERA, J.; COLL, I.; VIDAL, D.; LLOVET, T.; RUIZ-BREMON, A. 1999. Emergence and Dissemination of Quinolone-Resistant *Escherichia coli* in the Community. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43: 2736-2741.

GUERRA, B.; JUNKER, E.; SCHROETER, A.; MALORNY, B.; LEHMANN, S.; HELMUTH, R. 2003. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 52: 489-492.

HARDMAN, J.; LIMBIRD, L.; MOLINOFF, P.; RUDDON, R.; GOODMAN, A. 1996. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Novena edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2: 1095-1121.

HAYES, J. ; ENGLISH, L.; CARTER, P.; PROESCHOLDT, T.; LEE, K.; WAGNER, D.; WHITE, D. 2003. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from retail meats. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 7153-7160.

HOSEIN, I. 2003. Antibiotics - Mechanisms of Action. [en línea] <http://www.cardiff.ac.uk/medicine/medical_microbiology/teaching/year2/antibiotics_mechanisms_of_action.pdf> [consulta: 15-07-2004]

HOUSE OF LORDS. 1998. Science and Technology - Seventh Report. [en línea] <<http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/ld199798/ldselect/ldsctech/081vii/st0701.htm>> [consulta: 14-08-2004]

JACOBS-REITSMA, W.; KAN, C.; BOLDER, N. 1994. The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. *Letters of Applied Biology*. 19: 228-231.

JULIET, C. 2002. Estudio de susceptibilidad *in vitro* de *Enterococcus spp.* Revista Chilena de infectología. Santiago, Chile. 19: 111-115.

LEVY, S. 1992. Balancing the drug resistance equation. Trends of Microbiology. 2: 341-342.

LEWIS, R. 1995. The Rise of Antibiotic-Resistant Infections. FDA Consumer magazine. [en línea] <http://www.fda.gov/fdac/features/795_antibio.html> [consulta: 21-10-2004]

MATEOS, P. 2003. Agentes antimicrobianos y microorganismos. [en línea] <http://edicion-micro.usal.es/web/educativo/m_especial/11bprincipal.htm> [consulta: 15-07-2004]

MALIK, Y.; OLSEN, K.; CHANDER, Y.; GOYAL, S. 2003. Antimicrobial Resistance in Bacterial Pathogens Isolated From Turkeys in Minnesota From 1998 to 2002. The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine. 47: 588-593.

MORENO, M.; TIRUSHET, T.; PORRERO, C.; HERRERO, I.; GARCÍA, M.; CUBILLO, I.; DOMÍNGUEZ, L. 1997. Vigilancia Veterinaria de resistencias bacterianas a los antimicrobianos en España. [en línea] <<http://www.exopol.com/general/circulares/97circ.html>> [consulta: 17-07-2004]

MORENO, M.; DOMINGUEZ, L.; TESHAGER, T.; HERRERO, I.; PORRERO, M. 2000. Antibiotic resistance monitoring: the Spanish programme. International Journal of Antimicrobial Agents. 14: 285-290.

MUNDT, J.O. 1986. Genus Streptococcus. **In:** Sneath, P.; Mair, N.; Sharpe, M.; Holt, J. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Cuarta edición. Editorial Board. 2: 1063-1065.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) 1999. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard. M31-A. 19: 1-54.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 1997. The Medical Impact of the Use of Antimicrobials in Food Animals. Report of a WHO Meeting: Emerging and other Communicable Diseases, Surveillance and Control. Berlin, Germany. 24 p.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2000a. Overcoming antimicrobial resistance. World Health Organization (Report on Infectious Diseases). Geneva, Switzerland. 67 p.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2000b. Resistencia a los antimicrobianos: Una amenaza mundial. Boletín de Medicamentos Esenciales, números 28 y 29. 36 p.

ORDEN, J.; DE LA FUENTE, R. 2001. Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal. Revista Española de Salud Pública. 75: 313-320.

ORSKOV, F. 1984. Genus Escherichia. **In:** Krieg, N.; Holt, J. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Cuarta edición. Editorial Board. 1: 420-423.

QUEDNAU, M.; AHRNE, S.; PETERSON, A.; MOLIN, G. 1998. Antibiotic-resistant strains of Enterococcus isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. Journal of Applied Microbiology. 84: 1163-1170.

QUINTANA, A. 2002. Antibióticos: Bases microbiológicas del uso de antimicrobianos. [en línea] <<http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2028.pdf>> [consulta: 13-11-2004]

REID, J. 2002. Antibiotics and Livestock Production. [en línea] <<http://www.cce.cornell.edu/yates/AgCorner4.10.02.htm>> [consulta: 15-11-2004]

ROAR (Reservoirs of Antibiotic Resistance). 2004. Antibiotic resistance in non-pathogenic bacteria. [en línea] <<http://www.tufts.edu/med/apua/ROAR/roarhome.htm>> [consulta: 05-08-2004]

SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG). 2004. Programa de control de residuos, año 2004. Chile. 25 p.

SAN MARTÍN, B.; KRUZE, L.; MORALES, M.; AGÜERO, H.; LEÓN, B.; ESPINOZA, S.; IRAGÜEN, D.; PUGA, J.; BORIE, C. 2002. Resistencia bacteriana en cepas patógenas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y X Región, Chile. Archivos de Medicina Veterinaria. 34: 221-234.

SAN MARTÍN, B.; KRUZE, J.; MORALES, M.; AGÜERO, H.; IRAGÜEN, D.; ESPINOZA, S.; LEÓN, B.; BORIE, C. 2003. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from dairy herds in Chile. The Journal of Applied Research in Veterinary Medicine. 1: 87-95.

SANDERS, P. 1999. European Symposium. Antibiotic resistance in bacteria of animal origin, concerted action FAIR5-CT97-3654. 29-30 November. Institut Pasteur-CIS. Paris. France.

SCAN (Scientific Committee for Animal Nutrition). 1998. Report of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the Efficacy and Risk for Users of the Therapeutic Macrolides Antibiotics Tylosin and Spiramycin Used as Feed Additives (opinion expressed on 05 February 1998) [en línea] <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scan/out06_en.html> [consulta: 27-09-2004]

SHOJAEI ALIABADI, F.; LEES, P. 2000. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimization. International Journal of Antimicrobial Agents. 14: 307-313.

SMITH, D.; JOHNSON, J.; HARRIS, A.; FURUNO, J.; PERENCEVICH, E.; MORRIS, J. 2003. Assessing risks for a pre-emergent pathogen: virginiamycin use and the emergence of streptogramin resistance in *Enterococcus faecium*. *The Lancet, Infectious Diseases*. 3: 241-249.

SUSSMANN, O.; MATTOS, L.; RESTREPO, A. 2004. Resistencia bacteriana. Unidad de infectología, Hospital Universitario San Ignacio. Bogotá, Colombia. 12 p.

Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM). 2003. SVARM 2003. 48 p.

TORRES, C.; ZARAZAGA, M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por buen camino? *Gaceta Sanitaria*. Barcelona, España. 16: 109-112.

UNIÓN EUROPEA. COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. 1997. Directiva 97/6/CE de la Comisión de 30 de enero de 1997 por la que se modifica la Directiva 70/524/CEE del Consejo sobre los aditivos en la alimentación animal (Texto pertinente a los fines del EEE). *Diario Oficial* n° L 035. 05 febrero 1997.

UNIÓN EUROPEA. CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA. 1998. Reglamento (CE) n° 2821/98 del Consejo del 17 de diciembre de 1998 por el que se modifica la Directiva 70/524/CEE sobre los aditivos en la alimentación animal, en lo que respecta a la revocación de la autorización de determinados antibióticos. *Diario Oficial* n° L 351. 29 diciembre 1998.

VAN DEN BOGAARD, A.; STOBBERINGH, E. 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 14: 327-335.

WEGENER, H.; AARESTRUP, F.; JENSEN, L.; HAMMERUM, A.; BAGER, F. 1999. Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and *Enterococcus faecium* Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. *Emerging Infectious Diseases*. 5: 329-335.

WELTON, L.; THAL, L.; PERRI, M.; DONABEDIAN, S.; MCMAHON, J.; CHOW, W.; ZERVOS, M. 1997. Antimicrobial Resistance in Enterococci Isolated from Turkey Flocks Fed Virginiamycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 42: 705-708.

WIERUP, M. 2000. The control of microbial diseases in animals: alternatives to the use of antibiotics. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 14: 315-319.

ZAMUDIO, E. 2003. Mecanismo de acción de los antimicrobianos. [en línea] < http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/2005205/lecciones/mec_acc_antimicrobiano.html> [consulta: 15-07-2004]