



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

**EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS CON FLORFENICOL, TILOSINA
ENROFLOXACINO Y OXITETRACICLINA EN GALLINAS PONEDORAS SOBRE LOS
PERFILES DE SENSIBILIDAD DE CEPAS *Escherichia coli* AISLADAS DE LA
MICROBIOTA INTESTINAL.**

DIEGO TOMÁS GARCÍA MENDOZA

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

PROFESORA GUÍA: DRA. BETTY SAN MARTÍN NÚÑEZ
Laboratorio de Farmacología Veterinaria, Departamento de Ciencias Clínicas

SANTIAGO, CHILE
2014



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

**EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS CON FLORFENICOL, TILOSINA
ENROFLOXACINO Y OXITETRACICLINA EN GALLINAS PONEDORAS SOBRE LOS
PERFILES DE SENSIBILIDAD DE CEPAS *Escherichia coli* AISLADAS DE LA
MICROBIOTA INTESTINAL.**

DIEGO TOMÁS GARCÍA MENDOZA

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

Nota Final

	Firma	Nota
Profesor Guía: Betty San Martín Núñez.....
Profesor Corrector: Daniela Iragüen Contreras.....
Profesor Corrector: Lisette Lapierre Acevedo.....

PROFESORA GUÍA: DRA. BETTY SAN MARTÍN NÚÑEZ
Laboratorio de Farmacología Veterinaria, Departamento de Ciencias Clínicas

SANTIAGO, CHILE
2014

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a mi madre, Cecilia, quien ha estado conmigo toda mi vida, dándome su consejo, su apoyo y su cariño incondicional. Gracias por darme la vida y entregarme tu sentido de la verdad y la justicia, tu sentido de humor, tu facilidad por las matemáticas y en especial tu actitud frente a la vida, optimista, frontal y resistente ante todas las dificultades del camino, como el junco de la canción. Durante este tiempo que desarrollé mi memoria de título pasaron cosas difíciles en nuestras vidas, cosas que hicieron darme cuenta cuánto te quiero y cuán importante eres para mí. Te amo y gracias por todo mamita.

A mi hermano, Daniel, que pese a tener grandes diferencias y peleas a lo largo de nuestras vidas, hasta el día de hoy, ha sido un pilar muy importante para mí. Gracias hermano, te quiero y siempre estaremos juntos.

A mi padre, Carlos, por haberme querido tanto y haberme ayudado a desarrollar mi lado artístico y científico durante mi niñez. Te extraño y nos volveremos a ver algún día.

A la Dra. Betty San Martín, quien primero me aceptó para hacer mi memoria de título en su laboratorio y que luego confió en mí para trabajar con ella. En el laboratorio he aprendido muchísimo, he crecido profesionalmente y me he dado cuenta del gusto que tengo por la investigación. Gracias Doctora por darme la oportunidad de trabajar con usted.

A la Dra. Daniela Iragüen por su apoyo y sus consejos para sobrellevar de mejor manera los momentos difíciles. Muchas gracias.

Gracias al personal del laboratorio y a mis compañeros tesisistas y veterinarios, por la compañía y la buena onda casi todos los días.

Finalmente, gracias a mis amigos de la vida, del colegio, de la Usach, y en especial a los de veterinaria, que hicieron de este tiempo en la Universidad un gran periodo de mi vida, que nunca voy a olvidar. Hemos crecido mucho juntos y son irremplazables los buenos momentos que compartimos.

Muchas gracias a todos

Diego.

MEMORIA DE TÍTULO

“EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS CON FLORFENICOL, TILOSINA ENROFLOXACINO Y OXITETRACICLINA EN GALLINAS PONEDORAS SOBRE LOS PERFILES DE SENSIBILIDAD DE CEPAS *Escherichia coli* AISLADAS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL”.

“EFFECT OF THE TREATMENT WITH FLORFENICOL, TYLOSIN, ENROFLOXACIN AND OXYTETRACYCLINE ON THE SUSCEPTIBILITY PROFILES OF *Escherichia coli* STRAINS ISOLATED FROM INTESTINAL MICROBIOTA OF LAYING HENS”

Diego Tomás García Mendoza*

*Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

RESUMEN

La resistencia bacteriana se ha convertido en una preocupación creciente para la salud pública a nivel mundial. Se genera por la presión seleccionadora que ejercen los antimicrobianos y en particular por su uso inadecuado. Los sistemas de producción animal son una fuente importante de bacterias resistentes que son potencialmente transmisibles al hombre. Cepas *E. coli* son utilizadas como bacterias indicadoras de resistencia bacteriana en los programas de vigilancia, ya que son representativas de poblaciones bacterianas y actúan como reservorios de genes de resistencia. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los tratamientos con enrofloxacino, oxitetraciclina, florfenicol y tilosina en gallinas ponedoras sobre los perfiles de sensibilidad de 566 cepas *E. coli* aisladas de la microbiota intestinal de 75 aves provenientes de dos predios de la Región Metropolitana. Los perfiles de sensibilidad se determinaron a través de la prueba fenotípica de Kirby Baüer frente a un panel de 11 antimicrobianos. Se determinó que la resistencia a doxiciclina, ciprofloxacino, cloranfenicol y sulfametoxazole-trimetoprim fue mayor en gallinas tratadas con tilosina en comparación a las gallinas que no recibieron tratamiento ($p < 0,05$). En conclusión, la administración de tratamientos antimicrobianos puede seleccionar bacterias resistentes a antimicrobianos que no están relacionados a los administrados. De esta manera, el uso prudente de antimicrobianos en animales productores de alimentos es algo fundamental para prevenir el aumento de la resistencia bacteriana.

Palabras clave: resistencia bacteriana, salud pública, producción animal, bacterias indicadoras, tilosina.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance has become an increasing public health concern worldwide. Is generated due to the selection pressure caused by the use of antimicrobials, particularly their misuse. Animal production systems are an important source of resistant bacteria potentially transmissible to humans. *E. coli* strains are used as indicator bacteria in bacterial resistance surveillance programs, as they are representative of bacterial populations and act as reservoirs of resistance genes. The goal of this study was to evaluate the effect of the treatment with enrofloxacin, oxytetracycline, florfenicol and tylosin in laying hens on the susceptibility profiles of 566 *E. coli* strains isolated from the intestinal microbiota collected from 75 birds from two farms of the Metropolitan Region.

Susceptibility profiles were determined by the phenotypic Kirby Bauer test against a panel of 11 antimicrobials. Resistance to doxycycline, ciprofloxacin, chloramphenicol, and trimethoprim-sulfamethoxazole was higher ($p < 0.05$) in hens treated with tylosin compared to untreated hens. In conclusion, the administration of antimicrobial treatments can select antimicrobial resistant bacteria that are not related to the administered antimicrobials. Thus, the prudent use of antimicrobials in food-producing animals is critical to prevent the increase in bacterial resistance in humans.

Keywords: antimicrobial resistance, public health, animal production, indicator bacteria, tylosin.

INTRODUCCION

Los antimicrobianos son la principal herramienta terapéutica para tratar las enfermedades infecciosas de origen bacteriano en animales y humanos (Pantozzi *et al.*, 2010). Sin embargo, la utilización de antimicrobianos trae consigo la emergencia y propagación de microorganismos resistentes, lo que se ha convertido en motivo de preocupación mundial en los últimos años. La resistencia bacteriana en medicina humana es cada vez más grave y muchas infecciones ya no se pueden curar fácilmente, lo que ocasiona tratamientos prolongados, de mayor costo económico y aumenta el riesgo de muerte (OMS, 2012).

El uso de antimicrobianos en animales de producción se reconoce como una de las principales fuentes y causas del aumento de la resistencia bacteriana (Acar y Moulin, 2006). Según la *Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC)*, en los sistemas de producción intensiva es frecuente la administración de antimicrobianos a través del agua o del alimento a un gran número de animales en condiciones de alta densidad (FASFC, 2013). De esta manera, estos ecosistemas agrícolas proveen ambientes apropiados para la emergencia, amplificación y diseminación de bacterias resistentes.

La microbiota intestinal de individuos tratados con antimicrobianos cumple un papel importante en el desarrollo de resistencia bacteriana. La presión selectiva que generan estos fármacos produce cambios en la microbiota intestinal, llevando a la selección de bacterias resistentes. Dentro del intestino se produce un ambiente adecuado para la transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacterias que pueden ser incluso de distinta familia (Cavaliere *et al.*, 2005). Las bacterias resistentes pueden permanecer por meses en el intestino sin causar signos clínicos y contaminar el medioambiente a través de las heces (Carlet, 2012).

Entre los principales mecanismos de transferencia horizontal de genes de resistencia se encuentran la conjugación, la transducción y la transformación. La conjugación, es considerado el mecanismo más importante, donde elementos génicos móviles como plásmidos, transposones conjugativos e integrones, que contienen uno o más genes de

resistencia, son transferidos entre una bacteria donadora y una receptora a través de *pili* sexuales. La transducción implica que los genes de resistencia son transferidos entre bacterias mediante virus bacteriófagos, que al multiplicarse en una bacteria pueden empacar genes de resistencia en sus estructuras. La transformación se refiere a la adquisición de fragmentos de material genético desnudo libre en el espacio extracelular, que contiene genes de resistencia, provenientes de la lisis de otras bacterias (Cavaliere *et al.*, 2005; Medina, 2011).

Por otra parte, los alimentos de origen animal a menudo se contaminan con bacterias durante su manipulación en plantas faenadoras o en su procesamiento, constituyendo una de las principales rutas de transmisión de bacterias resistentes y genes de resistencia desde animales a personas (WHO, 2011). El contacto directo con animales y la contaminación ambiental con bacterias y genes de resistencia son otras posibles vías de transmisión (Comisión Europea, 2011). En el caso particular de las aves de corral, es frecuente que durante su procesamiento en la planta faenadora se produzcan rupturas de vísceras que contaminan la canal del animal. En sistemas de gallinas ponedoras, los huevos se pueden contaminar con bacterias resistentes durante su formación por transmisión vertical (transovárica), durante la postura por contaminación fecal o durante la manipulación o el almacenamiento (Uribe y Suárez, 2006).

Así, por ejemplo, *Campylobacter spp.* es una causa frecuente de diarrea en el hombre, producto del consumo de alimentos de origen animal contaminados. Las infecciones por *Campylobacter* resistentes a las fluoroquinolonas en humanos son cada vez más comunes y se asocian al consumo de carne de ave y con la introducción del enrofloxacino en la industria avícola, cuyo metabolito activo es ciprofloxacino (Nelson *et al.*, 2007). El ciprofloxacino es considerado un antimicrobiano de importancia crítica en medicina humana para el tratamiento de varios patógenos, entre ellos *Campylobacter spp.*, enfermedades invasivas causadas por *Salmonella spp.*, e infecciones por *Shigella spp.* resistente a múltiples medicamentos (FAO *et al.*, 2011; González-Hein *et al.*, 2013). El aumento de la prevalencia de infecciones causadas por cepas de *Campylobacter* resistentes a fluoroquinolonas, ha llevado a la prohibición del uso de enrofloxacino en animales productores de alimento en Estados Unidos de América desde el año 2005, por el riesgo y el efecto perjudicial sobre la salud pública (FDA, 2005).

Según la *American Veterinary Medical Association* (AVMA), en los sistemas de producción de gallinas ponedoras y pollos broiler, los antimicrobianos más utilizados son aquellos destinados al tratamiento de las enfermedades infecciosas bacterianas más prevalentes, que pueden generar grandes pérdidas económicas. Dentro de estas enfermedades, destacan algunas como la colibacilosis, causada por variedades de *E. coli*; la enfermedad respiratoria crónica y la sinovitis infecciosa, causadas por *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae*, respectivamente; el cólera aviar por *Pasteurella multocida*; coriza infecciosa por *Haemophilus gallinarum*; enteritis necrótica por *Clostridium perfringens*; tifoidea aviar por *Salmonella gallinarum*; salmonelosis o pullorosis por *Salmonella pollorum*; y enfermedades estafilocócicas y estreptocócicas (Houriet, 2007; AVMA, 2013).

Control de la resistencia bacteriana

La Organización Mundial de la Salud (OMS) enfatiza la necesidad de controlar la resistencia bacteriana, ya que las enfermedades infecciosas causadas por bacterias resistentes pueden ser intratables o encarecer el tratamiento, ya que deben utilizarse medicamentos de segunda línea. De esta manera, la OMS y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO), a través del *Codex Alimentarius* fomentan el uso prudente y responsable de los antimicrobianos en los animales productores de alimento, mediante el *Código de prácticas para reducir al mínimo y contener la resistencia a los antimicrobianos* (OMS y FAO, 2009).

Un elemento importante para contener este problema es la instauración de programas de vigilancia y contar con datos sobre la resistencia bacteriana y el consumo de antimicrobianos a distinta escala para una evaluación de riesgos a nivel nacional o regional. Esto permite conocer el efecto de las campañas de uso responsable, implementar medidas de intervención dirigidas y restricciones legales de uso, establecer objetivos para la reducción del consumo y aplicar medidas preventivas (OMS, 2001; EMA, 2013).

Según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), para determinar el estado de la resistencia bacteriana a distinta escala, los programas de vigilancia deben evaluar los perfiles de sensibilidad *in vitro* de bacterias aisladas de animales productores de alimento y productos alimenticios de origen animal frente a diferentes antimicrobianos (OIE, 2012). Para ello, existen distintas pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, como los métodos cuantitativos de dilución para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de un antimicrobiano frente a distintas especies bacterianas y métodos cualitativos como el Kirby-Baüer que determinan si las bacterias son sensibles, resistentes o de sensibilidad intermedia, frente a distintos antimicrobianos (Moreno, 2009).

Los programas de vigilancia en general incorporan tres tipos de bacterias en sus monitoreos: patógenas, zoonóticas e indicadoras. Destacan las bacterias indicadoras, como *E. coli* y *Enterococcus faecium*, que son parte de la flora intestinal normal de diversos animales, ya que se caracterizan por ser representativas de poblaciones bacterianas y que actúan como reservorios de genes de resistencia que pueden transmitirse a bacterias patógenas o zoonóticas (San Martín *et al.*, 2005; Moreno, 2009; OIE, 2012). Además, en los últimos años se han utilizado pruebas moleculares, con el fin de caracterizar los genes de resistencia y el origen de ellos, lo que a su vez ha permitido analizar epidemiológicamente la resistencia bacteriana (Jiménez, 2009; Medina, 2011; González-Hein *et al.*, 2013).

En Chile, la resistencia bacteriana en medicina humana se ha monitoreado desde el año 2007 a través de tres grupos de vigilancia: el ISP, el proyecto PRONARES de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y el Ministerio de Salud. Estos grupos han generado información respecto a la frecuencia de resistencia antimicrobiana en distintas especies bacterianas, en muestras procedentes de pacientes en centros de salud (ISP, S.f.; Wolff, 2002; Silva *et al.*, 2011). En relación a la resistencia bacteriana en animales, en el país no existen programas de vigilancia y sólo se han realizado investigaciones aisladas en ganado bovino, cerdos y aves de corral, observándose en todas ellas elevados niveles de resistencia a ciertos antimicrobianos. En particular en las aves de corral se han observado altos niveles de resistencia para tetraciclinas, penicilinas, eritromicina y ciprofloxacino (San Martín *et al.*, 2002; San Martín *et al.*, 2005; Lapiere *et al.*, 2010; González-Hein *et al.*, 2013).

Debido a la alta resistencia antimicrobiana descrita previamente en aves de corral en el país, así como el desconocimiento de la magnitud en que los antimicrobianos administrados a estos animales generan resistencia bacteriana, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de cuatro antimicrobianos, administrados a gallinas ponedoras en condiciones terapéuticas, sobre los perfiles de sensibilidad de cepas *E. coli* aisladas desde la microbiota intestinal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los procedimientos microbiológicos y el manejo de desechos, se realizaron de acuerdo a los métodos establecidos por el Laboratorio, según las normas ISO 17025 of 2005.

1.- Muestras

Se trabajó con un cepario de 566 cepas de *E. coli* mantenidas a $-20 \pm 2^{\circ}$ C en una suspensión de caldo tripticasa soya y 30% de glicerol.

Las cepas utilizadas en este estudio fueron aisladas por Araya (2012), Chacón (2012) y Segovia (2012), desde la microbiota intestinal de aves ponedoras raza Leghorn. Las aves fueron tratadas con diferentes antimicrobianos a las 25 semanas de edad, en condiciones terapéuticas, de acuerdo a lo señalado por el Sistema de Medicamentos Veterinarios del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG 2014). Las cepas fueron agrupadas y codificadas de acuerdo a su origen y tratamiento, de la siguiente manera:

Predio 1:

Control 1: 126 cepas aisladas de 10 aves adquiridas de un día de edad, que no recibieron tratamiento con antimicrobianos.

Grupo 2: 90 cepas aisladas de 10 aves que fueron tratadas con florfenicol.

Grupo 3: 125 cepas aisladas de 10 aves de tratadas con tilosina.

Predio 2:

Control 2: 48 cepas aisladas de 15 aves adquiridas de 16 días de edad, que no recibieron tratamiento con antimicrobianos.

Grupo 4: 75 cepas aisladas de 15 aves que fueron tratadas con enrofloxacino.

Grupo 5: 102 cepas aisladas de 15 aves que fueron tratadas con oxitetraciclina.

2.- Panel de antimicrobianos

A cada una de las cepas *E. coli* se les determinó sus perfiles de sensibilidad frente a un panel de once antimicrobianos que se señalan en la tabla 1.

Tabla 1: Panel de antimicrobianos a evaluar en cada cepa aislada.

FAMILIA	ANTIMICROBIANO
β-lactámicos	Ampicilina
	Amoxicilina-ácido clavulánico
	Cefotaxima
Aminoglucósidos	Gentamicina
	Estreptomina
Tetraciclinas	Tetraciclina
	Doxiciclina
Quinolonas	Ácido nalidíxico
	Ciprofloxacino
Fenicoles	Cloranfenicol
Sulfonamidas, diaminopirimidinas	Sulfametoxazole-trimetoprim

3.- Estudio de sensibilidad

La sensibilidad bacteriana se determinó mediante la prueba cualitativa de Kirby-Baüer, a través de la medición del diámetro de la zona de inhibición, de acuerdo a las pautas establecidas por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008).

Los diámetros de inhibición se compararon con las tablas del CLSI (2008) y CLSI (2012), clasificándose cada cepa como sensible o resistente. Debido a su susceptibilidad reducida y para facilitar el análisis, las cepas con sensibilidad intermedia se consideraron como cepas resistentes. Como cepa control se utilizó *E. coli* ATCC 25922.

Análisis de resultados

1. Se realizó un análisis porcentual de la resistencia frente al panel de antimicrobianos en cada grupo de los dos predios.
2. Mediante la prueba de Chi cuadrado (X^2) se determinó si hubo asociación entre los tratamientos antimicrobianos y cambios en los perfiles de sensibilidad, permitiendo establecer una asociación significativa, cuando $p < 0,05$, entre cepas aisladas de las aves tratadas y su respectivo grupo control, considerando una confianza del 95%, a través del programa estadístico Infostat® (Di Rienzo *et al.*, 2010).

RESULTADOS

1. Análisis de la resistencia bacteriana de las cepas E. coli aisladas de las aves del predio 1, tratadas con florfenicol y tilosina.

Al analizar el grupo control, se observó que los porcentajes de resistencia más altos fueron para estreptomomicina, tetraciclina, doxiciclina y ácido nalidíxico. Los niveles de resistencia más bajos fueron para ampicilina, cefotaxima y gentamicina. Todas las cepas de este grupo fueron sensibles a amoxicilina-ácido clavulánico. En aquellas cepas provenientes de gallinas tratadas con florfenicol, los porcentajes de resistencia fueron similares a los observados en el grupo control. En el grupo tratado con tilosina, los niveles de resistencia fueron similares a los del grupo control, excepto para doxiciclina, ciprofloxacino, cloranfenicol y sulfametoxazole-trimetoprim, donde se observaron mayores porcentajes de resistencia (Tabla 2).

En la tabla 3 se muestra el efecto tratamiento con florfenicol sobre los niveles de resistencia. La ausencia de significancia de la prueba estadística no permitió asociar al tratamiento con cambios en los perfiles de resistencia, respecto al grupo control.

En la tabla 4 se muestra el efecto del tratamiento con tilosina sobre los niveles de resistencia. Se observaron cambios atribuibles al tratamiento ($p < 0,05$), observando un aumento de cepas resistentes a doxiciclina, ciprofloxacino, cloranfenicol y sulfametoxazole-trimetoprim, respecto al grupo control.

Tabla 2. Porcentajes de cepas *E. coli* sensibles y resistentes aisladas de las gallinas del predio 1, tratadas con florfenicol y tilosina.

Panel de antimicrobianos	Control		Florfenicol		Tilosina	
	% S	% R	% S	% R	% S	% R
Ampicilina	96,0	4,0	90,0	10,0	93,6	6,4
Amoxicilina-ác. clavulánico	100,0	0,0	100,0	0,0	99,2	0,8
Cefotaxima	97,6	2,4	100,0	0,0	98,4	1,6
Gentamicina	99,2	0,8	100,0	0,0	100,0	0,0
Estreptomina	63,5	36,5	72,2	27,8	67,2	32,8
Tetraciclina	73,8	26,2	80,0	20,0	81,6	18,4
Doxiciclina	71,4	28,6	78,9	21,1	52,8	47,2
Ácido nalidíxico	75,4	24,6	82,2	17,8	69,6	30,4
Ciprofloxacino	89,7	10,3	95,6	4,4	75,2	24,8
Cloranfenicol	91,3	8,7	94,4	5,6	77,6	22,4
Sulfametoxazole-trimetoprim	88,1	11,9	94,4	5,6	75,2	24,8

% S: porcentaje de cepas sensibles; % R: porcentaje de cepas resistentes.

Tabla 3: Efecto del tratamiento con florfenicol sobre los niveles de resistencia de cepas *E. coli* aisladas de aves ponedoras del predio 1.

Panel de antimicrobianos	Control (n = 126)		Florfenicol (n = 90)		Intervalo de confianza (95%)	<i>p value</i>
	S	R	S	R		
Ampicilina	121	5	81	9	0,91 - 7,97	0,0759
Amoxicilina-ác. clavulánico	126	0	90	0		
Cefotaxima	123	3	90	0		
Gentamicina	125	1	90	0		
Estreptomina	80	46	65	25	0,37 - 1,20	0,1781
Tetraciclina	93	33	72	18	0,37 - 1,34	0,2909
Doxiciclina	90	36	71	19	0,36 - 1,26	0,2147
Ácido nalidíxico	95	31	74	16	0,34 - 1,29	0,2307
Ciprofloxacino	113	13	86	4	0,13 - 1,22	0,1140
Cloranfenicol	115	11	85	5	0,21 - 1,76	0,3798
Sulfametoxazole-trimetoprim	111	15	85	5	0,16 - 1,20	0,1125

* $p < 0,05$

Tabla 4: Efecto del tratamiento con tilosina sobre los niveles de resistencia de cepas *E. coli* aisladas de aves ponedoras del predio 1.

Panel de antimicrobianos	Control (n = 126)		Tilosina (n = 125)		Intervalo de confianza (95%)	<i>p value</i>
	S	R	S	R		
Ampicilina	121	5	117	8	0,55 – 4,98	0,3847
Amoxicilina-ác. clavulánico	126	0	124	1		0,3144
Cefotaxima	123	3	123	2	0,13 - 3,44	0,6580
Gentamicina	125	1	125	0		0,3183
Estreptomina	80	46	84	41	0,51 - 1,43	0,5371
Tetraciclina	93	33	102	23	0,35 - 1,15	0,1383
Doxiciclina	90	36	65	58	1,32 - 3,76	0,0025*
Ácido nalidíxico	95	31	87	38	0,77 - 2,33	0,3037
Ciprofloxacino	113	13	94	31	1,43 - 5,74	0,0026*
Cloranfenicol	115	11	97	28	1,46 - 6,30	0,0028*
Sulfametoxazole-trimetoprim	111	15	94	31	1,25 - 4,75	0,0083*

* $p < 0,05$

2. *Análisis de la resistencia bacteriana de las cepas E. coli aisladas de las aves del predio 2, tratadas con enrofloxacino y oxitetraciclina.*

Al analizar el grupo control, se observó que los porcentajes de resistencia más altos fueron para tetraciclina, doxiciclina, ácido nalidíxico, ciprofloxacino y estreptomina. Los niveles de resistencia más bajos fueron para ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y cefotaxima. Todas las cepas de este grupo fueron sensibles a gentamicina, cloranfenicol y sulfametoxazole-trimetoprim. En las cepas provenientes de gallinas tratadas con enrofloxacino y oxitetraciclina, los porcentajes de resistencia fueron similares a los observados en el grupo control (Tabla 5).

En las tabla 6 y 7 se muestra el efecto tratamiento con enrofloxacino y oxitetraciclina, respectivamente, sobre los niveles de resistencia. La ausencia de significancia de la prueba estadística no permitió asociar los tratamientos con cambios en los perfiles de resistencia, respecto al grupo control.

Tabla 5. Porcentajes de cepas *E. coli* sensibles y resistentes aisladas de las gallinas del predio 2, tratadas con enrofloxacino y oxitetraciclina.

Panel de antimicrobianos	Control		Enrofloxacino		Oxitetraciclina	
	% S	% R	% S	% R	% S	% R
Ampicilina	95,8	4,2	96,0	4,0	92,2	7,8
Amoxicilina-ác. clavulánico	95,8	4,2	98,7	1,3	95,1	4,9
Cefotaxima	97,9	2,1	97,3	2,7	92,2	7,8
Gentamicina	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
Estreptomina	68,8	31,3	77,3	22,7	56,9	43,1
Tetraciclina	14,6	85,4	6,7	93,3	9,8	90,2
Doxiciclina	14,6	85,4	6,7	93,3	9,8	90,2
Ácido nalidíxico	31,3	68,8	30,7	69,3	32,4	67,6
Ciprofloxacino	50,0	50,0	48,0	52,0	57,8	42,2
Cloranfenicol	100,0	0,0	96,0	4,0	100,0	0,0
Sulfametoxazole-trimetoprim	100,0	0,0	98,7	1,3	100,0	0,0

% S: porcentaje de cepas sensibles; % R: porcentaje de cepas resistentes.

Tabla 6: Efecto del tratamiento con enrofloxacino sobre los niveles de resistencia de cepas *E. coli* aisladas de aves ponedoras del predio 2.

Panel de antimicrobianos	Control (n = 48)		Enrofloxacino (n = 75)		Intervalo de confianza (95%)	<i>p value</i>
	S	R	S	R		
Ampicilina	46	2	72	3	0,18 - 5,06	0,9636
Amoxicilina-ác. clavulánico	46	2	74	1	0,04 - 2,43	0,3204
Cefotaxima	47	1	73	2	0,16 - 10,07	0,8379
Gentamicina	48	0	75	0		
Estreptomina	33	15	58	17	0,29 - 1,44	0,2899
Tetraciclina	7	41	5	70	0,64 - 6,01	0,2467
Doxiciclina	7	41	5	70	0,75 - 7,66	0,1489
Ácido nalidíxico	15	33	23	52	0,47 - 2,23	0,9455
Ciprofloxacino	24	24	36	39	0,53 - 2,22	0,8286
Cloranfenicol	48	0	72	3		0,1607
Sulfametoxazole-trimetoprim	48	0	74	1		0,4218

* $p < 0,05$

Tabla 7: Efecto del tratamiento con oxitetraciclina sobre los niveles de resistencia de cepas *E. coli* aisladas de aves ponedoras del predio 2.

Panel de antimicrobianos	Control (n = 48)		Oxitetraciclina (n = 102)		Intervalo de confianza (95%)	<i>p value</i>
	S	R	S	R		
Ampicilina	46	2	94	8	0,46 - 8,37	0,3998
Amoxicilina-ác. clavulánico	46	2	97	5	0,26 - 5,50	0,8421
Cefotaxima	47	1	94	8	0,68 - 23,49	0,1659
Gentamicina	48	0	102	0		
Estreptomina	33	15	58	44	0,81 - 3,42	0,1644
Tetraciclina	7	41	10	92	0,57 - 4,30	0,3890
Doxiciclina	7	41	10	92	0,57 - 4,30	0,3890
Ácido nalidíxico	15	33	33	69	0,46 - 1,97	0,8925
Ciprofloxacino	24	24	59	43	0,37 - 1,44	0,3674
Cloranfenicol	48	0	102	0		
Sulfametoxazole-trimetoprim	48	0	102	0		

* $p < 0,05$

DISCUSIÓN

La evaluación periódica de los perfiles de sensibilidad en bacterias indicadoras, como *E. coli* aisladas desde la microbiota intestinal de animales de producción, es importante debido a que estas bacterias se consideran representativas de poblaciones bacterianas ya que actúan como reservorios de genes de resistencia (Moreno, 2009; OIE, 2012). Estas bacterias y sus genes de resistencia pueden ser potencialmente transmitidos entre los animales de un mismo predio y al hombre a través de los alimentos, por contacto directo y por contaminación del medio ambiente (Comisión Europea, 2011).

Es importante destacar que en esta última década, el mundo científico ha comenzado a analizar el problema de la contención de la resistencia bacteriana desde otra dimensión, considerando que existe un continuo flujo de bacterias resistentes y de genes de resistencia entre los diferentes ecosistemas (humano, animal, acuático, terrestre, etc.), tal como lo han señalado diferentes autores (Canton, 2009; Martínez, 2009).

Al analizar los resultados de este trabajo, en primer lugar es importante destacar en forma particular los perfiles de sensibilidad obtenidos de las cepas aisladas de los grupos controles. Estos grupos de aves fueron adquiridas con un día y con 16 días de edad, provenientes del predio 1 y del predio 2, respectivamente. Ambos grupos de aves que no fueron tratadas, presentaron altos niveles de resistencia a estreptomicina, tetraciclina, doxiciclina y ácido nalidíxico. Estos antimicrobianos coinciden con los utilizados con mayor frecuencia en la industria avícola a nivel nacional (San Martín *et al.*, 2005; Lapierre *et al.*, 2010), como también en distintas partes del mundo (Musgrove *et al.*, 2006; Pantozzi *et al.*, 2010).

Si bien es cierto, la resistencia bacteriana se relaciona principalmente con los tratamientos antimicrobianos que hayan sido administrados previamente (Marshall y Levy, 2011), en la actualidad existe preocupación por la presencia de resistencia en cepas aisladas de animales que no se han expuesto a terapias antimicrobianas (Acar y Moulin, 2006). Al respecto, la OMS ya en el año 2001 señaló que la diseminación de la resistencia bacteriana era un problema complejo, que exige la búsqueda de respuestas multifactoriales. En el año 2011, destacó además, la necesidad de establecer una

estrategia común y coordinada a nivel mundial, para buscar las causas relacionadas con la emergencia y la extraordinaria diseminación de bacterias multirresistentes. En el año 2012, la OMS publicó el documento “*The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action*”, planteando nuevamente la apremiante necesidad de abordar este tema (WHO, 2012).

Una de las respuestas a la rápida diseminación de la resistencia bacteriana, podría estar relacionada con los mecanismos de transferencia de los genes de resistencia entre las bacterias. Una vez que la bacteria es resistente, es capaz de transferir el material genético que codifica esta resistencia de forma vertical a su descendencia, o bien de forma horizontal a bacterias que pueden ser de diferente especie e incluso género (Alekhshun y Levy, 2007).

En términos epidemiológicos, el origen de la resistencia, además de ser una herramienta clave para identificar la fuente de la resistencia, es predictivo del riesgo de diseminación. La resistencia producto de mutaciones cromosomales tiene menor implicancia epidemiológica, ya que se transfiere principalmente a la progenie de la cepa mutante. Por el contrario, la resistencia producto de adquisición exógena de genes de resistencia, es de mayor preocupación desde el punto de vista epidemiológico, ya que se disemina entre microorganismos de distinta especie, género, e incluso entre bacterias Gram positivas y Gram negativas (Chopra *et al.*, 2003; Kurenbach *et al.*, 2003).

Algunos elementos genéticos asociados a la diseminación de la resistencia, como plásmidos, transposones y casetes génicos en integrones, hacen posible la transmisión de resistencia entre bacterias. Un mismo elemento genético, puede contener varios genes implicados en la resistencia a diferentes familias de antimicrobianos, provocando que las bacterias que los poseen presenten fenotipos de multirresistencia (Medina, 2011). Así por ejemplo, integrones multirresistentes han sido aislados desde plásmidos conjugativos, responsables de la rápida propagación de multirresistencia en bacterias Gram-negativas (Baharoglu *et al.*, 2010).

Por otra parte, las bacterias resistentes, así como los antimicrobianos administrados que no fueron modificados a nivel hepático en los animales, son eliminados al medio ambiente a través de las fecas, contaminando aguas residuales y terrenos adyacentes, entre los cuales se pueden considerar un corral, un predio o un plantel, provocando un desequilibrio en los ecosistemas (Baquero *et al.*, 2008). Según un estudio de Li *et al* (2013), residuos de tetraciclinas y enrofloxacino, antimicrobianos ampliamente utilizados en la industria avícola, fueron los más comúnmente encontrados en fecas de pollos de explotaciones masivas del noreste de China.

Las fecas en acumulación bajo las jaulas de gallinas ponedoras y en las camas de pollos broiler, que contengan residuos de antimicrobianos, bacterias resistentes y genes de resistencia, actuarían como sitios adecuados para el desarrollo de la resistencia bacteriana, de forma paralela a lo que ocurre en los intestinos de los animales. La presencia de bacterias resistentes en distintos nichos llevará a que éstas puedan pasar de un sitio a otro y sobrevivir, sirviendo como reservorios y facilitando la mantención y la propagación de la resistencia en el lugar (Acar y Moulin, 2006).

Lo expuesto puede explicar los resultados encontrados en los grupos controles de este estudio. La elevada resistencia bacteriana en las cepas aisladas de estos grupos podría estar reflejando la generación, la mantención y la diseminación de bacterias resistentes dentro de los planteles de los cuales provenían las aves.

En cuanto a los resultados obtenidos al evaluar los perfiles de resistencia después de los tratamientos con antimicrobianos, sólo aquellas cepas aisladas de aves tratadas con tilosina presentaron cambios en sus perfiles de resistencia atribuibles al tratamiento, aumentando los niveles de resistencia a ciprofloxacino, doxiciclina, cloranfenicol y sulfametoxazole-trimetoprim respecto al grupo control. Estos antimicrobianos tienen un mecanismo de acción diferente al de los macrólidos, grupo al cual pertenece la tilosina.

La aplicación de un sólo antimicrobiano, además de seleccionar bacterias resistentes a ese antimicrobiano, también puede generar resistencia cruzada, es decir, resistencia a varios antimicrobianos estructuralmente relacionados, y co-resistencia, es decir, resistencia a varios antimicrobianos no relacionados estructuralmente. Por ejemplo, la presión selectiva que trae el uso de tetraciclina tiene un impacto significativo en la resistencia a múltiples antimicrobianos en cepas *E. coli* aisladas de animales productores de alimentos (Harada y Asai, 2010).

De esta manera, el aumento de la resistencia posterior al tratamiento con tilosina podría estar explicada por el mecanismo de co-resistencia que provocaría la selección que ejerce el antimicrobiano administrado. La presión de selección haría predominar cepas resistentes a la tilosina que además tendrían perfiles de resistencia a los otros antimicrobianos que no están relacionados, en desmedro de aquellas que fueron sensibles al tratamiento.

Los resultados de este estudio coinciden en parte con los de Juntunen *et al.* (2010), que evaluaron el efecto del tratamiento con tilosina en cerdos, sobre los perfiles de sensibilidad en cepas de *Campylobacter coli*. Al igual que en este estudio, observaron un aumento de los niveles de resistencia a ciprofloxacino, además de un aumento de la resistencia a eritromicina, ácido nalidíxico y estreptomina en relación a los cerdos no tratados. En otro estudio realizado por los mismos investigadores, se observó que cerdos tratados con danofloxacino y luego con tilosina, antimicrobianos de las familias de las fluoroquinolonas y los macrólidos respectivamente (fármacos de elección para el tratamiento de la campilobacteriosis en humanos), también presentaron un aumento en la resistencia a eritromicina y ciprofloxacino (Juntunen *et al.*, 2011).

En cuanto al aumento de la resistencia a doxiciclina, cloranfenicol y sulfametoxazole-trimetoprim posterior al tratamiento con tilosina, observado en este estudio, podría deberse al mismo mecanismo de presión de selección mencionado previamente. Sin embargo, al conocimiento de este autor, no se han documentado más estudios que asocien el uso de tilosina con el aumento de resistencia a los antimicrobianos mencionados.

En general, los antimicrobianos son fundamentales para tratar enfermedades y evitar brotes en planteles avícolas, así como en otras explotaciones animales masivas. La alta densidad de animales y la acumulación de sus desechos determinan condiciones adecuadas para la emergencia, la amplificación y la diseminación de bacterias resistentes dentro y fuera del plantel. Las bacterias resistentes pueden ser transmitidas al hombre a través de la cadena alimentaria principalmente, además por contacto directo con los animales o por contaminación ambiental con bacterias y genes de resistencia. Son numerosos los estudios que prueban el nexo entre el empleo generalizado de antimicrobianos en animales productores de alimentos y la aparición de cepas resistentes en seres humanos.

Los resultados expuestos en este trabajo no sólo reflejan la importancia que tiene el uso prudente y adecuado de los antimicrobianos en animales productores de alimento, con el fin de prevenir el aumento de la resistencia bacteriana. Además, muestran la necesidad de respetar las medidas de bioseguridad en la industria avícola, tales como el lavado y desinfección de galpones, bebederos y otras instalaciones, con el fin de limitar o disminuir la persistencia de bacterias con genes de resistencia en el ambiente.

BIBLIOGRAFIA

- **ACAR, J.; MOULIN, G.** 2006. Antimicrobial resistance at farm level. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 25(2):775-792.
- **ALEKSHUN, M; LEVY, S.** 2007. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. Cell 128(6):1037-1050.
- **ARAYA, C.** 2012. Caracterización genotípica de la resistencia antimicrobiana en cepas aisladas desde la microbiota intestinal de gallinas de postura sometidas a tratamiento con antimicrobianos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 62 p.
- **AVMA, AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION.** 2013. American Association of Avian Pathologists Guidelines to Judicious Therapeutic Use of Antimicrobials in Poultry. [online] <<https://www.avma.org/KB/Policies/Pages/AAAP-Guidelines-to-Judicious-Therapeutic-Use-of-Antimicrobials-in-Poultry.aspx>> [consulta: 08/03/2014]
- **BAHAROGLU, Z.; BIKARD, D.; MAZEL, D.** 2010. Conjugative DNA transfer induces the bacterial SOS response and promotes antibiotic resistance development through integron activation. PLoS Genetics 6(10):10 p.
- **BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J.; CANTON, R.** 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Curr Opin Biotechnol. 19(3):260-265.
- **CANTON, R.** 2009. Antibiotic resistance genes from the environment: a perspective through newly identified antibiotic resistance mechanisms in the clinical setting. Clin Microbiol Infect.15(1):20-25
- **CARLET, J.** 2012. The gut is the epicentre of antibiotic resistance. Antimicrobial Resistance and Infection Control. 1(39)7p.
- **CAVALIERI, S; HARBECK, R.; McCARTER, Y.; ORTEZ, J.; RANKIN, I.; SAUTTER, R.; SHARP, S.; SPIEGEL, C.** 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology. 236 p.
- **CHACÓN, O.** 2012. Efecto de florfenicol sobre la sensibilidad de *Escherichia coli* proveniente de la microbiota intestinal de gallinas de postura. Memoria de Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 25 p.
- **CHOPRA, I.; O'NEILL, A.; MILLER, K.** 2003. The role of mutators in the emergence of antibiotic resistance bacteria. Drug Resist Updat 6(3):137-145.
- **CLSI, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals; Approved standard- Third Edition. 3a ed. Wayne, Pennsylvania, USA. 99 p. (CLSI document M31-A3).

- **CLSI, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. Wayne, Pennsylvania, USA. 183 p. (NCCLS document M100-S22).
- **COMISIÓN EUROPEA.** 2011. Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo y al Consejo: Plan de acción contra la amenaza creciente de las resistencias bacterianas. Bruselas, Bélgica. 17 p.
- **DI RIENZO, J.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.** 2010. InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.
- **EMA, EUROPEAN MEDICINES AGENCY.** 2013. Revised ESVAC (European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption) reflection paper on collecting data on consumption of antimicrobial agents per animal species, on technical units of measurement and indicators for reporting consumption of antimicrobial agents in animals. EMA, Veterinary Medicines Division. London, United Kingdom. 29 p.
- **FAO, ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA; OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD; OIE, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL.** 2011. Reunión conjunta FAO/OMS/OIE de expertos sobre los antimicrobianos de importancia crítica. Roma, Italia. 68 p.
- **FASFC, FEDERAL AGENCY FOR THE SAFETY OF THE FOOD CHAIN.** 2013. Advice 19-2013 of the Scientific Committee of the FASFC on responsible use of antibacterial substances via group treatment of livestock and the effect on the selection of resistance. [online] <http://www.afsca.be/scientificcommittee/advice/_documents/Advice19-2013.pdf> [consulta: 10/03/2014]
- **FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION.** 2005. FDA Announces Final Decision About Veterinary Medicine. [online] <<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2005/ucm108467.htm>> [consulta: 08/03/2014]
- **GONZÁLEZ-HEIN, G.; CORDERO, N.; GARCIA, P.; FIGUEROA, G.** 2013. Análisis molecular de la resistencia a fluoroquinolonas y macrólidos en aislados de *Campylobacter jejuni* de humanos, bovinos y carne de ave. Rev. chil. infectol. 30(2);135-139.
- **HARADA, K.; ASAI, T.** 2010. Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food-producing animals in Japan. J Biomed Biotechnol 2010. 12 p.
- **HOURIET, J.** 2007. Guía práctica de enfermedades más comunes en aves de corral (ponedoras y pollos). INTA EEA Cerro Azul, Misiones, Argentina. Miscelánea 58:5-11.

- **ISP, INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA, CHILE.** S.f. Implementación de una red nacional de vigilancia de resistencia a antibióticos de agentes patógenos según síndromes clínicos. [en línea] <http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/red_vig.pdf> [consulta: 07/01/2014].
- **JIMÉNEZ, J.** 2009. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. Medellín, Colombia. Iatreia 22(2):147-158.
- **JUNTUNEN, P.; HEISKA, H.; OLKKOLA, S.; MYLLYNIEMI, A.; HANNINEN, M.** 2010. Antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* selected by tylosin treatment at a pig farm. Vet Microbiol 146(1-2): 90-97.
- **JUNTUNEN, P.; OLKKOLA, S.; HANNINEN, M.** 2011. Longitudinal on-farm study of the development of antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* from pigs before and after danofloxacin and tylosin treatments. Vet Microbiol 150(3-4):322-330.
- **KURENBACH, B.; BOHN, C.; PRABHU, J.; ABUDUKERIM, M.; SZEWZYK, U.; GROHMANN, E.** 2003. Intergeneric transfer of the *Enterococcus faecalis* plasmid pIP501 to *Escherichia coli* and *Streptomyces lividans* and sequence analysis of its *tra* region. Plasmid 50(1):86-93.
- **LAPIERRE, L.; TORO, C.; SAN MARTÍN, B.** 2010. Estudio de la resistencia a antimicrobianos en cepas de *Enterococcus spp*, aisladas de aves y cerdos de producción. Avances en Ciencias Veterinarias. 25(1-2):28-40.
- **LI, Y.; ZHANG, X.; LI, W.; LU, X.; LIU, B.; WANG, J.** 2013. The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces. Environ Monit Assess. 185(3):2211-2220.
- **MARSHALL, B.; LEVY, S.** 2011. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. Clin. Microbiol. Rev. 24(4):718-733.
- **MARTÍNEZ, J.** 2009. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. Proc Biol Sci. 276(1667):2521-2530.
- **MEDINA, A.** 2011. Resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de conejos tratados por vía oral con diferentes pautas de doxiciclina. Memoria para optar al Grado de Doctor, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina, Departamento de Sanidad Animal. Madrid, España. 170 p.
- **MORENO, M.** 2009. Red de Vigilancia de Resistencias a Antimicrobianos. Rev Profesión Veterinaria 71:38-44.
- **MUSGROVE, M; JONES, D.; NORTHCUTT, J.; COX, N.; HARRISON, M.; FEDORKA-CRAY, P.; LADELY, S.** 2006. Antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolated from commercial shell eggs. Poult. Sci. 85(9):1665-1669.

- **NELSON, J.; CHILLER, T.; POWERS, J.; ANGULO, F.** 2007. Fluoroquinolone-Resistant *Campylobacter* Species and the Withdrawal of Fluoroquinolones from Use in Poultry: A Public Health Success Story. Clin Infect Dis. 44(7):977-980.
- **OIE, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL.** 2012. Capítulo 6.7: Armonización de los programas nacionales de vigilancia y seguimiento de la resistencia a los agentes antimicrobianos **En:** Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE. Vigésima primera edición, Paris, Francia. p:291-297.
- **OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2001. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra, Suiza. 99 p.
- **OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2012. Resistencia a los antimicrobianos (RAM) [online] <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/index.html>> [Consulta: 12/09/2013].
- **OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD; FAO, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION.** 2009. Código de Prácticas para Reducir al Mínimo y Contener la Resistencia a los Antimicrobianos. **En:** *Codex Alimentarius*: Producción de Alimentos de Origen Animal. Segunda edición. Roma, Italia. P:231-250.
- **PANTOZZI, F.; MOREDO, F.; VIGO, G.; GIACOBONI.** 2010. Resistencia a los antimicrobianos en bacterias indicadoras y zoonóticas aisladas de animales domésticos en Argentina. Rev. argent. microbiol. 42(1):49-52.
- **SAG, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO.** 2014. Sistema en línea de búsqueda de medicamentos veterinarios autorizados por el SAG. [en línea] <http://medicamentos.sag.gob.cl/ConsultaUsrPublico/BusquedaMedicamentos_1.asp> [consulta: 03-07-2014]
- **SAN MARTÍN, B.; KRUIZE, J.; MORALES, M.; LEON, B.; ESPINOZA, S; IRAGÜEN, D.; PUGA, J.; BORIE, C.** 2002. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y X^a Región, Chile. Arch. med. vet. 34(2):221-234.
- **SAN MARTÍN, B.; CAMPOS, L.; BRAVO, L.; ADASME, M.; BORIE, C.** 2005. Evaluation of antimicrobial resistance using indicator bacteria isolated from pigs and poultry in Chile. Intern. J. Appl. Res. Vet. Med. (3)2:171-178.
- **SEGOVIA, M.** 2012. Efecto de tilosina sobre la sensibilidad de cepas de *Escherichia coli* aisladas de la microbiota intestinal de gallinas de postura. Memoria de Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 17 p.
- **SILVA, F.; CIFUENTES, M.; PINTO, M.** 2011. Resultados de la vigilancia de susceptibilidad antimicrobiana en Chile: Consolidando una red. Rev Chil Infect 28(1):19-27.

- **URIBE, C.; SUÁREZ, M.** 2006. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colomb Med* 37(2):151-158.
- **WOLFF, M.** 2002. Cambios epidemiológicos en las enfermedades infecciosas en Chile durante la década 1990-2000. *Rev. méd. Chile* 130(10):1185-1187.
- **WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION.** 2011. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. WHO Regional Office for Europe. Copenhagen, Denmark. 65 p.
- **WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION.** 2012. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action. Geneva, Switzerland. 119 p.