



**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  
BOVINOS PROVENIENTES DE LAS PROVINCIAS DE  
VALDIVIA, OSORNO, LLANQUIHUE Y COYHAIQUE DE  
LAS REGIONES X Y XI DE CHILE”**

**CARLOS JAVIER BRIONES REYES**

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

**PROFESOR GUÍA: BETTY SAN MARTIN N.**

SANTIAGO – CHILE  
2007



# UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



## “UTILIZACIÓN DE BACTERIAS INDICADORAS PARA EL MONITOREO DE LA RESISTENCIA BACTERIANA EN BOVINOS PROVENIENTES DE LAS PROVINCIAS DE VALDIVIA, OSORNO, LLANQUIHUE Y COYHAIQUE DE LAS REGIONES X y XI DE CHILE”

**CARLOS JAVIER BRIONES REYES**

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

NOTA FINAL:.....

NOTA

PROFESOR GUÍA	:	BETTY SAN MARTIN N.	.....
PROFESOR CONSEJERO:		CONSUELO BORIE P.	.....
PROFESOR CONSEJERO:		MARÍA LUISA SÁNCHEZ CH.	.....

SANTIAGO – CHILE  
2007

## RESUMEN

Actualmente, los antimicrobianos son la principal herramienta terapéutica para tratar las infecciones bacterianas tanto en el ser humano como en los animales. No obstante, pocos años después de su utilización comercial, se comenzó a observar que éstos inducían la aparición de mecanismos de resistencia en las bacterias susceptibles. Este tema es actualmente una gran preocupación mundial en Medicina Humana y Veterinaria y dentro de las medidas utilizadas para enfrentar este riesgo, están el uso de antimicrobianos bajo receta médica y la instauración de programas permanentes de monitoreo de la resistencia bacteriana.

El objetivo de este estudio, es evaluar los niveles de resistencia en bacterias indicadoras aisladas de bovinos de carne de la X y XI región frente a diferentes antimicrobianos, con el fin de entregar información que permita al médico veterinario utilizar adecuadamente estos agentes quimioterápicos, como también aportar a los futuros programas de monitoreo de la resistencia antimicrobiana que se puedan realizar a nivel nacional.

Para evaluar la resistencia bacteriana, se utilizó el Método de Dilución en Placa con el fin de determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de cada cepa bacteriana.

Se trabajó con 168 cepas previamente aisladas de materia fecal de bovinos de las provincias de Valdivia, Osorno, Llanquihue y Coyhaique de Chile, 77 correspondientes a *E.coli* y 91 a *Enterococcus* spp. Estas fueron, aisladas y tipificadas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile.

En un 9% de las cepas de *E.coli* se detectó resistencia a oxitetraciclina; todas las cepas resultaron sensibles a cefotaxima, cefazolina, gentamicina,

estreptomicina, flumequina, enrofloxacino, ciprofloxacino, sulfametoxazol + trimetoprim, ácido nalidíxico y ácido oxolínico.

En el caso de *Enterococcus spp.* se encontró un bajo porcentaje de resistencia: fue de un 3% a oxitetraciclina y todas las cepas fueron sensibles a penicilina, amoxicilina + ácido clavulánico, enrofloxacino, ciprofloxacino, eritromicina, gentamicina, estreptomicina, cloramfenicol y vancomicina.

## SUMMARY

At the present time antimicrobial drugs are the main therapeutic tool to much treat the bacterial infections in human beings as in animals. However, a few years after their commercial use, it has begun to observe some resistance mechanisms that they induced on susceptible bacteriums. At the beginning, this resistance was recognized as a scientific curiosity but then it has become a menace for treatment efficacy. This subject is at the moment a great preoccupation for human and veterinary medicine and within the measures taken to confront this risk are the use of antimicrobials under medica prescription only and the instauration of permanent monitoring programs on the bacterial resistance.

The objective of this study, is to measure a detection of resistance levels in isolated indicative bacterium from cattle of the provinces of Valdivia, Osorno, Llanquihue and Coyhaique of Chile to different antimicrobials, with the purpose of gather information that allows veterinary doctors to use these chemotherapic agents appropriately and to obtain the basis for monitoring studies that they are possible to be made at national level.

To evaluate the bacterial resistance, the Plaque Dilution Method was used in order to determine the Minimun Inhibitory Concentration (MIC) of each bacterial strain.

This work was done with a total of 168 bacterial strains previously isolated from beef cattle for the X and XI region of Chile's beef. Obtained, isolated and distinguished in the Microbiology Laboratory on Medicine Faculty of the Austral University of Chile. From these bacterial strains, 77 were *E. coli* and 91 corresponding to *Enterococcus* spp.

In a 9% of *E.coli* strains has detected resistance to oxitetracycline; all the strains were sensible to cefotaxime, cefazoline, gentamicine,

streptomycine, flumequine, enrofloxacin, ciprofloxacin, sulphametoxazol + trimetoprim, nalidixic acid and oxolinic acid.

In *Enterococcus spp.* strains a low percentage was observed: it was of a 3% to oxitetracycline, while all the strains were sensible to penicillin, amoxicillin + clavulanic acid, enrofloxacin, ciprofloxacin, eritromycin, gentamicine, streptomycin, cloramfenicol and vancomycin.

# ÍNDICE

	<b>Páginas</b>
<b>I.- Introducción</b> .....	1
<b>II.- Revisión Bibliográfica</b> .....	2
<b>1.-</b> Uso de antimicrobianos en producción animal.....	2
<b>2.-</b> Consecuencias del uso de antimicrobianos en producción animal.....	3 – 6
<b>2.1.-</b> Factores que influyen en el desarrollo y diseminación de resistencia.....	4
<b>2.2.-</b> Mecanismos de resistencia.....	5
<b>2.3.-</b> Transferencia de resistencia.....	5 – 6
<b>3.-</b> Consecuencias de la emergencia de cepas resistentes.....	7
<b>4.-</b> Medidas de control frente a la resistencia bacteriana.....	7 – 8
<b>5.-</b> Programas de vigilancia de la resistencia antimicrobiana.....	8 – 18
<b>5.1.-</b> Situación Mundial.....	8 – 10
<b>5.2.-</b> Importancia de la utilización de bacterias indicadoras en los programas de monitoreo de resistencia bacteriana.....	11 - 12
<b>5.3.-</b> Tendencias y situación actual en los niveles de resistencia bacteriana en <i>E.coli</i> y <i>Enterococcus</i> spp. en humanos y en las especies productivas bovinos, cerdos y aves.....	12 - 15
<b>5.4.-</b> Situación Nacional.....	16 - 18
<b>III.- Objetivos</b> .....	19
<b>IV.- Material y métodos</b> .....	20 - 22
<b>V.- Resultados</b> .....	24 - 26
<b>VI.- Discusión</b> .....	27 - 37
<b>VIII.- Conclusiones</b> .....	38
<b>IX.- Bibliografía</b> .....	39 - 45

## **I.- INTRODUCCIÓN**

Actualmente, los antimicrobianos son la principal herramienta terapéutica para tratar las infecciones bacterianas tanto en el ser humano como en los animales. Desde su descubrimiento, han transformado completamente la perspectiva de la humanidad con respecto a las enfermedades infecciosas y actualmente, el uso de estos fármacos, combinado con mejoras en el saneamiento, la vivienda y la nutrición, junto con el advenimiento de los programas de vacunación, han dado lugar a una notable disminución de las enfermedades infecciosas que décadas atrás eran comunes y aniquilaban a poblaciones enteras. No obstante, se comenzó a observar, pocos años después de su utilización comercial, que éstos inducían la aparición de mecanismos de resistencia en bacterias susceptibles.

En un principio, la resistencia se reconoció como una curiosidad científica y luego como una amenaza a la eficacia del tratamiento. Pese al desarrollo de nuevas familias de antimicrobianos en las décadas de 1970 y 1980, como las cefalosporinas y fluoroquinolonas, lo cual creó una falsa sensación de seguridad, la resistencia se ha ido incrementando, siendo actualmente una gran preocupación mundial en Medicina Humana y Veterinaria. Es así como a nivel mundial se han diseñado medidas para la contención de dicha resistencia entre las cuales se encuentra la implementación de programas de monitoreo de la resistencia bacteriana.

## **II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **1.- Uso de antimicrobianos en producción animal**

Los agentes antimicrobianos son productos químicos naturales, semi sintéticos o sintéticos que matan o inhiben el crecimiento de los microorganismos (EMEA, 2001). En los animales de producción se han utilizado fundamentalmente como medida profiláctica (para prevenir enfermedades), tratamiento en dosis terapéuticas y como promotores del crecimiento en dosis subterapéuticas (OMS, 2001<sup>a</sup>).

Las cantidades de antimicrobianos que se consumen anualmente en animales de producción son muy superiores a aquellas que se usan en humanos, así por ejemplo, en Dinamarca se determinó que el consumo total estimado de antimicrobianos prescritos en animales para el consumo fue de 112,5 toneladas el año 2004. En cambio en humanos el consumo de antimicrobianos para uso sistémico fue de solo 44,1 toneladas el año 2004 (Emborg *et al.*, 2004).

En Chile no existen datos exactos del consumo total de antimicrobianos en animales de producción; sin embargo, sobre la base de diversos estudios nacionales, es posible inferir que existe una amplia gama de agentes antimicrobianos para el tratamiento de ciertas patologías de origen bacteriano, tales como *la mastitis* en bovinos, enfermedad frente a la cual se administran entre otros penicilina, ampicilina, cefoperazona, cloxacilina, neomicina y estreptomina (Zurich, 1993) siendo cloxacilina asociada a ampicilina uno de los productos intramamarios más utilizados actualmente en los predios lecheros de la X Región (Aguilar, 2002).

## **2.- Consecuencias del uso de antimicrobianos en producción animal:**

Uno de los efectos inevitables del uso de los antimicrobianos en medicina humana y veterinaria, es la emergencia y diseminación de resistencia, ya sea en bacterias comensales, patógenas o zoonóticas (OMS, 2000).

Poco tiempo después de comenzada la era antimicrobiana con el descubrimiento de la penicilina por Sir Alexander Fleming en 1928, y su posterior uso clínico durante la segunda guerra mundial, en 1943, se comunicó la existencia de cepas resistentes a ella. Posteriormente, se documentó para el caso de otros antimicrobianos como la tetraciclina (1946), eritromicina (1955), estreptomina (1956), gentamicina (1968), fluoroquinolonas (1985) y vancomicina (1994) (Errecalde, 2004).

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos se fue propagando con rapidez; en España la resistencia de *Staphylococcus aureus* nosocomiales a penicilina fue aumentando de un 14% en 1946, a un 59% en 1950 (Torroba *et al.*, 2000). En los últimos años existen diversos estudios que muestran un incremento en los niveles de resistencia bacteriana a algunos antimicrobianos (Molbak *et al.*, 2001; Nachamkin *et al.*, 2002; Shannon y French, 2004), así como un aumento en los niveles de resistencia a múltiples drogas en algunas cepas bacterianas provenientes de seres humanos (Alvseike *et al.*, 2002; Oteo *et al.*, 2004<sup>b</sup>).

La resistencia bacteriana a un antimicrobiano se define como la capacidad de una bacteria de sobrevivir a una concentración definida del antimicrobiano; puede ser una propiedad natural de la bacteria o un mecanismo secundariamente adquirido (Acar y Rostel, 2001). Al respecto se señala como:

- Resistencia única: una bacteria posee resistencia sólo a un antimicrobiano.
- Resistencia cruzada: mecanismo de defensa bacteriana que confiere resistencia a los antimicrobianos relacionados de la misma o diversas clases

antimicrobianas. Por ejemplo, la resistencia cruzada es común entre los macrólidos, las fluoroquinolonas y entre los macrólidos y lincosamidas.

- Resistencia múltiple: una bacteria tiene varios mecanismos de resistencia con los cuales disminuye su sensibilidad a diferentes antimicrobianos o clases de éstos. Generalmente las bacterias son designadas como multiresistentes cuando estas han adquirido por lo menos tres mecanismos de resistencia. (IZSLT, 2002)

## **2.1.- Factores que influyen en el desarrollo y diseminación de resistencia**

Tanto en los seres humanos como en los animales, la resistencia bacteriana es un problema complejo que se debe a diversos factores relacionados: al antimicrobiano, al hospedero y al microorganismo .

En el caso de los antimicrobianos, se producen problemas cuando se emplean para tratar enfermedades cuando no corresponde utilizarlos, en dosis inapropiadas, durante periodos de tiempo inadecuado y en preparación farmacéutica incorrecta (OMS, 2000).

Con respecto al hospedero, la probabilidad de adquirir una infección por un microorganismo resistente difiere según la edad del paciente, su procedencia, el síndrome clínico o localización de la infección y si es una infección significativa o sólo una colonización.

En cuanto a los factores relacionados al microorganismo, se puede mencionar entre ellos, el tipo de microorganismo involucrado, la resistencia múltiple que posean a los antimicrobianos y la emergencia de resistencia, relacionada con el aumento del porcentaje de resistencia; este nivel se considera cercano a cero cuando el antimicrobiano es introducido al mercado (García, 2003)

## **2.2.- Mecanismos de resistencia:**

Los mecanismos mediante los cuales los microorganismos generan resistencia a los medicamentos pueden ser diversos y los genes de la resistencia pueden transmitirse a sus descendientes o a otras bacterias (Klugmann, 2000). Entre estos se puede mencionar:

- Producción de enzimas que destruyen el antimicrobiano activo.
- Cambios de la permeabilidad al antimicrobiano.
- Eflujo activo del antimicrobiano mediante bombas de expulsión.
- Desarrollo de un blanco estructural alterado para el antimicrobiano.
- Alteración de una vía metabólica, que funciona como derivación de la reacción original que esta siendo inhibida por el antimicrobiano.

Finalmente una célula bacteriana puede poseer más de un mecanismo de resistencia a un antimicrobiano. La cooperación entre distintos mecanismos puede generar altos niveles de resistencia.

## **2.3.- Transferencia de resistencia:**

La transferencia de genes de resistencia entre bacterias es uno de los factores fundamentales, que junto a la presión selectiva debida al empleo de los antimicrobianos, han impactado en la emergencia y extensión de la resistencia a los antimicrobianos (Kruse y Sorum, 1994).

En un estudio desarrollado el año 2003 a través de una simulación *in vitro* del ileum porcino se observó la transmisión de resistencia a antibióticos entre *E.coli* comensal, *E.coli* O157 y *Salmonella* spp, concluyendo con ello que el material genético que confiere resistencia a los antimicrobianos es fácilmente transmisible entre miembros de la familia Enterobacteriaceae (Blake *et al.*, 2003). Otro estudio realizado en Dinamarca en el año 2004 indica que las bacterias resistentes pueden ser transferidas desde animales de consumo a humanos (Molbak, 2004).

Finalmente el hallazgo de determinantes de resistencia con propiedades similares en organismos y ecosistemas notoriamente distantes, sugiere la ocurrencia de un flujo genético entre células de diferentes comunidades microbianas. Es así como los genes de resistencia a ciertos antimicrobianos, demuestran ser idénticos en bacterias filogenéticamente no relacionadas, como por ejemplo en bacterias gram positivas y negativas (González, 2004).

Se han identificado varios elementos que participan en la transferencia de genes de resistencia, entre los cuales se encuentran los plasmidios, los transposones, los bacteriófagos y los integrones que portan *cassettes* genéticos de resistencia.

Las modalidades identificadas para transferir esta resistencia bacteriana son:

- *Transducción*, consistente en la transferencia de información genética de una bacteria a otra por medio de un bacteriófago
- *Transformación*, donde el ADN desnudo de la célula de una especie es captado desde el medioambiente por otra célula, alterando, por lo tanto, su genotipo (Murray *et al.*, 2004).
- *Conjugación*, proceso de transferencia de información genética desde una célula donante a otra receptora, promovido por determinados tipos de plasmidios. Requiere contacto directo entre ambas células, con intervención de estructuras superficiales especializadas (pilis) y de funciones específicas (Todar, 2002)

Es cada vez más evidente que algunos antimicrobianos se hacen más ineficaces tanto en medicina veterinaria como humana, aunque en esta última, el problema no es atribuible exclusivamente a la utilización de antimicrobianos en animales. Así por ejemplo, a partir de diversos estudios realizados en EEUU, se puede indicar que menos de un 5% de la resistencia a los antimicrobianos observada en los microorganismos es atribuible a los

antimicrobianos utilizados en veterinaria y el 95% restante, corresponde al uso y al abuso de antimicrobianos en el ser humano (Calvo, 2004).

### **3.- Consecuencias de la emergencia de cepas resistentes.**

La resistencia microbiana en bacterias de origen animal puede significar fracasos terapéuticos en medicina veterinaria y humana (San Martín y Cañon, 2000). Además en el primer caso, puede ir acompañado de pérdidas económicas para el productor pecuario, debido a que estos fracasos terapéuticos obligan a comenzar una segunda o tercera terapia que hace aumentar la permanencia de los animales en el plantel y a eliminar una mayor cantidad de leche o huevos que no pueden ser enviados a consumo humano (Moretain, 1996).

### **4.- Medidas de control frente a la resistencia bacteriana**

En el ámbito internacional son diversos los organismos preocupados por este tema, así el “Codex alimentarius”, creado en 1962 por la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura (FAO), (OMS, 2004) y la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001<sup>a</sup>) señalan al respecto que, los médicos humanos y veterinarios deben abordar este problema de una manera integral realizando esfuerzos comunes y creando medidas que permitan controlar, en lo posible, la resistencia a los antimicrobianos que pueden comprometer el tratamiento de procesos infecciosos tanto en humanos como en animales. Estas medidas permiten establecer líneas de trabajo orientadas al uso adecuado de estos fármacos de acuerdo a las realidades y objetivos de cada país.

Dentro de las medidas mencionadas anteriormente se encuentra la utilización obligatoria de receta veterinaria, la retirada progresiva de los promotores del crecimiento (Kathleen, 2000) y la instauración de programas de monitoreo de resistencia antimicrobiana (Caprioli *et al.*, 2000).

En animales de producción, a manera prioritaria, debiera estar restringido el uso de antimicrobianos y utilizarlos sólo cuando se manifiesta un cuadro clínico de origen bacteriano. Se debiera además, utilizar medidas preventivas como optimización de la higiene, vacunas, alimentación balanceada y manejo del estrés, las cuales no deben ser sustituidas con el uso exclusivo de los antimicrobianos (Wierup, 2000).

## **5.- Programas de vigilancia de la resistencia antimicrobiana.**

### **5.1.- Situación Mundial:**

En algunos países se han implementado programas de vigilancia de resistencia antimicrobiana, los cuales consisten en procesos sistemáticos de recolección, comparación y análisis de datos con el propósito de difundir esta información a quien lo requiera (OMS, 2001<sup>b</sup>).

Entre estos destacan: el Sistema Nacional de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana (NARMS) en EE.UU. (Headrick, 2005); el Programa de Monitoreo Veterinario de Resistencia Antimicrobiana (SVARM) en Suecia (Bengtsson *et al*, 2002); el Programa de Monitoreo de Resistencia a Antibióticos (VAV) en España (Moreno *et al.*, 2000); el Programa de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana (DANMAP) en Dinamarca (Bager, 2000) y el Sistema de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana Veterinaria (JVARM) en Japón (Kijima-Tanaka *et al.*, 2003). Estos programas estudian los cambios en los niveles de resistencia en bacterias patógenas, zoonóticas e indicadoras, aisladas principalmente de especies animales productoras de alimentos como bovinos, cerdos y aves, siendo en algunos países extendido a otras especies tales como ovejas, cabras, conejos y peces (Caprioli *et al.*, 2000). El objetivo de la vigilancia de resistencia antimicrobiana es el de proporcionar la información necesaria para asegurar un manejo apropiado de las enfermedades transmisibles, con el fin de minimizar la morbilidad y mortalidad de estas y contener el surgimiento de patógenos resistentes a antimicrobianos. La información generada es utilizada principalmente para la optimización del uso

de antimicrobianos y ayudar en la prevención y control de la resistencia en el ámbito local, regional y nacional por medio de:

- Definir guías de duración de tratamientos empíricos y guías de tratamientos estándares.
- Asegurar que las drogas administradas sean apropiadas para las necesidades.
- Identificar necesidades para la implementación de medidas de control de infecciones.
- Monitorear el impacto de las intervenciones para mejorar el uso de los antimicrobianos y el control de la propagación de la infección.

Estos programas de vigilancia idealmente deben incluir información tanto de datos clínicos como microbiológicos (OMS, 2002), teniendo la ventaja directa para los veterinarios de que la información generada permite orientar la terapia empírica (Moreno *et al.*, 2000), que es la que predomina a nivel mundial en el ámbito de los animales de producción (Stohr, 2000).

Por otra parte, ya se han generado redes de vigilancia que abarcan zonas geográficas mayores, por ejemplo en Europa se ha generado el EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System), el cual es una red internacional de los sistemas nacionales de vigilancia, cuya misión es recoger datos comparables y validados de estos, analizar las tendencias en resistencia antimicrobiana en un cierto plazo y entre diversos países y regiones y proporcionar pautas y protocolos en métodos de prueba para mejorar la consistencia y la calidad y así el valor de los datos obtenidos, para los propósitos de la salud pública en Europa. Ejemplo de esto es el análisis de información procedente de una red de 40 hospitales que participaron divulgando la información de la resistencia antimicrobiana en sus establecimientos. Este reveló que entre los años 2001 a 2003 se observó una disminución desde un 39.5% a un 33% de la resistencia en cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas en niños provenientes de hospitales de España, disminución que coincidió con la introducción de una vacuna neumococal y con una reducción global en los niveles de consumo de

antimicrobianos (Oteo *et al.*, 2004<sup>a</sup>). Esta información es de suma importancia para definir los factores determinantes de las tendencias en los niveles de resistencia antimicrobiana, con el fin de orientar las medidas tendientes a su contención y para monitorear el impacto de dichas medidas. Este programa comenzó en el año 1999, y realiza monitoreo de la susceptibilidad antimicrobiana en bacterias indicadoras que comúnmente causan infecciones en seres humanos entre las cuales se encuentran *E.coli* y *Enterococcus* spp. (RIVM - EARSS, 2005).

Por otro lado, la “Asociación para el Uso Prudente de los Antibióticos”, (organización global sin fines de lucro que cuenta con 50 países afiliados fundada en 1981), desarrolló en 1998 el proyecto “Global Advisory on Antibiotic Resistance Data” (GAARD), el cual es el primer proyecto que busca integrar los datos de resistencia desde los diversos sistemas de vigilancia a nivel mundial (APUA, 2004).

Con respecto a los antimicrobianos empleados como promotores del crecimiento, los países de la Unión Europea prohibieron la avoparcina en 1997 mediante la Comisión 97/6/CE aduciendo medida precautoria de carácter cautelar. Posteriormente se prohibieron otros cuatro antimicrobianos: bacitracina de zinc, tilosina, espiramicina y virginamicina mediante el Reglamento del Consejo 2821/98 basado en una propuesta de la Comisión Europea sobre la base del principio de precaución (Anadón *et al.*, 1999<sup>a</sup>; Anadón *et al.*, 1999<sup>b</sup>). A partir del año 1998 quedó autorizado, el uso de cuatro antimicrobianos como promotores de crecimiento: flavofosfolipol, monensina sódica, salinomicina sódica y avilamicina, de manera temporal, ya que en el mes de marzo del 2002 la Comisión de la Unión Europea propuso también la prohibición de estos como promotores del crecimiento a partir de enero de 2006 (Calvo, 2004).

## **5.2.- Importancia de la utilización de bacterias indicadoras en los programas de monitoreo de la resistencia bacteriana.**

Dentro de las bacterias indicadoras se encuentran *E.coli* y *Enterococcus* spp. Estos microorganismos se encuentran formando parte de la microbiota del tracto gastrointestinal del hombre y de los animales de sangre caliente; son excretados en sus heces, de ahí que su presencia en el ambiente indique contaminación de origen fecal y el riesgo de aparición de gérmenes patógenos (Suárez, 2002). Por otra parte estas bacterias comensales son capaces de transformarse en patógenos oportunistas.

La importancia de la utilización de estas bacterias indicadoras se debe al aumento que experimentan los niveles de resistencia de la microbiota entérica normal, como resultado de la exposición a antimicrobianos; Estas bacterias son consideradas 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 microbiota entérica normal es considerada un reservorio de genes de resistencia que podrían ser transmitidos a bacterias patógenas y zoonóticas (Van den Bogaard y Stobberrigh, 2000).

La importancia del género *Enterococcus* spp. radica en que pueden adquirir resistencia, por mutación o incorporación de plasmidos, a penicilina, ampicilina, eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclinas, cloranfenicol y vancomicina (Otaiza *et al.*, 2003). Este último fármaco sólo se utiliza en humanos y en algunas ocasiones es la única alternativa de tratamiento en infecciones severas por *Enterococcus* spp. resistentes a ampicilina ; es ampliamente utilizado en las últimas dos décadas como terapia de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a cloxacilina (Juliet, 2002).

La aparición de *Enterococcus* spp. de origen animal resistentes a vancomicina (ERV) en los alimentos, se ha asociado al uso generalizado de

avoparcina, glucopeptido similar a la vancomicina, que además posee los mismos mecanismos de acción y resistencia (Torres y Zarazaga, 1998).

### **5.3.- Tendencias y situación actual en los niveles de resistencia bacteriana en *E.coli* y *Enterococcus* spp. en humanos y en las especies productivas bovina, cerdo y aves:**

Para observar las tendencias se remitirá a los resultados obtenidos por el programa de monitoreo de la resistencia en Dinamarca (DANMAP), por ser éste uno de los más completos sistemas de monitoreo a nivel mundial. Las tendencias de resistencia bacteriana que se señalarán, son en base de las cifras obtenidas por ese programa en los años 2000 y 2004 y sólo se identificarán los antimicrobianos utilizados en este estudio. La observación de la situación actual se referirá a los datos entregados por el Instituto de Países Bajos para la Salud Pública y el Ambiente - Sistema de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana Europeo (RIVM – EARSS, 2005).

#### ***E.coli*:**

En bovinos de Dinamarca se informa un incremento en los niveles de resistencia para tetraciclina y eritromicina desde un 2% en el año 2000 a un 12% el 2004, y desde un 5% en el año 2000 a un 18% el 2004 respectivamente. En cambio, se ha mantenido un 100% de sensibilidad para gentamicina, ciprofloxacino y ácido nalidíxico. Actualmente se observan resistencias para tetraciclina de un 12%, 33% y 41% en Dinamarca, Grecia y Francia, respectivamente.

En aves (broilers), los porcentajes de resistencia entre los años 2000 y 2004 han disminuido para las tetraciclinas desde un 14% a un 11%; en tanto se han incrementado para estreptomina desde un 6% a un 8%, para ácido nalidíxico de un 11% a un 13% y se han mantenido con un 100% de sensibilidad para cloranfenicol, gentamicina y ciprofloxacino. Actualmente en

aves (*Gallus gallus*) por su parte se informó de un alto nivel de resistencia a quinolonas en varios países Europeos, salvo en Dinamarca, Noruega y Suecia donde se divulgaron generalmente bajos niveles de resistencia, con Suecia y Noruega revelando un gran número de aislados completamente susceptibles (85% y 65%, respectivamente) y la mayoría de los países informó niveles bajos de resistencia a las fluoroquinolonas (RIVM - EARSS, 2005).

En cerdos, los niveles de resistencia han experimentado un aumento para la estreptomicina desde un 43% en el año 2000 a un 48% en el año 2004, para tetraciclinas de un 24% a un 44%, y cloranfenicol de un 4% a un 9%; en tanto se ha mantenido un 100% de sensibilidad para ciprofloxacino. Actualmente existen grandes variaciones de resistencia a tetraciclina con un 9,6% en Noruega y un 95.6% en España; se informó alta resistencia a sulfonamidas en Italia (78%) España (73%) y Reino Unido (62%). La resistencia a las quinolonas estaba generalmente en un nivel bajo, a excepción de España y de Estonia que divulgaron 20% y 33% de resistencia respectivamente.

En humanos la situación es preocupante debido al aumento de la resistencia de *E.coli* para todos los tipos de antimicrobianos usados para el tratamiento empírico de infecciones causadas por esta especie bacteriana desde el año 2001 en Europa, es así como se observa un aumento de los niveles totales de resistencia para aminopenicilinas de un 43% en el 2001 a un 48% en el 2004, para fluoroquinolonas de un 9% a un 14%, para cefalosporinas de tercera generación de un 1,5% en el 2001 a un 2,9% en el 2004, y para aminoglucósidos de un 4 a un 5,3%. Actualmente los mayores porcentajes de resistencia en Europa siguen el orden anterior.

### ***Enterococcus:***

Para este grupo bacteriano en general en Europa aún no existen datos totales de resistencia en especies productivas, salvo países como Dinamarca que entrega información para los años 2000 a 2004.

Así en bovinos se informa de una disminución de los niveles de resistencia de *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*; para *Enterococcus faecium* la disminución desde el año 2000 al 2004 para tetraciclina fue de 46% a 7%; para penicilina de 29% a 0%, eritromicina de 38% a 5% y estreptomocina de 23% a 2 %. En *Enterococcus faecalis*, en el mismo período también disminuyeron los niveles de resistencia a tetraciclina desde un 70% a un 7%, a eritromicina desde un 18% a un 5%, a estreptomocina desde un 18% a un 2% y de penicilina desde un 3% a un 0%. Tanto *Enterococcus faecium* como *Enterococcus faecalis* han permanecido con un 100% de sensibilidad para gentamicina, cloranfenicol y vancomicina en el mismo período.

En aves broilers, los niveles de resistencia de *Enterococcus faecium*, en este periodo, han experimentado una disminución para penicilina desde un 67% a un 35%, tetraciclina desde un 6% a un 4%, vancomicina de un 6% a un 2% y a estreptomocina de un 3% a un 2%. En cambio, se ha observado un incremento en los niveles de resistencia para eritromicina desde un 13% a un 28%. En *Enterococcus faecalis* han disminuido los niveles de resistencia a tetraciclina desde un 48% el año 2000 a un 41% el año 2004, eritromicina de un 26% a un 18%, de estreptomocina de un 5% de resistencia a un 100% de sensibilidad, manteniéndose los niveles de resistencia para cloranfenicol con un 1% y vancomicina con un 100% de sensibilidad.

En cerdos los niveles de resistencia en *Enterococcus faecium* han disminuido durante el mismo periodo para los antimicrobianos tetraciclina desde un 68% a un 48%, penicilina desde un 45% a un 15%, estreptomocina desde un 27% a un 26% , cloranfenicol de 1% a un 100% de sensibilidad, mientras que han incrementado los porcentajes de resistencia de eritromicina desde un 47% a un 50% y manteniéndose un 100% de sensibilidad a gentamicina. En *Enterococcus faecalis* los niveles de resistencia han aumentado para tetraciclinas desde un 77% a un 86%, eritromicina desde un 28% a un 40%, estreptomocina de un 22% a un 32%, gentamicina y cloranfenicol desde un 2% a un 9% y 10 % respectivamente, manteniéndose un 100% de sensibilidad para penicilina.

Los estudios de resistencia de *Enterococcus* en seres humanos de Europa indican que no ha habido grandes cambios en las tendencias de resistencia a los antimicrobianos, salvo por un claro aumento de la resistencia a vancomicina de un 3,3% el 2001 a un 7,8% el 2004 (RIVM - EARSS, 2005), representado por los niveles de resistencia de *Enterococcus faecium* que aumentaron de 1,4% en el 2001 a 10,6% en el 2004 en Grecia; de un 1,6% a 5% en Francia y de 11,1% a 22,1% en Irlanda. *Enterococcus faecalis*, por su parte, mantuvo sus niveles de resistencia a los aminoglucosidos salvo por un aumento en Finlandia desde un 23% a un 38% y en Israel desde un 24% un 46%; también mantuvo sus niveles de resistencia a vancomicina salvo en Republica Checa y Grecia, países en los cuales esta resistencia disminuyó de 1,6% a 0,4% y de 7.4% a 4.1% respectivamente (Bager, 2000; Emborg *et al.*, 2004)

En el caso de la resistencia a vancomicina en seres humanos, dicha resistencia estaría asociada al uso de avoparcina en animales; esto se ha podido demostrar gracias al sistema DANMAP el cual informó que como consecuencia de la prohibición de la avoparcina como promotor del crecimiento en Dinamarca, se observó una disminución en la ocurrencia de *E. faecium* resistente a vancomicina en pollos parrilleros y cerdos, uno y tres años después de su prohibición respectivamente (Bager *et al.*, 2002). Esta relación también ha sido observada en otros países, así donde la avoparcina ha sido usada como promotor del crecimiento, cepas de *Enterococcus spp* resistentes a Vancomicina (VRE) han sido aisladas frecuentemente desde animales de consumo, en cambio en países donde la avoparcina no ha sido empleada no se han detectado VRE. Estos resultados son consistentes con la hipótesis de que el uso de avoparcina ha generado un reservorio de VRE en animales de consumo (Wegener *et al.*, 2000).

En Europa los VRE en humanos siguieron un patrón de resistencia acorde, entre otras cosas, al uso de avoparcina en animales, como lo demuestra una tendencia a la declinación de la presencia de *Enterococcus*

resistentes en el intestino humano en Europa, luego de la prohibición de la avoparcina (Klare *et al.*, 1999).

#### **5.4.- Situación Nacional:**

En Chile, aunque a partir del año 1996 las exigencias para el registro farmacéutico han aumentado por parte del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), no existen actualmente programas gubernamentales de monitoreo sistemático de la resistencia bacteriana en aislados de animales de producción, frente a los antimicrobianos que se ofrecen en el mercado nacional; tampoco existe restricción al uso de estos fármacos en especies o sistemas de producción (San Martín y Cañón, 2000).

En veterinaria existe muy poca información sobre resistencia antimicrobiana en *E. coli* aislados de bovinos. En un estudio de resistencia en cepas patógenas aisladas de mastitis, en vacas lecheras provenientes de tres regiones de Chile, se observó que esta bacteria exhibe en general bajos porcentajes de resistencia a los antimicrobianos analizados, observándose resistencia inferior al 25% frente a cada uno de éstos. Los porcentajes más altos de resistencia fueron a oxitetraciclina (24.2%), enrofloxacino (21.9%) y gentamicina (18%) en la V Región y en la Región Metropolitana; en tanto que en la X Región, los más altos porcentajes de resistencia en *E.coli* se observaron a enrofloxacino (21.9%), cefquinona (15%) y ceftiofur (15%) (San Martín *et al.*, 2002). Un estudio más reciente, que utilizó bovinos de carne faenados en el Frigorífico Lo Valledor S.A. y vacas de lecherías de la Región Metropolitana, arrojó que la mayor resistencia en cepas aisladas de ganado lechero fue para oxitetraciclina (84%), seguida de enrofloxacino (56%), ciprofloxacino y ceftiofur (54%) y sulfametoxazol-trimetropim con un 16%. En ganado de carne fue para sulfametoxazol-trimetropim con un 10% de resistencia, seguido de oxitetraciclina con 4% y ceftiofur con un 3% (Figuerola, 2004).

Por otro lado, en nuestro país no existen datos de resistencia de *Enterococcus* spp en bovinos, pero sí en otras especies productivas y en el ser humano. En el año 1999, se aisló la primera cepa de *Enterococcus* resistente a vancomicina en humanos (Pinto, 2002). Durante el año 2000, el Instituto de Salud Pública (ISP) registró resistencias de 5% en 97 cepas de *E. faecalis* y de un 29% en 42 cepas de *E. faecium*, referidas de todo Chile (Juliet, 2002). En el 2003, por primera vez, se notificó un brote de *Enterococcus* resistente a vancomicina que comprendió a tres pacientes de una Unidad de Cuidados Intensivos, en localizaciones superficiales (piel). En el mismo año, el 31,6% de los hospitales del país notificaron al menos una cepa de *Enterococcus* con sensibilidad intermedia o resistente (Otaiza *et al.*, 2003).

Los sistemas para obtener información en relación a la resistencia bacteriana en humanos han tenido inconvenientes, tales como el bajo *nivel de cobertura* en el ámbito nacional, y por lo tanto la poca representatividad de las cifras obtenidas. Por otra parte, la *inexistencia de registros de control de calidad* de los laboratorios que proveen los resultados de resistencia bacteriana, no permite certificar que las cifras obtenidas sean exactas y precisas (García, 2003). Entre estos sistemas de información se encuentran: la vigilancia en patógenos asociados a infecciones ambulatorias del Instituto de Salud Pública (ISP) de Chile; el Programa de Control de Infecciones del Ministerio de Salud, que recopila información de resistencia bacteriana en patógenos de importancia nosocomial; la Red PRONARES, proyecto de la Universidad de Chile para obtener información de resistencia bacteriana con relación al sitio de aislamiento bacteriano y a la procedencia de las muestras que funcionó entre los años 1998 al 2002 (Prado *et al.*, 1999); Los Programas de vigilancia mundial como SENTRY, coordinado por la Universidad de Iowa en Estados Unidos que recibe información desde nuestro país, además de datos locales publicados en la Revista Chilena de Infectología o en la Revista Médica de Chile y encuestas a los centros de salud.

Al tomar conciencia de estos problemas, en el año 2002 la Sociedad Chilena de Infectología, en conjunto con el ISP de Chile, decidieron implementar una Red Nacional para la Vigilancia de la Resistencia a los

antimicrobianos, la cual comenzó a funcionar en abril de 2003 con la participación de 42 centros de salud de los 47 que fueron convocados (García, 2003).

En otras especies productivas de nuestro país se han realizado análisis de resistencia en *E.coli*, y *Enterococcus* spp. En cerdos, de una muestra de 100 cepas de *E.coli*, se encontraron altos niveles de resistencia a oxitetraciclina y estreptomina con porcentajes de 96% y 84% respectivamente, en tanto que para sulfametoxazol-trimetopim fue de un 21%, para flumequina (7%), ácido oxolínico 9% y para ácido nalídixico 12%. Para enrofloxacino y ciprofloxacino la resistencia fue de un 6% y gentamicina presentó un 2% de resistencia; todas las cepas fueron sensibles a cefazolina y cefotaxima. En una muestra de 98 cepas de *Enterococcus* spp., se observó que el nivel de resistencia para tetraciclina fue de un 82,3%, para eritromicina y estreptomina de 51% y 45% respectivamente, encontrándose para enrofloxacino, ciprofloxacino, cloranfenicol y gentamicina bajos porcentajes de resistencia, no mayores al 2%; para penicilina se observó un 4,9% de resistencia y finalmente todas las cepas fueron sensibles a amoxicilina + ácido clavulánico, vancomicina y teicoplanina (Adasme, 2005).

En aves, en una muestra de 98 cepas de *E.coli*, los mayores porcentajes de resistencia se observaron para oxitetraciclina y ácido nalídixico, alcanzando 80,61% y 59,18% respectivamente; para estreptomina, flumequina y ácido oxolínico, se observó un nivel de resistencia de 57,14%; para enrofloxacino fue de un 28,57%, ciprofloxacino de un 20,4% y sulfametoxazol + trimetopim con un 16,32% y todas las cepas fueron sensibles para cefotaxima y cefazolina. En una muestra de 96 cepas de *Enterococcus* spp. se encontraron altos niveles de resistencia para oxitetraciclina, enrofloxacino, ciprofloxacino y eritromicina con porcentajes de 81,25%, 78,12%, 76,04% y 64,58%, respectivamente, mientras que para estreptomina, penicilina y gentamicina los porcentajes de resistencia fueron de 22,91%, 17,7% y 5,2%, observándose un 100% de sensibilidad a vancomicina, teicoplanina, cloranfenicol y amoxicilina + ácido clavulánico (Campos, 2005).

### **III.- OBJETIVOS**

#### **Objetivo General**

Evaluar, en bacterias indicadoras aisladas de bovinos, la resistencia frente a diferentes antimicrobianos empleados a nivel nacional.

#### **Objetivos Específicos**

- 1) Determinar la susceptibilidad de cepas previamente aisladas de *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp. frente a diferentes antimicrobianos.
- 2) Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Enterococcus* spp. a vancomicina.
- 3) Establecer perfiles de multiresistencia de las cepas estudiadas.

#### **IV.- MATERIAL Y MÉTODOS**

**1. Estudio de resistencia:** Se realizó en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile a partir del año 2004.

**2. Obtención, aislamiento y caracterización de las cepas bacterianas:**

El aislamiento y caracterización de las 77 cepas de *E.coli* y 91 de *Enterococcus* spp., provenientes de muestras de materia fecal obtenidas de bovinos aparentemente sanos faenados en la Empresa Procesadora de Carnes del Sur S.A de la ciudad de Valdivia, fue realizado en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile el año 2004.

Los bovinos muestreados proceden de las provincias de Valdivia (10,3%), Osorno (46,2%), Llanquihue (36,8%) y Coyhaique (6,8%). Las razas predominantes fueron Frisón Negro con un 54,7%, Frisón Rojo con un 20,5% y un 8,6% correspondió tanto a Holstein Friesian como a Hereford. El 16,2% de los bovinos restantes no respondían a características raciales específicas. En cuanto al sexo, los bovinos muestreados se pudieron subdividir en 64 (54,7%) machos, todos correspondientes a la categoría de novillos y 53 (45,3%) hembras, de las cuales 10 (8,5%) correspondieron a vacas y 43 (36,8%) a vaquillas (Fry, 2004).

**3. Prueba de sensibilidad *in vitro*:** Todas las cepas aisladas fueron sometidas al método de dilución en placa, siguiendo las normas del Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (NCCLS, 1999).

Con este método se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) definida como la mínima concentración de antimicrobiano (en  $\mu\text{g/ml}$ ) que inhibe el crecimiento visible de los microorganismos testeados (Andrew, 2001) y por ser cuantitativo y reconocido internacionalmente como oficial, fue el método que se utilizó para determinar los perfiles de resistencia.

Los estándares de antimicrobianos (droga pura) se obtuvieron directamente de los laboratorios proveedores, los cuales debían señalar su potencia. Con 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: 640, 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5 µg/ml. De cada dilución se tomaron 2 ml que se combinaron con 18 ml de Agar Müeller - Hinton por placa petri con el objeto de lograr la proporción 1:10.

Para el caso de la estreptomicina de alta carga, con la solución Stock de 2000 µg/ml se prepararon diluciones de 1000 µg/ml y de 500 µg/ml. En cambio para gentamicina de alta carga se preparó una solución Stock de 1000 ug/ml, a partir de la cual se prepararon diluciones de 500 y 250 ug/ml.

Por otro lado, las cepas bacterianas se reactivaron por pasajes sucesivos en medio líquido, caldo común para *E.coli* y caldo infusión cerebro corazón para *Enterococcus* spp. Las cepas reactivadas se ajustaron con suero fisiológico, a una concentración del 0.5 del nefelómetro de McFarland. De cada suspensión bacteriana ya estandarizada, se tomó 1 ml que a su vez se diluyó con 9 ml de suero fisiológico. Esta última concentración bacteriana constituyó el inóculo utilizado para cada siembra sobre las placas de Agar ya preparadas. Para sembrar las placas se utilizó el inóculo-replicador de Steers. La inoculación del medio comenzó por la placa control sin antimicrobiano, continuando con las placas de menor concentración de antimicrobianos y siguiendo un orden ascendente.

Las determinaciones del MIC se realizaron por duplicado y se incubaron a 37°C por 18 horas. Como cepas control se utilizaron *E. faecalis* ATCC/29212 y *E. coli* ATCC/25922. Las MIC se expresaron en valores absolutos (µg/ml) y se definió la MIC<sub>50</sub> y la MIC<sub>90</sub> (concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento del 50% y del 90% de los organismos testeados, respectivamente) para cada grupo bacteriano frente a cada antimicrobiano. La sensibilidad o resistencia de cada cepa bacteriana se determinó en base a los puntos de corte establecidos por el NCCLS (NCCLS, 1999); con fines prácticos se definió la sensibilidad intermedia como resistente.

Los antimicrobianos a analizar fueron:

Para *Escherichia coli*: cefotaxima (Oxoid®, potencia 950 µg/mg), cefazolina (Oxoid®, potencia 950 µg/mg), gentamicina (Sigma®, potencia 638 µg/mg), estreptomina (Arlab®, potencia 773 µg/mg), flumequina (Arlab®, potencia 946 µg/mg), enrofloxacino (Arlab®, potencia 1003 µg/mg), ciprofloxacino (Oxoid®, potencia 1000 µg/mg), oxitetraciclina (Oxoid®, potencia 960 µg/mg), sulfametoxazol + trimetoprim (Arlab®, potencia 1000/980 µg/mg), (Arlab®, potencia µg/mg), ácido nalidíxico (Oxoid®, potencia 970 µg/mg), y ácido oxolínico (Oxoid®, potencia 990 µg/mg).

Para *Enterococcus* spp.: penicilina (Sigma®, potencia 1477 UI/ mg), amoxicilina + ácido clavulánico (Oxoid®, potencia 558 µg/mg), enrofloxacino (Arlab®, potencia 1003 µg/mg), ciprofloxacino (Oxoid®, potencia 1000 µg/mg), oxitetraciclina (Oxoid®, potencia 960 µg/mg), eritromicina (Sigma®, potencia 850 µg/mg), gentamicina de alta carga (Sigma®, potencia 638 µg/mg), estreptomina de alta carga (Arlab®, potencia 773 µg/mg), cloranfenicol (Oxoid®, potencia 980 µg/mg), y vancomicina (Oxoid®, potencia 1000 µg/ml).

Los antimicrobianos empleados en este estudio fueron seleccionados debido a que han sido los de mayor uso en animales de producción (bovinos, cerdos y aves) y por estar registrados oficialmente en nuestro país. Ciprofloxacino y vancomicina, antimicrobianos utilizados sólo en humanos, fueron analizados en este trabajo producto de la resistencia cruzada que se pudiese generar al utilizar en el primer caso enrofloxacino (antimicrobiano ampliamente utilizado en ganado bovino) y el segundo caso al emplear avoparcina (antimicrobiano que ha sido utilizado como promotor del crecimiento en medicina veterinaria).

**4. Análisis de los resultados:** Para poder llevar a cabo los objetivos planteados se realizaron los siguientes análisis descriptivos:

- 1) Para cada grupo bacteriano, una distribución de frecuencia (porcentajes) de la resistencia frente a cada antimicrobiano estudiado.
- 2) Una distribución de frecuencia (porcentajes) de las cepas de *Enterococcus* spp., resistentes a vancomicina.

La sensibilidad antimicrobiana de las 77 cepas de *E.coli* y 91 de *Enterococcus* spp. previamente aisladas se presentan en el Cuadro N°1 y Cuadro N°2.

**CUADRO 1. Concentraciones mínimas inhibitorias de 77 cepas de *E.coli* aisladas de bovinos de carne de la X Y XI Región.**

Ant <sup>a)</sup>	% R	Valores de MIC (µg/ml)												MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
		< 0.25	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
<b>CIP</b>	0	77							b)					< 0.25	< 0.25
<b>ENR</b>	0	77												< 0.25	< 0.25
<b>EST</b>	0		9	3	65									≤1	≤1
<b>G</b>	0	77												< 0.25	< 0.25
<b>OXI</b>	9.1		69			1			1		6			≤ 0.25	≤ 2
<b>AN</b>	0		21		15		4	37						≤ 4	≤ 8
<b>AO</b>	0	77												< 0.25	< 0.25
<b>CEF</b>	0	77												< 0.25	< 0.25
<b>FLU</b>	0	77												< 0.25	< 0.25
<b>S+T</b>	0	77												< 0.25	< 0.25

**a)** CIP (Ciprofloxacino); ENR (Enrofloxacin); EST(Estreptomycin); G (Gentamicin); OXI (Oxitetracycline); AN (Acido Nalidixico) AO (Acido Oxolinico); CEF (Cefazolin); FLU (Flumequin); S+T (Sulfa + Trimetopim).

**b)** El limite entre las áreas blancas y sombreadas corresponde a los puntos de corte para cada antimicrobiano (Concentración Mínima Inhibitoria con la cual un microorganismo puede ser clasificado como sensible o resistente).

**CUADRO 2. Concentraciones mínimas inhibitorias de 91 cepas de *Enterococcus* spp. aisladas de bovinos de carne de la X Y XI Región.**

Ant <sup>a)</sup>	% R	Valores de MIC (ug/ml)																
		< 0.25	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	250	500	1000	2000	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<b>CIP</b>	<b>0</b>	<b>91</b>				b)											<b>&lt; 0.25</b>	<b>&lt; 0.25</b>
<b>ENR</b>	<b>0</b>		<b>89</b>	<b>2</b>													<b>≤ 0.25</b>	<b>≤ 0.25</b>
<b>ERI</b>	<b>0</b>	<b>91</b>															<b>&lt; 0.25</b>	<b>&lt; 0.25</b>
<b>EST</b>	<b>0</b>												<b>91<sup>c)</sup></b>				<b>&lt; 500</b>	<b>&lt; 500</b>
<b>G</b>	<b>0</b>	<b>91</b>										<b>91<sup>d)</sup></b>					<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>
<b>OXI</b>	<b>3.3</b>		<b>88</b>									<b>3</b>					<b>≤ 0.25</b>	<b>≤ 0.25</b>
<b>A+C</b>	<b>0</b>	<b>91</b>															<b>&lt; 0.25</b>	<b>&lt; 0.25</b>
<b>CL</b>	<b>0</b>		<b>4</b>	<b>9</b>	<b>78</b>												<b>≤ 1</b>	<b>≤ 1</b>
<b>P</b>	<b>0</b>		<b>82</b>	<b>4</b>	<b>5</b>		<b>3</b>										<b>≤ 0.25</b>	<b>≤ 0.25</b>
<b>V</b>	<b>0</b>	<b>91</b>															<b>≤ 0.25</b>	<b>≤ 0.25</b>

**a)** CIP (Ciprofloxacino); ENR (Enrofloxacino); ERI (Eritromicina); EST(Estreptomicina); G (Gentamicina); OXI (Oxitetraciclina); A+C (Amoxicilina + Acido Clavulánico); CL (Cloranfenicol); P (Penicilina); V (Vancomicina).

**b)** El limite entre las áreas blancas y sombreadas corresponde a los puntos de corte para cada antimicrobiano (Concentración Mínima Inhibitoria con la cual un microorganismo puede ser clasificado como sensible o resistente).

**c)** La concentración mínima inhibitoria que inhibió el crecimiento de estas cepas de *Enterococcus* spp. fue < 500.

**d)** La concentración mínima inhibitoria que inhibió el crecimiento de estas cepas de *Enterococcus* spp. fue < 250.

### **3.- Sensibilidad a vancomicina en cepas de *Enterococcus* spp.**

Ninguna de las 91 cepas de *Enterococcus* spp. presentó resistencia a vancomicina. El rango de MIC fue de (0.25 ug/ml – 0.25 ug/ml ).

### **4.- Perfiles de multirresistencia**

No se encontró resistencia a más de un antimicrobiano en las cepas analizadas.

## VI.- DISCUSIÓN

Los porcentajes de resistencia y los valores de MIC<sub>50-90</sub> determinados en las 77 cepas de *E.coli* (Cuadro 1), para oxitetraciclina, muestran un 9.1% de resistencia con rangos de MIC (0.25 - 64), MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> de  $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$  y  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  respectivamente, valores que concuerdan en parte con estudios tanto a nivel nacional como internacional. En nuestro país la resistencia obtenida en cepas de *E. coli* aisladas de bovinos muestran resistencia para oxitetraciclina de un 4% en bovinos de carne de la X región, lo cual no difiere en gran medida del porcentaje obtenido en este estudio, con rangos de MIC para todas las cepas analizadas de 1 – 128, MIC<sub>50</sub>  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  y MIC<sub>90</sub>  $\leq 8 \mu\text{g/ml}$  (Figueroa, 2004), los cuales permiten observar que en el último estudio los niveles de resistencia alcanzan valores superiores, sin embargo son pocas las cepas que llegan a estos niveles de resistencia, ya que el 95.8% de las cepas creció a una concentración mínima inhibitoria  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ , sin embargo Ahora bien, si se comparan con las cifras obtenidas por el programa DANMAP, en Dinamarca cuyos porcentajes de resistencia antimicrobiana durante el año 2004 frente a oxitetraciclina fueron un 12% en 97 cepas estudiadas, con un rango de MIC para todas las cepas analizadas de 2 – 64 y cuyos valores fueron  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  y  $\leq 64 \mu\text{g/ml}$  para MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> respectivamente, se puede apreciar que tanto el porcentaje como el nivel de resistencia indicado por el rango de MIC y los valores de MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> son mayores en Dinamarca que este estudio, sin embargo se debe indicar que el 83.5% de las cepas estudiadas por DANMAP creció a una concentración mínima inhibitoria  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ , lo cual permite observar que pocas cepas manifestaron un alto nivel de resistencia. (Emborg *et al.*, 2004).

Los niveles de resistencia observados a este antimicrobiano pueden atribuirse entre otras cosas, a su uso por más de cincuenta años para tratar diversas patologías y su incorporación en premezclas como promotores del crecimiento; este uso excesivo ha ejercido una presión de selección sobre los microorganismos expuestos a este antimicrobiano que explicaría en parte esta pérdida de sensibilidad.

En el caso de sulfametoxazol + trimetopim, que arrojó un 100% de sensibilidad, con rango de MICs (0.25 – 0.25) con un valor de MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> < 0.25 µg/ml, los resultados obtenidos difieren de la publicación de Figueroa en nuestro país el año 2004, cuyo porcentaje de resistencia fue de un 10%, con un rango de MIC para todas las cepas analizadas de 1 – 8, siendo su MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> ≤ 2 µg/ml. Lo cual refleja en el último estudio un porcentaje de cepas con niveles de susceptibilidad menores en comparación a este estudio. Sin embargo los resultados de este estudio son similares a los observados en otros estudios internacionales como el realizado en Francia el año 2004 por Bywater *et al.*

Para el resto de los antimicrobianos en estudio la ausencia de resistencia de las cepas de *E.coli* no difiere en gran medida tanto de estudios nacionales como internacionales (Bengtsson *et al.*, 2002; Kijima-Tanaka, 2003; Figueroa, *et al.*, 2004; Bywater *et al.*, 2004; Emborg *et al.*, 2004).

Con respecto a las quinolonas, ácido nalidíxico y ácido oxolínico, los resultados obtenidos, los cuales no arrojaron resistencias para ninguno de éstos, no pudieron ser contrastados con cifras a nivel nacional, ya que no existen datos previos de sensibilidad en bovinos para estos antimicrobianos, inclusive muy pocos estudios internacionales analizan sus sensibilidades. Por último, los porcentajes de sensibilidad obtenidos para flumequina no fueron posibles de comparar con otros trabajos, debido a que este antimicrobiano no es medido en forma rutinaria en pruebas de susceptibilidad para *E. coli* en la especie bovina. Se decidió la utilización en este estudio de estos antimicrobianos, debido a que poseen resistencia cruzada con fluoroquinolonas como enrofloxacino (Bazile-pham-khac *et al.*, 1996).

Por otro lado se observa que los porcentajes de resistencia y los valores de MIC<sub>50 - 90</sub> determinados en las 91 cepas de *Enterococcus* spp. (Cuadro 2), para oxitetraciclina, con un 3.3% de resistencia y un rango de MIC para todas las cepas analizadas de 0.25 – 128, MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> ≤ 0.25 µg/ml. no fueron posibles

de contrastar a nivel nacional, debido a que en nuestro país no existen estudios anteriores que midan la sensibilidad de cepas de *Enterococcus* spp a los antimicrobianos en la especie bovina. Tampoco fue posible la comparación con los valores entregados por DANMAP en Dinamarca el año 2004, ya que dicho año no incluye en su análisis al ganado de carne. El año 2003 dicho estudio reveló una ausencia de resistencia para este antimicrobiano en *Enterococcus faecium*, con un rango de MIC (1 – 1), MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> ≤ 1 µg/ml (Heuer, 2003). *Enterococcus faecalis* sólo pudo ser comparado con el año 2000 (Bager, 2000), ya que dicho estudio no midió la resistencia del ganado bovino a este antimicrobiano a partir del año 2001, así las cifras reveladas el año 2000 son de un 70% de resistencia a este antimicrobiano con un rango de MIC para todas las cepas analizadas de 1 – 32, MIC<sub>50</sub> ≤ 16 µg/ml y MIC<sub>90</sub> > 32 µg/ml. Estos niveles de resistencia de *Enterococcus faecium* a tetraciclina no difieren en gran medida con los de este estudio, a diferencia con los publicados por Bager el año 2000 para *Enterococcus faecalis*, los cuales superan ampliamente los niveles observados por esta investigación.

Este mayor porcentaje de cepas de *Enterococcus faecalis* resistentes a oxitetraciclina en relación a las cepas de *Enterococcus faecium*, se observa también en otros estudios como por ejemplo el publicado por Bengtsson *et al.*, el año 2002 que revela que el porcentaje de cepas resistentes el año 2000 en Suecia fue de un 14% y de un 6% respectivamente

Para el glucopéptido vancomicina la ausencia de cepas resistentes revelada en este estudio, con rango de MIC (0.25 – 0.25), MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> ≤ 0.25 µg/ml, concuerda con las cifras obtenidas en países como Dinamarca donde en las cepas de *Enterococcus faecium* tampoco se informó resistencia con rango de MIC (2 – 4), MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> ≤ 2 µg/ml, los cuales reflejan un alto nivel de susceptibilidad de las cepas en estudio (Heuer, 2003). Así también, las cepas de *Enterococcus faecalis* revelaron una ausencia de resistencia con un rango de MIC (1 – 4) MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> ≤ 2 µg/ml (Bager, 2000). Otro ejemplo es Suecia (Bengtsson *et al.*, 2002) donde también se observó una ausencia de cepas resistentes en ambas especies bacterianas.

Tanto en las fluoroquinolonas, enrofloxacino y ciprofloxacino, como en el macrólido eritromicina para los cuales las cepas de este estudio no arrojaron porcentajes de resistencia, dichos resultados difieren de los observados en otros estudios a nivel internacional como por ejemplo aquellos realizados en EE.UU, Suecia y Dinamarca (Bager, 2000; Bengtsson *et al*, 2002; Hershberger *et al.*, 2005), los cuales arrojaron menores porcentajes de susceptibilidad de *Enterococcus* spp a estos antimicrobianos, lo cual puede deberse a una mayor presión de selección en favor de estas cepas con menor susceptibilidad, debido a un mayor uso de estos antimicrobianos en dichos países.

Frente a los aminoglucósidos estreptomina y gentamicina, los *Enterococcus* spp. poseen mecanismos de defensa que les confieren altos niveles de resistencia a dichos antimicrobianos, debido a esto las cepas de este estudio, fueron enfrentadas a mayores concentraciones de estos antimicrobianos.

En lo que respecta a los niveles de resistencia encontrados para amoxicilina + ácido clavulánico, no se pudo realizar una comparación con otros estudios, ya que no es un antimicrobiano que se mida en forma rutinaria para *Enterococcus* en la especie bovina, sin embargo fue incluido en este estudio debido a su utilización en medicina veterinaria en nuestro país, lo cual pudiese haber ejercido una presión de selección en favor de cepas con menor susceptibilidad. La ausencia de niveles de resistencia observada en este estudio permite indicar una alta sensibilidad de las cepas.

La ausencia de resistencia de estas cepas para cloranfenicol puede deberse a que en nuestro país el uso de fármacos que contengan cloranfenicol o cualquiera de sus sales, en animales cuyos productos y subproductos sean destinados a la alimentación humana está prohibido por Resolución Exenta N° 3599 del 29/11/1996 (Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), 2004).

En nuestro país se han realizado trabajos anteriores que miden la resistencia bacteriana en bacterias indicadoras en otras especies productivas

(Figuroa, 2004; San Martín *et al.*, 2005). La comparación de los parámetros que miden sus niveles de resistencia bacteriana se presentan en los Cuadros 3 y 4.

**CUADRO 3. Porcentajes y valores de Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC) de cepas de *E.coli* aisladas de bovinos de este estudio, bovinos de leche, cerdos y aves de Chile.**

Ant <sup>a)</sup>	BOVINOS DE ESTE ESTUDIO				CERDOS b)				AVES c)			
	% R	Rango MIC	MIC50	MIC90	% R	Rango MIC	MIC50	MIC90	% R	Rango MIC	MIC50	MIC90
CIP	0	0.25	< 0.25	< 0.25	6	0.125 - 8	≤ 0.25	≤ 0.5	20.4	0.125 - 8	≤ 0.125	≤ 4
ENR	0	0.25	< 0.25	< 0.25	6	0.125 - 64	≤ 0.125	≤ 0.5	28.5	0.125 - 64	≤ 0.125	≤ 8
EST	0	0.25 - 1	≤ 1	≤ 1	84	0.25 - 128	128	128	57.1	0.125 - 128	≥ 32	≥ 128
G	0	0.25	< 0.25	< 0.25	2	0.125 - 64	≤ 0.5	≤ 1	1.02	0.125 - 32	≤ 0.125	≤ 0.125
OXI	9.1	0.25 - 64	≤ 0.25	≤ 2	96	0.125 - 128	≥ 128	≥ 128	80.6	0.125 - 128	≤ 64	≥ 128
AN	0	0.25 - 8	≤ 4	≤ 8	12	0.125 - 128	≤ 1	≤ 64	59.1	0.125 - 128	≥ 128	≥ 128
AO	0	0.25	< 0.25	< 0.25		---	---	---	---	---	---	---
CEF	0	0.25	< 0.25	< 0.25	0	---	---	---	---	---	---	---
FLU	0	0.25	< 0.25	< 0.25		---	---	---	---	---	---	---

**a)** CIP (Ciprofloxacino); ENR (Enrofloxacino); EST(Estreptomicina); G (Gentamicina); OXI (Oxitetraciclina); AN (Acido Nalidíxico) AO (Acido Oxolínico); CEF (Cefazolina); FLU (Flumequina); S+T (Sulfa + Trimetopim).

**b) y c)** San Martín, *et al.*, 2005

**CUADRO 4. Porcentajes y valores de Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC) de cepas de *Enterococcus* spp. aisladas de bovinos de este estudio, cerdos y aves de Chile.**

ANT <sup>a)</sup>	BOVINOS DE ESTE ESTUDIO				CERDOS <sup>b)</sup>				AVES <sup>c)</sup>			
	%R	Rango MIC	MIC50	MIC90	%R	Rango MIC	MIC50	MIC90	%R	Rango MIC	MIC50	MIC90
CIP	0	0.25	< 0.25	< 0.25	---	---	---	---	---	---	---	---
ENR	0	0.25 - 0.5	≤ 0.25	≤ 0.25	---	---	---	---	---	---	---	---
ERI	0	0.25	< 0.25	< 0.25	49.9	0.125 - 128	≤ 64	≥ 128	64.5	0.125 - 128	≤ 16	≥ 128
EST	0	250	< 500	< 500	44.1	0.125 - 128	≤ 0.125	≥ 128	22.9	0.125 - 128	≤ 0.125	≤ 0.125
G	0	128	< 250	< 250	2.0	0.125 - 128	≤ 0.125	≤ 0.125	5.2	0.125 - 128	≤ 0.125	≤ 0.125
OXI	9.1	0.25 - 128	≤ 0.25	≤ 0.25	82.3	0.125 - 128	≥ 128	≥ 128	81.2	0.125 - 128	≤ 64	≥ 128
A+C	0	0.25	< 0.25	< 0.25	---	---	---	---	---	---	---	---
CL	0	0.25 - 1	≤ 1	≤ 1	2	1 - 64	1	1	0	0.125 - 8	≤ 0.125	≤ 0.125
P	0	0.25 - 2	≤ 0.25	≤ 0.25	6	0.125 - 64	≤ 0.25	4	17.7	0.125 - 32	≤ 0.125	≥ 32
V	0	0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	0	0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	0	0.125	≤ 0.125	≤ 0.125

**a)** CIP (Ciprofloxacino); ENR (Enrofloxacino); ERI (Eritromicina); EST(Estreptomicina); G (Gentamicina); OXI (Oxitetraciclina); A+C (Amoxicilina + Acido Clavulánico); CL (Cloranfenicol); P (Penicilina); V (Vancomicina).

**b) y c)** San Martín *et al.*, 2005

En los Cuadros 3 y 4, se puede observar que los niveles de resistencia a tetraciclina, tanto en las cepas de *E.coli* como en las de *Enterococcus* spp aisladas de bovinos en este estudio, son muy inferiores a aquellos revelados por otros estudios cerdos y aves, realizados el año 2005, concordando la ausencia de niveles de resistencia de *Enterococcus* spp. a vancomicina en todas estas especies productivas.

De igual forma diversos estudios han demostrado que los niveles de resistencia bacteriana difieren entre distintas especies animales; estas diferencias obedecen entre otras cosas al grado de utilización de los antimicrobianos en el manejo de dichas especies (Bengtsson *et al.*, 2002; Kijima-Tanaka *et al.*, 2003; Bywater *et al.*, 2004).

Los niveles de resistencia a algunos antimicrobianos identificados en cepas aisladas de bovinos, son inferiores a los encontrados en otras especies productivas como los cerdos y las aves de corral, debido a que las condiciones de manejo de estas dos últimas especies usualmente es más intensiva, lo que puede estar asociado a una mayor probabilidad de contraer enfermedades y por lo tanto, a una mayor tendencia a utilizar antimicrobianos para su control. Dos ejemplos de aquellas diferencias en los niveles esperados de resistencia se mencionan a continuación.

Un estudio de resistencia bacteriana en bacterias comensales aisladas desde animales de consumo en diferentes países de la Unión Europea, usando como método uniforme la concentración mínima inhibitoria (MIC), mostró que los aislados de *E. coli* desde bovinos tuvieron generalmente bajos niveles de resistencia a los antimicrobianos probados en comparación a aves y cerdos (Bywater *et al.*, 2004).

En Alemania un estudio de resistencia bacteriana en aislados de *E. coli* indicadoras en bovinos, cerdos y aves de corral, mostró que la resistencia fue significativamente más alta en las aves (61%) y en los cerdos (60%), siendo la de los bovinos de sólo un 25% (Guerra *et al.*, 2003).

En nuestro país, Figueroa (2004) informó que cepas de *E. coli* provenientes de bovinos para producción de carne y de leche presentaron un comportamiento diferente en ambos grupos, observando una mayor resistencia en ganado lechero, situación que difiere con el ganado destinado a carne, el cuál demostró que la mayoría de sus cepas fueron sensibles a las drogas en estudio, no observándose resistencias superiores al 11%; además el ganado destinado a carne arrojó un menor porcentaje de cepas multirresistentes que el ganado lechero.

Las diferencias en los niveles de resistencia dependen por tanto de la cantidad de antimicrobianos utilizados en la crianza de las especies productivas y el sólo hecho de utilizarlos en un sistema productivo, genera una mayor selección de bacterias resistentes, aumentando con ello la probabilidad de encontrar luego de su utilización, cepas resistentes a este antimicrobiano a otros antimicrobianos del mismo grupo con los cuales exista resistencia cruzada e incluso a antimicrobianos de distinto grupo frente a los cuales las cepas bacterianas adquieren resistencia vía mutación o transferencia horizontal de DNA (Cantón *et al.*, 2003). Así lo demuestra, un estudio realizado en EE.UU., que evaluó la epidemiología de la resistencia antimicrobiana en *Enterococcus* desde animales de granja y la potencial relación de resistencia con el uso de antimicrobianos, concluyendo que la resistencia fue más común en granjas que usaban agentes antimicrobianos que en aquellas que no los utilizaban (Hershberger *et al.*, 2005). Este estudio se desarrolló en bovinos provenientes de provincias de la X y XI Región de Chile, regiones en las cuáles si bien no existen datos formales del nivel de utilización de los antimicrobianos analizados en la especie bovina, cabe suponer que su nivel es bajo a diferencia de la Región Metropolitana, explicando en gran medida los bajos niveles de resistencias detectados.

El nulo hallazgo de cepas bacterianas multirresistentes, tanto en las cepas de *E. coli* como en *Enterococcus*, podría deberse a que estos dos grupos bacterianos han adquirido pocos mecanismos de resistencia en la especie bovina y en las provincias de procedencia de dichas cepas bacterianas, por la poca presión de selección a la cual deben estar expuestos.

Los porcentajes de resistencia encontrados en este estudio, indican que todos los antimicrobianos utilizados salvo la oxitetraciclina pudiesen haber sido eficaces para el tratamiento contra bacterias patógenas que hubiesen afectado a los bovinos muestreados y según sus valores de MIC<sub>50</sub> – 90, el ranking de los antimicrobianos utilizados en este estudio, para los cuales las bacterias son susceptibles, comenzando por los antimicrobianos frente a los cuales las cepas analizadas presentaron menor diferencia entre MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub>, (esto indicaría un nivel de susceptibilidad similar de estas cepas a dicho antimicrobiano) y finalizando con los que las cepas presentasen mayor diferencia entre MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub>, sería para *E.coli*: ciprofloxacino, enrofloxacino, estreptomicina, gentamicina, ácido oxolínico, cefazolina, flumequina y sulfa + trimetoprim en el mismo nivel y a continuación estaría ácido nalidíxico. Por otro lado para *Enterococcus* spp. todos los antimicrobianos frente a los cuales las cepas estudiadas son susceptibles estarían en la misma posición.

Lo expuesto anteriormente, deja en claro que Chile no está libre del problema de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos y que los niveles encontrados en cepas indicadoras aisladas de bovinos de las provincias antes mencionadas son una alerta para tomar las medidas necesarias para que en el futuro, sea posible ejercer un mayor control sobre el uso de antimicrobianos en medicina veterinaria. También deja en evidencia que los niveles esperados de resistencia bacteriana a los antimicrobianos no siempre concuerdan entre animales de distinta especie, localización geográfica o incluso entre plantales de distinto sistema de crianza. Por otro lado, si se agrega a esto que la principal forma de administración de los antimicrobianos en animales de producción es en forma empírica y que, entre los principios generales de una terapia de este tipo está el que la utilización de antimicrobianos, debe estar de acuerdo con el cuadro clínico y la epidemiología local (Pérez, 2003).

Y si se suma a ello, que los niveles de resistencia varían a través del tiempo, debido a que las condiciones a las que se ven expuestos los animales son cambiantes, por ende, tampoco los factores relacionados al problema de la

resistencia bacteriana desencadenarán siempre la misma pendiente de aparición o crecimiento de ésta.,

Se debe hacer hincapié en que es indispensable contar con un sistema nacional de medición sistemática de los niveles de susceptibilidad bacteriana a los antimicrobianos que recoja los niveles locales de resistencia bacteriana para lograr instaurar en cada zona geográfica, el mejor tratamiento empírico posible, acorde a la realidad de cada sector y que vaya registrando los cambios que se van experimentando a través del tiempo y los efectos producidos por las medidas que se adopten para hacerle frente.

Dicho sistema debe involucrar la mayor cantidad de especies animales posibles, incluyendo prioritariamente a especies productivas tales como bovinos, ovinos, cerdos y aves e incluir a bacterias patógenas, zoonóticas e indicadoras, debido a que los genes bacterianos de resistencia pueden ser transferidos de una especie bacteriana a otra, e incluso entre animales y humanos

Por ultimo, se recomienda entonces la instauración de un programa de vigilancia de resistencia antimicrobiana veterinaria cuyos resultados sean informados y publicados para estar a disposición de todos los entes interesados, con el fin de detectar la aparición de cepas resistentes y de contar con mejor información para diseñar, implementar, monitorear y evaluar los programas de intervención en salud pública.

## **VIII.- CONCLUSIONES**

Según los objetivos planteados en este estudio se puede decir que:

- Los niveles de resistencia determinados en cepas indicadoras en la especie bovina de carne de la décima y undécima región en nuestro país son bajos.
- El antimicrobiano frente al cual presentaron resistencia las cepas indicadoras fue Oxitetraciclina.
- No se detectaron cepas de *Enterococcus* spp. resistentes al glucopeptido vancomicina
- En las cepas indicadoras no se detectó multirresistencia.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- **ACAR, J.; RÓSTEL, B.** 2001. Antimicrobial resistance: an overview. Rev. sci. tech. OIE. Vol. 20. N° 3. 3 p.
- **ADASME, M.** 2005. Detección de la resistencia antimicrobiana en bacterias indicadoras aisladas de cerdos. Memoria Titulo Medico Veterinario. Santiago, Chile, Fac. Medicina Veterinaria. 56 p.
- **AGUILAR, J.** 2002. Mastitis bovina en rebaños lecheros del sur de Chile: validación y análisis de una encuesta epidemiológica y estudio etológico de mastitis clínica. Tesis de grado. Valdivia. UACH. 27 p.
- **ALVSEIKE, O.; LEEGAARD, T.; AZVITSLAND, P.; LASSEN, J.** 2002. Trend of multiple drug resistant Salmonella Typhimurium in Norway. Euro Surveill. Vol 7. N° 1. pp. 5-7.
- **ANDREW, MJ.** 2001. Determinación of Minimum Inhibitory Concentration. J Antimicrob. Chemoth. Vol. 48. Suppl 3. pp. 5-16.
- **ANADÓN, A; MARTINEZ, M; FREJO, M.** 1999.<sup>a</sup> Problemática actual de los antibióticos como promotores del crecimiento. Rev. ANAPORC. Vol. 19. Pp. 5-52.
- **ANADÓN, A; MARTINEZ-LARRAÑAGA, M; MARTINEZ, M.** 1999.<sup>b</sup> Uso prudente de los antibióticos en terapéutica de enfermedades animales. Indust. Farm. Vol. 14. N° 5. pp. 105-112.
- **APUA (Alliance for the Prudent Use of Antibiotics).** 2004. Research & Surveillance. [En línea]. <http://www.tufts.edu/med/apua/Miscellaneous/GaardDesc.pdf>. [Consulta: 16-12-2005].
- **BAGER, F.** 2000. DANMAP: monitoring antimicrobial resistance in Denmark. International. . [En línea ]. [http://www.dfvf.dk/Admin/Public/DWSDownload.aspx?File=Files%2FFiler%2FZoonosecentret%2FPublikationer%2FDanmap%2FDanmap\\_2000.pdf](http://www.dfvf.dk/Admin/Public/DWSDownload.aspx?File=Files%2FFiler%2FZoonosecentret%2FPublikationer%2FDanmap%2FDanmap_2000.pdf).> [Consulta: 20- 04- 2006]
- **BAGER, F.; EMBRORG, H.; MOLLER, F.; WEGENER.** 2002. DANMAP: La experiencia danesa como consecuencia de la prohibición de los promotores del crecimiento antimicrobianos: tendencias en resistencia bacteriana y el uso de antimicrobianos. [En línea ] [http://www.engormix.com/s\\_articles\\_view.asp?AREA=POR&art=141](http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?AREA=POR&art=141) > [Consulta: 05-01- 2006]
- **BAZILE-PHAM-KHAC, S.; TRUONG, QC.; LAFONT, JP.; GUTMANN, L.; ZHOU, XY.; OSMAN, M.; MOREAU, NJ.** 1996. Resistance to fluoroquinolones in Escherichia coli isolated from poultry. Antimicrob. Agents Chemoth. Vol. 40. N° 6. pp. 1504 – 507.

- **BENGTSSON, B.; FRANKLIN, A.; GREKO, C.; KARLSSON, M.; WALLÉN, C.** 2002. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. [En línea ].  
< <http://www.sva.se/pdf/svarm2002.pdf>. > [Consulta: 09 -11- 2005].
  
- **BLAKE, D; HILLMAN, K; FENLON, D; LOW, J.** 2003. Transfer of antibiotic resistance between commensal and pathogenic members of the Enterobacteriaceae under ileal conditions. J. Appl. Microbiol. Volume 95. N°3. pp. 428 – 429.
  
- **BYWATER, R.; DELUYKER, H.; DEROOVER, E.; JONG, A.; MARION, H.; McCONVILLE, M.; ROWAN, T.; SHRYOCK, T.; SHUSTER, D.; THOMAS, V.; VALLÉ, M.; WALTERS, J.** 2004. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. J. Antimicrob. Chemoth. Vol. 54. pp.746 – 747.
  
- **CALVO, M.** 2004. La Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. [En línea ].  
< [http://www.vet-uy.com/articulos/artic\\_av\\_tecn/005/av\\_005.htm](http://www.vet-uy.com/articulos/artic_av_tecn/005/av_005.htm) > [Consulta: 15-12-2005].
  
- **CAMPOS, L.** 2005. Utilización de bacterias indicadoras para el estudio de la resistencia bacteriana en aves de consumo humano. Memoria Titulo Medico Veterinario. Santiago, Chile, Fac. Medicina Veterinaria. pp. 31-32.
  
- **CANTÓN, R.; COQUE, TM.; BAQUERO, F.** 2003. Multi-resistant Gram-negative bacilli: from epidemics to endemics. Curr Opin Dis. Vol 16. N° 4. pp. 315-325.
  
- **CAPRIOLI, A.; BUSANI, L.; MARTEL, J.; HELMUTH, R.** 2000. Monitoreo de resistencia a antibióticos en bacterias de origen animal metodologías epidemiológicas y microbiológicas. International J. of Agents Vol. 14. pp 295-301. **In:** SAN MARTÍN, B.; KRUIZE, J.; MORALES, M.; AGÜERO, H.; LEON, B.; ESPINOSA, 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 Xª Región, Chile. Arch. Med. Vet. Vol 34, N°2, pp 231 - 233.
  
- **EMBORG, H.; LARSEN, P.; HEUER, O.; JENSEN, V.; HAMMERUM, A.; BAGGER-SKJOT, J.; BRANT, CH.; FRIMOND-MULLER, N.; MONNET, D.** 2004. DANMAP. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. [En línea ].  
<[http://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecentret/Publikationer/Danmap/Danmap\\_2004.pdf](http://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecentret/Publikationer/Danmap/Danmap_2004.pdf)> [Consulta: 05 -12 - 2005].
  
- **EMEA. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS VETERINARY MEDICINES EVALUATION UNIT.** 2001. Comunicación de la Comisión relativa a una estrategia comunitaria contra la resistencia a los antimicrobianos /\* COM/2001/0333 final Volumen I. [En línea ].  
<<http://europa.eu.int/eurlex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:52001DC0333:ES:HTML>> [Consulta: 10 -01- 2006]

- **ERRECALDE, J.** 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencias en la salud pública. [En línea ] <[http://www.fao.org/documents/show\\_cdr.asp?url\\_file=/docrep/007/y5468s/y5468s04.html](http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/y5468s/y5468s04.html)> [Consulta: 26-12- 2005]
- **FIGUEROA, M.** 2004. *Echerichia coli* como bacteria indicadora en el monitoreo de la resistencia a antimicrobianos de uso en ganado bovino. Memoria Titulo Médico Veterinario. Santiago, Chile, Fac. Medicina Veterinaria. 68 p.
- **FRY, P.** 2004. Aislamiento de *Echerichia coli* y de *Enterococcus* spp desde el contenido rectal de bovinos. Memoria Titulo Médico Veterinario. Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile. Fac. Medicina Veterinaria. 31 p.
- **GARCÍA, P.** 2003. Resistencia bacteriana en Chile. Revista Chilena de Infectología. Vol 20 ( supl 1). pp. 4 – 21.
- **GONZÁLEZ, G.** 2004. Integrons and resistance gene *cassettes*: new genetic strategies in the bacterial resistance to antibiotic. XXVI congreso de la Sociedad de Farmacología de Chile / Quinamávida. 19 p.
- **GUERRA, B.; JUNKER, E.; SCHROETER, A.; MALORNY, B.; LEHMANN, S.; HELNUTH, R.** 2003. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Echerichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. J. Antimicrob. Chemoth. Vol 52. N° 3. pp. 489-92.
- **HEADRICK, M.** 2005. Sistema Nacional de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana – Bacterias Entéricas. [en línea ] < <http://www.fda.gov/cvm/index/narms/narmsbro-spanish.doc>> [Consulta: 06-09-2005].
- **HEUER, O.; LARSEN, P.; JENSEN, B. ; HEMBORG, H. ; HAMMERUM, A. ; BRANT, C. ; MUSCAT, N. ; MOLLER, N. ; MONNET, D.** 2003. Use of antimicrobial agents and ocurrence of antimicrobial resistance in bacetria from foods animals, foods and humans in Denmark. [En línea ] <[http://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecentret/Publikationer/Danmap/Danmap\\_2003.pdf](http://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecentret/Publikationer/Danmap/Danmap_2003.pdf)>.[Consulta: 06-07-2005].
- **HERSHBERGER, E.; OPREA, SF.; DONABEDIAN, SM.; PERRI, M.; BOZIGAR, P.; BARTLETT, P.; ZERVOS, MJ.** 2005. Epidemiology of antimicrobial resistance in *enterococci* of animal origin. J. Antimicrob. Chemoth. Vol. 55. N° 1. pp. 127-30.
- **IZSLT. INSTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA.** 2002. Surveillance of Antimicrobial Resistance Final Recommendations. Antibiotic Resistance in Bacteria of Animal Origin. Concerted Action FAIR PL 97-3654. [En línea]. < <http://www.izslt.it/crab/pdf/surveillance2.pdf> > [Consulta: 06-01- 2006].

- **JULIET, C.** 2002. Estudio de susceptibilidad in vitro de *Enterococcus* spp. Rev. Chil. Infectol. Vol.19. pp.111 – 115.
- **KATHLEEN, H.** 2000. Boletín de medicamentos esenciales. [En línea].  
< [http://mednet2.who.int/edmonitor/edition/sp\\_edmguid.pdf](http://mednet2.who.int/edmonitor/edition/sp_edmguid.pdf).> [Consulta: 06-01- 2006].
- **KIJIMA-TANAKA, M.; ISHIHARA, K.; MORIOKA, A.; KOJIMA, A.; OZONO, T.; OGIKUBO, K.; TAKAHASHI, T.; TAMURA, Y.** 2003. A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. J. Antimicrob. Chemoth. Vol. 51. N° 2. pp. 447-451.
- **KLARE, I.; BADSTUBNER, D.; KONSTABEL, C.; BOHME, G.; CLAUS, H, WITTE, W.;** 1999. Decrease incidence of VanA – tipe vancomycin – resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in yhe community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. Microb. Drug Resist. Vol. 5. N° 1. pp. 45 – 52.
- **KLUGMANN, K.** 2000. Boletín de medicamentos esenciales. [En línea].  
< [http://mednet2.who.int/edmonitor/edition/sp\\_edmguid.pdf](http://mednet2.who.int/edmonitor/edition/sp_edmguid.pdf).> [Consulta: 06-01- 2006].
- **KRUSE, H; SORUM, H.** 1994. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. Appl. Environ, Microbiol. Vol. 60. N° 11. pp. 4015-21.
- **MOLBAK, K.; GERNER-SMIDT, P.; WEGENER, H.** 2001. Increasing Quinolone Resistance in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. [En línea ]  
< [http://. www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no5/01-0288.html](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no5/01-0288.html).> [consulta: 16-12- 2005].
- **MOLBAK, K.** 2004. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans - the public health consequences. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2004 Oct-Nov. Vol 51 N° 8-9. pp. 364-9.
- **MORENO, M.; TESHAGER, T.; PORRERO, C.; HERRERO, I.; GARCÍA, M.; CUBILLO, I.; DOMÍNGUEZ, L.** 2000. Vigilancia veterinaria de resistencias bacterianas en los antimicrobianos en España. . [En línea ]  
< <http://www.exopol.com/general/circulares/97circ.html>> [consulta: 16-12- 2005].
- **MORETAIN, J.P.** 1996. Le médicaments vétérinaires et la qualité du lait: Le problème des résidus d'antibiotiques. RIA, Technicien du lait. Vol. 10. N° 1. pp. 147-151.
- **MURRAY, P.; ROSENTHAL, K.; KOBAYASHI, G.; PFALLER, M.** 2004. Microbiología Médica. Cuarta Edición. Editorial Elsevier. Madrid, España. pp: 34-46.
- **NACHAMKIN, I.; UNG, H.; LI, M.** 2002. Increasing Fluoroquinolone Resistance in *Campylobacter jejuni* Pennsylvania, USA, 1982-2001. [En línea ]  
< <http://0-www.cdc.gov.mill1.sjlibrary.org/ncidod/eid/vol8no12/02-0115.htm>  
[Consulta: 20-12- 2005].

- **NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard. Vol 19.
  
- **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2000. WHO/CDS. [En línea ] < <http://www.who.int/infectious.disease.report/2000/grapasis.resistance.html>.> [Consulta: 29-11-2005].
  
- **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2001<sup>a</sup>. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. [En línea ] [http://www.who.int/drugresistance/WHO\\_Global\\_Strategy\\_English.pdf](http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf) [Consulta: 03 -12-2005].
  
- **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2001<sup>b</sup> Surveillance Standards for Antimicrobial Resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.5. pp.2-4.
  
- **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2002. Protocol for the Assessment of National Communicable Disease Surveillance and response Systems. WHO/CDS/CSR/ISR/2001.2.
  
- **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2004. Second joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistanse. Management options 15-18 . [En línea ] < <https://www.oie.int/downld/WHO-CDS-CPE-ZFK-2004.8.pdf> > [Consulta: 20-12-2005].
  
- **OTAIZA, F; BRENNER, P; POHLENZ, M.** 2003. Informe de Vigilancia Epidemiológica de las Infecciones Intrahospitalarias Chile 2003. No publicado. Unidad de Infecciones Intrahospitalarias del Ministerio de Salud. pp. 36-56.
  
- **OTEO, J.; LÁZARO, E.; ABAJO.; F.; BAQUERO, F.; CAMPOS, J.; SPANISH MEMBERS OF EARSS.** 2004.<sup>a</sup> Trends in antimicrobial Resistance in 1.968 Invasive Streptococcus pneumoniae Strains Isolated in Spanish Hospitals (2001 to 2003): Decreasing penicillin Resistance in Children´s Isolates. J. Clin. Microb. Vol. 42, N°12. pp. 5571-5577
  
- **OTEO, J.; LÁZARO, E.; ABAJO.; F.; BAQUERO, F.; CAMPOS, J.; SPANISH MEMBERS OF EARSS.** 2004.<sup>b</sup> Antimicrobial-resistant Invasive *Escherichia coli*, Spain. Emerg Infect Dis. [En línea ] < <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no04/04-0699.html>.> [Consulta: 20-12- 2005].
  
- **PÉREZ, C.** 2003. Antimicrobianos en Unidades de Cuidados Intensivos: Uso empírico. Rev. Chil. Infectol. Vol. 20. Supl. 1. pp. 70-73.
  
- **PINTO, M.** 2002. Resistencia antimicrobiana en Chile hoy. Rev Chil. Infectol. Vol.19. Supl.3. pp. 213 – 218.
  
- **PRADO, V.; DIAZ, M.; TRUCCO, O.** 1999. Grupo PRONARES. Resistencia a los antibióticos en agentes causantes de infección del tracto urinario en 11 hospitales chilenos. Proyecto PRONARES. Rev. Méd. Chil. Vol. 127. N° 9. pp. 1033 –1040

- **RIVM - EARSS, INSTITUTO DE PAÍSES BAJOS PARA LA SALUD PÚBLICA Y EL AMBIENTE - SISTEMA DE VIGILANCIA DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EUROPEO** - 2005. [en línea ]. [http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%20annual%20report%202004%20webversie\\_tcm61-25345.pdf](http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%20annual%20report%202004%20webversie_tcm61-25345.pdf) [Consulta: 10-01-2006].
- **SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG).** 2004. Medicamentos Veterinarios. Regulaciones Nacionales. [En línea ] [http://www2.sag.gob.cl/Pecuaria/medicamentos\\_veterinarios/regulaciones.htm](http://www2.sag.gob.cl/Pecuaria/medicamentos_veterinarios/regulaciones.htm) > [Consulta: 03-01- 2006].
- **SAN MARTÍN, B.; CAÑÓN.** 2000. Resistencia bacteriana: un problema mundial en Medicina Veterinaria y Humana. Monografías Med. Vet. Vol. 20 N° 2. pp. 17-25.
- **SAN MARTÍN, B.; KRUZE, J.; MORALES, M.; AGÜERO, H.; LEON, B.; ESPINOSA, 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 Xª Región, Chile. Arch. Med. Vet. Vol 34, N°2, 2002.
- **SAN MARTÍN, B.; CAMPOS, L.; BRAVO, V.; ADASNE, M.; BORIE, C.** 2005. Evaluation Of Antimicrobial Resistance Using Indicator Bacteria Isolated From Pigs And Poultry In Chile. Intern J Appl Vet Med. Vol. 3. N° 2. pp. 171 – 178.
- **SHANNON, K.; FRENCH, GL.** 2004. Increasing resistance to antimicrobial agents of Gram-negative organisms isolated at a London teaching hospital, 1995-2000. J. Antimicrob. Chemoth. Vol . 53. N° 5. pp. 818-25.
- **STOHR, K.** 2000. Problema del uso de antimicrobianos en la agricultura y la ganadería. Boletín de Medicamentos Esenciales. Organización Mundial de la Salud. N° 28 y 29. pp. 10.
- **SUÁREZ, M.** 2002. Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. Rev. Cubana. Hig. Epidemiol. Vol.40. N°1. pp. 38-43.
- **TODAR, K.** 2002. Bacterial resistance to Antibiotics. [En línea ] <http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial.html> > [Consulta: 16-01- 2006]
- **TORRES, C.; ZARAZAGA, M.** 1998. Repercusiones en el hombre del consumo de antibióticos por animales. [En línea ] [http://www.seq.es/seq/html/revista\\_seq/0198/rev1.html](http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0198/rev1.html) > [Consulta: 04-03- 2006]
- **TORROBA, L.; RIVERO, M.; OTERMIN, I.; GIL, A.; IRUIN, A.; MARAVIPOMA, E.; GARCÍA, J.** 2000. Antimicrobial resistance and antibiotics policy; MRSA, GISA, and VRE. . [En línea ] <http://www.cfnavarra.es/SALUD/ANALES/textos/vol23/suple2/pdf/06%20resistencia.pdf> > [Consulta: 18-07- 2006]

- **VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E.** 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *Int. J. Antimicrob. Agents*. Vol. 14. pp. 327-335.
  
- **WEGENER, H.; AARESTRUP, F.; BOGO, J.; ANETTE, M.; HAMMERUM.; BAGER, F.** 2000. Use of Antimicrobial Grow Promoters in Food Animals and *Enterococcus faecium* Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drug in Europe. [En línea ]  
 [<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no3/wegener.htm >](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no3/wegener.htm) [consulta: 05 -01- 2005]
  
- **WIERUP, M.** 2000. The control of microbial diseases in animals: alternatives to the use of antibiotics. *Int. J. Antimicrob. Agents*. Vol. 14 N° 4. pp. 315 – 319.
  
- **ZURICH, L.** 1993. Mastitis clínica bovina; actualización terapéutica. **In:** Terapéutica en Bovinos Lecheros de alta producción. Valdivia, Chile. pp.16. **In:** Ortiz, G. 1994. Detección de betalactamasa en cepas de *Staphylococcus* aislados de mastitis bovina y sensibilidad in vitro frente a diferentes antimicrobianos. Tesis de grado. Valdivia, Chile. Uach. 23 p.