

Resistencia a antibióticos betalactámicos y quinolonas en *Escherichia coli* aislada de pollos broiler

Resistance to beta-lactam antibiotics and quinolones in *Escherichia coli* isolated from broilers

Edna Carvajal B.¹, Egberto Rueda G.², Martín Talavera R.³, María Torres C.⁴,
Diana López V.⁴, María C. Vásquez R.^{1,5}

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la resistencia antimicrobiana de 176 cepas de *Escherichia coli* aisladas de órganos de pollos broiler. Las cepas fueron desafiadas con antibióticos betalactámicos, quinolonas y fluoroquinolonas, observándose resistencia a antibióticos betalactámicos (97.7%) y a quinolonas (86.7%). El 71.6% de los aislados también expresaron fenotípicamente la producción de betalactamasas de espectro extendido (ESLB). Mediante PCR se determinaron genes de resistencia para betalactámicos *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M1* y *Amp-C* y genes de resistencia para quinolonas *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*. Se encontraron los genes *Amp-C* (74%), *blaCTX-M* (65%), *blaSHV* (65%), *blaTEM* (50%), *qnrB* (86.4%) y *qnrS* (11.9%). No se evidenció el gen *qnrA* en las muestras analizadas. Los resultados obtenidos revelaron un gran porcentaje de resistencia a los antibióticos estudiados y la presencia de genes de resistencia en aislados de aves para consumo humano, lo cual constituye un riesgo para la salud pública.

Palabras clave: resistencia antimicrobiana, betalactamasas, quinolonas, pollo de carne

¹ Universidad de Santander, Facultad de Ciencias de la Salud, Grupo de investigación CliniUdes, Bucaramanga, Colombia

² Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrícolas, Grupo de investigación en Ciencias Agropecuarias GICA, Bucaramanga, Colombia

³ Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM, Toluca Estado de México, México

⁴ Universidad de Boyacá, Tunja, Boyacá, Colombia

⁵ E-mail: m.vasquez@udes.edu.co

Recibido: 16 de junio de 2020

Aceptado para publicación: 22 de diciembre de 2020

Publicado: 24 de abril de 2021

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the antimicrobial resistance of 176 *Escherichia coli* strains isolated from broiler chicken organs. The strains were challenged with beta-lactam, quinolones and fluoroquinolones, observing resistance to beta-lactam antibiotics (97.7%) and quinolones (86.7%). The results showed that 71.6% of the isolates phenotypically expressed the production of extended spectrum beta-lactamases (ESLB). By PCR, resistance genes for beta-lactams *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M1* and *Amp-C* and resistance genes for quinolones *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* were determined. The genes *Amp-C* (74%), *blaCTX-M* (65%), *blaSHV* (65%), *blaTEM* (50%), *qnrB* (86.4%) and *qnrS* (11.9%) were found. The *qnrA* gene was not evident in the samples analysed. The results obtained revealed a large percentage of resistance to the studied antibiotics and the presence of resistance genes in isolates from poultry for human consumption, which constitutes a risk for Public Health.

Keywords: antimicrobial resistance, beta lactamases, quinolones, broiler chicken

INTRODUCCIÓN

La industria avícola en Colombia ha tenido un gran auge en los últimos años gracias a la innovación tecnológica en manejo y mejoramiento genético de las aves, aumentando la contención de patógenos mediante el uso de antibióticos como una alternativa para la prevención y tratamiento de infecciones y mediante el uso de promotores de crecimiento en las dietas (Stockwell y Duffy, 2012), logrando mayores índices de productividad (Bueno *et al.*, 2016). Sin embargo, diversos estudios en aves han identificado la circulación de bacterias resistentes a diferentes clases de antibióticos (Mellata *et al.*, 2018), incluyendo a bacterias con posible potencial zoonótico (Mitchel *et al.*, 2015; Stromberg *et al.*, 2017). Asimismo, se han encontrado determinantes genéticos implicados en la resistencia a los antimicrobianos en *Escherichia coli* patogénica aviar (APEC) aislados de granjas de pollos de engorde (Awad *et al.*, 2016; Staji *et al.*, 2018; Subedi, 2018).

Se conocen diferentes mecanismos de resistencia que pueden ser adoptados por *E. coli*, tales como modificación del sitio blanco, cambios de permeabilidad (Fábrega *et al.*, 2008), producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos e incremento en la expresión de las bombas de expulsión (Tafur *et al.*, 2008). Las β -lactamasas de espectro extendido (ESBLs) son un grupo de enzimas transportadas en plásmidos que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos. Entre ellas están las β -lactamasas sulfhidrilo variable (SHV), temoneira (TEM), cefotaximasa (CTX-M) (Sadat *et al.*, 2016) y β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC) (Huijbers *et al.*, 2015; Madec *et al.*, 2017). Las enzimas que confieren resistencia a fluoroquinolonas son también mediadas por plásmidos e incluyen las proteínas Qnr, la enzima aac(6')-Ib-cr y la bomba de eflujo QepA (Vetting *et al.*, 2011). Se ha evidenciado asociación de la resistencia a las quinolonas con la producción de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) o de AmpC β -lactamasas mediadas por plásmidos

(Mendonça *et al.*, 2016; Salgado *et al.*, 2016) y de la incidencia de los integrones como responsables del paso de determinantes de resistencia entre microorganismos Gram negativos (Berglund, 2015).

Por otra parte, *E. coli* se comporta como un patógeno oportunista en situaciones de estrés y de deficiente manejo (LeStrange, 2017; Perello, 2009), donde los patotipos APEC, responsables de infección primaria en aves de corral, causan grandes pérdidas económicas a la industria avícola (Dziva y Stevens, 2008; Guabiraba y Schouler, 2015). En el humano, *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC) representa un patógeno emergente, con cepas implicadas en casos de infecciones del tracto urinario (ITU), bacteriemia y meningitis (Manges, 2016). Varios estudios han revelado características superpuestas entre APEC y ExPEC humano (Maluta, 2014; Xiangkai, 2014), lo que lleva a la hipótesis de un potencial zoonótico de las cepas de aves de corral (Cunha *et al.*, 2017). Así mismo, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) estima que cerca del 60% de los patógenos humanos y del 75% de las enfermedades de reciente aparición son de curso zoonótico (Labro y Bryskier, 2014).

El uso excesivo e indebido de los agentes antimicrobianos en aves para consumo humano, además de las hipótesis de los linajes o raíces evolutivas comunes entre *E. coli* aviar y humana (Manges, 2016), contribuyen al desarrollo y la propagación de la resistencia a antibióticos (Hussain *et al.*, 2017), lo que lleva a la aparición de patógenos multirresistentes, los cuales pueden presentar la transmisión cruzada al humano (Moulin-Schouleur *et al.*, 2016), convirtiéndose en un grave e importante problema de salud pública. Esta situación obliga a mejorar las prácticas al margen de las recomendaciones de producción, control de calidad e inocuidad alimentaria (FAO, 2011). El presente estudio tuvo como objetivo determinar la resistencia a antibióticos β -lactámicos y quinolonas y establecer la presencia de genes involucrados

en aislamientos de *E. coli* obtenidos de pollos broiler provenientes de granjas de producción avícola de Santander, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, recolectando 400 muestras de varios órganos (tráquea, intestinos, sacos aéreos abdominales y claviculares, pericardio, bolsa de Fabricio y páncreas) en necropsias de 200 pollos de engorde sanos de cinco edades (12, 18, 21, 36 y 42 días). Todos los especímenes provinieron de granjas avícolas del departamento de Santander, Colombia.

Las muestras fueron inoculadas en caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) para posterior siembra en agar MacConkey. Las colonias fermentadoras de lactosa en agar MacConkey se identificaron bioquímicamente (Borie *et al.*, 1997), con el kit BBL™ Crystal™ E/NF y se corroboraron mediante PCR para detectar el gen *uidA* que codifica la enzima 1- glucuronidasa (Molina *et al.*, 2015), la cual es específica para *E. coli*, utilizando cebadores propuestos por Hessain *et al.* (2015).

Susceptibilidad a Antibióticos

A los aislados identificados como *E. coli* se les realizó la prueba de Kirby Bauer (CLSI, 2017) con antibióticos pertenecientes a grupos de las quinolonas y β -lactámicos. Cada cepa se expuso frente a sensidiscos impregnados con los siguientes antibióticos: ampicilina 10 μ m, amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 μ m, piperacilina 100 μ m, piperacilina/tazobactam 100/10 μ m, cefalotina 30 μ m, cefuroxime 30 μ m, cefoxitin 30 μ m, cefotaxime 30 μ m, ceftazidime 30 μ m, ceftriaxona 30 μ m, cefepime 30 μ m, ácido nalidixico 30 μ m, norfloxacin 10 μ m y ciprofloxacino 5 μ m. Luego se evaluó la susceptibilidad de las cepas siguiendo las recomendaciones del CLSI (2017).

Cuadro 1. Condiciones de PCR para amplificación de los genes de resistencia en cepas de *Escherichia coli* fenotipo ESLB

Gen	Secuencia 5'-3'	Tamaño (pb)	Desnaturalización inicial	Ciclos	Alineamiento	Extensión	Extensión final
<i>bla</i> TEM	5'-AAACGCTGGTGAAA GTA 3' 5'-AGCGATCTGTCTAT 3'	239	94 °C, 30 s	35	49 °C, 1 min	72 °C, 1 min	72 °C, 10 min
<i>bla</i> SHV	5'ATGCGTTATATTCGCCTG TG 3' 5'-TGCTTTGTTATTCGGG CCAA 3'	241	94 °C, 30 s	35	56 °C	72 °C, 1 min	72 °C, 10 min
<i>bla</i> CTX-MI	5'-GACGATGTCACTGGC TGAGC 3' 5'-AGCCGCCGACGCTA ATACA 3'	499	94 °C, 30 s	35	58 °C	72 °C, 1 min	72 °C, 10 min
Amp-C	5'-ATCAAAACTGGCAG CCG-3' 5'-GAGCCCGTTTTATGC ACCCA-3'	170	94 °C, 30 s	35	56.9 °C	72 °C, 1 min	72 °C, 10 min

Fuente: Protocolo de estandarización de Paterson *et al.* (2003), modificado por Velandia *et al.* (2016)

Genes de Resistencia *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*CTX-MI, *Amp*-C

Mediante PCR convencional se realizó la amplificación a las cepas de *E. coli*. Se utilizó la cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 control positivo y la cepa *E. coli* ATCC 25922 como control negativo. La Figura 1 presenta las condiciones del PCR.

La caracterización de los genes *qnrA*, *qnrB* y *qnrS* en cada una de las cepas de *E. coli* se realizó de acuerdo con el protocolo estandarizado por Aguilar *et al.* (2015). Los resultados de PCR se visualizaron en gel de agarosa al 1% con tinción de Safeview classic. Se utilizó un transiluminador UltraSlim Led Illuminator (ABM). La presencia de los genes en evaluación se determinó en las cepas resultantes.

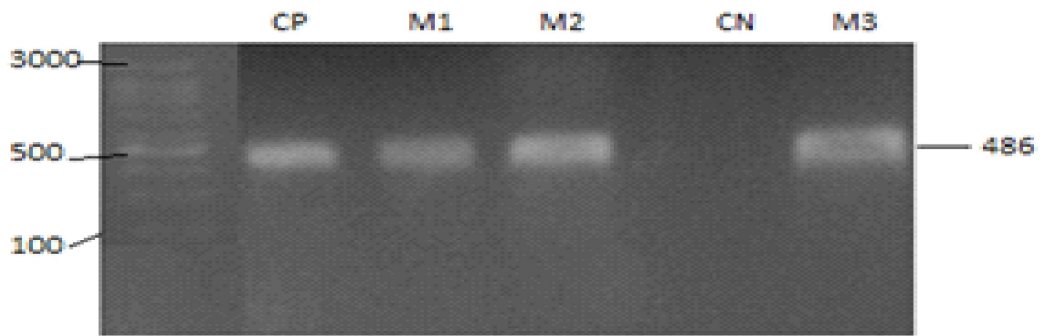


Figura 1. Detección del gen *uidA*. Gel de agarosa (1%). Carril 1, 100 bp DNA ladder New England Bio Labs. Carril 2, control positivo. Carril 3, Muestra 1 *uidA* +. Carril 4. Muestra 2 *uidA* +. Carril 5, Control negativo. Carril 6, Muestra 3 *uidA* +

Bienestar Animal

Se siguieron todas las pautas internacionales, nacionales e institucionales para el cuidado y uso de los animales. Se tuvieron en cuenta todas las normas de bienestar animal de acuerdo con la Ley 1774 del 6 de enero de 2016, Art. 339B, Párrafo 1 de la Republica de Colombia (2016). El estudio contó, además, con el aval del comité de ética de la Universidad de Boyacá. El manuscrito no contiene estudios clínicos ni datos de pacientes.

RESULTADOS

Se obtuvieron 176 aislados de *E. coli* de las 400 muestras colectadas. La resistencia de los aislados a antibióticos betalactámicos fue del 97.7% y a quinolonas del 86.7%. Los antibióticos del grupo de betalactámicos probados y el porcentaje de resistencia para cada uno de ellos fueron: ampicilina 100%, cefuroxime 98.9%, amoxicilina - ácido clavulánico 98.9%, cefalotina 97.7%, piperacilina tazobactam 97%, cefoxitina 96.6%, cefotaxime 96.6%, piperacilina: 95.5%, ceftazidime 93.2%, ceftriaxona 92.0%, y cefepime 83.0%. Fren-

te a las quinolonas se obtuvo resistencia para ácido nalidíxico en el 100% de los aislados, a la ciprofloxacina en el 83% y a la norfloxacina en el 77.3% (Figura 2).

Los resultados de la prueba confirmatoria evidencian resultado positivo para el 71.6% de los aislamientos, los cuales expresaron fenotípicamente ESLB (Figura 3).

Los datos de PCR para genes que codifican la resistencia tipo ESLB revelaron que el gen *AmpC* (74%) fue el más frecuente en los aislados de *E. coli*, seguido de los genes *blaSHV* y *blaCTXM* (65%) y el gen *blaTEM* (50%). El 34.9% de las cepas amplificaron los cuatro genes, 25.6% tres, 20.9% dos y 4.7% un gen, y el restante 13.9% no mostró amplificación. Por otra parte, los datos de PCR para genes que codifican resistencia a las quinolonas mostró al gen *qnrB* con el 86.4% y al *qnrS* con el 11.9% de los aislados de *E. coli*, mientras que no se evidenció la presencia del gen *qnrA* (Figura 4).

Se obtuvo las amplificaciones de los genes con el protocolo establecido revelando bandas de 700, 700, 500 y 550 pb para los genes *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M1* y *AmpC*, respectivamente (Figuras 5 y 6).

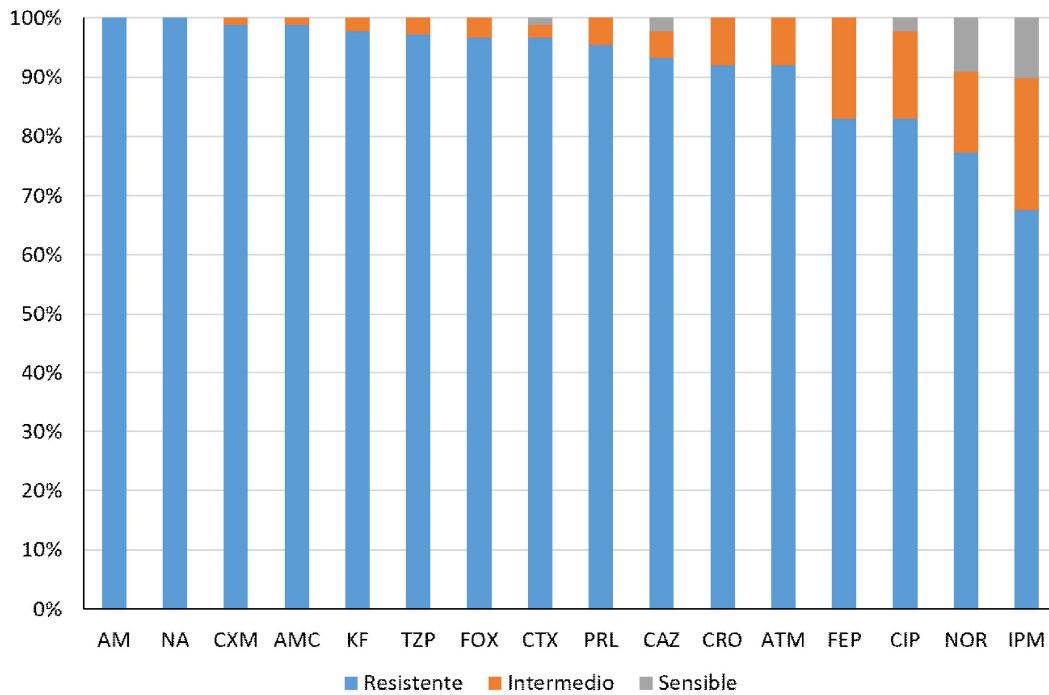


Figura 2. Patrón de resistencia de 176 aislamientos de *E. coli* a 16 agentes antimicrobianos: AM: ampicilina; NA: ácido nalidíxico; CXM: cefuroxima; AMC: amoxicilina/ácido clavulánico; KF: cefalotina; TZP: piperacilina/tazobactam; FOX: cefoxitina; CTX: cefotaxime; PRL: piperacilina; CAZ: ceftazidima; CRO: ceftriaxona; ATM: aztreonam; FEP: cefepime; CIP: ciprofloxacina, NOR: norfloxacina

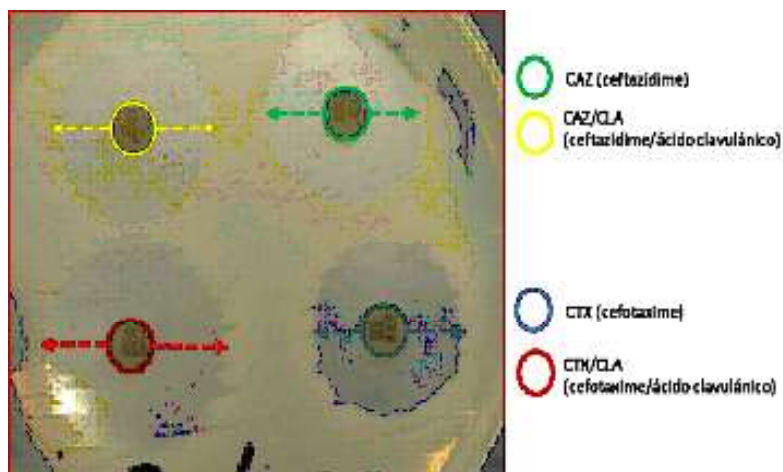


Figura 3. Prueba confirmatoria fenotipo ESLB: método del doble disco. Se observa el aumento del halo en más de 5 mm con los sensibilizadores de mezcla de cefalosporina y ácido clavulánico, con relación al disco de cefalosporina sola (CLSI, 2017)

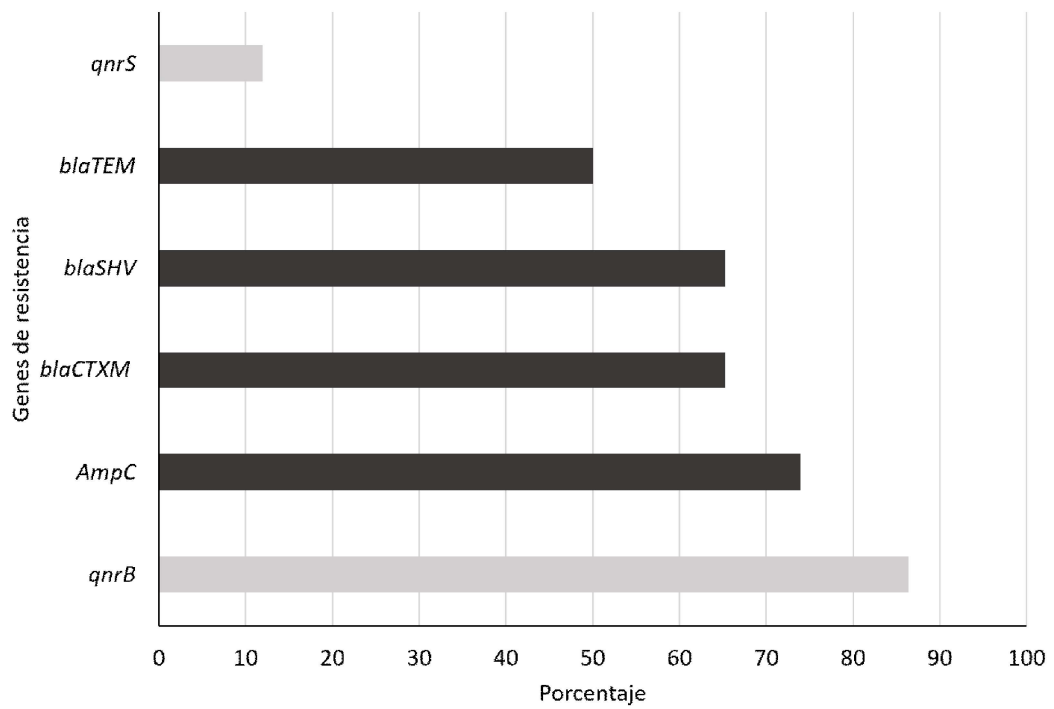


Figura 4. Porcentaje de genes de resistencia de los aislados de *E. coli* a antibióticos betalactámicos: genes *AmpC*; *blaSHV*; *blaCTXM* y *blaTEM* y quinolonas: genes *qnrS* y *qnrB*

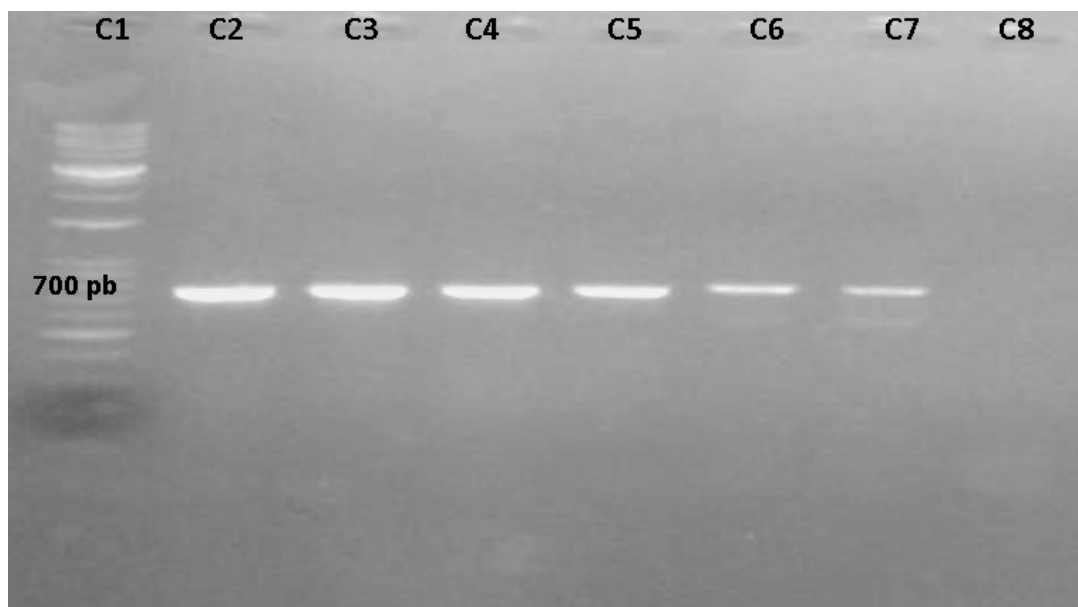


Figura 5. Gel de electroforesis del gen *blaSHV*: C1: 1.5 Kb; C2: Control positivo; C3: Mx1; C4: Mx2; C5: Mx3; C6: Mx4; C7: Mx5; C8: control negativo

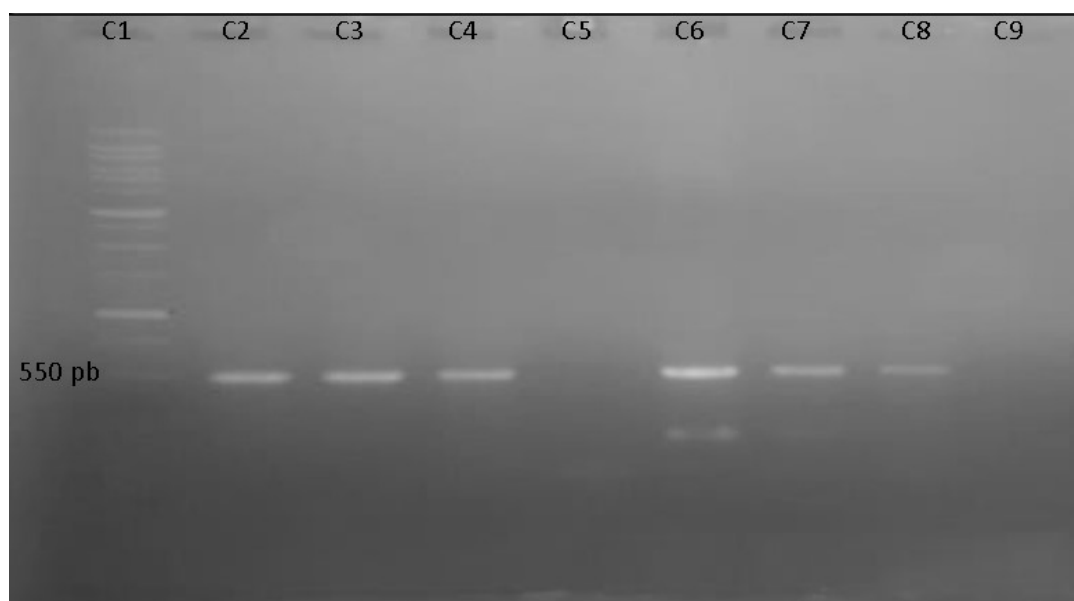


Figura 6. Gel de electroforesis de gen *AmpC*: C1: 1 Kb, C2: Control positivo; C3: Mx1; C4: Mx2; C5: Mx3; C6: Mx4; C7: Mx5; C8: Mx6; C9: Control negativo

DISCUSIÓN

El estudio evidenció la multirresistencia de las cepas de *E. coli* a los antibióticos evaluados por el método de difusión en disco. Todas las cepas presentaron resistencia a la ampicilina y el 95% a todos los betalactámicos enfrentados, resaltando la producción de ESBL en el 71% de las cepas. En este sentido, diversos estudios muestran la presencia de bacterias portadoras de genes que codifican resistencia a antibióticos betalactámicos (Cuadro 2).

Se observó una elevada prevalencia del gen *AmpC*, que codifica para la resistencia a las cefamicinas (cefotetán y cefotaxima), oximinocefalosporinas (ceftazidima, cefotaxime y ceftriaxona), monobactámicos (aztreonam) y aminopenicilinas combinadas con inhibidores de betalactamasas (amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbac-

tam). Este gen se ha caracterizado por estar presente en especies y géneros bacterianos como *Enterobacter*, *Providencia*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* y *Citrobacter freundii*; sin embargo, en *E. coli* puede identificarse aunque con una expresión baja (Lopez *et al.*, 2016). Muzo (2017) comprobó el fenotipo de cepas *ESLB* (80%) y *AmpC* (20%), lo cual evidencia la amplia difusión de bacterias resistentes a antibióticos betalactámicos en pollos broiler de Galápagos destinados para el consumo humano. Los hallazgos de Castellanos (2017) en aves de corral en Colombia indican una 100% de prevalencia del gen *bla TEM*, así como resistencia causada por genes como *bla CMY-2* y *bla SHV-12*. La diseminación de estas cepas resistentes está dada por plásmidos Inc11/ST12 homogéneos, los que sugiere que la propagación de la resistencia está mediada principalmente por la transferencia horizontal de genes (Castellanos *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Estudios de genes de resistencia a antibióticos betalactámicos

Aislamientos <i>E. coli</i> ESLB	<i>CTX-M</i> (%)	<i>SHV</i> (%)	<i>TEM</i> (%)	<i>AmpC</i> (%)	Referencia
196	59.1				Abreu <i>et al.</i> (2014)
134	8.9 <i>CTX-M-1</i> 17.2 <i>CTX-M-2</i> 7.5 <i>CTXM-9</i>	67.7	77.6	11.2	Ghoudsiet <i>al.</i> (2015)
78	89.0	47.0	27.0	12.0	Reich <i>et al.</i> (2013)
176	65.2	65.2	50.0	73.9	Este estudio

En la resistencia de 100% encontrada para las cepas al NA y 83% a la CIP, el gen *qnrB* amplificó en el 86.4% de las cepas aisladas y el *qnrS* en el 11.9%, sin evidenciarse el gen *qnrA*. Todas las cepas con resistencia presentaban 1 o 2 genes, similares a los resultados de Cota-Rubio (2014) con *E. coli* aislada de pollos enfermos, quienes obtuvieron un porcentaje similar de resistencia al NA y de 79% a CIP. De igual forma, el 9% de los aislamientos portadores del gen *qnr* presentaron sensibilidad intermedia a la ciprofloxacina y a la norfloxacina en las pruebas de difusión en disco.

Aguilar *et al.* (2015) encontraron en aislados de *E. coli* provenientes de canales de bovinos, resistencia al ácido nalidíxico (64%), seguida de ampicilina (32%), ciprofloxacino (10%), ceftazidima y cefotaxima (ambos con 1.3%), porcentajes de resistencia menores a los obtenidos en este trabajo. La alta circulación de bacterias resistentes en la producción avícola se manifiesta; así Bezerra *et al.* (2016) reporta resistencia a más de tres grupos de antibióticos, Hernández *et al.* (2017) encontraron 93.3% de multiresistencia y Mainali *et al.* (2013) identificaron 79.2% de resistencia a uno o más de los antibióticos evaluados, donde el 54.3% fueron resistentes a tres o más antimicrobianos y el 10.8% a cinco o más antimicrobianos.

CONCLUSIONES

Los aislados de *E. coli* de muestras de órganos de pollos broiler de granjas avícolas de Santander, Colombia, portan genes de resistencia a antibióticos betalactámicos como *Amp-C* (74%), *blaCTX-M* (65%), *blaSHV* (65%) y *blaTEM* (50%), y a quinolonas *qnrB* (86.4%) y *qnrS* (11.9%), pero sin evidenciar el gen *qnrA*.

Agradecimientos

Los investigadores expresan su agradecimiento a la Universidad de Santander (UNDES), a la Universidad de Boyacá y a la Universidad Autónoma del Estado de México; asimismo, a las empresas avícolas que apoyaron el proceso.

LITERATURA CITADA

1. Aguilar-Montes de Oca S, Talavera-Rojas M, Soriano-Vargas E, Barba-León J, Vazquez-Navarrete J. 2015. Determination of extended spectrum β -lactamases/AmpC β -lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from bovine carcasses in Mexico. Trop Anim Health Pro 47: 975-981. doi: 10.1007/s11250-015-0818-3

2. **Awad A, Arafat N, Elhadidy M. 2016.** Genetic elements associated with antimicrobial resistance among avian pathogenic *Escherichia coli*. *Ann Clin Microb Anti* 15: 59. doi: 10.1186/s12941-016-0174-9
3. **Berglund B. 2015.** Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infect Ecol Epidemiol* 5: 28564. doi: 10.3402/iee.v5.28564
4. **Bezerra W, da Silva I, Vanconcelos R, Machado D, Lopes E, Lima S, Teixeira R. 2016.** Isolation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (O: 6, 8) in broiler chickens. *Acta Sci Vet* 44: 1364. doi: 10.22456/1679-9216.80957
5. **Borie C, Monreal Z, Guerrero P, Sánchez ML, Martínez J, Arellano C, Prado V. 1997.** Prevalencia y caracterización de *Escherichia coli* enterohemorrágica aisladas de bovinos y cerdos sanos faenados en Santiago, Chile. *Arch Med Vet* 29: 205-212. doi: 10.4067/S0301-732X1997000200005
6. **Bueno DJ, López N, Rodríguez F, Procura F. 2016.** Producción de pollos parrilleros en países sudamericanos y planes sanitarios nacionales para el control de *Salmonella* en dichos animales. *Agron Noroeste Argentino* 36: 11-37.
7. **Castellanos LR, Donado-Godoy P, León M, Clavijo V, Arevalo A, Bernal JF, Timmerman AJ, et al. 2017.** High heterogeneity of *Escherichia coli* sequence types harbouring ESBL/AmpC genes on IncI1 plasmids in the Colombian poultry chain. *Plos One* 12: e0170777. doi: 10.1371/journal.pone.0170777
8. **[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. [Internet]. Available in: <http://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/clsi%202017.pdf>
9. **Cota-Rubio E, Hurtado-Ayala L, Pérez E, Alcántara L. 2014.** Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo. *Rev Iberoam Cienc* 1: 75-85.
10. **Cunha MP, Saidenberg AB, Moreno AM, Ferreira AJ, Vieira MA, Tardelli TA, Knobl T. 2017.** Pandemic extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) clonal group O6-B2-ST73 as a cause of avian colibacillosis in Brazil. *Plos One* 12: e0178970. doi: 10.1371/journal.pone.0178970
11. **Dziva F, Stevens MP. 2008.** Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* in their natural hosts. *Avian Pathol* 37: 355-366. doi: 10.1080/03079450802216652
12. **Fàbrega A, Sánchez-Céspedes J, Soto S, Vila J. 2008.** Quinolone resistance in the food chain. *Int J Antimicrob Ag* 31: 307-315. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2007.12.010
13. **[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2011.** Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales. [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i0574s/i0574s00.htm>
14. **Ghodousi A, Bonura C, Di Noto AM, Mammìna C. 2015.** Extended-spectrum β -lactamase, AmpC-producing, and fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in retail broiler chicken meat, Italy. *Foodborne Pathog Dis* 12: 619-625. doi: 10.1089/fpd.2015.1936
15. **Guabiraba R, Schouler C. 2015.** Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS Microbiol Lett* 362: fnv118. doi: 10.1093/femsle/fnv118
16. **Hernández R, Báez M, Alfonso P, Espinosa, I. 2017.** Susceptibilidad antimicrobiana y formación de biopelícula en aislados de *Escherichia coli* procedentes de gallinas ponedoras. *Rev Salud Anim* 39: 1-13.

17. **Hessain AM, Al-Arfaj AA, Zakri AM, El-Jakee JK, Al-Zogibi OG, Hemeg HA, Ibrahim IM. 2015.** Molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 recovered from meat and meat products relevant to human health in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci* 22: 725-729. doi: 10.1016/j.sjbs.-2015.06.009
18. **Huijbers PM, van Hoek AH, Graat EA, Haenen AP, Florijn A, Hengeveld PD, van Duijkeren E. 2015.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and in people living and/or working on organic broiler farms. *Vet Microbiol* 176 :120-125. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.12.010
19. **Hussain A, Shaik S, Ranjan A, Nandanwar N, Tiwari SK, Majid M, Baddam R, et al. 2017.** Risk of transmission of antimicrobial resistant *Escherichia coli* from commercial broiler and free-range retail chicken in India. *Front Microbiol* 8: 2120. doi: 10.3389/fmicb.2017.02120
20. **Labro MT, Bryskier JM. 2014.** Antibacterial resistance: an emerging 'zoonosis'? *Expert Rev Anti-Infe* 12: 1441-1461. doi: 10.1586/14787210.-2014.976611
21. **LeStrange K, Markland SM, Hoover DG, Sharma M, Kniel KE. 2017.** An evaluation of the virulence and adherence properties of avian pathogenic *Escherichia coli*. *One Health* 4: 22-26.
22. **Lopez D, Torres M, Prada C. 2016.** Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: impacto en la salud pública en Colombia. *Universidad y Salud* 18: 190-202.
23. **López DP, Torres MI, Castañeda LM, Prada CF. 2016.** Determinación de genes que codifican la resistencia de betalactamasas de espectro extendido en bacilos Gram negativos aislados de urocultivos. *Rev Invest Salud Univ Boyacá* 3: 107-126.
24. **Madec JY, Haenni M, Nordmann P, Poirel L. 2017.** Extended-spectrum β -lactamase/AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in animals: a threat for humans? *Clin Microbiol Infec* 23: 826-833. doi: 10.1016/j.cmi.2017.-01.013
25. **Mainali C, McFall M, King R, Irwin R. 2013.** Evaluation of antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolates of broiler chickens at slaughter in Alberta, Canada. *J Food Protect* 76: 2045-2051. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-203
26. **Maluta RP, Logue CM, Casas MR, Meng T, Guastalli EAL, Rojas TC, Montelli AC, et al. 2014.** Overlapped sequence types (STs) and serogroups of avian pathogenic (APEC) and human extra-intestinal pathogenic (ExPEC) *Escherichia coli* isolated in Brazil. *Plos One* 9: e105016. doi: 10.1371/journal.pone.0105016.t002
27. **Manges AR. 2016.** *Escherichia coli* and urinary tract infections: the role of poultry-meat. *Clin Microbiol Infec* 22: 122-129. doi: 10.1016/j.cmi.2015.11.010
28. **Mellata M, Johnson JR, Curtiss R. 2018.** *Escherichia coli* isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. *Zoonoses Public Hlth* 65: 103-113. doi: 10.1111/zph.12376
29. **Mendonça N, Figueiredo R, Mendes C, Card RM, Anjum MF, da Silva GJ. 2016.** Microarray evaluation of antimicrobial resistance and virulence of *Escherichia coli* isolates from Portuguese poultry. *Antibiotics* 5: 4. doi: 10.3390/antibiotics5010004

30. **Mitchell NM, Johnson JR, Johnston B, Curtiss R, Mellata M. 2015.** Zoonotic potential of *Escherichia coli* isolates from retail chicken meat products and eggs. *Appl Environ Microb* 81: 1177-1187. doi: 10.1128/AEM.03524-14
31. **Molina F, López-Acedo, Tabla R, Gómez A, Rebollo JE. 2015.** Improved detection of *Escherichia coli* and coliform bacteria by multiplex PCR. *BMC Biotechnol* 15: 48.
32. **Moulin-Schouleur M, Schouler C, Tailliez P, Kao MR, Brée A, Germon P, Oswald E, et al. 2006.** Common virulence factors and genetic relationships between O18:K1:H7 *Escherichia coli* isolates of human and avian origin. *J Clin Microbiol* 44: 3484-3492. doi: 10.1128/JCM.00548-06
33. **Muzo S. 2017.** Aislamiento y fenotipificación de cepas Blee y Ampc de *Escherichia coli* procedentes de pollos broiler en la isla Santa Cruz provincia de Galápagos. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Ecuador: Univ. Central del Ecuador. 62 p.
34. **Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, Bonomo RA; International Klebsiella Study Group. 2009.** Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Ch* 47: 3554-3560. doi: 10.1128/aac.47.-11.3554-3560.2003
35. **Perello M. 2009.** Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras. Tesis Doctoral. Madrid, España: Univ. Complutense de Madrid. 184 p.
36. **Reich F, Atanassova V, Klein G. 2013.** Extended-spectrum β -lactamase- and AmpC-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. *Emerg Infect Dis* 19: 1253-1259. doi: 10.3201/eid1908.120879.
37. **República de Colombia. 2016.** Ley 1774 del 6 enero de 2016. [Internet]. Disponible en: Obtenido de <http://es.presidencia.gov.co/normativa/normativa/LEY%201774%20DEL%206%20DE%20ENERO%20DE%202016.pdf>
38. **Sadat S, Goudarzi M, Sabzehali F. 2016.** Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. *J Acute Dis* 5: 71-76.
39. **Salgado-Muñoz TG, Morones-Esquivel I, Gonzaga-López TI, Matamoros-Mejía AP, Terán-González JO, Arteaga-Vásquez S, Castro-D'Franchis LJ, et al. 2016.** Resistencia a quinolonas en enterobacterias con betalactamasa. *Med Interna Méx* 32: 277-283.
40. **Staji H, Tonelli A, Zahraei Salehi T, Mahdavi A, Shahroozian E, Salimi Bejestani MR, Mehdizade Mood S, et al. 2018.** Distribution of antibiotic resistance genes among the phylogroups of *Escherichia coli* in diarrheic calves and chickens affected by Colibacillosis in Tehran, Iran. *Arch Razi Inst* 73: 131-137. doi: 10.22092/ari.2018.116502
41. **Stockwell VO, Duffy B. 2012.** Use of antibiotics in plant agriculture. *Rev Sci Tech OIE* 31: 199-210. doi: 10.20506/rst.31.1.2104
42. **Stromberg ZR, Johnson JR, Fairbrother JM, Kilbourne J, Van Goor A, Curtiss R, Mellata M. 2017.** Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *PLoS One* 12: e0180599. doi: 10.1371/journal.pone.0180599
43. **Subedi M. 2018.** Antibiotic resistance pattern and virulence genes content in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from broiler chickens in Chitwan, Nepal. *BMC Vet Res* 14: 113. doi: 10.1186/s12917-018-1442-z
44. **Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. 2008.** Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio* 12: 217-226.

45. **Vetting MW, Hegde SS, Wang M, Jacoby GA, Hooper DC, Blanchard JS. 2011.** Structure of QnrB1, a plasmid-mediated fluoroquinolone resistance factor. *J Biol Chem* 286: 25265-25273. doi: 10.1074/jbc.M111.226936
46. **Zhu Ge X, Jiang J, Pan Z, Hu L, Wang S, Wang H, Leung FC, Dai J, Fan H. 2014.** Comparative genomic analysis shows that avian pathogenic *Escherichia coli* isolate IMT5155 (O2:K1:H5; ST complex 95, ST140) shares close relationship with ST95 APEC O1:K1 and human ExPEC O18:K1 strains. *PLoS One* 9: e112048. doi: 10.1371/journal.pone.0112048