



## Genes de resistencia a aislados de *Escherichia coli* en pollos de engorda



Diana López-Velandia <sup>a\*</sup>

Edna Carvajal-Barrera <sup>b</sup>

Egberto Rueda-Garrido <sup>c</sup>

Martín Talavera- Rojas <sup>d</sup>

María Vásquez <sup>b</sup>

María Torres-Caycedo <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Boyacá-Tunja-Colombia.

<sup>b</sup> Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Grupo de investigación CliniUDES, Bucaramanga, Colombia.

<sup>c</sup> Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Grupo de investigación en Ciencias Agropecuarias GICA, Bucaramanga, Colombia.

<sup>d</sup> Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM, Toluca, Estado de México. México.

\*Autor de correspondencia: [dplopez@uniboyaca.edu.co](mailto:dplopez@uniboyaca.edu.co)

### Resumen:

Debido a la demanda de los consumidores, la producción avícola se ha incrementado anualmente, lo que conlleva el uso de aditivos tales como los antibióticos para favorecer las condiciones de cría; esto aumenta la deficiencia en la composición de la microbiota intestinal de los animales de producción y puede generar cambios microbiológicos y genéticos. Dicha microbiota puede llegar a los humanos a través de la cadena alimentaria, generando una posible transferencia horizontal de genes que codifican la resistencia a los

antibióticos. El objetivo fue identificar los perfiles de resistencia y los genes que la codifican. A partir de 200 pollos, se aislaron 35 cepas de *Escherichia coli* con fenotipo de resistencia a betalactamasas de espectro extendido, procedentes de pollos sanos de granjas de producción de Santander (Colombia). Se identificó en un 83 % el gen *AmpC*, en 86 % el gen *blaCTXM*, en 54 % el gen *blaSHV*, y en 57 % el gen *blaTEM*. En cuanto a los genes que codifican la resistencia a las quinolonas, se identificó el 94 % del gen *qnrB*, el 9 % del gen *qnrC* y el 0 % del gen *qnrA*. La coexistencia de los genes que codifican para la resistencia a los antibióticos es un grave problema que requiere vigilancia; ante esto, se deben generar estrategias de control para evitar la propagación a través de la cadena alimentaria, así como estrategias para el control del uso de antibióticos en la producción.

**Palabras clave:** Aves de corral, Resistencia, Gen, Antibióticos.

Recibido: 28/02/2020

Aceptado: 25/11/2021

## Introducción

En los países latinoamericanos, el pollo es uno de los alimentos más consumidos por su facilidad para conseguirlo, su bajo precio, su alto contenido en proteínas y su bajo contenido de lípidos: es la segunda carne favorita<sup>(1)</sup>. La producción de aves de corral aumenta cada año; por eso se han empleado aditivos como los antibióticos para favorecer las condiciones de crianza, Estos aditivos aumentan las deficiencias en la composición de la microbiota intestinal. Cuando los pollos nacen, su intestino delgado es inmaduro y requiere de cambios morfológicos, bioquímicos y moleculares que ocurren durante las dos primeras semanas de vida; a medida que el animal crece, se establece una comunidad microbiana que es más compleja a través del tiempo. El consumo de antibióticos hace que los trastornos digestivos sean más frecuentes y produce una baja resistencia natural a la colonización por microorganismos patógenos<sup>(2,3)</sup>. Los residuos de antibióticos pueden llegar al consumidor a través de la cadena alimentaria provocando reacciones alérgicas, resistencia bacteriana y alteración de la microflora. En diversos países existen dificultades para la comercialización debido al incumplimiento de las normas establecidas en relación con las concentraciones de sustancias que se presentan en los alimentos. Asimismo, se han desarrollado varios estudios en los que se refieren patógenos bacterianos, incluyendo aislamientos resistentes que pueden ser transmitidos de los pollos a los seres humanos<sup>(4)</sup>.

En general, desde hace ya varias décadas no se utilizan ya los antibióticos como promotores del crecimiento en las dietas de los animales en todo el mundo. Su uso ha causado una gran preocupación, ya que la salud humana puede verse afectada al generarse resistencia bacteriana, pues se emplean antibióticos utilizados para tratar infecciones en los humanos. Los antibióticos betalactámicos y las fluoroquinolonas son agentes de amplio espectro comúnmente utilizados para el tratamiento de infecciones; la resistencia a este tipo de antimicrobianos ha surgido fácilmente. Los últimos informes han demostrado que la resistencia a este tipo de antibióticos puede provocar varios impactos, que dependen de las cepas bacterianas<sup>(5)</sup>. Algunos países presentan un uso restringido de antibióticos como promotores del crecimiento, por ejemplo: Suecia, desde 1986; Finlandia, desde 1995<sup>(6)</sup>, y la Unión Europea, desde el primero de enero de 2006<sup>(7)</sup>, entre otros. En Colombia, el uso de antibióticos está regulado por diferentes resoluciones y decretos; sin embargo, no hay restricciones para la comercialización de antibióticos para uso veterinario, por lo que, en algunos casos, el suministro es empírico y sin prescripción especializada<sup>(8)</sup>. Dichos impactos pueden ser causados por mutaciones en los genes cromosómicos y por la presencia de plásmidos conjugativos y no conjugativos en los genes<sup>(9)</sup>. El objetivo de este artículo era establecer los perfiles de resistencia y los genes que la codifican.

## Material y métodos

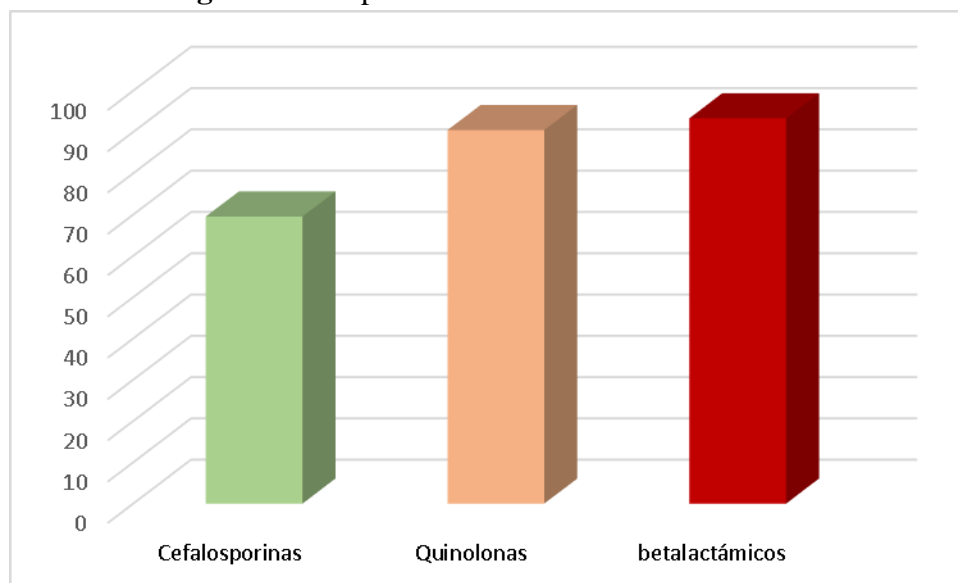
Con un hisopo estéril se tomaron muestras de diferentes órganos (tráquea, intestinos, sacos aeroabdominales profundos y superficiales, pericardio, bolsa de Fabricio, intestino, contenido intestinal y páncreas) de 200 pollos de producción; estas muestras se sembraron en caldo BHI y se incubaron a 37 °C durante 24 h; posteriormente fueron sembradas en agar Mac Conkey y luego incubadas a 37 °C durante 24 h. Se aislaron 35 cepas de *Escherichia coli* con fenotipo de resistencia a betalactamasas de espectro extendido (BLEE) de pollos de engorda sanos provenientes de granjas de Santander (Colombia); se realizó la confirmación microbiológica de género y especie mediante el sistema BBL Crystal<sup>®</sup>, y se llevaron a cabo las pruebas de sensibilidad mediante el método Kirby Bauer, siguiendo las directrices del CLSI (2017), utilizando la cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo y la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 como testigo negativo. Los discos de susceptibilidad empleados fueron ceftriaxona (CRO 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>), cefotaxima (CTX 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>), cefepima (FEP 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>), ácido nalidíxico (FEP 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>) ciprofloxacina (CIP 1 µg) (Oxoid<sup>®</sup>), norfloxacina (NOR 2 µg) (Oxoid<sup>®</sup>), piperacilina (PRL 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>), aztreonam (ATM 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>) y amoxicilina/ácido clavulánico (AMC 30 µg) (Oxoid<sup>®</sup>). Las cepas se cultivaron en agar Brain Heart Infusion (BHI) a 37 °C toda la noche en agitación para realizar la extracción de ADN según las instrucciones del fabricante (kit de reactivos para extracción de ADN Wizard<sup>®</sup>), se consideraron cepas ideales en concentración  $\geq 100\mu\text{g}/\mu\text{L}$  y relación ADN/proteínas A260/280 para determinar la pureza

óptima con un índice de OD entre 1,8 a 2,0 (espectrofotómetro de micro volumen MaestroNano®). Se identificaron por PCR de punto final los genes *blaTEM* (700 pb), *blaSHV* (700 pb), *blaCTX* (500 pb) y *Amp-C* (550 pb) con el protocolo modificado por López *et al.*<sup>(10)</sup>; y los genes *qnrA* (580 pb), *qnrB* (264 pb), *qnrC* (428 pb) con el protocolo de Aguilar *et al.*<sup>(11)</sup> Los productos amplificados se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1% con TAE al 1% y *Safeview classic* como colorante. Los geles se visualizaron utilizando el iluminador Led Ultra Slim.

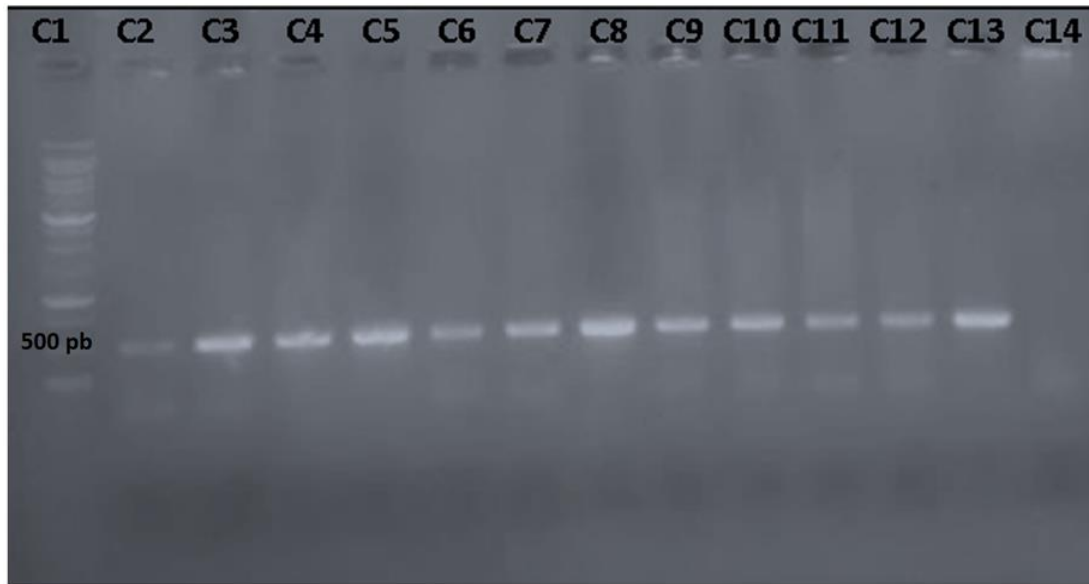
## Resultados

Los perfiles de susceptibilidad fueron del 63 % (n= 22/35) para la ceftriaxona (Oxoid®), del 69 % (n= 23/35) para la cefepima (Oxoid®), del 77 % (n= 27/35) para la cefotaxima (Oxoid®), del 86 % (n= 30/35) para la norfloxacin (Oxoid®), del 89 % (n= 31/35) para la ciprofloxacina (Oxoid®), del 91 % (n= 32/35) para la piperacilina (Oxoid®), del 91 % (n =32/35) para el aztrenam (Oxoid®), del 97 % (n= 34/35) para la amoxicilina/ácido clavulánico (Oxoid®) y del 97 % (n= 34/35) para el ácido nalidíxico (Oxoid®). En cuanto a los grupos de antibióticos, se presentó 70 % de resistencia de *E. coli* a las cefalosporinas, un 90 % de resistencia a las quinolonas y un 93 % de resistencia a las betalactamasas (Figura 1). En cuanto a los genes, se identificaron fragmentos del tamaño esperado para los genes que codifican la resistencia a las betalactamasas, y se identificó el 83 % del gen *AmpC*, el 86 % del gen *blaCTXM*, el 54 % del gen *blaSHV* y el 57 % del gen *blaTEM* (Figure 2). En cuanto a los genes que codifican la resistencia a las quinolonas, se identificó el 94 % del gen *qnrB*, el 9 % del gen *qnrC* y el 0 % del gen *qnrA* (Figura 2 y Cuadro 1).

**Figura 1:** Grupos de resistencia a los antibióticos



**Figura 2:** Gel de electroforesis del gen *blaCTMX*



C1= 1Kb, C2= Control positivo, C3= Mx1, C4= Mx2, C5=Mx3, C6= Mx4, C7= Mx5, C8=Mx6, C9= Mx7, C10= Mx8, C11= Mx9, C12= Mx10, C13= Mx11, C14= control negativo.

**Cuadro 1:** Resultados de los genes amplificados

Muestra	<i>Am pc</i>	<i>blaCT X-M</i>	<i>blaS HV</i>	<i>blaT EM</i>	<i>qnr A</i>	<i>qnr B</i>	<i>qnr S</i>	CR O	CT X	FE P	AM C	CI P	NO R	PR L	AT M
1	P	P	P	P	N	N	N	R	I	I	R	R	S	I	I
2	P	P	N	P	N	N	N	I	R	S	R	I	I	R	R
3	P	P	P	P	N	P	P	R	R	R	R	R	R	R	R
4	N	N	N	N	N	P	P	S	I	S	R	R	R	R	R
5	P	P	P	N	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
6	P	P	P	P	N	P	N	R	I	R	R	I	I	R	R
7	P	P	P	N	N	P	N	S	I	S	R	R	R	R	R
8	P	P	N	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
9	P	P	N	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
10	N	N	P	N	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
11	P	N	N	P	N	P	N	I	R	I	R	R	I	R	I
12	P	P	N	P	N	P	N	S	S	S	R	I	R	R	R
13	P	P	P	N	N	P	N	I	R	R	R	R	R	R	R
14	P	P	N	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
15	P	P	P	N	N	P	N	R	R	I	R	R	R	R	R
16	P	N	N	P	N	P	N	S	S	S	R	R	R	R	R
17	P	P	N	N	N	P	N	S	S	S	R	R	R	I	R
18	P	P	P	N	N	P	N	I	R	I	R	R	R	R	R
19	P	P	P	N	N	P	N	S	R	R	R	R	R	R	R

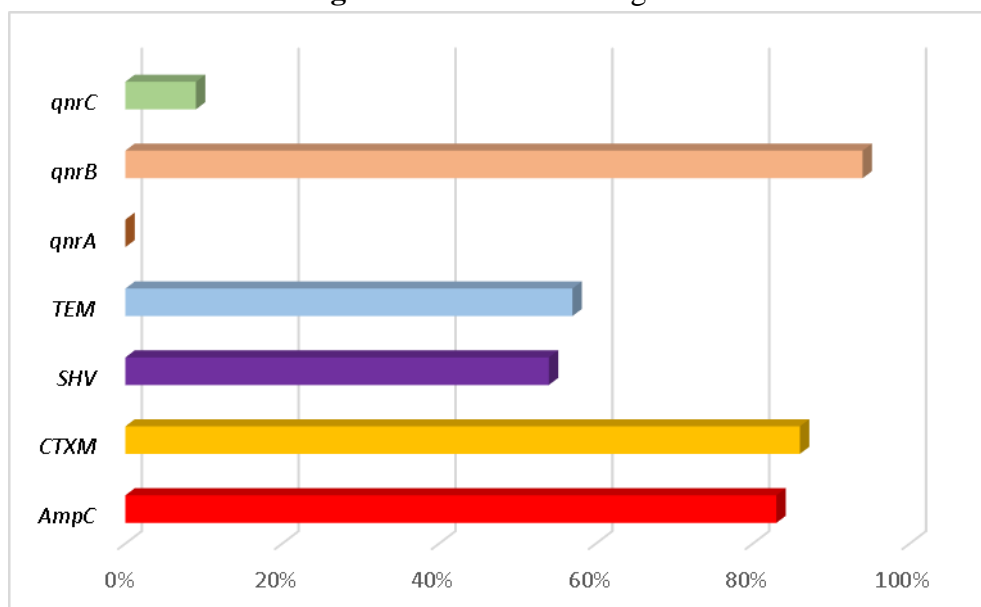
20	P	P	P	P	N	P	P	R	R	R	R	R	R	R	R
21	P	P	P	N	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
22	P	N	P	N	N	P	N	S	S	S	R	R	R	R	R
23	P	P	N	N	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
24	P	P	P	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
25	P	P	P	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
26	P	P	N	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
27	N	N	N	N	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
28	P	P	P	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
29	P	P	N	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
30	P	P	P	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
31	N	N	N	N	N	P	N	I	R	R	R	R	R	R	R
32	P	P	N	P	N	P	N	S	R	R	R	R	R	R	R
33	N	P	P	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
34	P	P	P	P	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R
35	N	N	N	N	N	P	N	R	R	R	R	R	R	R	R

P= positivo; N= negativo; R= resistente; S= sensitivo; I= intermedio.

CRO= ceftriaxona; CTX= cefotaxima; FEP= cefepima; AMC= amoxicilina/ ácido clavulánico. CIP= ciprofloxacina; NOR= norfloxacina; PRL= piperacilina; ATM= aztreonam.

## Discusión

A partir de los perfiles de susceptibilidad, se puede notar que las cepas presentaron multirresistencia, teniendo en cuenta que éstas tuvieron resistencia a más de cuatro antibióticos; el 49 % presentó resistencia a todos los antibióticos; estos resultados generan una gran preocupación. En Corea del Sur, se encontró resistencia incluso a once antibióticos, incluyendo la ciprofloxacina<sup>(12)</sup>. Yurong *et al.* obtuvieron resultados similares al encontrar resistencia a más de cinco agentes antimicrobianos, entre los que destacan la ciprofloxacina y la levofloxacina<sup>(13)</sup>. En cuanto a los grupos de antibióticos, destaca que el 93 % presentó resistencia a los betalactámicos, seguido de las quinolonas en un 90 % y las cefalosporinas en un 70 % (Figura 3), antimicrobianos que se emplean para el uso diario de infecciones bacterianas en humanos. En Corea se registraron casos similares de resistencia a la ampicilina (75 %), seguida de la tetraciclina (69 %) y la ciprofloxacina (65 %)<sup>(14)</sup>. Mientras que Varga *et al.*<sup>(15)</sup> identificaron resistencia a los betalactámicos, las sulfonamidas y las tetraciclinas en las aves de corral. En Colombia, se aislaron bacterias resistentes a múltiples fármacos como el ceftiofur, la enrofloxacin, el ácido nalidíxico y la tetraciclina, en la carne de aves de corral de tiendas independientes y de un centro de distribución de la cadena principal, lo que genera una alarma para las entidades sanitarias del país<sup>(16)</sup>.

**Figura 3:** Prevalencia de genes

Dentro del ámbito de la resistencia, es necesario confirmar los fenotipos de resistencia mediante PCR identificando los genes que la codifican para las betalactamasas; entre éstos se pueden encontrar los genes *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX* y *Amp-C*<sup>(17)</sup>; y para las fluoroquinolonas, los genes son *qnrA*, *qnrB* y *qnrC*<sup>(11)</sup>. Con base en los perfiles analizados arriba, se puede notar la similitud con lo reportado por otros autores. Investigaciones realizadas en Brasil expusieron que los aislamientos que presentan los genes *blaCTX-M-2* o *blaCMY-2* tienden a acumular resistencia a un mayor rango de antimicrobianos no betalactámicos<sup>(4)</sup>. En China, los genes que predominaron en los aislamientos fueron *blaCTXM* y *blaTEM*; asimismo, se encontraron variantes de *blaCMY*. Por otra parte, no se identificó *blaSHV*<sup>(13)</sup>, como tampoco en los estudios realizados en Pakistán<sup>(18)</sup>, mientras que en la presente investigación éste se presentó en un 57 %. Alonso *et al* refieren que la diseminación del *blaSHV* puede ocurrir por transferencia horizontal, principalmente causada por plásmidos, lo que podría facilitar la diseminación de este gen<sup>(19)</sup>. En cuanto a *AmpC*, en el Reino Unido, se analizaron pollos importados, encontrando un 23 % de este gen, y también se identificaron mutaciones de éste<sup>(20)</sup>. Sin embargo, en países como Ecuador se obtuvo una alta prevalencia del gen *blaCTXM*, resultado que difiere del obtenido en el presente estudio<sup>(21)</sup>.

El uso de antibióticos como promotores del crecimiento en los animales genera una gran preocupación debido a la propagación de bacterias resistentes, ya que el pollo tiene una fácil comercialización. En el presente estudio se observa que el 26 % de las cepas presentaron los cuatro genes; el 46 % presentaron tres genes; el 14 %, dos genes; el 3 %, un gen, y en el 4 % no se observó ningún gen. Las técnicas de biología molecular tienen una gran relevancia, ya

que a través de ellas se confirman los fenotipos de resistencia por mutaciones puntuales en los genes objetivo en el caso de las bacterias susceptibles<sup>(22)</sup>.

Los genes *qnr* están mediados por plásmidos, transmisibles por conjugación, lo que se relaciona con su potencial de circulación. El cebador se reportó en 1998, y desde entonces se han reportado cinco tipos de genes *qnr* (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, and *qnrD*), con más de 30 alelos<sup>(23)</sup>. Los animales pueden actuar como reservorios de una serie de infecciones zoonóticas, que pueden transmitirse al ser humano por contacto directo o a través de la cadena alimentaria<sup>(24)</sup>. Kilani *et al* identificaron en muestras de animales un 17.6 % de genes de tipo *qnr*, así como genes de betalactamasas, por lo que son similares a los identificados en el presente estudio<sup>(25)</sup>. Clemente *et al*<sup>(26)</sup> detectaron en aislamientos de *E. coli* el gen *gyrA* en animales productores de alimentos que en conjunto expresaban el gen *blaCMY-2*. En la investigación realizada por Montes *et al* se reportó sólo el 1% del gen *gyrB* y del gen *gyrA* 0%<sup>(11)</sup>, mientras que en Quito se observó la presencia del gen *qnrB* en el 36 % de los aislamientos de pollos de engorda: resultados similares a los reportados en Brasil, en los que se pudieron identificar variantes del gen *gyr* en aislados de alimentos y humanos, observando una menor susceptibilidad a la ciprofloxacina<sup>(27)</sup>. Según los resultados obtenidos en la presente investigación sobre la presencia de genes que codifican para la resistencia a las quinolonas, ésta es alta en comparación con otras investigaciones realizadas por otros autores; diversos estudios han encontrado que los genes *qnr* están altamente distribuidos en bacterias *E. coli* aisladas de humanos sanos y de animales domésticos y de granja<sup>(9)</sup>.

## Conclusiones e implicaciones

La coexistencia de genes que codifican la resistencia a los antibióticos es un problema grave que requiere vigilancia. Ante esta situación se deben generar estrategias de control para evitar la propagación a través de la cadena alimentaria, ya que el pollo es uno de los alimentos que con mayor frecuencia forma parte de la canasta del mercado. Estos resultados reflejan la resistencia hallada principalmente para los antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared y la síntesis de proteínas, como las cefalosporinas y la gentamicina respectivamente. Esto parece demostrar la teoría de la producción de betalactamasas de espectro extendido, mecanismo que puede ser mediado por plásmidos y que representa un problema de resistencia emergente. Las limitaciones de este estudio incluyen un sesgo de muestreo, ya que sólo se trabajó en una granja, además de que no se obtuvieron muestras de heces. Por lo tanto, el estudio podría sobrestimar la frecuencia de la resistencia en las muestras procedentes de aves que pueden haber sido tratadas con antimicrobianos.



### **Agradecimientos**

Los investigadores manifiestan su agradecimiento a la Universidad de Boyacá, a la Universidad de Santander y a todas las personas que contribuyeron de alguna manera a este proyecto.

### **Cumplimiento de las normas éticas**

Todos los procedimientos se realizaron teniendo en cuenta el comité de investigación institucional y nacional y la declaración de Helsinki de 1964 y sus modificaciones posteriores o normas éticas similares. Este estudio fue aprobado por el comité ético local.

### **Financiamiento**

Esta investigación fue apoyada por la Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia, y por la Universidad de Santander (UDES), Bucaramanga, Colombia.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

### **Literatura citada:**

1. Tyson GH, Nyirabahizi E, Creary E, Kabera C, Lam C, Rice-Trujillo C, *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococci isolated from retail meats in the United States, 2002 to 2014. *Appl Environ Microbiol* 2018;84(1):1–9.
2. Blajman J, Zbrun M, Astesana D, Berisvil A, Romero A, Fusari M, *et al.* Probióticos en pollos parrilleros: una estrategia para los modelos productivos intensivos. *Rev Argent Microbiol* 2015;47(4):360–367.
3. Carvajal EB, Hernández WA, Torres MC, López DV, Rueda EG, Vásquez MR. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains isolated from the bursa of Fabricius in broilers. *Rev Inv Vet Perú* 2019;30(1):430–437.
4. Botelho LAB, Kraychete GB, Costa e Silva JL, Regis DVV, Picão RC, Moreira BM, *et al.* Widespread distribution of CTX-M and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* from Brazilian chicken meat. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(2):249–254.

5. Redgrave L, Sutton S, Webber M, Piddock L. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol* 2014;22(8):438–445.
6. Wierup M. The swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. *Microb Drug Resist* 2001;7(2):183–90.
7. Chávez GLA, López HA, Parra SJE. Inclusion of probiotic strains improves immune parameters in broilers. *Rev CES Med Zootec* 2015;10(2):160–169.
8. Arenas NE, Melo VM. Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática Livestock production and emergency antibiotic resistance in Colombia: Systematic Review *Infectio* 2018;22(2):110–119.
9. Armas-Freire PI, Trueba G, Proaño-Bolaños C, Levy K, Zhang L, Marrs CF, *et al.* Unexpected distribution of the fluoroquinolone-resistance gene *qnrB* in *Escherichia coli* isolates from different human and poultry origins in Ecuador. *Int Microbiol* 2015;18(2):85–90.
10. López D, Torres M, Castañeda L, Prada C. Determinación de genes que codifican la resistencia de betalactamasas de espectro extendido en bacilos Gram negativos aislados de urocultivos. *Rev Investig Salud Univ Boyacá.* 2017;3(2):107.
11. Aguilar-Montes de Oca S, Talavera-Rojas M, Soriano-Vargas E, Barba-León J, Vazquez-Navarrete J. Determination of extended spectrum  $\beta$ -lactamases/AmpC  $\beta$ -lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from bovine carcasses in Mexico. *Trop Anim Health Prod* 2015;47(5):975–981.
12. Lim JS, Choi DS, Kim YJ, Chon JW, Kim HS, Park HJ, *et al.* Characterization of *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) isolated from chicken slaughterhouses in South Korea. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2015;12(9):741–748.
13. Li Y, Chen L, Wu X, Huo S. Molecular characterization of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from septicemic broilers. *Poult Sci* 2015;94(4):601–611.
14. Lee HJ, Cho SH, Shin D, Kang HS. Prevalence of antibiotic residues and antibiotic resistance in isolates of chicken meat in Korea. *Korean J food Sci Anim Resour* 2018;38(5):1055–1063.

15. Varga C, Guerin MT, Brash ML, Slavic D, Boerlin P, Susta L. Antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolates: A two-year prospective study of small poultry flocks in Ontario, Canada. *BMC Vet Res* 2019;15(1):464
16. Donado-godoy P, Byrne BA, León M, Castellanos R, Vanegas C, Coral A, *et al.* Prevalence, resistance patterns, and risk factors for antimicrobial resistance in bacteria from retail chicken meat in Colombia. *J Food Prot* 2015;78(4):751–759.
17. López D, Torres M, Prada C. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. *Univ y Salud*. 2016;29(1):190.
18. Ahmad K, Khattak F, Ali A, Rahat S, Noor S, Mahsood N, *et al.* Carbapenemases and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from retail chicken in peshawar: first report from Pakistan. *J Food Prot* 2018;81(8):1339–1345.
19. Alonso CA, Michael GB, Li J, Somalo S, Simón C, Wang Y, *et al.* Analysis of blaSHV-12-carrying *Escherichia coli* clones and plasmids from human, animal and food sources. *J Antimicrob Chemothe* 2017;72(6):1589–1596.
20. Dierikx CM, van der Goot JA, Smith HE, Kant A, Mevius DJ. Presence of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: A descriptive study. Cloeckaert A, editor. *PLoS One* 2013;8(11):e79005.
21. Hedman HD, Eisenberg JNS, Vasco KA, Blair CN, Trueba G, Berrocal VJ, *et al.* High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase ctx-m-producing *Escherichia coli* in small-scale poultry farming in rural Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 2019;19;100(2):374–376.
22. Laube H, Friese A, von Salviati C, Guerra B, Rösler U. Transmission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from broiler chicken farms to surrounding areas. *Vet Microbiol* 2014;172(3–4):519–527.
23. Martínez L, Pascual A, Jacoby G. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351(9105):797–799.
24. Machuca J, Agüero J, Miró E, Conejo M del C, Oteo J, Bou G, *et al.* Prevalence of quinolone resistance mechanisms in Enterobacteriaceae producing acquired AmpC  $\beta$ -lactamases and/or carbapenemases in Spain. *Enfermedades Infecc Microbiol Clin* 2017;35(8):485–490.

25. Kilani H, Ferjani S, Mansouri R, Boutiba I, Abbassi M. Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among *Escherichia coli* strains isolated from animals in Tunisia: Specific pathovars acquired qnr genes. *J Glob Antimicrob Resist* 2020;1(20):50–55.
26. Clemente L, Manageiro V, Jones-Dias D, Correia I, Themudo P, Albuquerque T, *et al.* Antimicrobial susceptibility and oxymino- $\beta$ -lactam resistance mechanisms in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from different animal sources. *Res Microbiol* 2015;166(7):574–583.
27. Campioni F, Souza RA, Martins VV, Stehling EG, Bergamini AMM, Falcão JP. Prevalence of gyra mutations in nalidixic acid-resistant strains of *Salmonella enteritidis* isolated from humans, food, chickens, and the farm environment in Brazil. *Microb Drug Resist* 2017;23(4):421–428.