



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



PRESENCIA DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO
(ESBL) EN CEPAS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE CANALES DE
POLLO PROVENIENTES DE RASTRO, SUPERMERCADOS Y
MERCADOS PÚBLICOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

PATRICK RODRIGO DOMÍNGUEZ VARGAS

Asesores:

MVZ, MPA, Dra. Cecilia Rosario Cortés

MVZ, MC, Dr. Nestor Ledesma Martínez

México, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme permitido tener una formación, no sólo académica si no humanística, del más alto nivel, a través de todos los recursos puestos a disposición de la comunidad Universitaria.

A mis padres, por apoyarme incondicionalmente a través de este camino y darme todas las herramientas para poder seguir adelante hacia la meta.

A la Dra. Cecilia Rosario Cortés, por haberme aportado una cantidad invaluable de enseñanzas desde el inicio de mi incursión en el DMZA, y haberme propuesto y proporcionado todo el material y apoyo necesario para la realización del presente trabajo.

Al Dr. Nestor Ledesma Martínez, por haberme apoyado en el desarrollo de este trabajo, y por compartir conmigo sus consejos y experiencias desde que fue mi tutor de licenciatura.

A los integrantes del jurado, Dr. Rubén Merino, MC Claudia Alcázar, MVZ Rosa Vite, Dra. Gabriela Gómez, por haber enriquecido este trabajo con sus observaciones y comentarios.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
RESULTADOS.....	7
DISCUSIÓN.....	9
REFERENCIAS	17
CUADROS.....	24
FIGURAS.....	30

Resumen

DOMÍNGUEZ VARGAS PATRICK RODRIGO. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de canales de pollo provenientes de rastro, supermercados y mercados públicos. Bajo la dirección de: MVZ, MPA, Dra. Cecilia Rosario Cortés y MVZ, MC, Dr. Nestor Ledesma Martínez.

Actualmente se presta una gran atención a la elevada presentación de infecciones causadas por bacterias multirresistentes en humanos y su origen, el cual se ha relacionado con el uso extensivo de antibióticos en animales y su transferencia a través de alimentos de origen animal. En particular, se han asociado a los productos avícolas con la transferencia de bacterias resistentes. El presente trabajo tiene como objetivo establecer si existe una diferencia entre la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) en 150 aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos a partir de canales de pollo provenientes de rastro, supermercados y mercados públicos. Las tres ESBL que incluyó este trabajo (*bla_{CTX}*, *bla_{CMY}* y *bla_{TEM}*) fueron identificadas por PCR punto final. Se detectó la presencia de alguno de estos genes en 76 aislamientos (50.7%); de los cuales el 32.9% provenía de rastro, 27.6% de mercado público y 39.5% de supermercado. Sólo se encontró una diferencia significativa ($p = 0.058$) para la presencia de *bla_{CTX}* y *bla_{CMY}* de acuerdo a su procedencia. Fue posible detectar una mayor incidencia de ESBLs en canales de supermercados, sin embargo, es necesario realizar más estudios de este tipo en otras regiones del país para tener un panorama más claro de la situación de estas enzimas en México.

Introducción

En la última década se ha prestado especial atención al aislamiento cada vez más frecuente de bacterias multirresistentes en pacientes humanos con infecciones de difícil tratamiento. El problema causado por ellas se asocia principalmente al aumento en los costos de tratamientos necesarios para poder eliminarlas al tener que utilizar antimicrobianos de última opción a los cuales sean sensibles (Kilonzo-Nthenge, et al., 2013; Kluytmans, et al., 2013).

La aparición de estas bacterias MDR (por sus siglas en inglés, *multidrug resistant*) se ha relacionado con el uso extensivo de antibióticos en medicina veterinaria (Leverstein-van Hall, et al., 2011). Se ha sugerido que el uso de antibióticos, incluso a dosis inferiores a la terapéutica como se hace en el caso de los antibióticos promotores de crecimiento, es causa de selección para bacterias resistentes (Cogliani, et al., 2011; Reinhardt, 2013; Butaye, 2013).

Uno de los mecanismos que confieren resistencia a las bacterias contra los β -lactámicos, uno de los grupos de antibióticos más importantes en medicina humana y veterinaria, es la producción de β -lactamasas, enzimas capaces de inactivar a antibióticos como las penicilinas y cefalosporinas, por medio de la hidrólisis del anillo β -lactámico (Bush & Jacoby, 2010; Laube, et al., 2013). Dentro de este grupo de enzimas se encuentran las β -lactamasas de espectro extendido (ESBL por sus siglas en inglés, *extended spectrum β -lactamases*), las cuales, además de retener la actividad contra penicilinas y cefalosporinas de primera generación, son capaces de hidrolizar a los oxymino- β -lactámicos (Bush & Jacoby, 2010), como cefotaxima, ceftazidima y azetronam, así como otras cefalosporinas de tercera generación que son antimicrobianos considerados de importancia crítica en humanos (WHO, 2007). Estas enzimas son el mecanismo de resistencia contra antimicrobianos β -lactámicos predominante en bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, y se han encontrado

comúnmente en *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. (Pitout & Laupland, 2008). Por otro lado, los genes que codifican para su producción se encuentran con frecuencia en plásmidos, lo que permite su diseminación de forma fácil y rápida a otras bacterias que no los poseen (Kluytmans, et al., 2013).

Como ya se mencionó, se ha sugerido que existe una transferencia de esta resistencia de los animales a los humanos por medio de los alimentos de origen animal contaminados con bacterias resistentes, que al ser consumidas y llegar al tracto digestivo son capaces de transferir estos genes de resistencia a la microbiota normal del hombre (Cogliani, et al., 2011). Se han realizado numerosos estudios, principalmente europeos, en los cuales se ha intentado relacionar aislamientos de bacterias MDR provenientes de alimentos de origen animal, en especial carne, con aislamientos clínicos provenientes de humanos (Johnson, et al., 2007; Vieira, et al., 2011; Overdeest, et al., 2014; Casella, et al., 2015); sin embargo, la mayoría de esta clase de estudios se ha realizado con aislamientos de carne de pollo y otras especies en puntos de venta, una vez que han sido manipuladas por personas, por lo que es difícil determinar la procedencia de estos aislamientos resistentes.

Los genes que codifican para ESBLs de mayor relevancia en la actualidad son *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} y *bla*_{CTX-M} (Dierikx, et al., 2013; Olsen, et al., 2014), siendo este último el que ha adquirido mayor importancia al considerarse como la ESBL más distribuida a nivel mundial (Bonnet, 2004), mientras que la que se ha encontrado con mayor frecuencia del grupo de las β -lactamasas AmpC ha sido *bla*_{CMY} (Jacoby, 2009; Laube, et al., 2013).

En la mayoría de los estudios relacionados con esta problemática se ha establecido una correlación entre aislamientos bacterianos (especialmente de *Escherichia coli*) productores de ESBLs de humanos y carne de pollo (Overdeest, et al., 2011; Kluytmans, et al., 2013).

Estos hallazgos han propiciado una gran controversia sobre el uso de antimicrobianos en la producción de animales para consumo humano, la cual ha sido tan grande que ocasionó la prohibición de los antibióticos como promotores de crecimiento en la Unión Europea desde 1999 (Casewell, et al., 2003; Cogliani, et al., 2011), así como el retiro de las fluoroquinolonas de la producción avícola en Estados Unidos en el 2005 ([FDA] Food and Drug Administration, 2005), entre otras acciones que se han llevado a cabo a nivel mundial para controlar, e incluso intentar eliminar, el uso de antibióticos en las producciones pecuarias. A pesar de estas medidas, el uso de antibióticos en la producción avícola es fundamental, no sólo como tratamientos sino como medida preventiva, ya que estas prácticas, en conjunto con los esquemas de vacunación y otras estrategias de bioseguridad, permiten mantener los parámetros productivos de la avicultura mexicana actual (Quintana, 2011). De acuerdo a las estadísticas, nuestro país produce 2 980 078 toneladas de carne de pollo anualmente, lo que sitúa a México como uno de los principales productores de este alimento a nivel mundial, y que permite satisfacer la demanda interna de 25.5 kg de carne de pollo que se consumen *per capita* al año, así como la exportación de este producto para la captación de divisas (UNA, 2014).

En investigaciones realizadas en los Países Bajos se ha encontrado una elevada presencia (hasta 94%) de bacterias productoras de ESBLs en carne de pollo proveniente de puntos de venta (Leverstein-van Hall, et al., 2011; Overdeest, et al., 2011); sin embargo, en México se desconoce cuál es la situación, por lo que se decidió identificar la presencia de estas enzimas en canales de pollo, realizando una comparación entre aquellas provenientes de rastro y las de puntos de venta, de forma que sea posible inferir su posible origen, ya sea humano por manipulación y contaminación, o animal por el manejo zootécnico en granja.

Material y Métodos

- Obtención de las cepas

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bacteriología del Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se trabajó con 150 cepas identificadas como *Escherichia coli* y caracterizadas en un trabajo previo (Ramírez, et al., 2014). Estas cepas fueron obtenidas a partir de lavados de un total de 30 canales de pollo, de las cuales 10 fueron provenientes de un rastro TIF (Tipo Inspección Federal), 10 de tres supermercados (3 a 4 por supermercado) y 10 de tres mercados públicos (3 a 4 por mercado) ubicados en Querétaro. De las colonias bacterianas aisladas a partir de los lavados, se seleccionaron cinco cepas de *Escherichia coli* por cada canal, las cuales se almacenaron en gelosa especial hasta el momento de su análisis.

- Purificación y verificación de las cepas

Las 150 cepas de *E. coli* fueron sembradas en agar MacConkey e incubadas a 37 °C durante 24 horas. De este primer cultivo se seleccionaron las colonias más características de acuerdo a la morfología colonial de la especie, se resembraron por cultivo puro en agar MacConkey y se incubaron a 37 °C por 24 horas; posteriormente se realizó la confirmación de su identidad bioquímica mediante el uso de TSI, urea, citrato de Simmons, LIA y SIM (Swayne, et al., 1998). Las 150 cepas obtenidas fueron almacenadas nuevamente en gelosa especial, con la preparación descrita en el cuadro 1, para su posterior procesamiento.

- Extracción de ADN

Cada cepa fue sembrada en caldo Luria-Bertani a partir de la gelosa especial y se incubó a 37 °C durante 18 horas, posterior a las cuales se realizó la extracción de ADN por la técnica de ebullición de acuerdo a lo descrito por Johnson & Brown (1996) con las siguientes modificaciones. Las cepas fueron centrifugadas a 15 871 RFC durante dos minutos en una Microcentrifuga Prism^{MR} (Labnet International, NJ, USA), se eliminó el sobrenadante y la pastilla bacteriana se resuspendió en 200 µL de agua inyectable estéril. Se homogeneizó la suspensión bacteriana en el agua utilizando un agitador tipo vórtex. Posteriormente, se calentaron las muestras en un termobloque AccuBlock^{MR} (Labnet International, NJ, USA) a 100 °C durante 10 minutos, inmediatamente los tubos se incubaron en hielo durante diez minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se centrifugaron nuevamente a 15 871 RFC durante dos minutos y se recolectaron 160 µL del sobrenadante con el ADN en tubos de PCR para su almacenamiento en congelación a -20 °C hasta su uso.

- Identificación de genes

La detección de los genes codificadores para ESBLs, *bla*_{CTX}, *bla*_{CMY} y *bla*_{TEM}, se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final utilizando los iniciadores descritos previamente (cuadro 2) y de acuerdo a lo descrito por Johnson et al. (2008) con las siguientes modificaciones. La amplificación se realizó en un termociclador Swift•MaxPro^{MR} (Esco Healthcare, Singapur) en 25 µL que contenían PCR buffer 10x, 10 mM de MgCl₂, 10 mM de dNTPs, 20 pmol de cada iniciador, 1U Taq polimerasa y 2 µL del ADN muestra. Las condiciones de las amplificaciones se han descrito en el cuadro 3.

Los productos de amplificación se visualizaron por electroforesis a 100 volts durante 60 minutos, en geles de agarosa al 1.5% utilizando amortiguador TAE 1x y un marcador de peso molecular VC de 1 kb (Vivantis, Malasia) para posteriormente ser teñidos con GelRed^{MR} (Biotium, CA, USA) y observados en un transiluminador; como se muestra en las figuras 1 y 2.

- Análisis de resultados

Por medio del programa *SPSS Statistics*^{MR} (2015) se realizaron pruebas de ji-cuadrada de homogeneidad por origen de las cepas, y posteriormente por punto de muestreo para determinar si existió una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de aislamientos productores de ESBLs provenientes de rastro, mercado y supermercado, así como de cada punto de muestreo independiente. Con el mismo software se realizaron correlaciones de Spearman para determinar si está relacionada en la presencia de un gen de ESBL con otro o con otro gen de virulencia (Daniel, 2010).

Resultados

- Productores de ESBL

De las 150 cepas de *Escherichia coli* que se incluyeron en el presente estudio, 50 provenientes de rastro y 100 provenientes de puntos de venta (50 de mercado público y 50 de supermercado), 76 (50.7%) fueron positivas a la presencia de uno o más de los genes que codifican para ESBLs analizados en este trabajo. De las 76 muestras positivas, 25 (32.9%) provenían de rastro, 21 (27.6%) de mercado público y 30 (39.5%) de supermercado.

- Genes de resistencia

Los genes predominantes de ESBL fueron *bla*_{TEM} y *bla*_{CMY}, ambos con el mismo número de aislamientos positivos (n=35, 23.3%), mientras que *bla*_{CTX} fue el menos frecuente (n=17, 11.3%). Su distribución por origen se muestra en el cuadro 4; en él se puede observar que tanto *bla*_{CTX} como *bla*_{CMY} se presentaron con mayor frecuencia en supermercados, mientras que en el caso de *bla*_{TEM} su presencia fue mayor en las cepas provenientes del rastro (n=14, 50%), *bla*_{CMY} fue el gen más frecuente en los aislamientos positivos a ESBLs realizados en supermercados (n=15, 41.7%), y a su vez, ambos genes se encontraron con la misma frecuencia en los aislamientos de mercados públicos (n=10, 43.5%), como se muestra en la figura 3.

Se encontró una diferencia estadística significativa (p=0.058) entre el número de aislamientos positivos a *bla*_{CTX} provenientes de rastro (n=4, 23.5%), mercado público (n=3, 17.6%) y supermercado (n=10, 58.8%). Lo mismo ocurre con *bla*_{CMY} al desglosar el origen de los aislamientos por tienda, en el que se encontró una diferencia estadística significativa (p<0.01). Para los aislamientos positivos a *bla*_{TEM} se describe una situación diferente, al no encontrarse una diferencia estadística significativa (p≤0.05).

- Correlación entre genes ESBL

Del total de cepas, 11 (7.3%) fueron positivas a dos genes de ESBL diferentes, siendo *bla*_{CMY} + *bla*_{TEM} la combinación más común (n=6, 4%), y *bla*_{CTX} + *bla*_{CMY} la menos común (n=2, 1.3%) (cuadro 5). Ningún aislamiento fue positivo a los tres genes, y no se encontró una correlación entre la presentación de estos tres genes (p≤.05). La relación completa por

número de aislamientos positivos y negativos a uno o más de los 3 genes de acuerdo a su origen se puede observar en la figura 4.

- Correlación con otros genes de virulencia

En el estudio previo en el que se realizó el aislamiento de estas cepas, se buscaron los genes de virulencia *eaeA*, *bfpA*, *lt*, *st*, *stx1*, *stx2*, *ipaH*, *aggR*, *aap* descritos para las cepas diarreogénicas de *E. coli* de los cuales, solamente se detectó *eae* (n=6) y *stx2* (n=8) como se muestra en el cuadro 6. Al comparar éstos con los de ESBLs detectados en este trabajo se encontró que de 6 aislamientos positivos a *eae*, 5 (83.3%) fueron negativos a la presencia de ESBLs, y sólo 1 (16.7%) fue positivo a la presencia de *bla_{CTX}*. Por el contrario, de los 8 aislamientos reportados como positivos a *stx2*, 6 (75%) fueron positivos a la presencia de *bla_{CMY}*, 1 (12.5%) fue positivo a *bla_{CMY}* y *bla_{TEM}*, y sólo 1 (12.5%) fue negativo a la presencia de ESBLs. Se encontró una correlación de baja intensidad (36%) pero alta significancia ($p < .0001$) entre la presencia de *stx2* y *bla_{CMY}*.

Discusión

En este estudio se encontró que el 50.7% (76/150) de las cepas de pollo fue positivo a la presencia de ESBLs, lo cual coincide con lo reportado en otras investigaciones realizadas en países como Alemania y Japón, en las que se encontró una prevalencia de entre el 50 y 60% de muestras de carne de pollo contaminadas con bacterias productoras de ESBLs (Kola, et al., 2012; Kawamura, et al., 2014; Belmar, et al., 2014), pero se encuentra por debajo de los hallazgos realizados en Países Bajos. Sin embargo, este es un trabajo preliminar, por lo que

se requiere realizar más trabajos en otras regiones de México para tener una imagen más clara de la presencia de ESBLs en nuestro país.

Durante nuestra investigación encontramos una diferencia estadística significativa ($p=0.058$) en la presencia de *bla*_{CTX}, siendo mayor en los aislamientos de supermercado ($n=10$) en comparación con aquellos de rastro ($n=4$) y mercado público ($n=3$). Por otro lado, en el caso de los supermercados, la presencia *bla*_{CMY} no fue homogénea, ya que el número de cepas positivas fue estadísticamente mayor en el supermercado 1 ($p<0.01$). Mientras que en el caso de *bla*_{TEM} no se encontró diferencia estadística significativa entre los tres puntos de muestreo ($p<0.05$). Sin embargo, estos resultados generan una nueva problemática, ya que las cepas positivas a ESBLs que se detectaron en el rastro podrían provenir de los animales desde la granja, o bien, ser producto de la contaminación que ocurre durante el procesamiento en el rastro, por lo que sería de gran utilidad analizar cepas aisladas a partir de aves vivas antes de ser procesadas y de las canales al terminar de ser procesadas, para determinar si las bacterias productoras de ESBLs se encuentran presentes desde la granja o colonizan durante el procesamiento. En el caso de aquellas cepas positivas a ESBLs encontradas en puntos de venta (mercados y supermercados) no se puede descartar que sean de origen humano por la manipulación de las canales. A su vez, también es posible observar una diferencia muy clara entre ambas cadenas de comercialización, ya que se identificaron en mayor medida los tres genes de ESBL en los aislamientos realizados en supermercado que en aquellos de mercado público, lo que sugiere que las diferencias en el manejo en ambas cadenas de comercialización es un factor que determina la presencia de ESBLs en el producto final, ya que aunque generalmente es considerado que el manejo en los supermercados es más higiénico al contar con sistemas HACCP para asegurar la inocuidad de los alimentos también

cuentan con la desventaja del tiempo de almacenamiento, el cual es mayor que en los mercados públicos donde la carne es generalmente vendida en su totalidad el mismo día en el que se recibe o se adquiere de rastro, por lo cual permite la colonización y proliferación bacteriana por mayor tiempo.

En general, los genes de ESBL que se encontraron con mayor frecuencia fueron *bla_{CMY}* y *bla_{TEM}*, lo cual es interesante pues en otras investigaciones similares se ha identificado a *bla_{CTX}* como el gen que ha ido en aumento a nivel mundial en los últimos años (Bonnet, 2004; Naseer & Sundsfjord, 2011). Estudios realizados alrededor del mundo arrojan resultados similares sobre la prevalencia de algunos genes de ESBLs sobre otros en alimentos de origen animal. En aquellos realizados en los Países Bajos, Japón y España, se ha encontrado una mayor prevalencia de *bla_{CTX}* en comparación con *bla_{TEM}* como se puede apreciar en los 66 (76%) aislamientos identificados como productores de *bla_{CTX}* contra 11 (13%) productores de *bla_{TEM}* a partir de 87 aislamientos de *Escherichia coli* productora de ESBLs proveniente de carne de pollo (Kluytmans, et al., 2013); el hallazgo de una mayor frecuencia en la presentación de *bla_{CTX}* (82.7%) que de *bla_{TEM}* (1.9%) al analizar 52 aislamientos de *Escherichia coli* productores de ESBLs igualmente obtenidos de carne de pollo (Kawamura, et al., 2014); y una prevalencia de 30.6% para *bla_{CTX}* en 62 aislamientos de *E. coli* productora de ESBLs contra 1.6% para *bla_{TEM}* (Egea, et al., 2012), respectivamente.

En cuanto *bla_{CMY}*, aunque ha sido reportado en una menor cantidad de estudios, fue posible detectar diferencias en su prevalencia. En Sevilla, se encontró una prevalencia de 0% para *bla_{CMY}* comparado con un 67% para *bla_{CTX}*, mientras que en Pittsburgh fue del 85% en aislamientos de *E. coli* de carne de pollo contra 5% para *bla_{CTX}* (Doi, et al., 2010); en

Dinamarca se estableció una prevalencia de 21% para *bla_{CMY}* contra 15.6% para *bla_{CTX}* y 1.3% para *bla_{TEM}* en 255 aislamientos de *E. coli* positivos a ESBLs provenientes de carne de pollo importada (Carmo, et al., 2014); por último, en Suecia se ha encontrado una mayor presencia de *bla_{CTX}* en carne de pollo importada de Sudamérica mientras que *bla_{CMY}* fue más predominante en la carne importada de otros países europeos (principalmente Dinamarca) (Egervärn, et al., 2014). Cabe destacar que todos los estudios mencionados fueron realizados con muestras tomadas en puntos de venta, principalmente supermercados. Sin embargo, se han encontrado muy pocos estudios realizados a partir de muestras tomadas de canales de pollo en rastro. En una de estas investigaciones, realizada en Corea del Sur, a diferencia de los resultados obtenidos por nosotros, se encontró que de 6 aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos por lavados de canales de pollo recién procesadas en el área de almacenamiento del rastro, positivos a producción de ESBLs, el 100% contenían genes *bla_{CTX-M-1}* y no se pudo identificar ningún gen *bla_{TEM}* o *bla_{SHV}* (Chon, et al., 2015). Esto concuerda con estudios realizados en Japón que reportan una incidencia de 37.8% para *bla_{CTX}* y 7.8% para *bla_{TEM}* en aislamientos de *Escherichia coli* a partir de muestras de recto de pollos en rastro (Hiroi, et al., 2012), y con un estudio realizado en Alemania, en el cual las muestras se tomaron tanto de canales como de ciego de pollos en un rastro, y se encontró una mayor frecuencia de *bla_{CTX}* (89%) que de *bla_{TEM}* (27%) (Reich, et al., 2013). Sin embargo, esto contrasta con lo reportado en un estudio realizado en Portugal, en el que se tomaron 76 muestras de heces frescas de pollos en un rastro, y a partir de los aislamientos realizados de estas muestras se identificó la presencia de *bla_{TEM}* en 34.6% de ellos mientras que *bla_{CTX}* sólo pudo ser identificado en el 6.4% de las muestras (Costa, et al., 2009).

El hecho de que los datos obtenidos en el presente trabajo no concuerdan con la mayoría de los reportes puede estar relacionado con la diferencia entre los subgrupos de los genes de ESBLs. Es decir, que en la mayoría de los estudios mencionados, se han utilizado iniciadores para enzimas específicas de cada grupo, mientras que en este estudio se identificaron los genes generales de β -lactamasas, pero no se buscó la identificación de las ESBLs específicas. Por ejemplo, el gen *bla*_{TEM} se compone de más de 170 enzimas diferentes, las cuales pueden ser parte de uno de 4 grupos funcionales con características diferentes entre ellos, y al ser el gen encontrado con mayor incidencia en los aislamientos de rastro, es posible que se trate de enzimas pertenecientes a los grupos funcionales 2b y 2br, los cuales incluyen β -lactamasas de amplio espectro (diferenciadas de las ESBLs al no ser capaces de hidrolizar antibióticos oxymino- β -lactámicos) con alta actividad como penicilinasas (Bush & Jacoby, 2010). Esto se explicaría por la selección para bacterias resistentes a penicilinas en la producción avícola, al ser antibióticos de uso principal la amoxicilina y ampicilina (PLM, 2013). Por otro lado, la mayor incidencia de *bla*_{CTX} en los aislamientos de supermercado, asociada al manejo de las canales de pollo durante la cadena de comercialización, puede estar relacionada a la selección para bacterias resistentes a antibióticos oxymino- β -lactámicos (Bush & Jacoby, 2010), como las cefalosporinas de amplio espectro, al ser medicamentos de uso principal en medicina humana como antibióticos de primera elección para varias infecciones comunes (WHO, 2007), lo que podría ser un indicio de que las cepas positivas a estas enzimas encontradas en las canales en los puntos de venta puedan ser de origen humano, es decir, que la contaminación pudiera estar asociada al manejo de las canales después del procesamiento. Otra posible causa se puede encontrar en los reportes en los que se han muestreado las diferentes áreas de un rastro por medio de hisopos tomados de superficies y muestreo de

bioaerosoles, y que indican una alta frecuencia de aislamientos de *Escherichia coli* positivos a la presencia de *bla*_{CMY} (84.2%) en comparación con *bla*_{CTX} (0%) y en el que se concluyó que el origen de las ESBLs de *E. coli* en la carne de pollo pueden ser bacterias ambientales del rastro que contaminen las canales (Gregova, et al., 2012). Esto concuerda con el único estudio llevado a cabo en México de este tipo, en el que se buscó la presencia de *bla*_{CMY-2} en aislamientos de *Salmonella* Typhimurium de niños con diarrea y asintomáticos, y se comparó con aislamientos provenientes de carne en puntos de venta e intestinos de diferentes especies (entre ellas pollos), y aunque se logró identificar este gen de ESBL tanto en los niños como en la carne de pollo, no se encontró en ningún aislamiento positivo proveniente de intestino de pollo (Zaidi, et al., 2007).

Se ha prestado cierta atención a la presentación de infecciones en humanos causadas por enterobacterias productoras de ESBLs en México. Algunos de los estudios recientes indican una alta prevalencia, que llega incluso hasta el 100% de los aislamientos positivos a producción de ESBLs, de *bla*_{SHV} y *bla*_{CTX-M} en enterobacterias, principalmente *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., aisladas de pacientes en hospitales alrededor del país (Silva-Sanchez, et al., 2011; Silva-Sanchez, et al., 2011; Morfín-Otero, et al., 2013; Reyna-Flores, et al., 2013). Por debajo de estos dos genes se encuentra *bla*_{TEM}, del cual se han reportado prevalencias de alrededor del 60% de los aislamientos positivos a ESBLs, lo cual indica que también es uno de los principales genes presentes en el país (Reyna-Flores, et al., 2013). En relación con nuestro estudio, estos hallazgos parecen indicar que aunque puede existir alguna relación entre los genes de ESBLs presentes en enterobacterias de humanos y carne de aves, los genes involucrados en la mayoría de las infecciones causadas por bacterias multirresistentes en humanos en México no se encuentran presentes en la carne de pollo

durante su procesamiento en el rastro, si no en la carne al final de la cadena de comercialización, principalmente aquella de supermercados.

México es uno de los países de América Latina donde se han reportado un mayor número de casos de aislamientos bacterianos multirresistentes en humanos (Jones, et al., 2013). Asimismo, es uno de los que tienen un elevado uso de antibióticos en medicina veterinaria, especialmente como promotores de crecimiento. Sin embargo, eso no forzosamente indica que la resistencia observada en humanos provenga de las aves, pues se tiene el mismo problema en medicina humana, al recetarse antibióticos en un porcentaje mucho mayor (de hasta 6 veces más) al justificable en casos de infecciones respiratorias y entéricas (Instituto Nacional de Salud Pública, 2010). Esto trae como consecuencia que la selección bacteriana para resistencia se pueda originar en ambos frentes sin estar necesariamente relacionada entre sí.

Por otra parte, fue posible establecer una correlación de baja intensidad (36%) pero muy alta significancia ($p < .0001$) entre la presentación de *bla_{CMY}* y *stx2* (identificado en un estudio previo). Es probable que la correlación entre estos dos genes se deba a su forma de diseminación. Mientras que *stx2* se encuentra en el genoma de fagos λ ADN de doble cadena (Muniesa, et al., 2004), *bla_{CMY}* se encuentra en plásmidos y su diseminación a otras bacterias se da por conjugación (Lee, et al., 2003). Sin embargo, se ha demostrado que *bla_{CMY}* también puede ser encontrado en y transmitido por bacteriófagos, aunque en menor medida (Zhang & LeJeune, 2008; Polur, 2014), e incluso se ha considerado que puede ser de importancia en la contaminación de alimentos (LeJeune, 2007). Esta vía menos frecuente de transmisión puede explicar la existencia de una correlación, de baja intensidad, entre estos dos genes.

En conclusión, existe una diferencia en la presencia de los genes de ESBL encontrados en *Escherichia coli* en aislamientos de canales de pollo de rastro y punto de venta. Se encontró una diferencia significativa en la presencia de *bla*_{CTX} entre los tres orígenes de las canales, así como de *bla*_{CMY} una vez que se realizó el desglose por cada supermercado y mercado, mientras que no hubo diferencia en la presencia de *bla*_{TEM}. La distribución de estos genes en las canales de pollo sugiere que los alimentos de origen animal, y en específico la carne de pollo, pueden ser una fuente de bacterias que explique el incremento de infecciones en humanos causadas por enterobacterias multirresistentes a antibióticos β -lactámicos, pero que, sin embargo, la frecuencia de los genes de ESBLs encontrados en los aislamientos provenientes de rastro (principalmente *bla*_{TEM}) es diferente a aquellos encontrados en humanos, que son más parecidos a los encontrados al final de la cadena de comercialización (principalmente *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY}), lo cual sugiere que el problema actual de infecciones causadas por bacterias multirresistentes en humanos es independiente de la resistencia bacteriana en aves. También fue posible inferir en el origen de los genes encontrados en supermercados y mercados públicos, los cuales probablemente provienen de contaminación durante el manejo de las canales en la cadena de comercialización, ya sea directamente por el manejo humano o por la contaminación cruzada con otros alimentos, y en específico para las canales de supermercado, también es probable que influya el tiempo de almacenamiento, que al ser mayor aumenta el periodo dentro del cual puede realizarse la contaminación de las canales así como la multiplicación bacteriana. Por último, no se cuenta con suficiente información para poder integrar una conclusión definitiva al no existir más estudios de este tipo en México, por lo que es necesario realizar más investigaciones que puedan incluir datos secuenciales desde la cadena de producción avícola hasta la población humana, y que de este modo, permita tener un panorama más amplio de la situación en nuestro país.

Referencias

[FDA] Food and Drug Administration. 2005. *Withdrawal of approval of the new animal drug application for enrofloxacin in poultry*. Maryland: Food and Drug Administration.

Belmar, C. et al. 2014. Prevalence and genotypes of extended spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae isolated from human stool and chicken meat in Hamburg, Germany. *International Journal of Medical Microbiology*. 304:678–684.

Bonnet, R. 2004. Growing Group of Extended-Spectrum -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 48(1):1-14.

Bush, K. & Jacoby, G. A. 2010. Updated Functional Classification of B-Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54(3):969–976.

Butaye, P. 2013. Effects of antimicrobial usage on the development of antimicrobial resistance. *The Veterinary Journal*. 198:307-308.

Carmo, L. P., Nielsen, L. R., Costa, P. M. d. C. & Alban, L. 2014. Exposure assessment of extended-spectrum beta-lactamases/AmpC beta-lactamases-producing *Escherichia coli* in meat in Denmark. *Infection Ecology and Epidemiology*. 4.

Casella, T. et al. 2015. Detection of blaCTX-M-type genes in complex class 1 integrons carried by Enterobacteriaceae isolated from retail chicken meat in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*. 197:88-91.

Casewell, M. et al. 2003. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 52:159–161.

- Chon, J.-W. et al. 2015. High Occurrence of Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing Salmonella in Broiler Carcasses from Poultry Slaughterhouses in South Korea. *Foodborne Pathogens and Disease*. 12(3):190-196.
- Cogliani, C., Goossens, H. & Greko, C. 2011. Restricting antimicrobial use in food animals: Lessons from Europe. *Microbe*. 6(6):274-279.
- Costa, D. et al. 2009. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli isolates in faecal samples of broilers. *Veterinary Microbiology*. 138:339–344.
- Daniel, W. 2010. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4th ed. Mexico: Limusa Wiley.
- Dierikx, C. et al. 2013. Extended-spectrum-b-lactamase- and AmpC-b-lactamase-producing Escherichia coli in Dutch broilers and broiler farmers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 68:60-67.
- Doi, Y. et al. 2010. Extended-spectrum and CMY-type b-lactamase-producing Escherichia coli in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. *Clinical Microbiology and Infection*. 16(1):33-38.
- Egea, P. et al. 2012. Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in the south of Spain. *International Journal of Food Microbiology*. 159:69-73.
- Egervärn, M. et al. 2014. Escherichia coli with extended-spectrum beta-lactamases or transferable AmpC beta-lactamases and Salmonella on meat imported into Sweden. *International Journal of Food Microbiology*. 171:8-14.

- Gregova, G. et al. 2012. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from a poultry slaughterhouse. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 19(1):75-77.
- Hiroi, M. et al. 2012. Prevalence of Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Food-Producing Animals. *Journal of Veterinary Medical Science*. 74(2):189–195.
- IBM. 2015. *SPSS Statistics*, New York: International Business Machines Corporation.
- Instituto Nacional de Salud Pública. 2010. *Regulación y promoción para el uso adecuado de antibióticos en México*. Cuernavaca, Morelos: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Jacoby, G. A. 2009. AmpC B-Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*. 22(1):161-182.
- Johnson, J. & Brown, J. 1996. A novel multiply primed polymerase chain reaction assay for identification of variant papG genes encoding the Gal(al-4)Gal-binding papG adhesins of *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases*. 173:920-926.
- Johnson, J. R. et al. 2007. Antimicrobial Drug-Resistant *Escherichia coli* from Humans and Poultry Products, Minnesota and Wisconsin, 2002–2004. *Emerging Infectious Diseases*. 13(6):838-846.
- Johnson, T. J., Wannemuehler, Y., Doetkott, C. & Johnson, S. J. 2008. Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *Journal of Clinical Microbiology*. 46(12):3987-3986.
- Jones, R. N. et al. 2013. Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program (2011). *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 17(6):672-681.

- Kawamura, K., Goto, K., Nakane, K. & Arakawa, Y. 2014. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases and *Escherichia coli* isolated from retail foods including chicken mear in Japan. *Foodborne Pathogens and Disease*. 11(2):104-110.
- Kilonzo-Nthenge, A., Rotich, E. & Nahashon, S. N. 2013. Evaluation of drug-resistant Enterobacteriaceae in retail poultry and beef. *Poultry Science*. 92:1098–1107.
- Kluytmans, J. A. J. W. et al. 2013. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from retail chicken meat and humans: Comparison of strains, plasmids, resistance genes, and virulence factors. *Clinical Infectious Diseases*. 56(4):478–487.
- Kola, A. et al. 2012. High prevalence of extended-spectrum-b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in organic and conventional retail chicken meat, Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 67:2631–2634.
- Laube, H. et al. 2013. Longitudinal Monitoring of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase/AmpC-Producing *Escherichia coli* at German Broiler Chicken Fattening Farms. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(16):4815–4820.
- Lee, S., Jeong, S. & Park, Y.-M. 2003. Characterization of blaCMY-10 a novel, plasmid-encoded AmpC-type b-lactamase gene in a clinical isolate of *Enterobacter aerogenes*. *Journal of Applied Microbiology*. 95:744-752.
- LeJeune, J. 2007. *Phage encoded transfer of antibiotic resistance in Salmonella*. Colorado: The Beef Checkoff.
- Leverstein-van Hall, M. A. et al. 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection*. 17(6):873–880.

Morfin-Otero, R. et al. 2013. Characterization of Enterobacteriaceae Isolates Obtained from a Tertiary Care Hospital in Mexico, Which Produces Extended-Spectrum B-Lactamase.

Microbial Drug Resistance. 19(5):378-383.

Muniesa, M. et al. 2004. Diversity of stx2 converting bacteriophages induced from Shiga-toxin-producing Escherichia coli strains isolated from cattle. *Microbiology*. 150:2959-2971.

Naseer, U. & Sundsfjord, A. 2011. The CTX-M Conundrum: Dissemination of Plasmids and Escherichia coli Clones. *Microbial Drug Resistance*. 17(1):83-97.

Olsen, R. H. et al. 2014. Extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli isolated from poultry: a review of current problems, illustrated with some laboratory findings. *Avian Pathology*.

Overdeest, I. T. M. A. et al. 2014. Extended-spectrum b-lactamase producing Klebsiella spp. in chicken meat and humans: a comparison of typing methods. *Clinical Microbiology and Infection*. 20:251–255.

Overdeest, I. et al., 2011. Extended-Spectrum β -Lactamase Genes of Escherichia coli in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 17(7), pp. 1216-1222.

Pitout, J. D. & Laupland, K. B. 2008. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases*. 8(3):159-166.

PLM. 2013. *Prontuario de Especialidades Veterinarias*. Mexico: PLM México.

Polur, M. 2014. *Bacteriophage Isolated From The Environment And E. Coli Of Meat Origin As A Reservoir Of Antibiotic Resistance. A Thesis Submitted in partial fulfilment of the requirements of Wayne State University for the degree of Master in Science.* Detroit: Wayne State University.

Quintana, J. 2011. *Avitecnia. Manejo de las aves domésticas más comunes.* 4 ed. Mexico: Trillas.

Ramírez, G. et al. 2014. *Caracterización de cepas de Escherichia coli aisladas de canales de pollo obtenidas de rastro, mercados públicos y supermercados.* Juriquilla, Querétaro, Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México A.C.

Reich, F., Atanassova, V. & Klein, G. 2013. Extended-Spectrum β -Lactamase- and AmpC-Producing Enterobacteria in Healthy Broiler Chickens, Germany. *Emerging Infectious Diseases.* 19(8):1253-1259.

Reinhardt, C. 2013. *Antimicrobial Feed Additives: Growth Promotants and Production Enhancers: Merck Veterinary Manual.* [Online]

Available at:

http://www.merckmanuals.com/vet/pharmacology/growth_promotants_and_production_enhancers/antimicrobial_feed_additives.html

[Accessed 18 February 2015].

Reyna-Flores, F. et al. 2013. Molecular epidemiology of Escherichia coli O25b-ST131 isolates causing community-acquired UTIs in Mexico. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 76:396–398.

- Silva-Sanchez, J. et al. 2011. Prevalence and Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Isolates in Mexico. *Microbial Drug Resistance*. 17(4):497-505.
- Silva-Sanchez, J. et al., 2011. Extended-spectrum b-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Causing Nosocomial Infections in Mexico. A Retrospective and Multicenter Study. *Archives of Medical Research*. 42:156-162.
- Swayne, D. et al. 1998. *A laboratory manual for the isolation of avian pathogens*. 4th ed. Georgia: American Association of Avian Pathologists.
- UNA. 2014. *Compendio de indicadores económicos del sector avícola*. Mexico: Unión Nacional de Avicultores.
- Vieira, A. R. et al. 2011. Association Between Antimicrobial Resistance in Escherichia coli Isolates from Food Animals and Blood Stream Isolates from Humans in Europe: An Ecological Study. *Foodborne Pathogens and Disease*. 8(12):1295-1301.
- WHO, 2007. *Critically important antimicrobials for human medicine: Categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human antimicrobial use..* Copenhagen, Denmark, World Health Organization.
- Zaidi, M. B. et al. 2007. Rapid and widespread dissemination of multidrug-resistant blaCMY-2 Salmonella Typhimurium in Mexico. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 60:398-401.
- Zhang, Y. & LeJeune, J. T. 2008. Transduction of blaCMY-2, tet(A), and tet(B) from Salmonella enterica subspecies enterica serovar Heidelberg to S. Typhimurium. *Veterinary Microbiology*. 129:418-425.

Cuadro 1. Receta para la preparación de gelosa especial

INGREDIENTES	CANTIDAD
Agua destilada	c.b.p. 1L
Base de agar sangre	20g
Extracto de carne	1.5g
Agar bacteriológico	15g
Cloruro de sodio	10g

Cuadro 2. Iniciadores utilizados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de beta-lactamasas de espectro extendido (ESBL) en cepas de *E. coli*

GEN	INICIADOR (5'→3')	TAMAÑO (pb)*	REFERENCIA
<i>bla</i> _{CTX}	F: CGCTTTGCGATGTGCAG	551	Grobner <i>et al.</i> (2009)
	R: ACCGCGATATCGTTGGT		
<i>bla</i> _{TEM}	F: ATTCTTGAAGACGAAAGGGC	1150	Briñas <i>et al.</i> (2003)
	R: ACGCTCAGTGGAACGAAAAC		
<i>bla</i> _{CMY}	F: GACAGCCTCTTTCTCCACA	1000	Li, Sherwood & Logue (2007)
	R: TGGAACGAAGGCTACGTA		

*Tamaño del producto de amplificación de la PCR.

Cuadro 3. Condiciones de amplificación de las PCRs punto final de acuerdo al gen identificado.

Etapas	<i>bla</i>_{CTX}	<i>bla</i>_{CMY}	<i>bla</i>_{TEM}
Inicio			
12 minutos	94°C	94°C	94°C
Desnaturalización			
30 segundos	94°C	94°C	94°C
Alineamiento			
30 segundos	63.9°C	61.8°C	64°C
Extensión	72°C/ 1 minuto	72°C/ 2 minutos	72°C/ 1.5 minutos
Elongación final			
10 minutos	72°C	72°C	72°C

*Para los 3 genes se realizaron 30 ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión.

Cuadro 4. Distribución de aislamientos de *E. coli* positivos a un gen de beta-lactamasas de espectro extendido (ESBL) en canales de pollo de acuerdo a su origen

ORIGEN	<i>bla</i> _{CTX}	<i>bla</i> _{CMY}	<i>bla</i> _{TEM}
	Número de cepas positivas (%)		
Rastro	4 (8)	10 (20)	14 (28)
Mercado	3 (6)	10 (20)	10 (20)
Supermercado	10 (20)	15 (20)	11 (22)

*Porcentajes relativos al total de cepas por origen (50 por cada uno).

*Las cepas positivas a dos genes se encuentran contabilizadas individualmente por gen.

Cuadro 5. Perfil de resistencias de aislamientos de *E. coli* de canales de pollo de acuerdo a su origen

GEN	RASTRO	MERCADO	SUPERMERCADO	TOTAL
				Número de cepas (%)
Ninguno	25	29	20	74 (49.3)
<i>bla</i> _{CTX}	4	2	6	12 (8)
<i>bla</i> _{CMY}	7	9	11	27 (18)
<i>bla</i> _{TEM}	11	8	7	26 (17.3)
<i>bla</i> _{CTX+CMY}	0	0	2	2 (1.3)
<i>bla</i> _{CTX+TEM}	0	1	2	3 (2)
<i>bla</i> _{CMY+TEM}	3	1	2	6 (4)

Cuadro 6. Caracterización de cepas de *E. coli* positivas a genes de virulencia en un estudio realizado por Ramírez (2015)

ORIGEN	TIENDA	MUESTRA	GEN DE VIRULENCIA	ESBL
Supermercado	1	1-1	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}</i>
	1	1-4	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}</i>
	1	2-2	<i>stx2</i>	-
	1	3-1	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}, bla_{TEM}</i>
	2	5-5	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}</i>
	2	6-5	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}</i>
Mercado público	1	12-5	<i>eae</i>	<i>bla_{CTX}</i>
	1	13-1	<i>eae</i>	-
	2	15-2	<i>eae</i>	-
	2	16-3	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}</i>
	2	16-5	<i>stx2</i>	<i>bla_{CMY}</i>
	3	18-1	<i>eae</i>	-
	3	18-3	<i>eae</i>	-
Rastro		26-1	<i>eae</i>	-

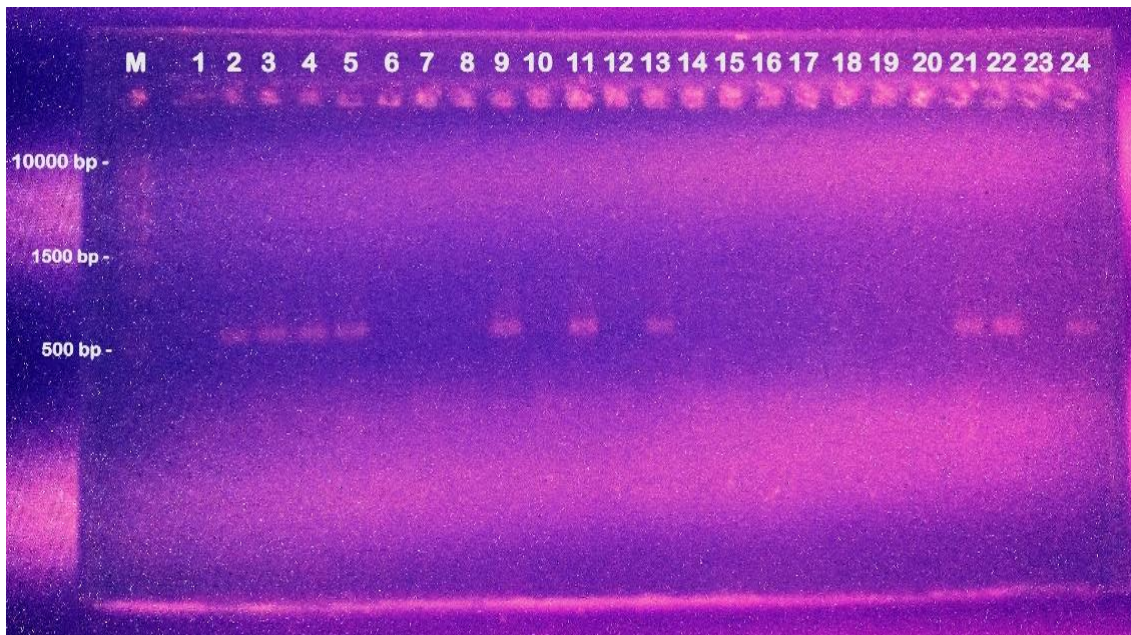


Figura 1. Electroforesis de gel de agarosa con los productos de amplificación de la PCR punto final para *bla*_{CTX}. Carril M: marcador de peso molecular; Carriles 2-5, 9, 11, 13, 21-22, 24: muestras positivas; Carriles 1, 6-8, 10, 12, 14-20, 23: muestras negativas

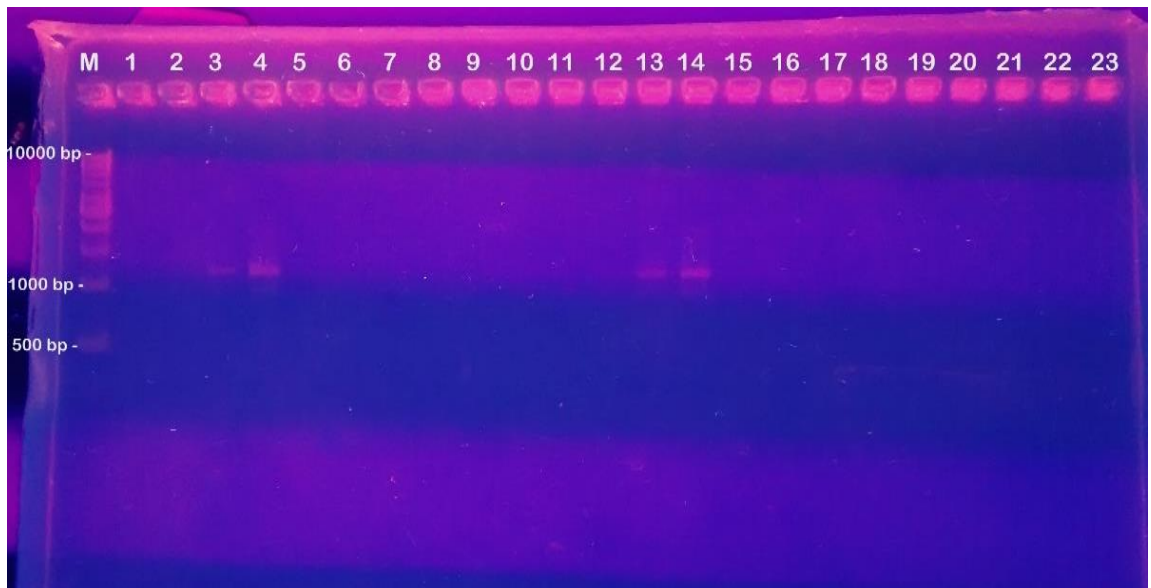


Figura 2. Electroforesis de gel de agarosa con los productos de amplificación de la PCR punto final para *bla*_{TEM}. Carril M: marcador de peso molecular; Carriles 3-4, 13-14: muestras positivas; Carriles 1-2, 5-12, 15-20: muestras negativas; Carriles 21-23: vacíos

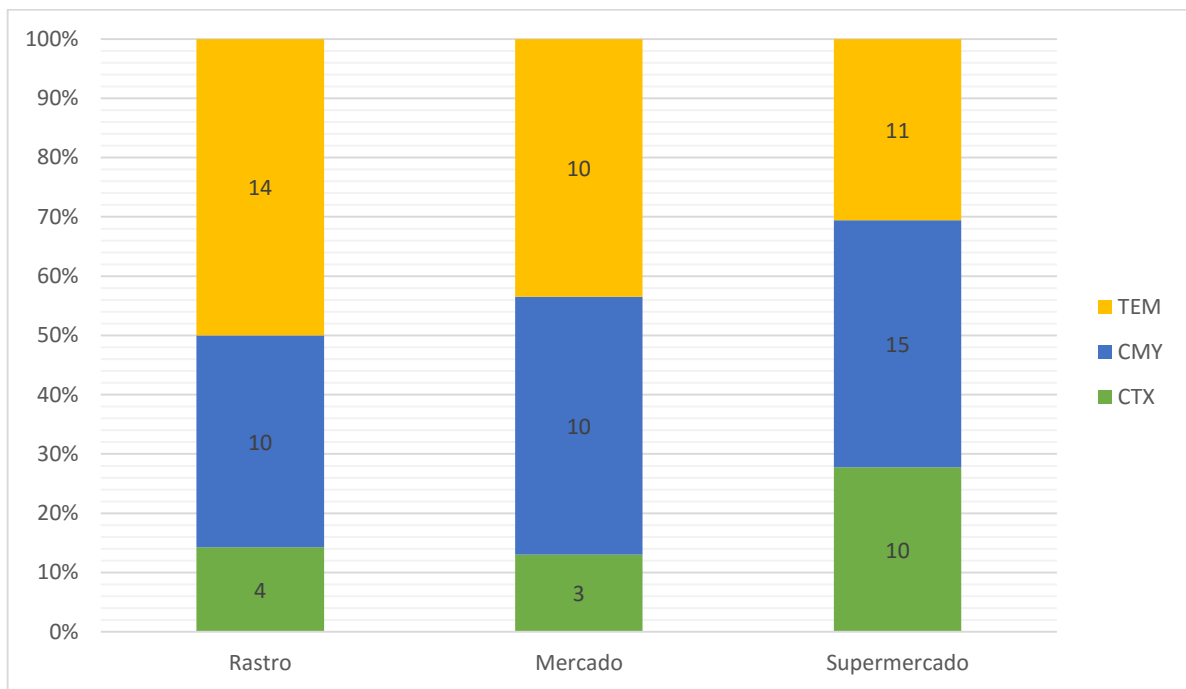


Figura 3. Distribución de genes de resistencia en los aislamientos positivos a beta-lactamasas de espectro extendido (ESBL) de *E. coli* por origen

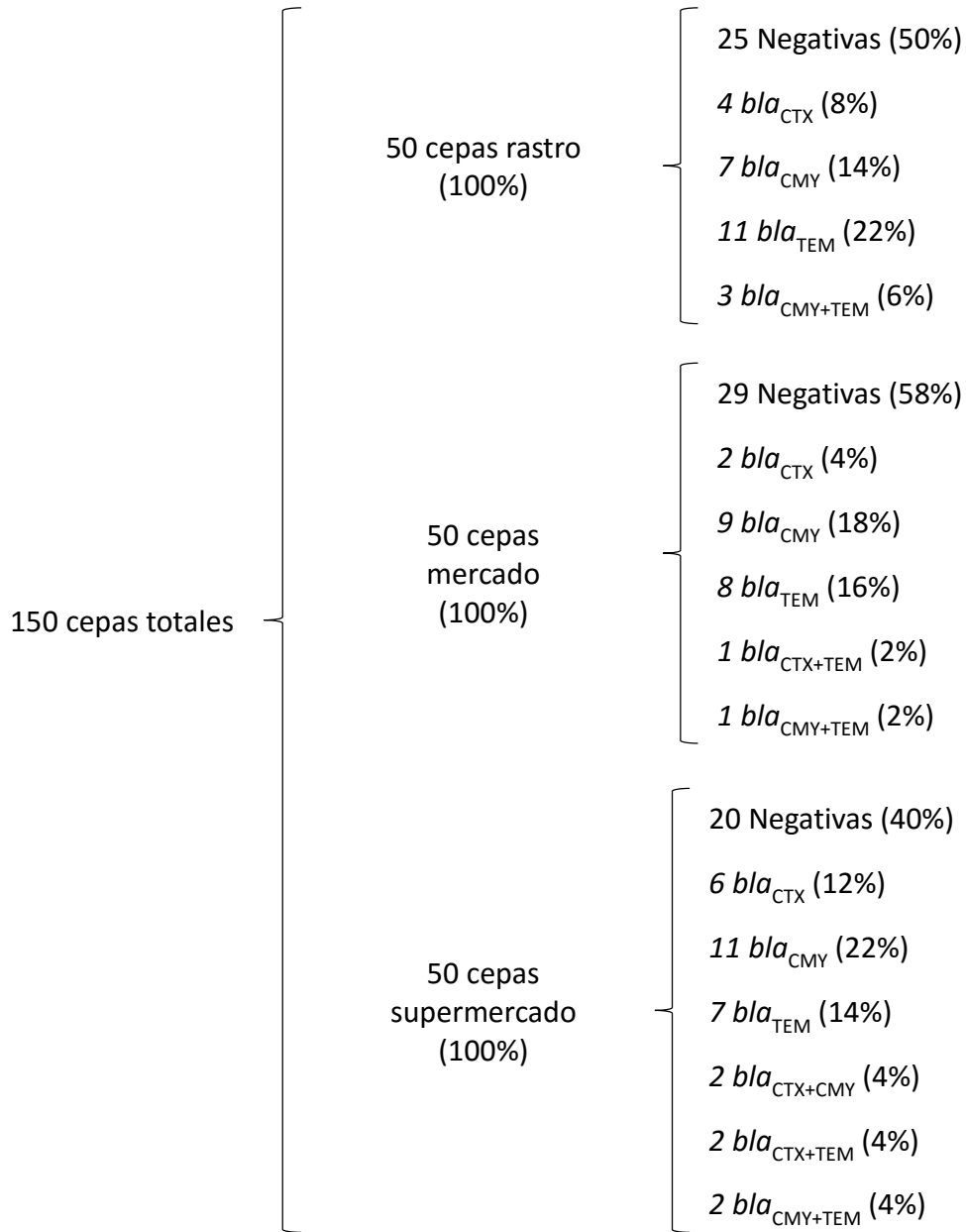


Figura 4. Distribución de los perfiles de resistencia para ESBLs en cepas de *E. coli* de acuerdo al origen de las canales de pollo.