



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC DETECTION OF *ESCHERICHIA COLI* PRODUCER OF β -LACTAMASES EXTENDED SPECTRUM ISOLATED FROM BIRDS SUPPLY IN PERU

DETECCIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORAS DE β -LACTAMASAS ESPECTRO EXTENDIDO AISLADAS DE AVES DE ABASTO EN PERÚ

Franco Ceino Gordillo¹; Isabel Koga Yanagui² & Nathaly Peña Murillo

¹ Laboratorio de Farmacología y Patología Clínica Veterinaria. Escuela de Ciencias Veterinarias de la Universidad Ricardo Palma. Av. Benavides 5440, Lima 33, Perú.

Email: francoceino@hotmail.com

² Laboratorio Bioservice SRL. Lima, Perú.

Author for correspondence: francoceino@hotmail.com

ABSTRACT

Bacterial resistance to antibiotics has become an important public health issue that involves human medicine, veterinary medicine, food and environmental safety in Perú. This work, developed in a private laboratory located in the city of Lima - Peru, focused on the phenotypic and genotypic detection of *Escherichia coli* (Escherich, 1885) strains that produce extended spectrum β -lactamase enzymes (β LEE), isolated in poultry. A total of 185 isolated bird samples of *E. coli* from 26 intensive breeding companies located in Peru were evaluated. The results reflected that 38.4% of strains with the presence of ESBL confirmed phenotypically; Likewise, genes were expressed from total DNA by polymerase chain reaction (PCR) obtaining 33.5% between the blaTEM, blaSHV and blaCTX-M-1 genes and 4.9% of *E. coli* strains producing β LEE phenotypic, no gene *bla* determined. As a conclusion, there is a high presence of *E. coli* strains that produce extended-spectrum β -lactamase enzymes (β LEE), with the blaCTX-M-1 gene being the most frequent.

Key words: bacterial resistance - Extended-spectrum β -lactamases - *Escherichia coli*

RESUMEN

La resistencia bacteriana frente a los antibióticos ha tomado importancia en los últimos años como un gran problema en la salud pública, que involucra tanto a la medicina humana, como a la medicina veterinaria y a la seguridad alimentaria como ambiental en Perú. Los objetivos de este trabajo fueron detectar fenotípica y genotípica cepas de *Escherichia coli* (Escherich, 1885) productoras de enzimas β -Lactamasas de espectro extendido (β LEE), aisladas en aves de abasto en un laboratorio privado ubicado en la ciudad de Lima, Perú. Se evaluaron 185 aislamientos de *E. coli* procedentes de aves de 26 empresas de crianza intensiva ubicadas en Perú. Los resultados reflejan en 38,4% de las cepas con presencia de

enzimas β LEE confirmadas fenotípicamente; asimismo se expresó genes a partir de ADN total por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) obteniendo 33,5% entre los genes *bla*TEM, *bla*SHV y *bla*CTX-M-1 y el 4,9% de cepas *E. coli* productoras de β LEE fenotípico, sin gen *bla* determinado. Se concluye que la presencia de cepas de *E. coli* productoras de enzimas β -Lactamasas de espectro extendido (β LEE), es elevada, siendo el gen tipo *bla*CTX-M-1 el más frecuente.

Palabras clave: β -Lactamasas de espectro extendido - *Escherichia coli* - resistencia bacteriana

INTRODUCCIÓN

La proteína de origen animal más consumida en el Perú es la carne de aves (Contreras, 2016). En el año 2017 se consumió 42 kg per cápita en promedio, y esta cifra continúa aumentando año a año (Vera, 2017). Por este motivo, se considera de alto riesgo en salud pública, la falta de datos actualizados respecto a la evaluación y seguimiento epidemiológico de posibles zoonosis (SEIA, 2010). En el Perú, la presencia de cepas resistentes a antibióticos en animales para consumo humano se considera de alto riesgo ya que se adicionan aditivos nutricionales en el alimento terminado de animales como promotores de crecimiento (Montana, 2017). Debido al uso indiscriminado, la adaptación de los microorganismos se ha elevado con diferentes mecanismos de resistencia, como, por ejemplo, en la familia Enterobacteriaceae. El principal mecanismo de resistencia es la producción de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE). Las β LEE son enzimas capaces de conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación, pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de β -lactamasas (Oliver & Cantón, 2004). La OMS (Organización Mundial de la Salud) anunció las 12 familias de bacterias más peligrosas para el ser humano, y clasificada como prioridad crítica se encuentra la familia Enterobacteriaceae resistentes a los carbapenémicos y productoras de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) (OMS, 2017).

Además, “La posibilidad de que la cadena alimentaria sea un vehículo importante de transferencia de genes de resistencia al hombre ha sido planteada por distintos autores” (Herrera, 2015) y se ha sugerido un origen alimentario a la presencia de cepas de *Escherichia coli* (Escherich, 1885) portadoras de β LEE en la microbiota intestinal de humanos (Marrero-Moreno *et al.*, 2017).

La posibilidad de que la cadena alimentaria sea un vehículo importante de transferencia de genes de resistencia al hombre ha sido planteada por distintos autores (Herrera, 2015), y se ha sugerido un origen alimentario a la presencia de cepas de *E. coli* portadoras de β LEE en la microbiota intestinal de humanos (Marrero-Moreno *et al.*, 2017).

La primera publicación sobre detección de β LEE en bacterias de origen animal, fue en el año 2000, en donde una cepa de *E. coli* (EC98/4153-2) era portadora de gen *bla*SHV-12. Esta cepa fue aislada en 1998, por el servicio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Complutense de Madrid, España, en su hospital veterinario, y el paciente fue un perro con infección recurrente del tracto urinario.

Se ha realizado un muestreo para la detección de enzimas β LEE en cepas de *E. coli* procedentes de muestras fecales de pollos “sanos”, recogidas en mataderos. Se analizó una cepa por muestra (un lote de animales supone una muestra). En un primer muestreo, realizado en 2000-2001, se detectaron cepas de *E. coli* portadoras de *bla*SHV-12, *bla*CTX-M-14, en el 1,6% de los aislados analizados.

En Japón, se realizó la caracterización de enzimas β LEE presentes en cepas aisladas en heces de animales sanos que son destinados al consumo humano. En esta investigación se detectó la presencia de *bla*CTX-M-2 y *bla*CTX-M-14 en pollos, y *bla*CTX-M-2 en ternera (Kojima *et al.*, 2005).

Investigaciones realizadas en Perú, muestran por ejemplo la diseminación de las enzimas β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) tipo CTX-M en *E. coli* aisladas de niños sanos menores de cuatro años (Pallecchi *et al.*, 2007).

Esta investigación tiene relevancia, ya que en Perú no hay estudios de detección fenotípica y genotípica de *E. coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido en aves de consumo humano, por lo que el control de la emergencia de mecanismos de resistencias producidos en cepas aisladas en estas aves es limitado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área

En la presente investigación se desarrolló un método de estudio retrospectivo, transversal diseño descriptivo. El estudio fue realizado en las instalaciones del Laboratorio

Bioservice SRL, distrito de Villa María del Triunfo, Departamento de Lima, Perú.

Muestras

Se consideraron aislamientos de todas las cepas de *E. coli* halladas en necropsias de órganos de pollos y gallinas procedentes de 26 empresas ubicadas en los departamentos de la Libertad, Lima, Ica, Arequipa y Ucayali (Perú) cuyas muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la empresa Bioservice SRL entre noviembre del 2015 y noviembre del 2016. Se realizó un antibiograma del total de las cepas de *E. coli* viables ingresadas al laboratorio entre 2015 y 2016, calificándolas en S: sensible, I: intermedio, R: resistente, S/A: sin analizar.

Procedimiento

El aislamiento de *E. coli* se obtuvo asépticamente de 185 hisopados de diferentes órganos en las necropsias; estos fueron: cerebelo (CE), cornete nasal (CN), seno infraorbitario (SI), tráquea (T), sacos aéreos (SA), pulmón (P), bazo (B), Hígado (H), intestino delgado (ID), intestino grueso (IG), ciego (C), mesenterio (M), Cavidad abdominal (C. Abd), cavidad celomica (C. Cel), saco vitelino (SV), los cuales se sembraron en agar MacConkey (Merck KGaA), y se incubaron a 37°C por 24 a 48 h, bajo condiciones aeróbicas. La identificación fenotípica y confirmación se realizó mediante la morfología de las colonias, características de crecimiento, tinción Gram y pruebas bioquímicas.

Se extrajo ADN de cada aislado bacteriano usando el kit de extracción de ADN: GF-1 Tissue DNA extraction (Vivantis®) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se amplificó por PCR utilizando cebadores *bla*TEM, *bla*SHV y *bla*CTX-M-1. Los primers seleccionados fueron obtenidos a partir de fuentes comerciales (Macrogen®). La PCR se realizó en un termociclador Labcycler - SensoQuest GmbH; la mezcla de reacción se ajustó a un volumen final de 20µl (18 µl de master mix y 2 µl de ADN). Se incluyó un control positivo, negativo y blanco por cada reacción.

Análisis estadístico

Se realizó el llenado de la base de datos con la información de la empresa de donde proviene cada aislamiento viable, que formó parte de la investigación. Se obtuvo información de cada cepa en los años que se remitieron sobre resistencia bacteriana obtenida frente a antibióticos. Luego se procedió a realizar tablas en el programa Excel para sacar las estadísticas y porcentajes.

Aspectos éticos:

Los autores declaran que se cumplió con toda la normatividad ética nacional e internacional.

RESULTADOS

Del estudio realizado, se pudo obtener 185 cepas de *E. coli* viables, aisladas en necropsias de órganos de pollos y gallinas procedentes de 26 empresas ubicadas en 5 departamentos del país, La Libertad, Lima, Ica, Arequipa, Ucayali. En la tabla 1 se puede observar el resultado del antibiograma, del total de los antibióticos empleados para el análisis protocolar de cepas que ingresaron al laboratorio.

Tabla 1. Antibiograma del total de las cepas de *Escherichia coli* viables ingresadas al laboratorio entre 2015 y 2016. S: sensible, I: intermedio, R: resistente, S/A: sin analizar.

Categoría	B-lact	Tetrac	Cefal	Fenicol	Ac. Fofon	Sulfa-Poten	Fluoro	Aminog	Polimix	Macrol
S	18	9	4	63	68	23	34	0	137	1
I	4	12	0	16	8	3	10	1	27	0
R	162	160	10	105	108	158	101	0	10	3
S/A	1	4	171	1	1	1	40	184	11	181
Total	185	185	185	185	185	185	185	185	185	185

Se observó resistencia a la familia de β -lactámicos (representado por amoxicilina con ácido clavulánico), seguido por tetraciclinas (oxitetraciclina), sulfapotenciadores (sulfametoxazol y trimetoprim), fosfonatos (fosfomicina), fenicoles (florfenicol), fluorquinolonas (siendo la más representativa enrofloxacin), polimixina

(colistina), cefalosporinas (cefalotina) y por ultimo macrólidos (tilmicosina) (Tabla 1).

De igual forma, del total de las cepas viables analizadas, se detectó el 38,4% (71/185) de cepas de *E. coli* productoras de enzimas β LEE fenotípicamente confirmadas,

114 muestras no presentaron resistencia fenotípica, se reportó también el 33,5% (62/185) confirmado genotípicamente y 123 aislamientos no amplificaron los genes en evaluación (Tabla 2). En el análisis fenotípico confirmatorio realizado para detectar la presencia de enzimas β-lactamasas espectro extendido (βLEE) en las *E. coli* viables, se empleó el método de sinergia de doble disco según el Comité de Antibiograma de la sociedad Francesa de Microbiología, la cual se manifestó por el efecto sinérgico entre el inhibidor y los discos, si se presentó la formación de la imagen efecto de huevo, cola de pez o balón de fútbol americano y se confirma cepa positiva productora de enzimas βLEE. La interpretación para todas las cepas confirmadas productoras de enzimas βLEE fueron reportadas como resistentes para todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.

Tabla 2. Detección Fenotípica y genotípica de producción de enzimas βLEE en el total de las cepas viables de *Escherichia coli*.

Enzimas βLEE	Fenotípico (%)		Genotípico (%)	
Si	71	38,4	62	33,5
No	114	61,6	123	66,5
Total	185	100,0	185	100,0

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba fenotípica confirmatoria, el 38,4% (71/185) del total de las cepas aisladas son portadoras de enzimas βLEE. También se tiene que en las 71 cepas portadoras de enzimas βLEE se observó la formación de la imagen efecto de huevo. Esta característica se pudo observar en la familia de cefalosporinas: Cefalotina (Kf) 10,8% (20/185), Cefuroxima (CXM) 18,9% (35/185), Cefoxitina (FOX) 0,5% (1/185), Ceftriaxona (CRO) 32,4% (60/185), Cefotaxima (CTX) 15,7% (29/185), Ceftazidima (CAZ) 1,6% (3/185), Ceftizoxima (ZOX) 2,7% (5/185) y familia monobactam: Aztreonam (AZT) 17,3% (32/185).

Como resultado en lo que concierne a la detección genotípica con la amplificación de genes por PCR, se obtuvo un resultado de 33,5% (62/185) confirmado del total de las muestras viables que fueron analizadas (tabla 3).

Además, en la expresión de cada gen analizado se encontró, el gen *bla*CTX-M-1 en 90,3% (56/62) de positividad, el gen *bla*SHV en 8,1% (5/62); sin embargo, el gen *bla*TEM no se logró expresar 0% (0/62).

Adicionalmente, se encontró en 1,6% (1/62) de los aislamientos, la coexistencia de los genes *bla*CTX-M-1 y *bla*SHV en la misma cepa analizada, y en resultados de PCR.

Tabla 3. Aislamiento de *E. coli* que expresó algún gen *bla* por PCR.

Genes	N	%
<i>bla</i> CTX-M-1	56	90,3
<i>bla</i> SHV	5	8,1
<i>bla</i> TEM	0	0,0
<i>bla</i> CTX-M-1 y SHV	1	1,6
Total	62	100,0

N: cantidad de cepas de *E. coli* que expreso algún gen.

Como dato adicional, se encontró que las cepas *E. coli* productoras de enzimas βLEE fenotípicamente 38,4% (71/185), también fueron las que expresaron los genes mencionados con la excepción de 4,9% (9/71) que estaban confirmadas por el método fenotípico, pero no amplificaron los genes *bla* en evaluación.

DISCUSIÓN

En Lima, Perú, hay un incremento de las empresas dedicadas a la producción intensiva de aves año tras año, habiendo sido mostrado por el Sistema Integrado de Estadística Agraria (SIEA, 2018).

En el presente estudio se aisló cepas de muestras de órganos de animales sanos y enfermos procedentes de necropsias, a diferencia de Briñas *et al.* (2003), donde se realizó un muestreo para la detección de enzimas βLEE en cepas de *E. coli* procedentes de 160 muestras fecales de pollos “sanos”, recogidas en matadero, se obtuvieron resultados similares en la amplificación de genes *bla*SHV, *bla*CTX-M-1; sin embargo, su muestreo en el 2000-2001 portaron SHV- 12 o CTX-M-14 en el 1,6% de los aislados analizados, a diferencia del presente estudio donde se analizaron 185 muestras de necropsias de animales sanos y enfermos, y portaron los genes *bla*SHV y gen *bla*CTX-M-1 en 33.5 % del total de los aislados. Sin embargo, no se realizó la amplificación de los subtipos presentados en ese estudio (Briñas *et al.*, 2003, 2005).

A diferencia del estudio de Abreu *et al.* (2013), que se realizó en 6 granjas de la isla Tenerife, donde obtuvieron 90 muestras de exudados rectales en pollos, con un porcentaje de 86,6 (36 cepas) para la presencia de enzima βLEE, en el presente estudio se analizaron aves procedentes de 26 empresas y se halló 38,4% (71 cepas) de 185 cepas *E. coli* productoras de βLEE fenotípicamente provenientes de 26 empresas tecnificadas, la cifra del hallazgo es inferior pero significativo; y del mismo modo, la multirresistencia observada en ambos estudios incluyen

cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos, quinolonas y cotrimoxazol.

En Japón, Kojima *et al.* (2005) realizaron la caracterización de enzimas β LEE presentes en cepas aisladas en heces de animales de engorde sanos; sin embargo, el estado de salud de las aves, no fue una condición para incluir o excluir en nuestro estudio. Además ellos tampoco analizaron el gen CTX-M-1, pero la sugerencia, de que los plásmidos que transfieren genes de resistencia, sean los de tipo CTX-M en *E. coli* y durante la etapa de cría de pollos de engorde, ofrece la importancia que en el estudio se hallara en mayor cantidad los genes *bla*CTX-M-1 y que no se excluyeran a las aves por su edad.

En China, aparecen *E. coli* productora de *bla*CTX-M y *bla*CMY-2 entre granjas en la provincia de Guangdong, las β LEE de tipo *bla*CTX-M fueron las más comunes, como *bla*CTX-M-3, *bla*CTXM-13, *bla*CTX-M-14, *bla*CTX-M-24 y *bla*CTX-M-27, el grupo *bla*CTX-M-9 fue el predominante y se han detectado en aves y cerdos (Liu *et al.*, 2007). Los resultados de esta investigación, al igual que el anterior estudio muestran que la amplificación del gen *bla*CTX-M estuvo presente en mayor cantidad, pues se obtuvo 90,3% (56/62) cepas con la amplificación del gen, lo que indica la misma posibilidad de encontrar mayor cantidad de subtipos, los cuales podrían estar coexistiendo junto al analizado gen *bla*CTX-M-1.

Además, el problema de resistencia de agentes antimicrobianos de uso común son muy serios en estas granjas, el 98% de los aislados de *E. coli* fueron resistentes a tetraciclina, en el estudio realizado 86,5% (160/185) fueron resistentes a tetraciclina, también ellos obtuvieron 79% de resistencia para ampicilina; sin embargo en el estudio realizado no se analizó ampicilina y por último también obtuvieron 79% de resistencia en ciprofloxacina. Sin embargo, en el estudio se encontró en menor frecuencia de resistencia a ciprofloxacino con 54,6% (101/185) (Liu *et al.*, 2007).

En Dinamarca se halló el gen *bla*TEM-52 en una cepa de *E. coli* de venta de una ternera destinada a consumo humano, sin embargo, en el presente estudio no se logró amplificar el gen *bla*TEM. Ellos utilizaron un tamaño de fragmento de 957 pb, más amplio que el utilizado en este estudio de 503 pb (Bogo *et al.*, 2006).

La resistencia a múltiples fármacos, se asocia a plásmidos contenidos en las bacterias, se encuentran con frecuencia en cepas de *E. coli* procedentes de aves de corral, como se halló en el presente estudio la similitud de multiresistencia antibiótica, sin embargo, no se corroboró, que la

presencia de la resistencia provenga de plásmidos; por lo tanto, no se puede afirmar que puedan servir o no, como reservorios de plásmidos de resistencia para *E. coli* extraintestinal patógena y comensal, por lo que hay razones importantes para amplificar el presente estudio. (Kluytmans *et al.*, 2013).

En Holanda se realizó un estudio de prevalencia de *E. coli* β -lactamasas (β LEE) y AmpC en las granjas de pollos de engorde y en los agricultores holandeses y se comparó las cepas de los animales con las humanas. Los resultados de positividad en los pollos fueron del 80% y el 33,3% (6/18) en granjeros; además los genes *bla*CTX-M-1, *bla*CMY-2 y/o *bla*SHV-12, también estaban presentes en las muestras de sus animales (Dierikx *et al.*, 2013), al igual que este estudio donde se amplificó el gen *bla*CTX-M-1; sin embargo, se registró el 33,5% (62/185) confirmado genotípicamente y 4,9% (9/185) sin gen *bla* determinado, la gran diferencia de positividad 80% en pollos para la presencia de resistencia, puede deberse a que el gen *bla*CMY-2 no fue expresado y tampoco se evaluó la resistencia AmpC; además no se realizó la subtipificación de plásmidos que realizaron en su estudio (Dierikx *et al.*, 2013).

En estudios realizados en Perú, se muestra la diseminación de las β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) tipo CTX-M en *E. coli* aisladas de niños sanos menores de cuatro años, siendo el mismo gen con mayor predominancia en nuestro estudio (Pallecchi *et al.*, 2007).

Se concluye que la presencia de cepas de *E. coli* productoras de enzimas β -lactamasas de espectro extendido (β LEE), es elevada, siendo el gen tipo *bla*CTX-M-1 el más frecuente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, R. 2013. *Prevalencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), en exudados rectales de pollos de engorde en granjas avícolas en la isla de Tenerife, España*. Universidad de La Laguna (España) en 2013. En <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=237728> leído el 10 de agosto del 2019.
- Bogo, J.L.; Hasman, H.; Agersø, Y.; Emborg, H.D. & Aarestrup, F. M. 2006. First description of an oxyimino-cephalosporin resistant resistant, ES-BL-carrying *Escherichia coli* isolated from meat sold in Denmark. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57: 793-794.
- Briñas, L.; Moreno, M.A.; Zarazaga, M.; Porrero, C.; Saenz, Y.; García, M.; Torres, C. & Teshager,

- T. 2005. Monitoring and characterization of extended-spectrum B-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49: 1262-1264.
- Briñas, L.; Moreno, Ma.; Zarazaga, M.; Porrero, C.; Saenz, Y.; García, M.; Torres, C.; Teshager, T. 2003. Detection of CMY-2, CTX-M-14, and SHV-12 B-lactamases in *Escherichia coli* fecal-sample isolates from healthy chickens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47: 2056-2058.
- Contreras, S. 2016. *Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización avícola*. Dirección General de seguimiento y evaluación de políticas, Dirección de Estadística Agraria.
- Dierikx, C.; Van der Goot, J.; Fabri, T.; Van Es-sen-Zandbergen, A.; Smith, H. & Mevius, D. 2013. Extended-spectrum-b-lactamase- and AmpC-b-lactamase-producing *Escherichia coli* in dutch broilers and broiler farmers. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 68: 60-67.
- Kluytmans, J.; Overdeest, I.; Willemsen, I.; Kluytmans-van den Bergh, M.; van der Zwaluw, K.; Heck, M.; Rijnsburger, M.; Vandebroucke-Grauls, C.M.; Savelkoul, P.H.; Johnston, B.D.; Gordon, D. & Johnson, J. 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: 478-487.
- Kojima, A.; Ishii, Y.; Ishihara, K.; Esaki, H.; Asai, T.; Oda, C. & Yamaguchi, K. 2005. Extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: Report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 49: 3533-3537.
- Herrera, A. 2015. *El papel de los alimentos en la transmisión de "Escherichia coli" potencialmente patógenas para el hombre. Prevalencia y caracterización de cepas diarreagénicas u productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)*. Tesis Universidade de Santiago de Compostela. Facultade de Veterinaria. Departamento de Microbioloxía e Parasitología. Laboratorio de Referencia de *E.coli* (LREC). Laboratorio Nacional de Referencia para la Detección de *E.coli* en Alimentos.
- Liu, J.H.; Shu-Yong, W.; Jun-Ying, M.; Zhen-Ling, Z.; Dian-Hong, L.; Gui-Xiang, Y. & Zhang-Liu, C. 2007. Detection and characterisation of CTX-M and CMY-2 B-lactamases among *Escherichia coli* isolates from farm animals in Guangdong Province of China. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29: 576-581.
- Marrero-Moreno, C.; Mora, M.; Hernández, R.; Báez, M.; García, T.; & Espinosa, I. 2017. Identificación de enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs) en instalaciones porcinas de la provincia Matanzas. *Revista de Salud Animal*, 39: 15.
- Montana. 2017. *Corpmontana*. Obtenido de http://www.corpmontana.com/avicultura_detalle.php?sC=271
- Oliver, A. & Cantón, R. 2004. Enterobacterias productoras de β -lactamasas plasmidicas de espectro extendido. Madrid: Control calidad seimc.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2017. *El País*. Obtenido de <https://elpais.com/elpais/2017>
- Pallecchi, L.; Bartoloni, A.; Fiorelli, C.; Mantella, A.; Di Maggio, T.; Gamboa, H. & Rossolini, G. 2007. Rapid dissemination and diversity of CTX-M extended-spectrum - lactamase genes in commensal *Escherichia coli* isolates from healthy children from low-resource settings in Latin America. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51: 2720-2725.
- Sistema Integrado de Estadística Agraria (SIEA). 2018. <http://siea.minagri.gob.pe/siea/> leído el 20 marzo del 2019.
- Sociedad de las Enfermedades Infecciosas de América (SEIA). 2010. *News Medical Life Science*. Obtenido de <https://www.news-medical.net/news/20100317/34/Spanish.aspx#> leído el 20 marzo del 2019.
- Vera, J. 2017. *Actualidad Avipecuaria*. Obtenido de <http://www.actualidadavipecuaria.com/noticias/peru-es-el-cuarto-consumidor-de-pollo-en-america-latina.html>

Received February 17, 2019.
Accepted October 30, 2019.