

Higiene y Sanidad Ambiental, 13 (4): 1091-1096 (2013)

Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en pollos de granjas avícolas de la isla de Tenerife (España)

PREVALENCE OF ESCHERICHIA COLI STRAINS PRODUCING EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE (ESBL) FROM CHICKENS IN TENERIFE (SPAIN) POULTRY FARMS

¹Abreu R, ²Castro-Hernández B, ²Madueño A, ³Espigares-Rodríguez E, ³Moreno-Roldán E, ¹Moreno P, ⁴Sánchez-Tudela JM, ¹Arias A.

¹Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad de La Laguna (Tenerife, España); ² Servicio de Microbiología y Medicina Preventiva del Hospital Universitario de Canarias (Tenerife, España), ³Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada (España), ⁴SADA p.a. Canarias SA.

Correspondencia: Ángeles Arias Rodríguez. Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina, Campus de Ciencias de la Salud de Ofra, s/n, Universidad de La Laguna, 38007, La Laguna, Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias, España. Teléfono: 922319369. Correo-e: angarias@ull.es

RESUMEN

La resistencia de las bacterias a los antibióticos es un problema importante de salud pública, que afecta a diversos ámbitos, tanto en medicina, como en veterinaria, en seguridad alimentaria y ambiental.

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) son enzimas producidas por bacilos gramnegativos y en especial por *Escherichia coli* (*E. coli*) que confieren resistencia a la mayoría de antibióticos betalactámicos a excepción de los carbapenémicos y cefamicinas y la mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico.

Los objetivos de este trabajo ha sido determinar la prevalencia de colonización en pollos de *Escherichia coli* productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y evaluar su resistencia a diversos antimicrobianos.

Se recogieron 90 muestras rectales de pollos sanos de engorde provenientes de granjas avícolas de Tenerife, durante el período 2012-2013. Todas las muestras se sembraron en el medio chromID TM ESBL (bioMérieux® SA) y se incubaron durante 24h a 37°C. La detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido se realizó de acuerdo con las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) y por el Método de Jarlier. Los ensayos de resistencia antibiótica se realizaron por sistemas automatizados. Los aislados fueron caracterizados fenotípicamente como productores de BLEE. Se determinó el perfil de resistencia a antimicrobianos del total de cepas aisladas y los patrones de resistencia predominantes.

Los resultados muestran una prevalencia total del 86,6%. En todas las granjas muestreadas se detectaron *E. coli* BLEE. La resistencia a los antibióticos obtenida fue elevada.

En conclusión, la prevalencia de *E. coli* BLEE encontrada es muy elevada y superior a los estudios consultados y dado que pueden actuar como reservorio de estos microorganismos a nivel comunitario, es necesario que se aumenten las medidas de detección y control en origen de este microorganismo.

Palabras clave: *Escherichia coli*, β -lactamasas de espectro extendido, pollos.

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es una bacilo gramnegativo comensal en los seres humanos y animales. Está comúnmente presente en el medio ambiente y se considera un indicador de la contaminación fecal en los alimentos y el agua. La mayoría de las cepas son comensales, pero algunas cepas de *E. coli* son patógenos para los humanos y los animales (Torres & Zarazaga 2007; Zhao et al. 2012).

Uno de los principales mecanismos de resistencia en este tipo de bacterias es la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (Junying et al. 2012). De hecho, en los últimos años se han observado cepas clínicas portadoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), fundamentalmente en aislados procedentes de pacientes de la comunidad (Paterson & Bonomo, 2005; Romero et al., 2005; Rodríguez-Baño & Navarro, 2008; Khanfar et al., 2009; Maina et al., 2012).

En humanos, el principal reservorio de *E. coli* productoras de BLEE es el tracto digestivo, y su transmisión se facilita por el contacto a través de las manos, habiéndose descrito transmisión plasmídica y bacteriana de estas enzimas entre personas por contacto directo. También se ha considerado que ciertos alimentos de origen animal, principalmente en relación con las aves de corral, podrían ser fuente de transmisión de enzimas BLEE al hombre. Distintas publicaciones hacen referencia a la detección *E. coli* portadoras de BLEE en muestras fecales de distintos tipos de animales sanos, tanto animales destinados al consumo humano como animales de compañía y animales salvajes (Torres & Zarazaga 2007; Li et al., 2007; Smet et al., 2008; Ewers et al., 2012), así como en distintos alimentos de origen animal, indicando la elevada prevalencia de *E. coli* portadora de BLEE en las aves y más concretamente en los pollos (Junying et al. 2012; Dierikx et al., (2013).

Según el informe publicado por la *European Food Safety Authority* (EFSA) (2011), es particularmente complicado determinar los factores de riesgo para la aparición de BLEE por la falta de disponibilidad de datos o falta de precisión. El uso de los antimicrobianos es un factor de riesgo de la selección y la propagación de clones resistentes, genes de resistencia y plásmidos. Como la mayoría de las cepas BLEE llevan resistencias adicionales a otros de uso común medicamentos veterinarios, el uso genérico de los antimicrobianos es un factor de riesgo de BLEE y no se limita específicamente al uso de cefalosporinas. Otro de los factores de riesgo es el intenso comercio de animales en miembros de la UE.

También existen numerosos estudios sobre la relación de *E. coli* BLEE aislados de animales para el consumo, de carnes y las cepas humanas. En el estudio de Cortés et al. del 2010, se aislaron y se caracterizaron el potencial patógeno de cepas resistentes de *E. coli* a partir de muestras de pollos y cerdos en granjas. Entre los 86 aislamientos de granja,

23 (26,7%) tenían dos o más genes de virulencia típicos de *E. coli* patógena extraintestinal. Los resultados hacen especial hincapié en el riesgo zoonótico que se plantea especialmente por las granjas de aves de corral, pero también por las granjas de cerdos, como reservorios de *E. coli* BLEE. Leverstein-van Hall et al. (2011) en Dinamarca realizaron un estudio para comparar las cepas de *E. coli* BLEE en humanos con las existentes en pollos y muestras de carne de venta al por menor. Encontraron que el 94% de las muestras de carne de pollo contenían cepas productoras de BLEE, de los cuales el 39% pertenecían a *E. coli* con genotipos presentes en muestras humanas recogidas de hospitales de la zona. Ellos concluyeron que estos resultados son indicativos de la transmisión de genes de BLEE, plásmidos y aislados de *E. coli* de las aves a los seres humanos, muy probablemente a través de la cadena alimentaria. Johnson et al., (2012) estudiaron las asociaciones entre la resistencia a múltiples fármacos, el plásmido contenido, y el potencial de virulencia entre el patotipo *Escherichia coli* patógena extraintestinal (ExPEC), las cepas *E. coli* comensales de humanos y las cepas *E. coli* de aves de corral. Ellos sugieren que la cepas de *Escherichia coli* aviar, poseen comúnmente la capacidad de resistir a múltiples agentes antimicrobianos, y pueden servir como reservorios de plásmidos de resistencia para *E. coli* extraintestinales patógena y comensales en humanos. Concluyen que estos hallazgos sugieren que en *E. coli* extraintestinales, la multiresistencia se asocia más comúnmente con plásmidos, y que estos plásmidos se encuentran con frecuencia en cepas *E. coli* aviar a partir de los sistemas de producción de aves de corral.

Recientemente, Dierikx et al., (2013), realizaron un trabajo cuyo objetivo fue establecer la prevalencia de *E. coli* β -lactamasas (BLEE) y AmpC en las granjas de pollos de engorde y en los agricultores holandeses y comparar las cepas de los animales con las humanas. Encontraron resultados positivos para todas las granjas y un porcentaje de positividad en los pollos del 80% y el 33,3% (6/18) granjeros y 5 aislamientos eran similares genéticamente a los obtenidos en los pollos. Ellos indican la existencia de una alta prevalencia de aves que transportan *E. coli* BLEE / AmpC y una alta prevalencia de *E. coli* BLEE / AmpC en los granjeros, lo que consideran que no es deseable, debido al riesgo que esto supone para la salud humana y que la investigación futura debería centrarse en la identificación de la fuente de estas cepas en la cadena de producción de pollos para hacer intervenciones preventivas cuyo resultado sea la reducción de estas cepas.

El objetivo del estudio ha sido determinar la prevalencia de colonización de *E. coli* BLEE en pollos vivos sanos en granjas avícolas de la isla de Tenerife y el perfil de sensibilidad/resistencia a antimicrobianos de las cepas aisladas

MATERIAL Y MÉTODOS

Recogida de muestras

Se recogieron un total de 90 exudados rectales de pollos en 6 granjas avícolas de la isla de Tenerife. La edad de los pollos muestreados era entre 16 y 41 días. Todas eran granjas de pollos de cebo, con una media del número de pollos en el momento de la visita de 18666 (máximo de 26000 y mínimo de 15000) y todas tenían instalaciones modernas. Eran naves cerradas, con ambiente controlado en cuanto a temperatura, humedad y ventilación y disponían de dispositivos a fin de evitar en la medida de lo posible la entrada de posibles patógenos. Las granjas visitadas cumplían con la normativa vigente, el Real Decreto 692/2010, que establece la normativa mínima para la protección de los pollos destinados a la producción de carne. En todas ellas la alimentación era pienso sin adicionar antibióticos.

Las muestras una vez recogidas se conservaron en el medio Stuart-Amies (Deltalab®) en nevera y se procesaban dentro de las dos primeras horas.

Análisis microbiológico

Todas las muestras se sembraron en el medio chromID™ ESBL (bioMérieux® SA) y se incubaron durante 24h a 37°C. Se trata de un medio cromogénico selectivo destinado al cribado de enterobacterias productoras de BLEE, gracias a que contiene una mezcla de antibióticos y sustratos cromogénicos que permiten la identificación directa de *E. coli* BLEE por la coloración espontánea (rosa a burdeos) de las cepas productoras de β -glucuronidasa. A las colonias sospechosas se les realizaron las pruebas de la oxidasa (Fluka® analytical) e indol (Panreac®) mediante tiras reactivas para verificar que se trataban de *E. coli* (oxidasa negativo e indol positivo). Después, dichas colonias, se sembraron en el medio selectivo y diferencial de McConkey (bioMérieux® SA) con el fin de conseguir un cultivo puro y las pruebas bioquímicas y la resistencia a los antibióticos se realizaron mediante tarjetas AST-N243 para Vitek 2 BioMérieux®. El test confirmatorio de la producción de BLEE utilizado fue la prueba de sinergia de doble disco (método de Jarlier).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa la prevalencia de *E. coli* BLEE según las distintas granjas muestreadas. El 100% de las granjas fueron positivas para estas bacterias. La prevalencia de *E. coli* BLEE en las granjas osciló entre el 73,3% y el 100%. En el total de las muestras analizadas el porcentaje de positividad fue del 86,6.

En la Tabla 2 aparecen reflejados el porcentaje de resistencia a los antibióticos estudiados de las 78 cepas de *E. coli* BLEE estudiados. La multiresis-

Tabla 1. Prevalencia de *E. coli* BLEE según granja de procedencia.

Nº de granja	Nº de muestras positivas	Prevalencia
1	13	86,7
2	12	80,0
3	12	80,0
4	15	100
5	11	73,3
6	15	100

Tabla 2. Porcentaje de resistencia de las cepas a los antibióticos ensayados.

Antibiótico	% de resistencia
Amoxicilina/Acido Clavulánico	100
Piperacilina/Tazobactam	100
Ampicilina	100
Cefuroxima	100
Cefuroxima Axetil	100
Cefoxitina	100
Cefotaxima	100
Ceftazidima	100
Cefepima	100
Ertapenem	0
Imipenem	0
Amikacina	0
Gentamicina	6,8
Ácido Nalidixico	92,4
Ciprofloxacina	73,4
Tigeciclina	0
Trimetropina/Sulfametoxazol	24,1

tencia observada incluye cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos, quinolonas y cotrimoxazol. Las mayores resistencias, sin considerar a los β -lactámicos no carbapenémicos, aparecen en las quinolonas (ácido nalidixico y ciprofloxacina), seguido del trimetropin/sulfametoxazol (cotrimoxazol).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio encontramos una elevada prevalencia de colonización de pollos por cepas de *E. coli* BLEE, superior a los distintos estudios consultados, como se observa en la Tabla 3, en la que aparecen reflejados diversos estudios sobre colonización de muestras de pollos por *E. coli* BLEE, el país de realización del estudio y la prevalencia obtenida.

Tabla 3. Prevalencia en otros estudios de colonización de pollos por *E. coli* BLEE

Referencia	País	Prevalencia
Briñas et al., 2003	España	4.2%
Briñas et al., 2005	España	6.3%
Smet et al., 2008	Bélgica	45%
Costa et al., 2009	Portugal	42.1%
Yuan et al., 2009	China	80%
Li et al., 2010	China	67%
Randall et al., 2010	Gran Bretaña	50%
Geser et al., 2011	Suiza	6,3%

Diversos estudios hablan de la diseminación en Europa de cepas de *E. coli* BLEE aisladas en los pollos. El empleo de cefalosporinas de amplio espectro en animales podría ser un factor de selección de bacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido, unido al sistema de cría intensiva y el hacinamiento al que se ven sometidos con frecuencia los animales, lo que facilita enormemente, tanto el intercambio de bacterias entre individuos como el intercambio de genes de resistencia entre bacterias (Torres & Zarazaga, 2007; Leverstein-van Hall et al., 2011).

Dierikx et al. (2010a), indica el aumento de la prevalencia de estas cepas relacionándola con el uso indiscriminado de antibióticos en veterinaria. En otro estudio de Dierikx et al. (2010b) describieron un aumento de la prevalencia de *Escherichia coli* BLEE en el tracto gastrointestinal de animales sanos productores de alimentos, en especial pollos, pasando del 3% en 2003 al 15% en 2008 y en 2009, se detectaron en el 100% de las granjas estudiadas (26 granjas). Estos resultados del 2009 concuerdan con los obtenidos por nosotros con un 100% de granjas positivas.

Randall et al. (2011) en un estudio realizado con la finalidad de determinar la prevalencia de *Escherichia coli* productor de β -lactamasas de amplio espectro (BLEE) en las aves en Gran Bretaña, encontraron que el 50% de las muestras de pollo tenían un crecimiento positivo para estas bacterias resistentes, indicando que este resultado sugiere un alto porcentaje de colonización de estos animales por este tipo de cepas. El porcentaje, sin embargo, es claramente inferior al obtenido por nosotros.

En este mismo país, Horton et al. (2011) estudiaron la prevalencia de estos microorganismos en ganado vacuno, cerdos y pollos, encontrando la

mayor prevalencia, así como el mayor recuento de estas bacterias en muestras procedentes de pollos, indicando que es importante determinar el número absoluto de bacterias que secretan los animales a la hora de realizar los estudios epidemiológicos para evaluar los riesgos de transmisión de estas bacterias por los alimentos.

Geser et al. (2011) en un estudio realizado en Suiza sobre prevalencia de *Enterobacteriaceae* BLEE en distintos animales de granja (vacas, cerdos, ovejas y pollos) en 100 granjas diferentes encontraron una prevalencia variable según el animal. En los pollos la prevalencia fue del 63,4% muy superior a la encontrada en las muestras de los otros animales estudiados, pero inferior a la encontrada por nosotros. Diversos autores indican que el nivel de resistencia a los antimicrobianos de *E. coli* representa un indicador útil de la difusión de la resistencia en poblaciones de bacterias y de la presión selectiva impuesta por los antimicrobianos utilizados en el tratamiento de los seres humanos y de animales productores de alimentos (Sørum et al., 2001; Alhaj et al., 2007).

Sáenz et al. (2001), demostraron que la frecuencia de resistencia a diferentes agentes antimicrobianos en *E. coli* diferían de acuerdo a la fuente de los aislamientos. Los *E. coli* aislados de voluntarios humanos sanos presentaban una resistencia del 16% y 8% a la ciprofloxacino y gentamicina respectivamente, mientras que los *E. coli* aislados de pollos de engorde presentaban una resistencia mayor a la ciprofloxacino (CIP) (38%) y gentamicina (GM) (40%). Nosotros encontramos resistencias a estos dos antibióticos en porcentajes, superior en el caso de la ciprofloxacino e inferior para el antibiótico gentamicina.

Geser et al., (2012), encontraron en Suiza que de 62 cepas productoras de *E. coli* BLEE, aisladas de muestras rectales de pollo: 51 eran resistentes a tetraciclina (82.3%), 37 a cotrimoxazol (59,7%), 24 a ácido nalidíxico (38.7%), 6 a aminoglucósido (9.7%), 2 a cloranfenicol (3.2%), 4 a ciprofloxacino (6.5%) y ninguna de las cepas analizadas fue resistente a imipenem. Nosotros encontramos porcentajes de resistencia superiores en el caso de la ciprofloxacino y ácido nalidíxico e inferiores para la gentamicina y cotrimoxazol.

En China, Li et al., (2010), encuentran que de 56 cepas productoras de BLEE, 54 aislamientos contenían β -lactamasas del tipo CTX-M de distintos tipos. Encontraron que más de tres cuartas partes de las cepas productoras de BLEE en pollo también eran resistentes a la ciprofloxacino, porcentaje algo superior al obtenido por nosotros del 65,4%.

En conclusión, hemos encontrado una alta prevalencia de cepas *E. coli* portadoras de β -lactamasa, por lo que es necesario que se aumenten las medidas de detección y control en origen de este microorganismo, ya que estos animales pueden actuar como reservorio de este microorganismo a nivel comunitario.

BIBLIOGRAFÍA

- Alhaj N, Mariana N, Raha A, Ishak Z. Prevalencia de la resistencia a los antimicrobianos de *Escherichia coli* de diferentes fuentes en Malasia. *Int J Poult Ciencia* 2007; 6:293-297.
- Costa D, Vinué L, Poeta P, Coelho AC, Matos M, Sáenz Y, Somalo S, Zarazaga M, Rodrigues J, Torres C. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. *Vet Microbiol* 2009; 18138:339-344.
- Dierikx C, van Essen-Zandbergen A, Veldman K, Smith H, Mevius D. (a). *Vet Microbiol* 2010; 26:273-278.
- Dierikx CM, Fabri T, Goot JA et al. (b) Prevalence of Extended-Spectrum- Beta-Lactamase producing *E. coli* isolates on broiler farms in The Netherlands. Scientific spring meeting of the Dutch Society for Medical Microbiology and the Dutch Society for Microbiology. Arnhem: Ned Tijdschr Med Microbiol 2010; 18: S28-S29.
- Dierikx C, van der Goot J, Fabri T, van Essen-Zandbergen A, Smith H, Mevius D. Extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:60-67.
- European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal* 2011;9:2322 [95 pp.]. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/>
- Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:646-655
- Geser N, Stephan R, Kuhnert P, Zbinden R, Kaeppli U, Cernela, Haechler HJ. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in swine and cattle at slaughter in Switzerland. *Food Prot* 2011; 74:446-449.
- Horton RA, Randall LP, Snary EL, Cockrem H, Lotz S, Wearing H, Duncan D, Rabie A, McLaren I, Watson E, La Ragione RM, Coldham NG. Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77:3715-3719.
- Johnson TJ, Logue CM, Johnson JR, Kuskowski MA, Sherwood JS, Barnes HJ, DebRoy C, Wannemuehler YM, Obata-Yasuoka M, Spanjaard L, Nolan LK. Associations between multidrug resistance, plasmid content, and virulence potential among extraintestinal pathogenic and commensal *Escherichia coli* from humans and poultry. *Foodborne Pathog Dis* 2012; 9:37-46
- Junying Ma, Jian-Hua Liu, Luchao Lv, Zhiyong Zong, Yan Sun, Hongqing Zheng, Zhang Liu Chen and Zhen-Ling Zeng. Characterization of extended-spectrum β -lactamase genes found among *Escherichia coli* isolates from duck and environmental Samples Obtained on a Duck Farm. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78:3668-3673.
- Khanfar HS, Bindayna KM, Senok AC, Botta GA. Extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: trends in the hospital and community settings. *J Infect Dev Ctries* 2009; 1:295-299.
- Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Cohen Stuart J, Voets GM, van den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, Platteel T, Fluit AC, van de Sande-Bruinsma N, Scharinga J, Bonten MJ, Mevius DJ; National ESBL surveillance group. Dutch patients, retail chicken eat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:873-880.
- Li J, Ma Y, Hu C, Jin S, Zhang Q, Ding H, Ran L, Cui S. Dissemination of cefotaxime-M-producing *Escherichia coli* isolates in poultry farms, but not swine farms, in China. *Foodborne Pathog Dis* 2010; 7:1387-1392
- Li XZ, Mehrotra M, Ghimire S, Adewoye L. β -Lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Vet Microbiol* 2007; 121:197-214.
- Maina D, Revathi G, Kariuki S, Ozwara H. Genotypes and cephalosporin susceptibility in extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteriaceae in the community. *J Infect Dev Ctries* 2012; 15:470-477.
- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:657-686.
- Randall LP, Clouting C, Horton RA, Coldham NG, Wu G, Clifton-Hadley FA, Davies RH, Teale CJ. Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended-spectrum β -lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:86-95.
- Rodríguez.-Baño J, Navarro MD. Extended-spectrum beta-lactamases in ambulatory care: a clinical perspective. *Clin Microbiol Infect* 2008 Jan; 14 Suppl 1:104-110.
- Romero L, López L, Rodríguez-Baño J, Ramón Hernández J, Martínez Martínez L, Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:625-631.
- Sheikh AA, Checkley S, Avery B, Chalmers G, Bohaychuk V, Boerlin P, Reid-Smith R, Aslam M. Antimicrobial resistance and resistance genes

- in *Escherichia coli* isolated from retail meat purchased in Alberta, Canada. *Foodborne Pathog Dis* 2012;9: 625-631.
- Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B, et al. Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* Isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:1238-43.
- Sørum H, Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet Res* 2001; 32: 227-241.
- Torres C, Zarazaga M. BLEE en animales y su importancia en la transmisión a humanos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007;25S:29-37
- Yuan L, Liu JH, Hu GZ, Pan YS, Liu ZM, Mo J, Wei YJ. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from chickens in Henan Province, China. *J Med Microbiol* 2009; 58:1449-1453.
- Zhao S, Blickenstaff K, Bodeis-Jones S, Gaines SA, Tong E, McDermott PF. Comparison of the Prevalences and Antimicrobial Resistances of *Escherichia coli* Isolates from Different Retail Meats in the United States, 2002 to 2008. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78:1701-1707.