



Facultad de Veterinaria

Trabajo de
Fin de Grado

Resistencias antibióticas en
Escherichia coli de gallinas Pita
Pinta Asturiana en Asturias:
prevalencia de β -lactamasas de
espectro extendido (BLEE) y
análisis de patrones fenotípicos.

Laura Junquera Vázquez

Grado en Veterinaria

Año 2025

Modalidad del Trabajo: Experimental

Licencia

Excepto donde se haga constar explícitamente, esta obra pertenece a Laura Junquera Vázquez y está bajo una licencia de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”.



1 RESUMEN/RESUMO/ABSTRACT

Resumen

La producción avícola tradicional representa un modelo alternativo a los sistemas intensivos. En el Principado de Asturias, la raza autóctona de gallinas Pita Pinta constituye un claro ejemplo de este tipo de producción, basada en sistemas extensivos de autoconsumo y orientada a producciones locales. Las resistencias antibióticas en avicultura son un riesgo para la sanidad pública por su potencial de transmisión a humanos y al entorno. Sin embargo, se desconoce el impacto que estos sistemas puedan tener en la diseminación de resistencias antimicrobianas.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el papel de la producción tradicional en la diseminación de resistencias antimicrobianas, concretamente en cepas de *Escherichia coli* aisladas de gallinas Pita Pinta. Para ello, se tomaron muestras de 279 aves pertenecientes a 16 explotaciones registradas en el libro genealógico de la ACPPA y se analizó la presencia de cepas de *E. coli* productoras de BLEE, su perfil de resistencia a 24 antibióticos y su posible asociación con factores que favorezcan su diseminación.

Los resultados muestran una baja presencia de cepas productoras de BLEE (2,33 %). No obstante, se detectó una amplia difusión de resistencias a otras familias de antibióticos, especialmente aminoglucósidos y colistina (superior al 65 %). Se identificaron cuatro patrones de multiresistencia y asociaciones entre familias de antibióticos. Se detectó una clara agrupación de resistencias a aminoglucósidos y polimixinas (clúster 2) y cierta co-resistencia junto con antibióticos β -lactámicos (clúster 4); penicilinas y quinolonas (clúster 1); penicilinas, tetraciclinas y sulfonamidas (clúster 3). Se analizó la relación entre el número de resistencias y la presencia de factores de manejo y ambientales. No se hallaron asociaciones significativas entre las resistencias detectadas y los factores evaluados, lo que sugiere una distribución homogénea entre granjas y un posible riesgo de diseminación.

En conclusión, aunque la producción tradicional con Pita Pinta presenta una baja prevalencia de resistencias críticas, como las BLEE, no está exenta de albergar bacterias multiresistentes. Además, los perfiles y combinaciones de resistencias identificados deben considerarse cuidadosamente al seleccionar las medidas terapéuticas a aplicar en esta raza. Estos hallazgos subrayan la necesidad de reforzar las buenas prácticas de manejo, vigilancia y control en sistemas alternativos que, si bien son menos intensivos, pueden actuar como reservorios de resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: Pita Pinta, producción tradicional, Asturias, *Escherichia coli*, BLEE, resistencias antibióticas y patrones de resistencia.

RESUMO

A produción avícola tradicional representa un modelo alternativo aos sistemas intensivos. No Principado de Asturias, a raza autóctona de galiñas Pita Pinta constitúe un claro exemplo deste tipo de produción, baseada en sistemas extensivos de autoconsumo e orientada a producións locais. As resistencias aos antibióticos na avicultura son un risco para a saúde pública polo seu potencial de transmisión a humanos e ao medio. Porén, descoñécese o impacto que estes sistemas poidan ter na diseminación de resistencias aos antimicrobianos.

Este traballo ten como obxectivo avaliar o papel da produción tradicional na diseminación de resistencias antimicrobianas, concretamente en cepas de *Escherichia coli* illadas de galiñas Pita Pinta. Para iso, tomáronse mostras de 279 aves pertencentes a 16 explotacións rexistradas no libro xenético da ACPPA e analizouse a presenza de cepas de *E. coli* produtoras de BLEE, o seu perfil de resistencia a 24 antibióticos e a súa posible asociación con factores que favorezan a súa diseminación.

Os resultados amosan unha baixa presenza de cepas produtoras de BLEE (2,33 %). Non obstante, detectouse unha ampla difusión de resistencias a outras familias de antibióticos, especialmente aminoglicósidos e colistina (superior al 65 %). Identificáronse catro patróns de multirresistencia e asociacións entre familias de antibióticos. Detectouse unha clara agrupación de resistencias a aminoglicósidos e polimixinas (clúster 2) e certa co-resistencia xunto con antibióticos β -lactámicos (clúster 4); penicilinas e quinolonas (clúster 1); penicilinas, tetraciclina e sulfonamidas (clúster 3). Analizouse a relación entre o número de resistencias e a presenza de factores de manexo e ambientais. Non se atoparon asociacións significativas entre as resistencias detectadas e os factores avaliados, o que suxire unha distribución homoxénea entre granxas e un posible risco de diseminación.

En conclusión, aínda que a produción tradicional con Pita Pinta presenta unha baixa prevalencia de resistencias críticas, como as BLEE, non está exenta de albergar bacterias multirresistentes. Ademais, os perfís e combinacións de resistencias identificados deben considerarse coidadosamente ao seleccionar as medidas terapéuticas a aplicar nesta raza. Estes achados subliñan a necesidade de reforzar as boas prácticas de manexo, vixilancia e control en sistemas alternativos que, aínda que menos intensivos, poden actuar como reservorios de resistencia aos antimicrobianos.

Palabras chave: Pita Pinta, produción tradicional, Asturias, *Escherichia coli*, BLEE, resistencias aos antibióticos e patróns de resistencia.

ABSTRACT

Traditional poultry farming represents an alternative model to intensive systems. In the Principality of Asturias, the native Pita Pinta chicken breed is a clear example of this type of production, based on extensive, self-consumption systems and focused on local markets. Antibiotic resistance in poultry farming poses a public health risk due to its potential transmission to humans and the environment. However, the impact these systems may have on the spread of antimicrobial resistance remains unknown.

This study aims to evaluate the role of traditional production in the dissemination of antimicrobial resistance, specifically in *Escherichia coli* strains isolated from Pita Pinta hens. To this end, samples were collected from 279 birds belonging to 16 farms registered in the ACPPA herd book. The presence of ESBL-producing *E. coli* strains, their resistance profile to 24 antibiotics, and potential associations with factors that may promote their spread were analyzed.

The results show a low presence of ESBL-producing strains (2.33%). Nevertheless, a wide dissemination of resistance to other antibiotic families was detected, particularly aminoglycosides and colistin (above 65%). Four multidrug resistance patterns were identified, along with associations between antibiotic families. A clear clustering of resistance to aminoglycosides and polymyxins (cluster 2) was observed, as well as some co-resistance involving β -lactam antibiotics (cluster 4); penicillins and quinolones (cluster 1); and penicillins, tetracyclines, and sulfonamides (cluster 3). The relationship between the number of resistances and the presence of management and environmental factors was analyzed. No significant associations were found between the detected resistances and the evaluated factors, suggesting a homogeneous distribution among farms and a potential risk of dissemination.

In conclusion, although traditional Pita Pinta production shows a low prevalence of critical resistances such as ESBLs, it is not free from harboring multidrug-resistant bacteria. Moreover, the resistance profiles and combinations identified should be carefully considered when selecting therapeutic measures for this breed. These findings highlight the need to strengthen good management, surveillance, and control practices in alternative systems that, although less intensive, may serve as reservoirs of antimicrobial resistance.

Keywords: Pita Pinta, traditional production, Asturias, *Escherichia coli*, ESBL, antibiotic resistance, and resistance patterns.

2 ÍNDICE

1	RESUMEN/RESUMO/ABSTRACT	1
2	ÍNDICE	4
3	ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	5
4	INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	6
4.1	La Pita Pinta.....	6
4.2	Infecciones por <i>Escherichia coli</i> en avicultura: colibacilosis aviar.....	8
4.2.1	Etiología	8
4.2.2	Epidemiología y signos clínicos.....	9
4.2.3	Tratamiento.....	11
4.3	Transmisión de resistencias a antibióticos	11
4.3.1	Resistencia a β -lactámicos: penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos.....	13
4.3.2	Resistencia a quinolonas.....	15
4.3.3	Resistencia a aminoglucósidos	16
4.3.4	Resistencias a tetraciclinas	16
4.3.5	Resistencia a sulfonamidas y trimetoprima	17
4.3.6	Resistencia a la polimixina	18
4.3.7	Epidemiología de las resistencias antibióticas en avicultura.....	18
4.3.8	Importancia zoonósica.....	19
4.4	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	20
5	MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
5.1	Población y área de estudio	20
5.2	Toma de muestras y recogida de información epidemiológica.....	20
5.3	Análisis de laboratorio	21
5.3.1	Cultivo microbiológico.....	21
5.3.2	Conservación de las cepas aisladas	22
5.3.3	Prueba de susceptibilidad microbiana	22
5.4	Análisis estadístico	23
6	RESULTADOS.....	24
6.1	Muestras obtenidas	24
6.2	Presencia de <i>E. coli</i> en las aves muestreadas.....	24
6.3	Presencia de resistencias antibióticas en las aves muestreadas.....	25
6.3.1	Combinaciones e interacciones de resistencias	27
6.4	Análisis de factores de riesgo	28
7	DISCUSIÓN	31
8	CONCLUSIONES	38
9	BIBLIOGRAFÍA.....	39

3 ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AAC: Acetiltransferasas	IPEC: <i>Intestinal Pathogenic Escherichia coli</i>
ACPPA: Asociación de Criadores de Pita Pinta Asturiana	ITU: infecciones urinarias
ADN: Ácido desoxirribonucleico	LB: Luria-Bertani
AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios	LPS: Lipopolisacárido
ANT: nucleotidiltransferasas	MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
APEC: <i>Avian Pathogenic Escherichia coli</i>	MDR: <i>Multidrug Resistant</i>
APH: fosfotransferasas	MFS: <i>Major Facilitator Superfamily</i>
ARN: Ácido ribonucleico	NMEC: <i>Neonatal Meningitis Escherichia coli</i>
BLEE: β-lactamasas de espectro extendido	OXA: Enzima hidrolizante de oxacilina
CCAA: Comunidades autónomas	PABA: Ácido p-aminobenzoico
CLSI: <i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>	PDR: <i>Pan Drug Resistant</i>
CTX: Cefotaxima	PRAN: Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos
ECDC: <i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>	Qnr: <i>Quinolone resistance protein</i>
EFSA: <i>European Food Safety Authority</i>	RPP: Proteínas de protección ribosomal
EUCAST: <i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>	SFM: <i>Société Française de Microbiologie</i>
ExPEC: <i>Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli</i>	SPEC: <i>Septicemic Pathogenic Escherichia coli</i>
FESACOCUR: Federación Española de Avicultura, Colombicultura y Cunicultura de Raza	TBX: <i>Tryptone Bile X-glucuronide</i>
HMC: Hamiltonian Monte Carlo	TGI: Tracto gastrointestinal
	UPEC: <i>Uropathogenic Escherichia coli</i>
	WHO: <i>World Health Organization</i>
	XDR: <i>Extensively Drug Resistant</i>

4 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

4.1 La Pita Pinta

Las razas de gallinas autóctonas de España constituyen un valioso patrimonio genético y cultural. Actualmente, se reconocen 30 razas de gallinas autóctonas en España distribuidas por diversas comunidades autónomas. Muchas de ellas han desarrollado una adaptación a las condiciones locales específicas, y en algunos casos se encuentran en proceso de recuperación debido a su valor histórico. Estas razas son generalmente apreciadas por su rusticidad, adaptabilidad y, en muchos casos, por sus cualidades productivas tanto en producción de carne como de huevos.

Las razas autóctonas de gallinas se agrupan en tres tipos morfológicos principales: atlántico, mediterráneo y combatiente o malayo (**Tabla 1**); entre las cuáles, la **Pita Pinta asturiana** (pita = gallina; pinta = moteada, traducido del bable) es una de las más representativas del norte de España. Esta raza pertenece al tipo atlántico y es originaria del Principado de Asturias, donde existen evidencias de la presencia historia de la raza en la región, como las tallas encontradas en hórreos antiguos de San Pedro de Corias y Piedeloro; y donde ha perdurado debido a su rusticidad y adaptación al clima local (Eguiño, 2014)

Tabla 1. Definición de los diferentes tipos morfológicos de gallinas de razas autóctonas españolas. Modificado de Saudo et al., 2019.

Tipo atlántico	Porte con tendencia a la horizontalidad, las mitades anterior y posterior están muy equilibradas y su cuerpo posee una forma claramente rectangular.	Ejemplos: Pita Pinta Asturiana , Galiña de Mos o Euskal Oiola
Tipo mediterráneo	Animales de porte con cierta tendencia a la verticalidad y con un claro predominio del tercio posterior, con amplitud destacada de la zona abdominal y colas grandes y abundantes	Ejemplos: Andaluza Azul, Castellana Negra o Catalana del Prat
Tipo combatiente o malayo	Cuerpo con clara tendencia a la verticalidad, de musculatura potente, bien pegada a un hueso fuerte. En general con los apéndices carnosos reducidos y con los córneos muy desarrollados.	Ejemplo: Combatiente Español

La Pita Pinta presenta cuatro variedades admitidas por la Conselleria de Medio Rural y Política Agraria del Principado de Asturias: *pinto negro*, *pinto roxo*, *abedul* y *pinta blanca*; además de una quinta admitida por ACCPA: *pinto tricolor o milflores*. Las dos primeras, presentan un plumaje moteado característico, bien en negro (*pinto negro*), o bien en leonado (*pinto roxo*) (Francech, 2006) (**Figura 1**); mientras que las dos restantes completan la diversidad fenotípica de la raza.

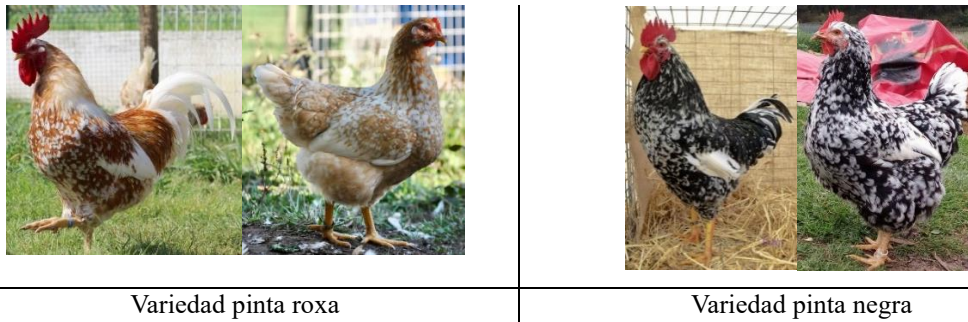


Figura 1. Variedades fenotípicas más frecuentes de la Pita Pinta asturiana: pinta roxa y pinta negra. Imágenes propias

La Pita Pinta ha sido fundamental en la economía local como una gallina de doble aptitud, con buena capacidad para la producción de carne (como el característico “*pitu caleya*”) y huevos, y principalmente orientada a producciones locales (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2025). Los productos cuentan con el distintivo “*raza autóctona*” otorgado el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) y regulado por la Asociación de Criadores de Pita Pinta Asturiana (ACPPA), responsable además de la gestión del libro genealógico y del programa de cría de la raza.

A pesar de sus buenas cualidades, la Pita Pinta asturiana se encuentra reconocida como una raza autóctona en peligro de extinción en el Catálogo Oficial de razas de ganado de España (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2025). No obstante, los programas de conservación y el interés de ganaderos locales han conseguido ir recuperando su población en los últimos años (**Figura 2**). Aunque la distribución de esta raza es muy amplia (incluyendo CCAA como Galicia, Castilla y León y Madrid entre otras), la mayor parte las explotaciones (> 60 %) se encuentran en el Principado de Asturias (ACCPA, s.f.).

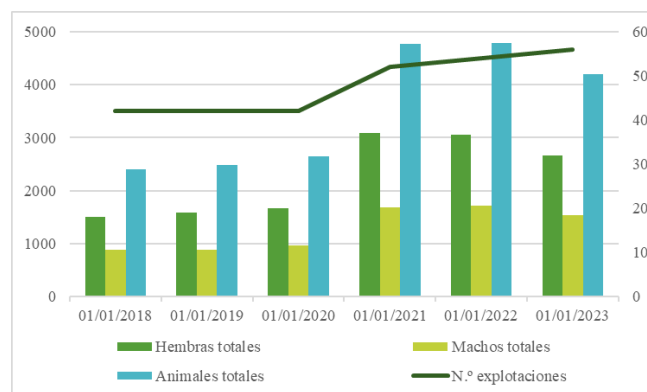


Figura 2. Censo de animales (eje Y izquierdo) y explotaciones (eje Y derecho) registrados en el libro genealógico en el año 2023. Elaboración propia a partir de Gobierno del Principado de Asturias, 2024

Mayoritariamente, la cría de estas gallinas se realiza en sistemas extensivos de semilibertad con un manejo similar a las gallinas camperas. La cría de pollitos suele realizarse entre los meses

de diciembre a abril, los cuales se mantienen en ambientes con calor artificial hasta el desarrollo completo de la primera pluma (unos dos meses). En cuanto a los adultos, los reproductores se integran al grupo a partir de los cinco meses. Si se busca mantener una línea genética, es necesario aislar los reproductores durante el periodo de recogida de huevos, bien en lotes o de manera individual. Además, se recomienda no liberar a las gallinas antes del mediodía para asegurar la recogida de huevos en los ponederos (Eguiño, 2014).

4.2 Infecciones por *Escherichia coli* en avicultura: colibacilosis aviar

4.2.1 Etiología

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa que forma parte de la flora intestinal normal de un amplio rango especies, incluidas las aves de corral y que puede causar enfermedad en los animales en ciertas condiciones (Wang et al., 2014). Esta especie bacteriana constituye un complejo heterogéneo de cepas que, mediante la adquisición y expresión de factores de virulencia específicos, pueden desarrollar un elevado potencial patogénico. Estos determinantes genéticos, a menudo localizados en islas de patogenicidad, plásmidos y transposones, permiten a las cepas virulentas evadir la respuesta inmune del hospedador, colonizar tejidos y diseminarse por vía hematogena. Así, ciertas infecciones con algunas cepas de *E. coli* son capaces de causar enfermedades graves e incluso la muerte (Pakbin et al., 2021).

En función de los distintos mecanismos de patogenicidad y el tipo de infección que provocan, las cepas de *E. coli* se agrupan en distintos patotipos. Esta clasificación es fundamental para diferenciarlas respecto a las cepas comensales y comprender su rol en la epidemiología de las infecciones (**Figura 3**) (Joseph et al., 2023).

Entre los patotipos de mayor relevancia en medicina veterinaria se encuentra APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*), el principal agente etiológico de la colibacilosis aviar. El APEC afecta a un amplio espectro de especies aviarias —incluyendo pollos, patos y pavos (Nolan et al., 2020)— y genera importantes pérdidas económicas a nivel mundial debido al aumento de mortalidad y a la reducción de la producción (Markland et al., 2015).

La capacidad patogénica del APEC es variable en función de la cepa y su acción se sustenta en un arsenal de genes de virulencia asociados a la adhesión y colonización, resistencia al suero y evasión inmune, captación de hierro, diseminación y daño tisular. La identificación y caracterización de las cepas, se realiza mediante sus antígenos somáticos (O), capsulares (K) y flagelares (H), estructuras que representan marcadores fenotípicos clave en el estudio epidemiológico. De estos, los antígenos O han mostrado una correlación directa con la virulencia y el tropismo de determinadas cepas. En particular, los serotipos O1, O2, O18 y O78 presentan

una elevada capacidad para causar infecciones sistémicas en aves de corral, ya que entre ellos concentran más del 50% de los aislamientos clínicos de colibacilosis aviar. Estos serotipos destacan por portar combinaciones específicas de genes de virulencia, por lo que podría relacionarse con un proceso de selección genética adaptativa favorecido por las condiciones de alta densidad avícola (Wang et al., 2014). Además, estudios moleculares han demostrado que estas variantes presentan una mayor capacidad para resistir condiciones adversas, facilitando su persistencia en el ambiente y su diseminación en explotaciones intensivas (Abdalla et al., 2025).

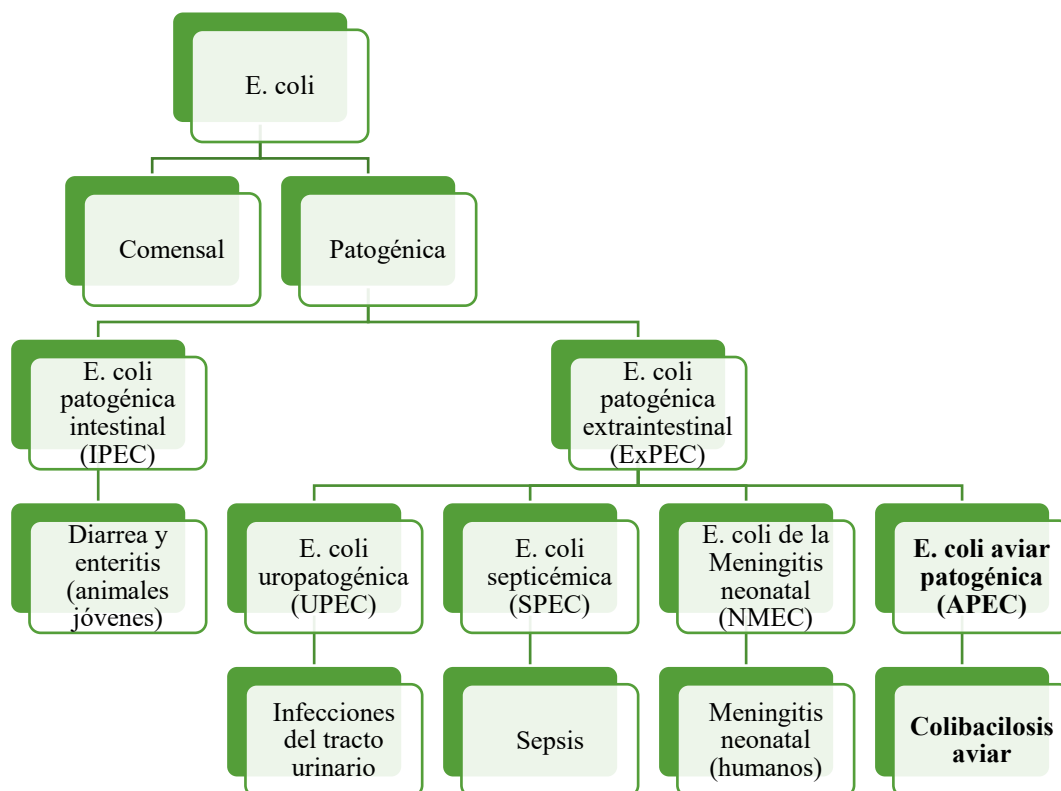


Figura 3. Clasificación de las enfermedades y patotipos por *E. coli*. Modificado de Mellata, 2013

4.2.2 Epidemiología y signos clínicos

La colibacilosis aviar es una de las principales enfermedades en la producción avícola, y un problema en auge debido a las políticas de restricción del uso de antibióticos en avicultura (Gómez-Osorio, 2022). A diferencia de otras especies, la vía de transmisión más importante del APEC es la transmisión aerógena por la inhalación de aerosoles contaminados, especialmente en ambientes de alta densidad que facilitan la acumulación de polvo y aerosoles contaminados por *E. coli*. No obstante, la vía orofecal y vía vaginal a través de la cloaca (también denominada, ruta ascendente) también son posibles (Joseph et al., 2023). *Escherichia coli* es también capaz de sobrevivir en el ambiente durante semanas o incluso meses en condiciones favorables (Perry, 2011), de manera que los suelos, camas de las naves, y el agua estancada pueden actuar como reservorios. Esto también puede suponer un problema para la difusión de cepas multirresistentes que pueden sobrevivir en estos materiales. Aunque es menos frecuente que la horizontal, la

transmisión vertical también es posible por una contaminación interna del huevo cuando hay una infección en el oviducto (Giovanardi et al., 2005).

Un estudio realizado por Monroy et al. (2025) en España demostró que, de los 898 aislamientos analizados, el 59,50 % fueron identificados como cepas APEC. En cuanto al tipo de producción, el 60,30 % de los reproductores presentaban cepas APEC, siendo el grupo productivo más afectado, seguidos por los broilers con un 59,90 % y, en menor medida, las ponedoras con un 44,40 %.

En relación con los **signos clínicos**, pueden diferenciarse **formas localizadas y sistémicas** en las infecciones por APEC dependiendo del órgano afectado y de la capacidad de la cepa para diseminarse en el organismo. Las **formas localizadas** pueden cursar con aerosaculitis, salpingitis, peritonitis, onfalitis y celulitis. Las **formas sistémicas** ocurren cuando APEC atraviesa las barreras locales y entra al torrente sanguíneo, diseminándose por distintos órganos. La forma más grave es la colisepticemia, que afecta a múltiples órganos, incluyendo el hígado, riñones y corazón, y suele ser letal si no se controla. Endocarditis, meningitis y artritis también son posibles como consecuencia de una difusión sistémica (Nolan et al., 2020).

Asimismo, los órganos afectados por la colibacilosis difieren en función del sexo del ave. En las **hembras reproductoras** la salpingitis-peritonitis causa una elevada mortalidad en reproductoras, y es una de las manifestaciones clínicas más frecuentes e importantes (Joseph et al., 2023). Por ejemplo, Poulsen et al. (2017) y Landman & Van Eck (2015) evidenciaron que el síndrome de salpingo-peritonitis causado por *E. coli* provocó tasas de mortalidad que oscilaron entre el 34% y el 52% en las reproductoras. En etapas iniciales de esta afección, la infección en el aparato reproductivo cursará de manera subclínica, pero puede evolucionar a una septicemia grave que puede conducir a la muerte del animal. Además, la salpingitis crónica en las gallinas podría ser un factor de riesgo potencial para la transmisión de APEC a través de los huevos a las crías (Joseph et al., 2023), que puede llevar a un incremento en la mortalidad de los pollitos jóvenes (Monroy et al., 2005; Poulsen et al., 2017). Los pollos jóvenes infectados también pueden sufrir una alta mortalidad como consecuencia del establecimiento de onfalitis (Giovanardi et al., 2005), que puede llegar a representar hasta el 70 % de las muertes en pollos (Kemmett et al., 2014). La peritonitis generalmente se manifiesta como una complicación del proceso que afecta al oviducto (Joseph et al., 2023).

En machos, la colibacilosis también puede tener efectos negativos sobre la fertilidad. *Escherichia coli* pueden colonizar el aparato reproductivo de los reproductores desde el tracto gastrointestinal debido a que la cloaca es la abertura común para ambos sistemas, siguiendo así una ruta ascendente (Smith, 1949). La presencia de APEC en el semen de los machos puede disminuir la fertilidad (Mezhoud et al., 2015). Además, la infertilidad también puede ser

consecuencia de una orquitis establecida por vía hematológica tras una septicemia (Monleon et al. 2008).

4.2.3 Tratamiento

Al tratarse de un agente bacteriano el tratamiento etiológico se centra en el uso de antibióticos. No obstante, el aumento de cepas *E. coli* multirresistentes ha limitado la eficacia de este (Nolan et al., 2020). Antibióticos como la colistina se han usado para reducir las pérdidas económicas causadas por la colibacilosis en la producción avícola. La restricción del uso de antibióticos promovida por el Plan Nacional frente a la Resistencia de Antibióticos (PRAN) hace que el control de enfermedades sea un desafío importante. Por ejemplo, en Estados Unidos, uno de los principales productores de carne de pollo, las pérdidas económicas asociadas a la colibacilosis aviar pueden alcanzar hasta 20,3 millones de dólares al año (Chan et al., 2022). Otros tratamientos resultaron ser efectivos, como la administración de apramicina en agua de bebida, ya que redujo la cantidad de microorganismos en el tracto digestivo y previno la bacteriemia en pollos; o la neomicina que logró reducir la mortalidad en pavos (Nolan et al., 2020).

Además, algunos anticoccidiales poseen actividad antimicrobiana, lo cual puede ser útil a la hora de prevenir y tratar infecciones causadas por coliformes. Un ejemplo de ello es la monensina, un antibiótico ionóforo prohibido en Europa desde el 2006, que redujo la colonización de *E. coli* O157:H7 en pollos hasta niveles indetectables tras 14 días tras la exposición al patógeno (Stanley et al., 1996).

Dentro de las estrategias de control sanitario, la inmunización mediante vacunas representa una herramienta fundamental para reducir la incidencia de enfermedades infecciosas. Se han desarrollado diversas estrategias vacunales contra *E. coli*, no obstante, no han demostrado una eficacia consistente frente a algunos serotipos en condiciones de campo, por este motivo, los pollos de engorde rara vez se vacunan. En cambio, en gallinas reproductoras, el uso de vacunas autógenas inactivadas contra *E. coli* es común entre los productores de ponedoras (Nolan et al., 2020).

4.3 Transmisión de resistencias a antibióticos

Los antibióticos son productos antimicrobianos que actúan bien como bacteriostáticos o como bactericidas mediante el bloqueo de diferentes procesos o rutas metabólicas vitales para las bacterias. En función de método de acción y su estructura química, los productos antimicrobianos se pueden clasificar en inhibidores de la síntesis de la pared celular, inhibidores de ADN girasa, inhibidores de la síntesis de folato, síntesis de proteínas (inhibidores de 30s y 50s) e inhibidores de la síntesis de la membrana celular, entre otros (**Tabla 2**) (Lettieri et al., 2018).

Tabla 2. Método de acción de los antibióticos. Los antibióticos pueden inhibir el crecimiento de las bacterias al dirigirse contra la pared celular bacteriana o la membrana celular. Otros métodos incluyen la alteración de la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas. Los antibióticos también pueden inhibir la síntesis de ADN al inhibir el metabolismo del folato. Además, pueden inhibir la ADN girasa, una enzima que modifica la conformación del ADN y participa en los procesos de replicación y transcripción. Modificado de Lettieri et al. 2018.

Método de acción	Estructura química	Antibióticos
Inhibidores de la síntesis de la pared celular	B-lactámicos	Penicilinas Ampicilina Amoxicilina – ácido clavulánico Ticarcilina Piperacilina Pip + tazobactam
		Cefalosporinas Cefalexine (1ª generación) Cefurexime (2ª generación) Cefoxitina (2ª generación) Cefotaxime (3ª generación) Cefepime (4ª generación)
	Carbapenémicos	Imipenem
Inhibidores de ADN girasa	Quinolonas	Ácido nalidíxico Enrofloxacin Marbofloxacin
Inhibidores de la síntesis de folato	Sulfonamidas	Sulfa + trimetropim
Síntesis de proteínas (inhibidores de 30s y 50s)	Tetraciclinas	Tetraciclina Doxiciclina
	Aminoglucósidos	Gentamicina Tobramicina Kanamicina Streptomicina Neomicina Apramicina
Inhibidores de la síntesis de la membrana celular	Lipopeptidos	Polimixina

Las bacterias presentan diferentes grados de resistencia a los antibióticos para evadir o neutralizar los efectos que ejercen sobre ellas. Estas resistencias pueden ser naturales (intrínsecas) o adquiridas. Así pues, existen cuatro mecanismos intrínsecos que presentan las bacterias Gram negativas, como *E. coli*: i) la limitación de la absorción del fármaco, ii) la modificación de la diana del fármaco, iii) la inactivación del fármaco y iv) la modificación de la expresión de las bombas de eflujo (Arbab et al., 2022). Un ejemplo de ello es la acción de los macrólidos frente a *E. coli*, la cual es poco efectiva de forma natural debido a que su membrana externa impide que estas moléculas lleguen en cantidad suficiente a su zona de acción en los ribosomas (Baquero & Cantón, 2017). Además, las resistencias antimicrobianas pueden adquirirse mediante modificaciones genéticas, lo que provoca que un producto anteriormente eficaz frente a un patógeno se vuelva ineficaz. Esta forma de resistencia es el principal mecanismo de defensa de

las bacterias frente a los antibióticos (Lettieri et al., 2018), y suele estar relacionada con la expresión de genes situados en los plásmidos (Gentilini, 2007), moléculas de ADN extracromosómico.

La resistencia a los antibióticos puede transmitirse entre bacterias de distintas especies mediante transferencia horizontal de genes. Esto es facilitado por los plásmidos de resistencia o plásmidos R (Carter & Wise, 2004) presentes en bacterias de diversas líneas filogenéticas (Gentilini, 2007). Las resistencias también pueden originarse por mutaciones cromosómicas (Sykes, 2010) o por la incorporación de genes de resistencia a través de elementos genéticos móviles (Cantón & Morosini, 2011). La transferencia horizontal es muy importante ya que acelera la diseminación de la resistencia, y por tanto representa una amenaza significativa para la eficacia de los tratamientos antimicrobianos y para la salud pública (Carter & Wise, 2004). Además, estos genes son heredables y se transmiten a las células hijas durante la reproducción.

La resistencia a los antibióticos es una preocupación creciente en la medicina, ya que la aparición de bacterias que logran resistir múltiples antibióticos compromete la eficacia de los tratamientos disponibles. Esta situación se ve favorecida por el uso excesivo e inapropiado de estos medicamentos en el tratamiento de infecciones.

4.3.1 Resistencia a β -lactámicos: penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos

Los β -lactámicos son uno de los grupos de antibióticos más usados en la medicina veterinaria, y actúan interfiriendo en la síntesis de la pared celular bacteriana (**Figura 4**) (Sauvage et al., 2008). Podemos diferenciar tres grandes grupos: penicilinas, cefalosporinas (**Tabla 3**) y carbapenémicos, que a su vez se dividen en diferentes subgrupos, en función de su aumento de espectro de acción y su eficacia frente a Gram negativas. En general, el aumento de eficacia frente a Gram negativas suele ir acompañado de una menor eficacia frente a Gram positivos (Gómez et al., 2015).

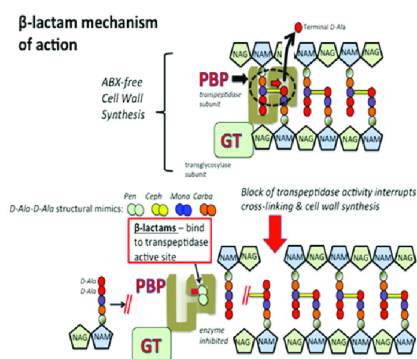


Figura 4. Modo de acción de los β -lactámicos. Adaptado de Ibrahim et al., 2019

Tabla 3. Generaciones de cefalosporinas. Modificado de Gómez et al., 2015

Cefalosporinas	Generación	Ejemplos
	1ª generación	Cefazolina Cefalexina
	2ª generación	Cefuroxima Cefoxitina
	3ª generación	Cefotaxima Cefixima
	4ª generación	Cefepima
	5ª generación	Ceftarolina

Existen diferentes mecanismos de resistencia bacteriana frente a β -lactámicos. El más común es la producción de β -lactamasas que inactivan estos antibióticos mediante la ruptura del anillo β -lactámico antes de que alcance su diana: las PBP de la pared bacteriana (Gentilini, 2007) (**Figura 4**). Existen diferentes tipos de enzimas con diferente espectro de acción, clasificables según el sistema de Ambler (Ambler, 1980) (**Tabla 4**). Las β -lactamasas de amplio espectro (BLEE) y las β -lactamasas AmpC son las más prevalentes en *E. coli* (Tooke et al., 2019). Las BLEE son enzimas confieren resistencia a una amplia gama de β -lactámicos, incluyendo penicilinas y cefalosporinas de tercera generación, como la cefotaxima y la ceftazidima, y surgieron a partir de variantes mutadas de β -lactamasas clásicas, como TEM y SHV, que originalmente solo hidrolizaban penicilinas (Tooke et al., 2019). Por otra parte, las AmpC no tienen actividad frente a las penicilinas, pero muestran mayor respuesta frente a las cefalosporinas, pudiendo, a diferencia de las BLEE, hidrolizar cefamicinas (como cefoxitina); y son menos sensibles a inhibidores como el ácido clavulánico.

Tabla 4. Clasificación de Ambler. **CTX-M**: cefotaximasa-M, **SHV**: enzimas variables con grupo sulfhidrilo, **KPC**: carbapenemasas de *Klebsiella pneumoniae*, **IMP**: imipenemasa (metalo- β -lactamasas), **VIM**: metalo- β -lactamasas codificadas por integrón de Verona, **NDM-1**: metalo- β -lactamasa de Nueva Delhi tipo 1, **OXA**: enzimas que hidrolizan oxacilina. Modificado de Fenollar, 2020 y Lettieri et al., 2018.

Clasificación de Ambler	Tipo enzimático	Tipo representativos de enzimático	Ejemplos de enzimas
Clase A	Serin-proteasas	Penicilinasas Carbapenemasas Cefalosporinas β -lactamasas de espectro extendido β -lactamasas de amplio espectro	CTX-M, TEM, SHV, KPC
Clase B	Metaloenzimas	Metalo- β -lactamasas	IMP, VIM, NDM-1
Clase C	Serin-proteasas	Penicilinasas Cefalosporinasas	AmpC
Clase D		Enzimas que hidrolizan oxacilina	OXA

Adicionalmente, la aparición de carbapenemasas representa una seria amenaza para la salud pública porque pueden conferir resistencia a una gran parte de los antibióticos β -lactámicos disponibles. Las carbapenemasas se identifican con poca frecuencia en medicina veterinaria, principalmente porque los carbapenémicos apenas se utilizan en este ámbito, al tratarse de antibióticos de último recurso reservados para uso humano. Entre las más relevantes se encuentran KPC, NDM, OXA-48, VIM e IMP. No obstante, la identificación ocasional de estas enzimas en animales de compañía genera preocupación por su potencial de diseminación en un contexto One Health (Poirel et al., 2018).

La diseminación de estas resistencias enzimáticas se ve favorecida por su presencia en plásmidos y otros elementos genéticos móviles, lo que ha contribuido a su amplia difusión a nivel mundial en bacterias de diferentes ambientes y orígenes. Además, en los plásmidos también se pueden encontrar conjuntamente otros genes de resistencia frente a aminoglucósidos, cloranfenicol, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, o trimetoprima (Jacoby, 2009), generando bacterias de difícil tratamiento antimicrobiano.

A mayores de los mecanismos enzimáticos, también se pueden generar resistencias a estos antibióticos mediante alteraciones en las PBP, reducción de la permeabilidad de la membrana externa al antibiótico, o alteración de las bombas de eflujo, que expulsan el antibiótico fuera de las células (Gentilini, 2007).

4.3.2 Resistencia a quinolonas

Las quinolonas actúan inhibiendo enzimas clave en el proceso de replicación y mantenimiento del ADN bacteriano como la topoisomerasa tipo IIA, la topoisomerasa IV y la ADN girasa (Hooper, 2003), de manera que, las quinolonas se unen a los complejos enzima-ADN (Kampranis & Maxwell, 1998), evitando así la religación del ADN una vez abierto por las topoisomerasas (Aldred et al., 2014). Las resistencias a esta familia se debe principalmente a mutaciones cromosómicas en los genes que codifican dichas enzimas, especialmente en las de *gyrA* (ADN girasa) y *parC* (topoisomerasa IV) (Jacoby, 2017). Una sola mutación puede conferir resistencia de bajo nivel (solo nalidixico o poco efecto en enrofloxacino); múltiples mutaciones pueden producir resistencia de alto nivel a todas las quinolonas. En bacterias Gram negativas, la primera mutación suele ser en *gyrA* y luego se suma *parC*.

Sin embargo, también pueden intervenir otros mecanismos, como la reducción de la permeabilidad de la membrana externa, la protección de los sitios diana o la activación de las bombas de eflujo (Hopkins et al., 2005), que suele producir resistencias de nivel bajo a moderado. Además, se han identificado mecanismos de resistencia transmitidos mediante plásmidos (“resistencia a quinolonas transmitida por plásmidos”, PMQR), como las que codifican para proteínas tipo Qnr (QnrA, QnrB, QnrC, QnrD y QnrS), que se encargan de proteger el ADN de la

unión de las quinolonas; la acetiltransferasa AAC(6')-Ib-cr, modificando a fluoroquinolonas como el ciprofloxacino y enrofloxacino; y que también pueden actuar sobre aminoglucósidos; y las bombas de flujo QepA y QexAB activas. Estas resistencias pueden transferirse conjuntamente con resistencias para otras familias de antibióticos (Jacoby, 2017).

4.3.3 Resistencia a aminoglucósidos

Los aminoglucósidos actúan inhibiendo la síntesis proteica (Poirel et al., 2018). En el caso de *E. coli* la resistencia a este grupo antibiótico suele estar mediada por enzimas. Un mecanismo relevante de generación de resistencia consiste en la metilación del ARN ribosómico 16S, que bloquea la unión del antibiótico a su diana y confiere resistencia de alto nivel a la amikacina, tobramicina, gentamicinas y netilmicina (Davies & Wright, 1997). No obstante, el principal mecanismo de resistencia frente a aminoglucósidos es la inactivación enzimática, que modifica el antibiótico fuera del ribosoma y evita su unión a su diana. Actualmente, se conocen tres tipos de enzimas que catalizan reacciones de modificación del antibiótico: acetiltransferasas (AAC), nucleotidiltransferasas (ANT) y fosfotransferasas (APH) (Poirel et al., 2018). La actividad de estas enzimas es específica: algunas afectan solo a un aminoglucósido, otras a varios.

En el caso de *E. coli*, ANT(2'') y ANT(3'') son las más frecuentes (Ramirez & Tolmasky, 2010), y se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial, aislándose tanto en animales de producción, como silvestres y de compañía (Haldorsen et al., 2014). En el caso de las AAC, las más frecuentes en aislamientos de *E. coli* son las AAC(3)-II/IV y AAC(6')-Ib (Zou et al., 2018). Por último, en el caso de las APH, APH(6)-Ia y APH(6)-Id, están muy asociadas a la resistencia a estreptomicina en *E. coli*, son las más prevalentes en *E. coli* a nivel global y generalmente suelen estar asociadas con un elemento móvil específico, a menudo conjuntamente con los genes APH(3'')-I/II, responsables de la resistencia a la kanamicina (Zhang et al., 2014).

Además, en el caso de la estreptomicina, otro mecanismo importante es la aparición de mutaciones de genes codificadores de proteínas ribosómicas impidiendo también la interacción con el sitio activo por otro mecanismo (Gentilini, 2007).

4.3.4 Resistencias a tetraciclinas

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro que actúan bloqueando la unión del aminoacil ARNt a la subunidad ribosómica 30s, interrumpiendo así la síntesis proteica y evitando el crecimiento bacteriano (Schnappinger & Hillen, 1996). En los últimos años, el uso indiscriminado de estos antibióticos debido a su fácil acceso, bajo coste y escasos efectos secundarios, ha favorecido el aumento de bacterias resistentes (García et al., 2011).

Las resistencias pueden adquirirse mediante genes presentes en plásmidos u otros elementos genéticos móviles, por mutaciones en el sitio de unión ribosomal o por mutaciones cromosómicas que incrementan la expresión de mecanismos intrínsecos de resistencia. Existen tres mecanismos principales de resistencia a las tetraciclinas: eflujo activo, protección ribosomal e inactivación enzimática, siendo los dos primeros los más frecuentes (Fenollar, 2020).

Las bombas de eflujo son proteínas transportadoras de membrana que expulsan de forma específica a la tetraciclina fuera de la célula. Las más comunes pertenecen a la familia de transportadores “*Major Facilitator Superfamily*” (MFS), proteínas de membrana presentes en diversos géneros bacterianos. Son muy eficaces para la tetraciclina y menos para doxiciclina. En el caso de las bacterias Gram negativas los genes más frecuentes que codifican para estas bombas son *tetA* y *tetB* (Grossman, 2016), aunque puede variar según el nicho bacteriano, especie, etc. Están frecuentemente localizados en plásmidos y por ello son fáciles de transmitirse a otras bacterias. Por su parte, la protección ribosomal se lleva a cabo mediante la acción de las proteínas de protección ribosomal frente a tetraciclinas (RPPs), las cuales se unen al ribosoma, alteran su conformación, inhiben su unión y se liberan tetraciclinas sin modificar la síntesis de proteínas (Gentilini, 2007). Los genes más comunes y conocidos son *tetO*, *tetM* y *tetS* (Grossman, 2016).

4.3.5 Resistencia a sulfonamidas y trimetoprima

Las sulfonamidas y la trimetoprima actúan inhibiendo la síntesis de ácido fólico por vías distintas. Las sulfonamidas compiten con el ácido p-aminobenzoico (PABA) por la enzima dihidropteroato sintasa mientras que la trimetoprima actúa inhibiendo la dihidrofolato reductasa, bloqueando así la síntesis de purinas y ADN bacteriano (Gentilini, 2007). Aunque individualmente son bacteriostáticos, en combinación actúan de forma sinérgica como bactericidas, dando lugar a las llamadas sulfonamidas “*potenciada*” (Van Duijkeren et al., 2018).

La adquisición de genes que codifican versiones insensibles de las enzimas objetivo (dihidropteroato sintasa o la dihidrofolato reductasa) es el principal mecanismo de resistencia. Estas resistencias pueden venir por mutaciones cromosómicas o mediante la adquisición de genes *sul* o genes *dfr* respectivamente, que codifican enzimas insensibles a estos antibióticos (Van Duijkeren et al., 2018). En *E. coli* de origen animal, *sul1* suele encontrarse en integrones de clase 1 presentes en plásmidos multiresistentes junto a genes BLEE (Wu et al., 2010), *sul2* se asocia a genes de resistencia a estreptomycin como *strA-strB* (Poirel et al., 2018) y *sul3* está vinculado a otros genes de resistencia, como en el caso de los macrólidos (Liu et al., 2009), así como a integrones de clase 1 (Alonso et al., 2017). También en el caso de la trimetoprima, el gen más frecuente en *E. coli* es el *dfrA*, el cual se encuentra en casetes génicos dentro de integrones, facilitando su diseminación horizontal (Poirel et al., 2018).

4.3.6 Resistencia a la polimixina

La colistina o polimixina E actúa sobre el lipopolisacárido (LPS) presente en la membrana externa bacterias Gram negativas (Rubens et al., 2024). Las resistencias frente a la colistina esta mediada por dos mecanismos: mutaciones cromosómicas o por plásmidos. Entre las mutaciones cromosómicas, uno de los mecanismos más relevantes consiste en la modificación del LPS mediante sustituciones catiónicas, lo cual implica la adición de fosfoetanolamina (PEtN) y 4-amino-4-desoxi-L-arabinosa (L-Ara4N) al lípido A. Esta modificación reduce la carga negativa neta del LPS, disminuyendo la afinidad del antibiótico por la membrana (Poirel et al., 2017). Por su parte, las resistencias mediadas por plásmidos codifican fosfoetanolamina transferasas, enzimas que catalizan la adición de PEtN al lípido A del LPS, reduciendo de forma similar la afinidad del antibiótico por la membrana (Berglund, 2019), pero además facilitan la transmisión horizontal de los genes implicados.

4.3.7 Epidemiología de las resistencias antibióticas en avicultura

El uso de antibióticos en avicultura es habitual, aunque en menor medida que otras producciones. En términos absolutos, el uso de antibióticos en avicultura es menor que en otras especies (significativamente el porcino) con menos de 60 t al año, y de una forma menos intensiva en relación con su biomasa (Figura 5). El uso inadecuado o prolongado de antimicrobianos genera una fuerte presión selectiva, favoreciendo la aparición y diseminación de bacterias resistentes en la microbiota aviar, y convirtiendo a las granjas en reservorios de genes de resistencia.

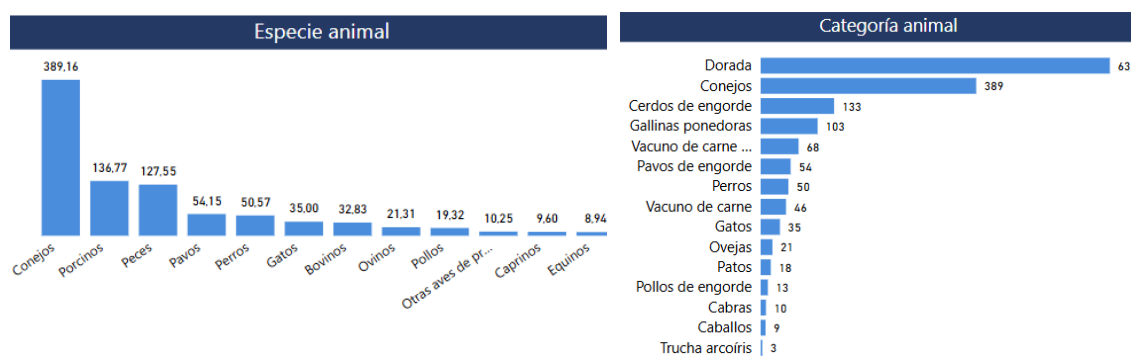


Figura 5. Uso de medicamentos antimicrobianos por especie animal y categoría animal en mg/biomasa. Adaptado de (Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), s. f.)

En este contexto, las cepas multirresistentes *E. coli* representan una preocupación importante y creciente por su impacto potencial en la salud animal, humana y ambiental. Diversos estudios han puesto de manifiesto una alta prevalencia de resistencias en aislados de *E. coli* procedentes de granjas avícolas (García-Béjar et al., 2021). Por ejemplo, Monroy et al. (2025) encontraron un 99,30 % de cepas multirresistentes (MDR) en aislamientos de *E. coli* obtenidos de granjas avícolas españolas. Las prevalencias de cepas extensamente resistentes (XDR), es decir, resistentes a todas las clases excepto una o dos; y panresistentes (PDR), es decir, resistentes a todas las clases conocidas de antibióticos; fueron menores (3,00 % y 0,20 %, respectivamente),

pero fueron muy importantes en fases productivas específicas. Por ejemplo, las cepas XDR se asociaron principalmente a pollos de engorde (91 % de las cepas), seguidas de reproductoras (6 % de las cepas) y ponedoras (3 % de las cepas). Esto indica que las opciones terapéuticas efectivas frente a *E. coli* se vuelven muy limitadas en determinadas fases productivas. A nivel de familias antibióticas concretas, las mayores tasas de resistencia se registraron frente a β -lactámicos (99,10 %), mientras que otras familias, como los inhibidores de folato (55-66 %), tetraciclinas (38 %) y quinolonas (19 %) mostraron porcentajes menores. Las resistencias a aminoglucósidos, polimixinas y cefalosporinas se mantuvieron por debajo del 10 %.

En relación con la colistina, se observó una tendencia descendente en las tasas de resistencia fenotípica: 17 % en 2019, 11 % en 2020 y solo 4 % en 2021 (Sevilla-Navarro et al., 2022), en línea con los esfuerzos de reducción promovidos por el Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN) y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). El “Programa Reduce Colistina”, implementado en 2016, logró una reducción del 93 % en el consumo de colistina en producción porcina, siendo adoptado progresivamente también en el sector avícola.

Estos datos evidencian una situación alarmante en la proliferación de resistencias antibióticas frente a *E. coli* tanto desde el punto de vista de la salud pública como de la sanidad animal.

4.3.8 Importancia zoonótica

Como se mencionó anteriormente, APEC forma parte de un subconjunto de la *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC), responsable de infecciones fuera del tracto gastrointestinal. Aunque cause sintomatología en las aves, se ha visto que estas cepas comparten similitudes genotípicas, serológicas, de genes de virulencia y patrones de resistencia antimicrobiana con cepas humanas de ExPEC (Johnson et al., 2010). Además, también representa un riesgo para la salud pública, ya que es capaz de causar enfermedad en modelos humanos in vivo e in vitro, lo que respalda su potencial zoonótico (Tivendale et al., 2010).

Además, se ha comprobado que en el momento del sacrificio, las cepas resistentes de la flora intestinal colonizan las canales, contaminando la carne de pollo con *E. coli* multirresistente (Kabir, 2010), al igual que los huevos pueden contaminarse durante la puesta (Lakhotia & Stephens, 1973). Además, un estudio realizado Manges et al. (2007) por demostró que cepas UPEC causantes de infecciones urinarias (ITU) podrían tener un reservorio alimentario, posiblemente en la carne de pollo o cerdo.

Por tanto, *E. coli* puede colonizar el tracto gastrointestinal de las personas tanto de forma directa como a través de los alimentos y transferirles genes de resistencia a la microbiota intestinal (Van den Bogaard et al., 2001). La resistencia a los antimicrobianos representa una amenaza grave para

la salud animal y pública. Los alimentos de origen animal desempeñan un papel fundamental en la transmisión de genes y cepas bacterianas resistentes a los antimicrobianos.

4.4 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Debido a la ya mencionada importancia de las resistencias antibióticas, especialmente de las BLEE en *E. coli* por las razones expuestas, así como a la escasa información disponible en producciones tradicionales y a la relevancia que estas resistencias tienen en la producción avícola, en este estudio hemos definido los siguientes objetivos:

1. Evaluar la incidencia de cepas productoras de BLEE en *E. coli* aislados de gallinas Pita Pinta en Asturias
2. Caracterizar los perfiles de resistencias de los aislados de *E. coli* y estudiar la presencia de asociaciones entre las resistencias antibióticas.
3. Estudiar las características ambientales y de manejo de las gallinas Pita Pinta en relación con el riesgo de difusión de las resistencias antibióticas a *E. coli*.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Población y área de estudio

Las aves analizadas en este estudio se tomaron de explotaciones pertenecientes a ACPPA. Esta asociación tiene como objetivo la conservación, recuperación y promoción de la Pita Pinta Asturiana mediante la gestión del libro genealógico, mejora genética y cría, difusión y promoción cultural y brindar apoyo a los criadores mediante el asesoramiento técnico veterinario (Gobierno del Principado de Asturias, 2024). Actualmente, ACPPA cuenta con 63 socios activos en el libro genealógico. Las muestras se obtuvieron de 16 granjas localizadas en el Principado de Asturias (Figura 6), principalmente en la zona centro y oriente de la provincia.

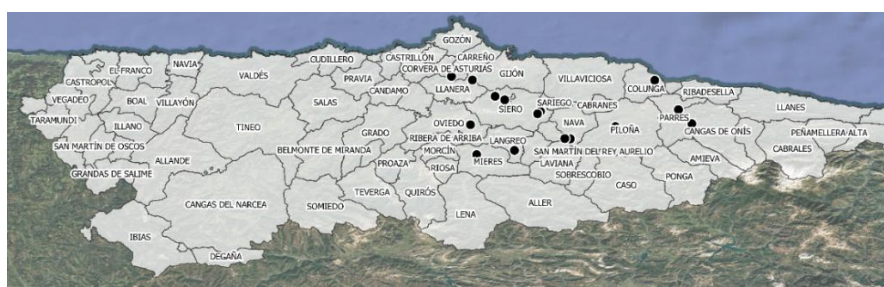


Figura 6. Geolocalización de las granjas muestreadas

5.2 Toma de muestras y recogida de información epidemiológica

La recogida de muestras se llevó a cabo a septiembre y octubre de 2024. Se tomaron muestras de 16 núcleos diferentes que representan aproximadamente el 25 % de las explotaciones

censadas en la asociación. En cada explotación se tomaron muestras de una muestra de animales adultos. Para ello, se calculó el tamaño muestral en cada explotación para la estimación de una prevalencia esperada del 50 % con un intervalo de confianza del 95 % y una precisión absoluta del 15 % (Thrusfield & Brown, 2018). Además, se muestrearon de manera equitativa aquellas que se encontraban en diferentes gallineros.

En total, 279 aves adultas reproductoras, tanto hembras como machos fueron muestreadas. Las muestras se identificaron con el número de identificación individual del animal y con un código en función de la granja. La toma de muestras se realizó mediante hisopo cloacal de animales vivos y se guardaron en medio Amies (Deltalab, Barcelona, España) y se mantuvieron en refrigeración hasta su posterior traslado al laboratorio. Las muestras se recogieron las muestras durante el fin de semana y se transportaron semanalmente todos los lunes, en neveras equipadas con acumuladores de frío hasta su llegada al laboratorio, y, una vez en el laboratorio fueron procesadas en menos de 24 horas.

Con cada muestra, se registró la localización la granja de la que proviene, la persona a cargo de cada explotación, el número de anilla del animal y el número de muestra asociado a la granja y al animal. Además, a cada propietario se le realizó una encuesta epidemiológica, cuyos ítems se agruparon en cinco categorías: la primera, referente a las instalaciones de la explotación; la segunda, sobre la presencia de vectores, ya sean animales de diversas especies o vehiculadores como el agua; la tercera, relacionada con la bioseguridad de la granja; la cuarta, acerca de la alimentación y el agua de bebida; y la última, sobre enfermedades y tratamientos previos.

5.3 Análisis de laboratorio

5.3.1 Cultivo microbiológico

Cada hisopo se sembró en dos placas con medio de cultivo Triptona-Bilis-X-glucurónico (TBX) (Labkem, Premia de Dalt, Barcelona, España), el cual es un medio enriquecido con extracto de soja, tripticasa y otros nutrientes que promueven el crecimiento bacteriano. Por un lado, es un medio selectivo que favorece el crecimiento de las enterobacterias y el crecimiento de las bacterias Gram positivas se inhibe; y por el otro, es un medio diferencial para *E. coli* puesto que contiene un compuesto cromogénico (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucurónido), el cual reacciona con la β -D-glucuronidasa, una enzima producida por *E. coli*, de esta manera, aquellas colonias compatibles adquieren una coloración azul-verdosa. Para valorar la presencia de resistencias BLEE, en una de las placas, el medio fue suplementado con cefotaxima (Oxoid, Hampshire, Reino Unido) diluida a una concentración de 2 mg/ml (TBX-CTX). Este antibiótico, perteneciente a la familia de los β -lactámicos (cefalosporina de tercera generación), se utiliza a modo de screening marcador ya que solo permite el crecimiento de aquellas colonias de *E. coli* con resistencias de tipo BLEE (World Health Organization, 2021).

De esta manera, este medio de cultivo (TBX) nos permite hacer de manera rápida y visual un screening de aquellas muestras con colonias compatibles con *E. coli*; y el medio enriquecido con cefotaxime (TBX-CTX) nos permite identificar si los *E. coli* presentes en la muestra presentan genes de resistencia frente al grupo de los β -lactámicos.

Una vez inoculadas las placas, se dejaron incubar a 37° C durante 24 horas y pasado ese tiempo se leyeron y anotaron los crecimientos.

5.3.2 Conservación de las cepas aisladas

Una vez registrados los crecimientos, se prepara el material para la criopreservación de las colonias obtenidas. Se decidió conservar tres cepas del cultivo TBX por granja, con excepción de aquellas muestras que crecieron en el medio TBX-CTX, en cuyo caso se conservaron todas las colonias que crecieron, eligiendo al menos dos cepas del medio sin cefotaxime.

Para ello, se utilizó caldo Luria-Bertani (LB) (VWR, Radnor, Pensilvania, Estados Unidos), del cual se alicuotaron 5 ml, previamente esterilizados, en diferentes tubos de ensayo utilizando una pipeta desechable de 10 ml. En cada tubo de ensayo se introdujo una colonia con un asa desechable. Posteriormente, se dejó incubar a 37 °C durante 18 horas. Transcurrido este tiempo, se tomaron 500 μ L de cada tubo de ensayo utilizando una micropipeta con punta con filtro y se transfirieron a un criotubo previamente cargado con 500 μ L de glicerol al 50 % estéril. Una vez preparados, los criotubos se agitaron con el vórtex para homogeneizar la muestra y se almacenaron a -80 °C en una caja de cartón diseñada para tubos Eppendorf.

5.3.3 Prueba de susceptibilidad microbiana

Para determinar la susceptibilidad a antimicrobianos de las cepas de *E. coli* previamente aisladas, se llevó a cabo un estudio por difusión en agar utilizando discos impregnados en antimicrobianos mediante el método Kirby Bauer y conforme a los criterios establecidos por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2020), el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (EUCAST, 2022) y la French Society of Microbiology (SFM) (SFM, 2021).

La prueba consistió en someter a las cepas aisladas a 24 antibióticos (Oxoid, Hampshire, Reino Unido) de diferentes familias y a distintas concentraciones: del grupo de las penicilinas, ampicilina 10 μ g/disco, amoxicilina ácido clavulánico 20/10 μ g/disco, ticarcilina 75 μ g/disco, piperacilina 100 μ g/disco y piperacilina + tazobactam 100/10 μ g/disco; del grupo de las cefalosporinas, cefalexine 30 μ g/disco, cefurexime 30 μ g/disco, cefoxitine 30 μ g/disco, cefotaxime 30 μ g/disco y cefepime 30 μ g/disco; de los carbapenémicos, imipenem 10 μ g/disco; del grupo de los aminoglucósidos, gentamicina 10 μ g/disco, tobramicina (TOB) 10 μ g/disco, kanamicina 30 μ g/disco, streptomycin 10 μ g/disco, neomicina 30 μ g/disco, apramicina

15 µg/disco; del grupo de las quinolonas, ácido nalidíxico 30 µg/disco, enrofloxacin 5 µg/disco y marbofloxacin 5 µg/disco; del grupo de las tetraciclinas, tetraciclina 30 µg/disco y doxiciclina 30 µg/disco; del grupo de los lipopeptidos, colistina 50 µg/disco; y del grupo del ácido fólico, sulfametoxazol-trimetoprima 1,25/23,75 µg/disco.

Las placas preparadas con medio de cultivo Müller-Hinton (Labkem, Premia de Dalt, Barcelona, España) son sembradas en sabana con 10 µL de una dilución realizada previamente con las cepas aisladas en 1,5 mL de suero salino estéril. Para asegurar una concentración bacteriana suficiente, esta se infirió a partir de la turbidez de la disolución utilizando un densitómetro de McFarland (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Francia). Las siembras se realizaron con turbideces entre 0,5 y 1 en la escala de McFarland (equivalente a [15-30*10⁷ bacterias/mL]). Las placas sembradas son posteriormente incubadas durante 24 horas a 37 °C. Cada uno de los antimicrobianos mencionados anteriormente disponen de un halo de inhibición cuya medida, expresada en milímetros, esta estandarizada (CLSI, 2020; EUCAST, 2022; SFM, 2021). En base a las referencias marcadas, una vez ha transcurrido el periodo de incubación, se realiza la lectura de cada halo de inhibición y se clasificaron en: sensible, intermedia o resistente según las recomendaciones por CLSI y EUCAST (CLSI, 2020; EUCAST, 2022). De las dos referencias, se usó para cada antibiótico aquella más conservadora.

5.4 Análisis estadístico

Para representar las resistencias encontradas, se calcularon los porcentajes de resistencias a cada antibiótico y cada familia de antibiótico tanto a nivel de cepa como de granja, definiendo a una granja como resistente a un antibiótico/familia cuando al menos una de las cepas aisladas en esa granja presentó resistencias. Se consideraron las cepas intermedias como resistentes para adoptar un enfoque conservador en la estimación de las resistencias, dado que su sensibilidad reducida puede comprometer la eficacia clínica. Esta decisión es habitual en estudios de vigilancia para evitar subestimar el problema.

Para evaluar la presencia conjunta de resistencias en los aislados, se construyó un mapa de calor a partir de la matriz de resistencias antimicrobianas, utilizando una escala de color que refleja la intensidad del fenotipo resistente. Adicionalmente, se aplicó un análisis de conglomerados jerárquico (clúster) para agrupar tanto las cepas como los antimicrobianos según patrones de resistencia similares, empleando como medida de distancia la disimilitud binaria y el método de agrupamiento completo (*complete linkage*). Esta aproximación permite identificar perfiles comunes de multiresistencia y posibles asociaciones fenotípicas. Este análisis fue llevado a cabo utilizando el paquete “pheatmap” (Kolde, 2019). Se consideró que una cepa fue multiresistente cuando presentó resistencia a al menos un antibiótico de tres familias antibióticas distintas (Monroy et al., 2025).

Para analizar la relación entre el número de familias resistentes y los factores recogidos en la encuesta se realizó una regresión de Poisson en modelos bayesianos univariantes. Se realizó un modelo para cada factor analizado, en el que el número de familias de antibióticos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclinas, ácido fólico y polimixinas) con resistencias en cada granja fue la variable dependiente y cada factor de la encuesta la variable independiente. Los modelos se ajustaron utilizando el paquete “brms” (Bürkner, 2017) que permite especificar modelos bayesianos a través de una interfaz compatible con Stan. Se utilizaron distribuciones previas débilmente informativas, apropiadas para evitar un sobreajuste en contextos con muestras pequeñas. La estimación se realizó mediante muestreo por Hamiltonian Monte Carlo (HMC), con cuatro cadenas de 2.000 iteraciones cada una con un burning de 1.000. La evaluación del ajuste se completó mediante inspección de las cadenas, verificación de la autocorrelación, y diagnóstico gráfico posterior utilizando el paquete shinystan (Gabry & Veen, 2022). La significación estadística se interpretó a partir de los intervalos de credibilidad del 95 %. Se consideró que un efecto fue significativo si dicho intervalo no incluía el valor nulo. Se utilizaron gráficas de violín para representar la distribución de variables continuas en función de diferentes categorías.

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa R (R Core Team, 2023).

6 RESULTADOS

6.1 Muestras obtenidas

En total se muestrearon 279 aves, tanto machos como hembras, de 17 granjas diferentes, localizadas en los municipios de: Siero (5), Corvera de Asturias (3), Cangas de Onis (1), Colunga (1), Gijón (1), Mieres (1), Oviedo (1), Parres (1), Piloña (1), Langreo (1) y Villaviciosa (1). La distribución de edades muestra que la mayor parte de los animales fueron jóvenes. El 37 %

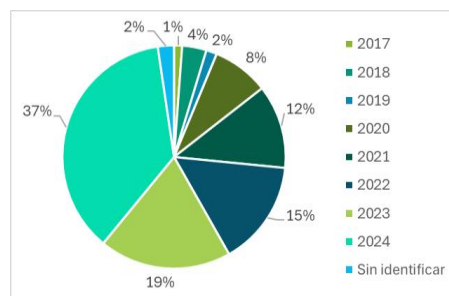


Figura 7. Porcentaje de edades de las aves muestreadas

de la población nació en el año 2024, seguido del 2023 (19 %) y 2022 (15 %). En el 2 % de los animales no se pudo determinar la edad ya que carecían de identificación individual (Figura 7).

6.2 Presencia de *E. coli* en las aves muestreadas

La prevalencia de *E. coli* en las muestras evaluadas fue muy alta (85,20 %; 219 positivos/257 animales). Todas las explotaciones muestreadas fueron positivas con porcentajes que llegaron al 100 % en varias explotaciones y siempre mayores del 50 % (Figura 8).

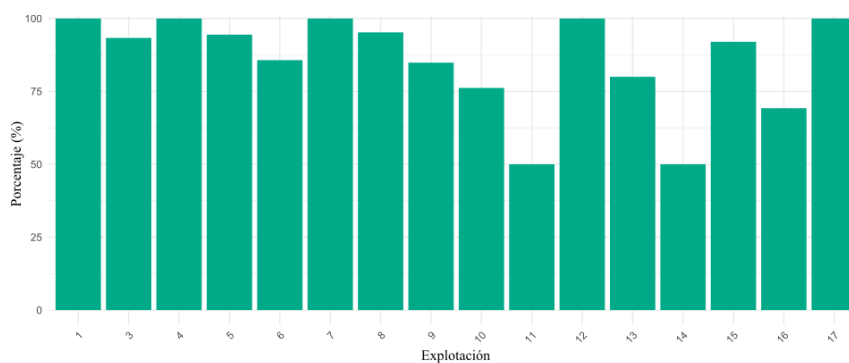


Figura 8. Porcentaje de aislamientos con detección de *E. coli* por explotación

Los crecimientos en medio no suplementado fueron abundantes. La mayor parte de los aislados (> 50 %) presentaron crecimientos de nivel 2 (**Figura 9**).

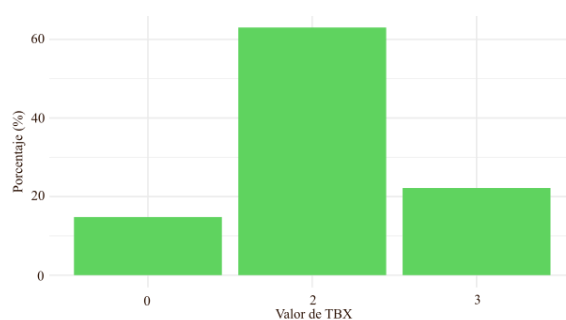


Figura 9. Porcentaje de los diferentes niveles de crecimiento de *E. coli* encontrados en los medios de TBX

No obstante, los resultados en **medios suplementados con antibiótico** fueron muy diferentes y se detectaron solamente 6 aislamientos positivos de un total de 257 muestras analizadas concentradas en tres explotaciones. De esta manera la prevalencia de BLEE del 2,33 %, y de 2,70 % (6/219) sin consideramos solamente aquellas muestras con crecimiento de *E. coli* en medio TBX. Asimismo, solo 3 de las 16 explotaciones analizadas (18,75 %) presentaron al menos un aislamiento positivo, indicando una baja prevalencia a nivel de explotación.

6.3 Presencia de resistencias antibióticas en las aves muestreadas

Se realizaron antibiogramas de 46 cepas aisladas: tres por explotación, excepto en una explotación en la que solo se obtuvo una cepa. La prevalencia de resistencias frente a algunos antibióticos fue muy alta: neomicina, colistina, estreptomicina, apramicina y kanamicina presentaron porcentajes de aislados resistentes superiores al 65 %. (**Figura 10**). La piperacilina, ticarcilina (4ª generación) y ampicilina (3ª generación) también presentaron resistencias notables, situándose entre un 30 y 35%, mientras que antibióticos como imipenem y piperacilina +

tazobactam (penicilinas antipseudomónicas con inhibidor de β -lactamasas) mostraron muy pocas o ninguna resistencia, siendo estas inferiores al 2 %.

A nivel de granja (n = 16), la difusión de resistencias fue muy amplia. Todas las explotaciones analizadas mostraron resistencia a al menos un antibiótico, detectando resistencias a estreptomycina, neomicina, apramicina y colistina en el 100% de las explotaciones

(Figura 11). La kanamicina también mostró una alta presencia, ya que se encontraba en más del 90 % de las granjas. Sin embargo, antibióticos como piperacilina + tazobactam, cefoxitine (2ª generación) e imipenem presentaron resistencias en un porcentaje muy bajo de explotaciones (< 6,25 %), destacando especialmente imipenem, para el cual no se detectó ninguna resistencia.

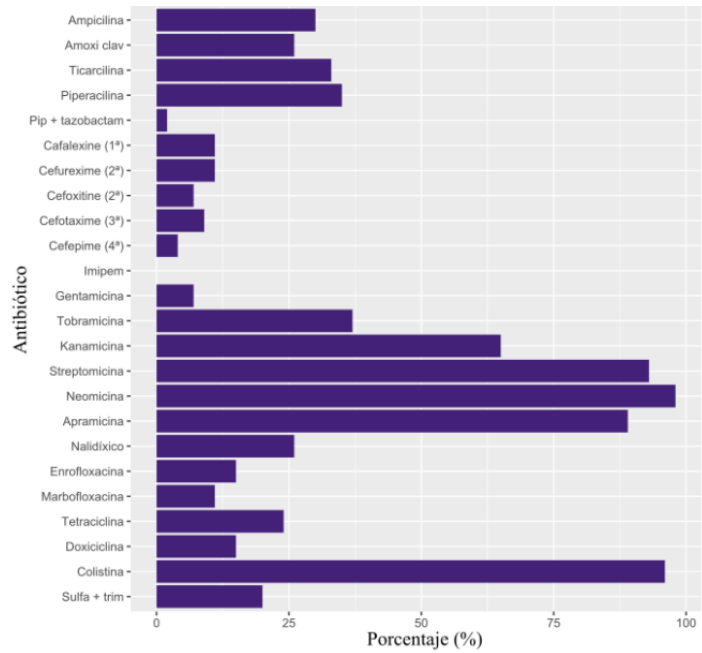


Figura 10. Porcentaje aislados con resistencias antibióticas

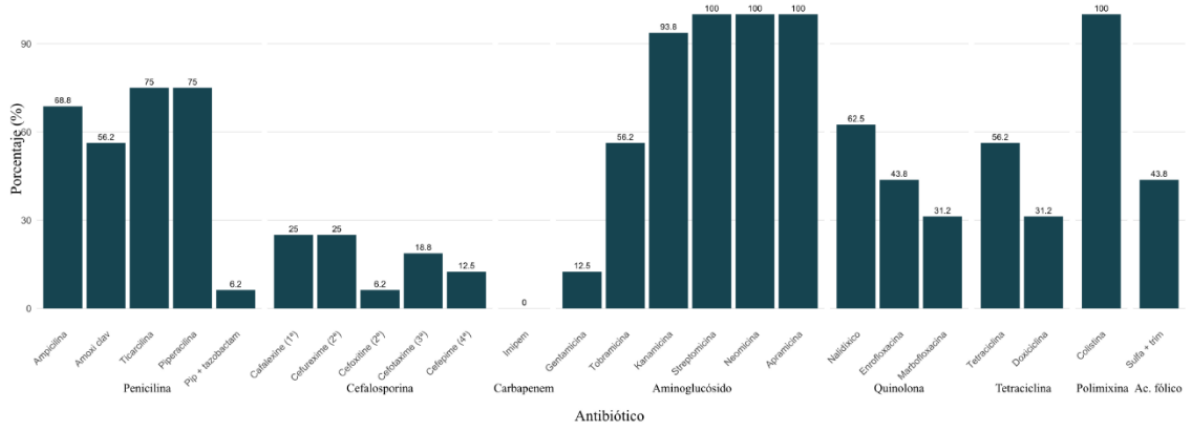


Figura 11. Porcentaje de granjas con al menos una resistencia por antibiótico

En relación con la familia antibiótica (Figura 12), la totalidad de las granjas presentaron cepas resistentes a varias familias antibióticas. Los aminoglucósidos y la polimixina (100 %) presentaron los mayores porcentajes de granjas con resistencias, seguidos de las penicilinas (86,67 %), quinolonas y tetraciclinas (60,00 %), inhibidores del ácido fólico (46,67 %), cefalosporinas (26,67 %) y, por último, los carbapenémicos (0,00 %).

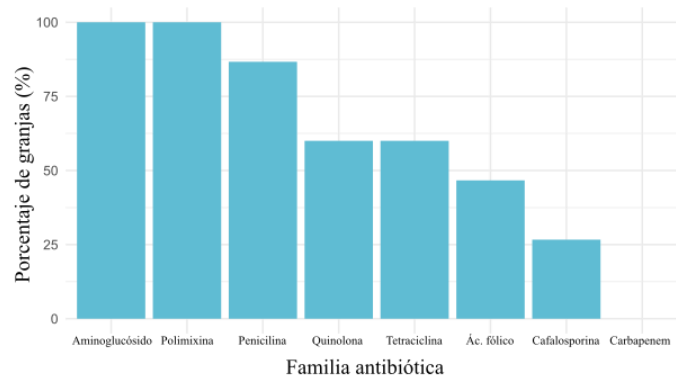


Figura 12. Porcentaje de granjas resistentes por familia de antibiótico

6.3.1 Combinaciones e interacciones de resistencias

El 56,62 % de las cepas analizadas presentaron multirresistencia. Se realizó un mapa de calor (Figura 13) combinado con un análisis de clúster jerárquico para identificar patrones de resistencia antimicrobiana y posibles relaciones entre los antibióticos evaluados.

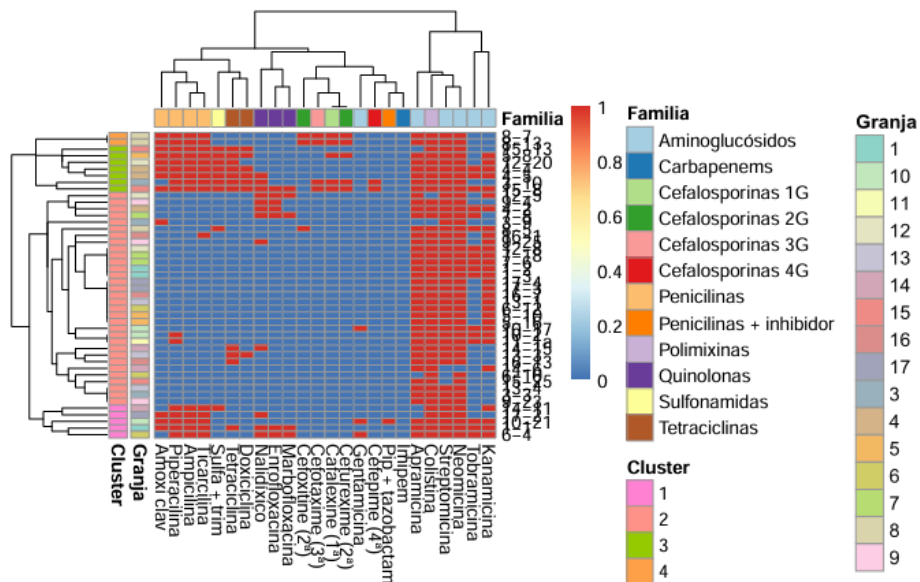


Figura 13. Mapa de calor de perfiles de resistencia antimicrobiana con agrupamiento por aislados y familias de antibióticos

El mapa de calor mostró una alta frecuencia de aparición conjunta de resistencias frente a los aminoglucósidos en todas las granjas. Resistencias frente a neomicina, estreptomicina y apramicina estuvieron presentes en la mayoría de los aislados; y las resistencias frente a tobramicina y kanamicina tendieron a aparecer de forma conjunta. Estos resultados indican una alta difusión conjunta de las resistencias a antibióticos de estas familias. La resistencia a las penicilinas engloba todas las generaciones analizadas en cualquiera de las agrupaciones mencionadas. Esto indica que la aparición de cepas resistentes a cefalosporinas es baja, pero cuando ocurren, se ven afectadas varias generaciones. Por el contrario, en el caso del cefepime (cefalosporina de 4ª generación) y del imipenem, las resistencias fueron mínimas. Además,

también se identifican patrones de corresponsencia, en los que ciertos antibióticos tienden a agruparse por la aparición simultánea de resistencias.

En menor medida, también se identifican grupos de aislados que son resistentes adicionalmente a diferentes penicilinas. Los clústeres, representados en diferentes colores en la barra lateral exterior izquierda (**Figura 13**), permiten diferenciar grupos de aislados según sus perfiles de resistencia. En este caso, la presencia de resistencias a aminoglucósidos y polimixinas en la mayoría de los aislamientos no permitió identificar patrones específicos. Es por eso, que en función de las agrupaciones que forma la penicilina se pueden ver diferentes grupos: el clúster 1 (penicilinas y quinolonas), el clúster (penicilinas, sulfonamidas y tetraciclinas) y el clúster 4 (penicilinas y cefalosporinas). No se encontró una asociación entre los clústeres y las granjas. De esta manera, diferentes perfiles de resistencia coexistieron dentro del mismo entorno, en una misma explotación.

6.4 Análisis de factores de riesgo

Se evaluó la distribución del número de familias de antibióticos resistentes detectadas en cepas de *E. coli* en función de 36 factores relacionados con el manejo, la bioseguridad y las condiciones ambientales en granjas avícolas. La **Figura 14** muestra la densidad y dispersión del número de resistencias por muestra dentro de cada categoría.

El análisis estadístico no reveló la existencia de un mayor número de resistencias asociado a ningún factor concreto. No obstante, los resultados (**Tabla 5**) también son interesantes desde el punto de vista de la presencia de explotaciones con resistencias que llevan a cabo prácticas de manejo que influyen en la **diseminación de resistencias**. De esta manera, se han observado multirresistencias en diversos contextos de manejo y condiciones ambientales. Estas cepas estuvieron presentes en granjas que compran animales, que se encuentran próximas a otras explotaciones de distintas especies o que reportan la presencia de mascotas. También se detectaron cepas con múltiples resistencias tanto en explotaciones con manejo por lotes o con manejo individualizado de las aves. Las resistencias también aparecieron con independencia de las condiciones ambientales y de manejo: se observaron cepas multirresistentes en granjas con menor frecuencia de limpieza del comedero, presencia de charcos, uso de agua de manantial sin tratar y en aquellas donde el agua de bebida no recibe tratamiento.

Con relación al historial sanitario de las explotaciones, no se ha declarado ningún episodio de colibacilosis aviar. En cambio, sí que se han declarado casos de **Marek** y de **procesos respiratorios**, pero no se encontraron tampoco relaciones con un mayor número de resistencias.

Tabla 5. Resultados del análisis del número de resistencias en función de cada variable considerada (IC 95%: Intervalo de credibilidad al 95 %)

Categoría	Estimador	IC 95 %	
Alimentación Mezcla (referencia: cereales)	0.19	-0.44	0.86
Alimentación Pienso (referencia: cereales)	0.47	-0.32	1.24
Lejos de vivienda familiar (referencia: cerca)	0.32	-0.15	0.77
Compra de animales (referencia: no)	0.29	-0.14	0.74
Lejos de otras explotaciones de aves (referencia: cerca)	-0.07	-0.60	0.48
Limpieza comederos <1/semana (referencia <1/mes)	-0.23	-1.12	0.73
Limpieza comederos >1/semana (referencia <1/mes)	-0.06	-0.94	0.90
Limpieza bebederos >1/semana (referencia < 1/semana)	0.00	-0.83	0.83
Limpieza bebederos 1/semana (referencia < 1/semana)	0.20	-0.45	0.91
Comederos Sucios (referencia: no)	-0.05	-0.62	0.49
Enfermedad de Marek (referencia: no)	0,11	-0,57	0,72
Origen agua de bebida Traida (referencia: manantial)	0.05	-0.49	0.64
Otras granjas de otras especies cerca (referencia: no)	0.18	-0.27	0.65
Presencia de charcos/fuentes de agua (referencia: no)	-0.10	-0.95	0.84
Presencia de mascotas (referencia: no)	0.30	-0.23	0.84
Procesos respiratorios (referencia: no)	-0,07	-0,51	0,38
Propietario de otras explotaciones (referencia: no)	0.05	-0.42	0.52
Suelo de Tierra (referencia: cemento)	0.19	-0.27	0.66
Tipo de manejo Lotes (referencia: juntas)	0.28	-0.21	0.75
Tipo de manejo Separadas (referencia: juntas)	0.73	-0.03	1.46
Tipo de nave cerrada (referencia: abierta)	-0.14	-0.63	0.33
Tipo de nave Ambos (referencia: abierta)	0.02	-0.97	0.95
Agua de bebida sin tratar (referencia: tratada)	0.33	-0.64	1.40
Uso de material de bioseguridad (referencia: no)	-0.02	-0.46	0.42
Vallado perimetral Tensores (referencia: Rígido)	-0.27	-0.88	0.34
Zona de cuarentena (referencia: no)	0.30	-0.17	0.80
Nº de naves	0.01	-0.06	0.08

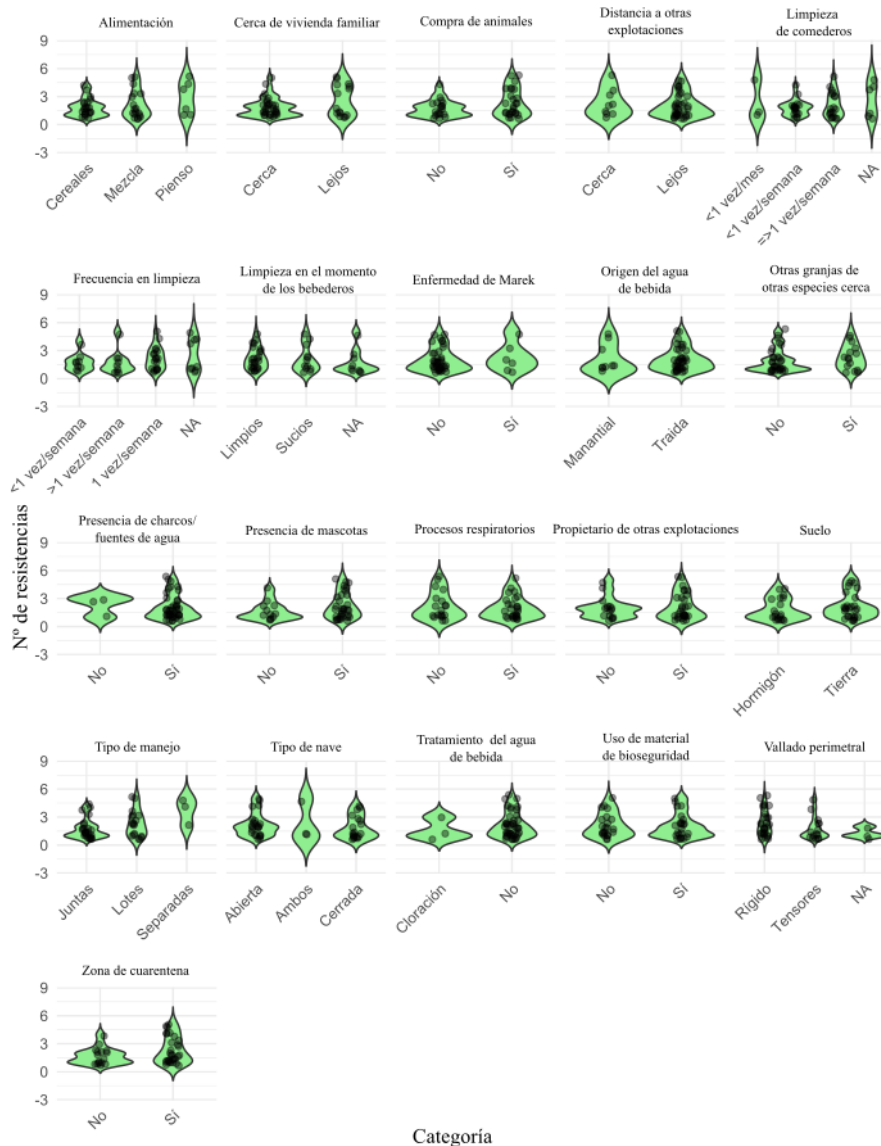


Figura 14. Distribución del número de resistencias por cada variable considerada en el análisis estadístico.

En cuanto a los tratamientos antibióticos previos en el último cuatrimestre (**Figura 15**), la mayoría han usado tratamientos antibióticos previos (75 %) para diversas patologías, siendo el Rhodogil® (espiramicina y metronidazol) el más utilizado en las explotaciones, seguido del Hidrotil® (tilosina) y el Dexabiopen (bencilpenicilina procaína, dihidroestreptomomicina y dexametasona). Solamente un 18,75 % declararon no haber aplicado un tratamiento antibiótico en este período.

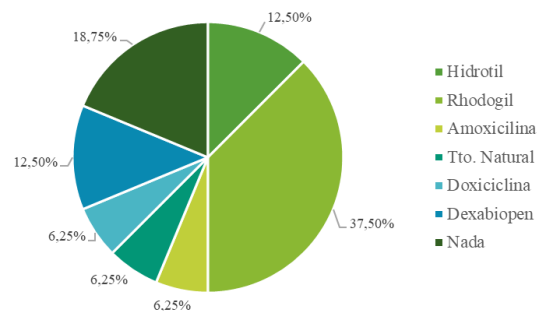


Figura 15. Tratamientos antibióticos previos efectuados en las granjas muestreadas.

7 DISCUSIÓN

Existen numerosos estudios realizados en avicultura intensiva acerca de la prevalencia de *E. coli* y sus patologías asociadas. Por el contrario, cuando la población de estudio corresponde a sistemas en extensivo o a modelos más tradicionales, la información es más escasa. Por este motivo, resulta imprescindible definir las prevalencias para poder cuantificar correctamente el riesgo que puede existir en este tipo de producción.

Si bien *E. coli* es una habitante natural de la microbiota intestinal, no se encontró en todas las muestras, pero la prevalencia en este estudio fue elevada (85,20 %). Este valor se encuentra dentro del rango de prevalencias descritas en otros trabajos, aunque cabe destacar que el porcentaje de aislamientos de *E. coli* en las producciones es muy variable, oscilando entre el 32,50 % y el 96,40 % (Sarba et al., 2019; Soodan, 2022). Estas diferencias pueden deberse a la técnica de aislamiento, uso de antibióticos, características de manejo o localización geográfica, aunque generalmente se reporta que la prevalencia es más baja en sistemas rurales que en granjas industriales (Soodan, 2022).

A pesar de la amplia presencia de la bacteria en las muestras analizadas, los resultados obtenidos en este estudio muestran una baja prevalencia de BLEE. Solamente 2,33 % de los aislados de *E. coli* fueron resistentes a la suplementación con CTX, a pesar de que la mayoría mostró crecimiento en los medios sin suplementación. Este tipo de resistencias no se encontró muy diseminada en la población de estudio ya que se concentró en tres explotaciones. Estos hallazgos indican que, a pesar de la elevada proporción de *E. coli*, la presencia de cepas BLEE en este tipo de producción es escasa.

La baja prevalencia de BLEE en este estudio contrasta con los altos porcentajes encontrados en granjas de avicultura intensiva. En España, algunos estudios han reportado que hasta el 93,30 % de los aislamientos de *E. coli* provenientes de pechugas de pollo son productores de BLEE (Egea et al., 2012). No obstante, la prevalencia de resistencias puede depender del sistema de producción utilizado. Generalmente producciones más extensivas o rurales presentan menores porcentajes de cepas BLEE (Sgariglia et al., 2019; Uyanik et al., 2021), lo cual es consistente con los resultados de este estudio. Sin embargo, la bibliografía disponible sobre estas producciones en Europa sigue siendo limitada. En cambio, fuera de Europa, la presencia de estas resistencias es generalmente muy alta. Por ejemplo, se detectó al menos un aislado de *E. coli* productor de BLEE en el 20,60 % de 208 granjas (Nguyen et al., 2015), sugiriendo que en las producciones locales españolas existe una menor circulación de cepas con este tipo de resistencias. No obstante, la detección de cepas con este perfil, aunque poco frecuente, es relevante desde el punto de vista sanitario, ya que las BLEE pueden diseminarse rápidamente en función la ubicación geográfica, densidad de población o medidas higiénicas (Castanheira et al., 2021), y así afectar a la eficacia

de tratamientos en medicina humana y veterinaria. Por tanto, la detección de este tipo de resistencias indica la necesidad de mantener sistemas de vigilancia activa en esta producción, incluso en contextos donde su frecuencia es reducida.

Este trabajo también supone la primera caracterización de los perfiles de resistencias detectados en esta raza avícola y proporciona información relevante de cara a entender el impacto sanitario que esta producción puede tener en la difusión de resistencias antimicrobianas. En este estudio, la clasificación de un antibiótico como sensible, intermedio o resistente se realizó siguiendo los criterios recomendados por el CLSI (2020), EUCAST (2022) y la SFM (2021). Además, aquellos aislados categorizados como intermedios a un antibiótico se recodificaron como resistentes para optar por un enfoque conservador en la estimación de las resistencias, ya que una sensibilidad reducida podría comprometer la eficacia clínica. Es importante señalar que los métodos utilizados para la prueba de susceptibilidad microbiana pueden variar entre estudios y esto puede afectar a la comparabilidad, aunque en la mayoría de los estudios consultados los criterios fueron similares.

Los resultados de este estudio muestran una elevada prevalencia de resistencias frente a aminoglucósidos en los aislados analizados. Este hallazgo fue muy llamativo, ya que en producciones intensivas estas resistencias suelen detectarse con menor frecuencia. Por ejemplo, en sistemas de producción intensiva de España se han encontrado resistencias a aminoglucósidos y polimixinas en porcentajes menores al 18 % (Monroy et al., 2025; Sevilla-Navarro et al., 2022). Esta mayor presencia de resistencias en Pita Pinta podría ser debida a los tratamientos antibioticos previos que habían reportado los ganaderos, ya que la mayoría de ellos habían tratado con macrólidos (**Figura 15**). Esto puede ser relevante, ya que, aunque no hay resistencia cruzada entre macrólidos y aminoglucósidos, se ha observado que algunos plásmidos portan genes de resistencia a ambos grupos, favoreciendo así su selección bajo presión antibiótica (Zong et al., 2022). Además, el uso de macrólidos está ampliamente extendido en avicultura según los datos del Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN) durante 2023, siendo el grupo de antibiótico más intensamente utilizado, alcanzando los 7,50 mg/biomasa (Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), 2024). También resulta llamativa la alta resistencia a polimixinas (colistina) en comparación con la situación en producción intensiva, ya que, mientras en este tipo de sistemas se observa una clara tendencia descendente —pasando del 17 % en 2019 al 4 % en 2021, según Sevilla-Navarro et al. (2022)— los datos en la Pita Pinta son alarmantes, con una resistencia del 100 %, a pesar de que no se reportó el uso de este antibiótico en las granjas encuestadas. Esta situación es muy preocupante desde el punto de vista de la sanidad pública debido a su clasificación como antibiótico de último recurso en medicina humana. Serían necesarios estudios posteriores para investigar la persistencia de este tipo de resistencias y

establecer medidas de cara a disminuir la frecuencia de bacterias resistentes a colistina en esta producción.

La situación en lo que respecta a la susceptibilidad a los β -lactámicos e inhibidores del ácido fólico también es muy diferentes a la avicultura intensiva. En la Pita Pinta se observaron porcentajes de resistencia menores del 40 % (**Figura 10**), valores mucho más moderados que los reportados por Monroy et al. (2025) en sistemas intensivos, con resistencias del 99,10 % para β -lactámicos y del 60,50 % para inhibidores del ácido fólico. No obstante, dentro de la familia de los β -lactámicos pueden existir variaciones según el antibiótico específico, y las comparaciones con otros estudios son difíciles, ya que no siempre se reportan resultados para todos los fármacos de esta clase. De esta manera, cuando se han analizado los mismos antibióticos, en algunos casos, los resultados son parecidos. Por ejemplo, los valores que se han encontrado en el presente estudio de resistencia a ampicilina son similares a los reportados por otros autores: 30 % en Rivera-Gomis et al. (2021a). De forma similar, las resistencias a cefalosporinas encontradas aquí han sido bajas, coincidiendo nuevamente con otros estudios (Sevilla-Navarro et al., 2022). La limitada resistencia específica a las cefalosporinas sugiere que la presión selectiva para este tipo de β -lactamasas es baja en las condiciones evaluadas. Esto podría deberse al uso restringido de cefalosporinas ya que estas se agrupan en categoría C (cefalosporinas de 1ª y 2ª generación, y cefamicinas) cuyo uso está permitido cuando no hay antibióticos de categoría D eficaces y categoría B (cefalosporinas, 3ª y 4ª generación con la excepción de las combinaciones con inhibidores de β -lactamasas) cuyo empleo está restringido con el objetivo de mitigar el riesgo para la salud humana (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, s.f.).

Estas similitudes pueden deberse a que las pautas de tratamiento de amoxicilinas y penicilinas de 1ª generación pueden ser más similares en ambos tipos de producción. Así, se ha constatado que ambos fármacos han sido opciones terapéuticas frecuentes tanto en las granjas analizadas (**Figura 15**) como en general en la producción avícola (Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN), 2024). Sin embargo, se ha observado una resistencia ampliamente distribuida frente a penicilinas de última generación en Pita Pinta (por ejemplo, ticarcilina o piperacilina), a pesar de que no se han reportado el uso de estos antimicrobianos. Se ha comprobado que el uso de un β -lactámico puede co-seleccionar resistencias a otros del mismo grupo. Así, la administración durante 5 días de ampicilina puede conducir a un aumento de resistencias también a amoxicilina-ácido clavulánico, ceftioxitina y ceftriaxona (Roth et al., 2019a). También podría indicar la existencia de genes de resistencia a β -lactámicos que afecten a varias generaciones de penicilinas. En este sentido, futuros estudios sobre la presencia de genes

relacionados con la resistencia a estos antibióticos serían interesantes para caracterizar los perfiles de resistencia en esta producción y evaluar las posibles diferencias con producciones industriales.

En el caso de las quinolonas, los resultados en Pita Pinta son generalmente más bajos que en producción industrial. Por ejemplo, en el caso del enrofloxacino < 20 % en Pita Pinta frente al 25 % en Sevilla-Navarro et al. (2022) ; o < 30 % en ácido nalidixico frente al 88 % encontrado por Roth et al., (2019b), en este caso en broilers. En ambos casos con una tendencia ascendente en la producción industrial. Asimismo, los valores en Pita Pinta son marcadamente menores a las medias europeas que reportan una resistencia del 50,30 % (European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2025).

A nivel de granja, se detectó que más del 50 % de las explotaciones presentan al menos un aislado con resistencia a cinco o más familias antibióticas; sin embargo, los resultados varían considerablemente dentro de cada familia estudiada. Por ejemplo, aunque las explotaciones de Pita Pinta presentan porcentajes del 100 % de resistencia en el grupo de los aminoglucósidos, las resistencias se concentran fundamentalmente en la estreptomicina, neomicina y apramicina. Esta situación contrasta notablemente con los hallazgos de Nguyen et al. (2015), en sistemas productivos también familiares aunque a más pequeña escala, donde la única resistencia hallada de los aminoglucósidos fue a la amikacina, cuya prevalencia fue del 22,30%. No obstante, los datos en producciones rurales en Europa son escasos y la mayoría de los estudios se realizan en pollos broiler de origen industrial, que pueden arrastrar resistencias de las madres criadas de forma intensiva (Hedman et al., 2019), por lo que no reflejan de forma fidedigna la situación en relación a las producciones exclusivamente tradicionales.

Otros productos presentan resistencias más bajas. Si nos fijamos en otros aminoglucósidos, la gentamicina muestra un valor del 12,50 %, similar al reportado por Rivera-Gomis et al. (2021b) en granjas de ponedoras, donde la prevalencia se sitúa por debajo del 15 %. Además, otro valor comparable es el de la tetraciclina (56,20 %), cuya prevalencia en el mismo estudio fue ligeramente superior al 60 %. En cambio, otros antibióticos como la colistina (100 %), el ácido nalidixico (62,50 %) o la ampicilina (68,80 %) presentan valores muy superiores a los descritos en granjas de producción industrial españolas (< 45 %, 30,26 % y 30 %, respectivamente (Rivera-Gomis et al., 2021a; Rivera-Gomis et al., 2021b)). Estos resultados ponen de manifiesto las particularidades en el perfil de resistencias encontradas en las granjas de Pita Pinta, que deben ser tenidas en cuenta a la hora de aplicar tratamientos antibióticos y monitorizar la difusión de resistencias antimicrobianas.

En el presente estudio también se caracterizó el perfil de las bacterias multirresistentes. Las cepas multirresistentes (con resistencias a antibióticos de más de una familia de antibióticos) fueron las más frecuentes en la Pita Pinta (56,52 %), aunque su prevalencia fue menor en

comparación con lo reportado en otros estudios en producción avícola, tanto a nivel industrial (Monroy et al., 2025) como en explotaciones rurales (Hedman et al., 2019): 99,30 % y 68,40 - 100 %, respectivamente). A pesar de las diferencias en los sistemas de producción, estos datos indican que las cepas multirresistentes están ampliamente distribuidas, y no se limitan al ámbito industrial, donde su presencia es particularmente alta en broilers (91 %) (Monroy et al., 2025).

El mapa de calor diferenció cuatro clústers en relación con los perfiles de resistencia, pero se identificaron situaciones en las que coexistían los diferentes clústers en una misma granja. Las resistencias a aminoglucósidos y polimixinas no permitieron identificar patrones específicos, ya que estuvieron presentes en la mayoría de los aislamientos, por lo tanto, la clusterización detectada se atribuye a las combinaciones que incluyen penicilinas o penicilinas y otros compuestos: quinolonas (clúster 1), y combinación con tetraciclinas y sulfamidas (clúster 3). En la bibliografía no se han encontrado datos sistemáticos para comparar producciones similares; sin embargo, al analizar los perfiles descritos para broilers, también han sido observadas asociaciones similares de penicilinas, quinolonas, tetraciclinas y sulfamidas. Por ejemplo, la EFSA reporta que los perfiles multirresistentes más comunes implican a ampicilina, tetraciclina, ciprofloxacina y el ácido nalidíxico (European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2025); y otros estudios también encontraron un perfil similar al clúster 3 (sulfonamidas, tetraciclinas y penicilinas) de forma frecuente (10 % en Rivera-Gomis et al. (2021b)).

No obstante, el patrón más frecuente en el presente estudio implicó la presencia de resistencias fundamentalmente a aminoglucósidos y polimixina (clúster 2). Esta situación contrasta con la baja detección en los otros estudios, donde los aminoglucósidos no son tan frecuentes y únicamente la colistina formó parte de algún patrón MDR de forma ocasional (European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2025). Esta situación marca una clara diferencia entre el patrón de resistencias encontradas en Pita Pinta respecto a otro tipo de producciones.

Si nos centramos en la presencia de resistencias a aminoglucósidos. Una vez que un aislado presenta resistencia a estos antimicrobianos, la presencia de *E. coli* multirresistente a varios aminoglucósidos no resulta inusual en la avicultura. En este sentido, Cox et al. (2022) han demostrado que dentro de un mismo plásmido se pueden transmitir diversos genes de aminoglucósidos y los mecanismos de resistencia frente a un antibiótico pueden afectar a otros (Zhang et al., 2014). En este sentido, las resistencias a aminoglucósidos en Pita Pinta supusieron mayoritariamente la resistencia a otros antibióticos del grupo. Además, también se ha encontrado que la presencia de resistencia a aminoglucósidos suele estar asociada con resistencia a antibióticos de otras familias, lo cual puede ser frecuente. Por ejemplo, Cox et al. (2022)

encontraron que el 84,50 % de cepas de *E. coli* que portaban genes de resistencia frente a gentamicina, presentaban a su vez co-resistencia frente a otros antibióticos de diversas familias. La existencia de multirresistencias que implicasen aminoglucósidos junto a antibióticos de otras familias fue un hecho que se observó de forma moderada en el caso de Pita Pinta, 14/46 aislados (30,43 %), pero cuando aparecieron la familia más frecuentemente implicada fueron los β -lactámicos. Esto es consistente con estudios previos de co-ocurrencia, los cuales han demostrado la presencia simultánea de genes relacionados con la resistencia a ambos grupos en los mismos aislados en humanos (Bodendoerfer et al., 2020). Estos patrones no solamente se han observado en avicultura. También se han encontrado *E. coli* aislados en ganado vacuno implicando a aislados multirresistentes a estreptomycin y trimetoprima, sulfonamida y estreptomycin, y tetraciclina (Gow et al., 2008); y en ganado porcino (Travis et al., 2006). Esto sugiere la posible transmisión conjunta de estos genes (Jacoby, 2009) y su amplia distribución en diferentes animales de producción (Gow et al., 2008).

También es importante destacar la ausencia de asociaciones estadísticamente significativas entre los factores estudiados. Lo que sugiere que la presencia de resistencias se da en diferentes condiciones, algunas de las cuáles podrían suponer riesgos para la transmisión. Por ejemplo, la detección de cepas multirresistentes en diferentes tipos de manejo como la organización en lotes o el manejo individualizado de aves indica que la segmentación del manejo no necesariamente impide la acumulación de resistencias. Al contrario de lo reportado por Saeed et al. (2023) en donde vieron que el mantener las aves sueltas aumentaba el riesgo de portar tanto *E. coli* como cepas productoras de BLEE comparado con el manejo en jaulas. Además, la compra de animales, la cercanía a explotaciones de otras especies o la presencia de mascotas puede facilitar el ingreso y/o circulación de bacterias resistentes (Nguyen et al. (2015). En este sentido, la compra de animales dentro de las explotaciones de Pita Pinta es frecuente y podría favorecer la diseminación y homogenización de las resistencias dentro de este sistema productivo. Factores ambientales como la presencia de charcos, el tipo de suelo, la fuente y tratamiento del agua, y la frecuencia de limpieza podrían influir en aparición y persistencia de resistencias (Persoons et al., 2011) y el hecho de encontrar explotaciones que realizan este tipo de prácticas y tienen un alto número de resistencias podría contribuir al riesgo de difusión. En conjunto, estos hallazgos señalan la importancia de evaluar no solo la frecuencia media de resistencias, sino también los contextos en los que surgen cepas multirresistentes, dado que estas constituyen un mayor riesgo de diseminación horizontal y persistencia en el entorno productivo.

Los resultados de este estudio muestran unos perfiles característicos de resistencias a antibióticos en *E. coli* en la Pita Pinta. La presencia de aislados de tipo BLEE ha sido baja comparada con otras producciones, pero las resistencias a aminoglucósidos y polimixinas han sido altas con un alto porcentaje de bacterias multirresistentes no sólo a varios antibióticos sino a

antibióticos de diferentes familias. Desde el punto de vista sanitario, la presencia de estos perfiles multirresistentes dificulta las opciones terapéuticas en casos de colibacilosis u otras infecciones bacterianas, comprometiendo la eficacia de tratamientos habituales y aumentando el riesgo de brotes más severos. A nivel de salud pública, estos hallazgos refuerzan la preocupación por el potencial papel de las aves de corral como reservorio de genes de resistencia transferibles a patógenos humanos a través de la cadena alimentaria o del medio ambiente. Además, la distribución no homogénea de los patrones sugiere diferencias en el manejo o uso de antibióticos entre granjas, apuntando a posibles fallos en las prácticas de bioseguridad, rotación de antimicrobianos o control de entradas y salidas de animales.

El análisis de los perfiles de resistencia revela la presencia de agrupaciones de antibióticos con resistencias concurrentes, lo que sugiere la existencia de mecanismos de co-selección y posibles vínculos genéticos entre determinantes de resistencia. Destaca especialmente la aparición simultánea de resistencias frente a aminoglucósidos, polimixinas y β -lactámicos, lo cual es preocupante debido a que muchos de estos están clasificados como de importancia crítica en medicina humana (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, s.f.). Esta co-resistencia puede estar mediada por elementos genéticos móviles, como integrones y plásmidos, lo que implica que la presión selectiva ejercida por un solo antimicrobiano puede favorecer la persistencia y diseminación de múltiples mecanismos de resistencia. En contraposición, algunos antibióticos como las cefalosporinas (< 25 %) o el imipenem (0,00 %) mostraron niveles bajos o nulos de resistencia, posiblemente por un menor uso de esos antibióticos.

En resumen, este estudio supone la primera caracterización de las resistencias en Pita Pinta. Estos resultados pueden ayudar a definir los riesgos de propagación de resistencias y mejorar la selección de tratamientos terapéuticos. Esto es especialmente importante en un contexto en el que la administración fomenta la restricción del uso antibióticos. Su reducción en avicultura ha impulsado el desarrollo de nuevas estrategias alternativas, como vacunas, prebióticos, probióticos, enzimas, acidificantes digestivos, vitaminas, moduladores del sistema inmune, fármacos antiinflamatorios y otros compuestos con propiedades antimicrobianas (Nolan et al., 2020), aunque aún se requieren estudios adicionales para validar su eficacia.

8 CONCLUSIONES

1. La prevalencia de cepas productoras de BLEE en *E. coli* de aislados de gallinas de Pita Pinta en Asturias es baja.
2. Las resistencias más prevalentes en la Pita Pinta se observaron frente a aminoglucósidos, especialmente neomicina, estreptomina y apramicina, así como a colistina. En contraste, las resistencias frente a cefalosporinas e imipenem fueron menos frecuentes.
3. Se encontraron diferentes perfiles de resistencias a antibióticos implicando aminoglucósidos y polimixina (clúster 2), junto con β -lactámicos (clúster 4); penicilinas y quinolonas (clúster 1); penicilinas, tetraciclinas y sulfonamidas (clúster 3).
4. Las explotaciones presentaron perfiles de resistencia muy variados, observándose varios clústeres de resistencia distintos dentro de cada granja.
5. No se encontraron asociaciones significativas entre el número de resistencias detectadas y los factores de manejo o ambientales evaluados. Esto sugiere una distribución homogénea de las resistencias entre granjas con condiciones diversas, lo cual podría favorecer su diseminación y tener implicaciones sanitarias relevantes.
6. La alta prevalencia de resistencias frente a polimixinas (colistina), aminoglucósidos y β -lactámicos es especialmente preocupante desde una perspectiva de salud pública, dado que estos antimicrobianos son de importancia crítica en medicina humana. Los perfiles y combinaciones de resistencias encontrados deben ser tenidos en cuenta en la elección de las medidas terapéuticas a aplicar sobre la Pita Pinta.

9 BIBLIOGRAFÍA

- Abdalla, S. E., Bester, L. A., Abia, A. L. K., Allam, M., Ismail, A., Essack, S. Y., & Amoako, D. G. (2025). Genomic Insights of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Intensive Pig Farming in South Africa Using ‘Farm-to-Fork’ Approach. *Antibiotics*, 14(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050446>
- ACCPA. (s. f.). Criadores. *La Pita Pinta Asturiana*. Recuperado 17 de mayo de 2025, de <https://www.lapitapintaasturiana.com/criadores/>
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (s.f.). *Categorización de Antibióticos*. Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos. <https://www.resistenciaantibioticos.es/es/lineas-de-accion/vigilancia/antibioticos-criticos>
- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of Quinolone Action and Resistance. *Biochemistry*, 53(10), 1565-1574. <https://doi.org/10.1021/bi5000564>
- Alonso, C. A., Michael, G. B., Li, J., Somalo, S., Simón, C., Wang, Y., Kaspar, H., Kadlec, K., Torres, C., & Schwarz, S. (2017). Analysis of blaSHV-12-carrying *Escherichia coli* clones and plasmids from human, animal and food sources. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(6), 1589-1596. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx024>
- Ambler, R. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321-331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Arbab, S., Ullah, H., Wang, W., & Zhang, J. (2022). Antimicrobial drug resistance against *Escherichia coli* and its harmful effect on animal health. *Veterinary Medicine and Science*, 8(4), 1780-1786. <https://doi.org/10.1002/vms3.825>
- Baquero, F., & Cantón, R. (2017). Chapter 2. Evolutionary biology of drug resistance. En D. L. Mayers, J. D. Sobel, M. Ouellette, K. S. Kaye, & D. Marchaim (Eds.), *Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance: Vol. Vol. 1* (2ª ed., pp. 9-36). Springer.
- Berglund, B. (2019). Acquired Resistance to Colistin via Chromosomal And Plasmid-Mediated Mechanisms in *Klebsiella pneumoniae*. *Infectious Microbes and Diseases*, 1(1), 10-19. <https://doi.org/10.1097/IM9.0000000000000002>
- Bodendoerfer, E., Marchesi, M., Imkamp, F., Courvalin, P., Böttger, E. C., & Mancini, S. (2020). Co-ocurrencia de mecanismos de resistencia a aminoglucósidos y β -lactámicos en *Escherichia coli* no susceptible a aminoglucósidos aislados en el área de Zúrich, Suiza. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1), 106019. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106019>

- Bürkner, P.-C. (2017). brms: An R Package for Bayesian Multilevel Models Using Stan. *Journal of Statistical Software*, 80(1), 1–28. <https://doi.org/10.18637/jss.v080.i01>
- Cantón, R., & Morosini, M.-I. (2011). Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 977-991. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00295.x>
- Carter, G. R., & Wise, D. J. (2004). *Essentials of veterinary bacteriology and mycology* (6. ed). Iowa State Press.
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- Chan, I., Franks, B., & Hayek, M. N. (2022). The ‘sustainability gap’ of US broiler chicken production: Trade-offs between welfare, land use and consumption. *Royal Society Open Science*, 9(6). <https://doi.org/10.1098/rsos.210478>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (30th ed.). CLSI supplement M100.
- Cox, G. W., Avery, B. P., Parmley, E. J., Irwin, R. J., Reid-Smith, R. J., Deckert, A. E., Finley, R. L., Daignault, D., Zhanel, G. G., Mulvey, M. R., & Bharat, A. (2022). A One Health Genomic Investigation of Gentamicin Resistance in *Escherichia coli* from Human and Chicken Sources in Canada, 2014 to 2017. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(10), e00677-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00677-22>
- Davies, J., & Wright, G. D. (1997). Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. *Trends in Microbiology*, 5(6). [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(97\)01033-0](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(97)01033-0)
- Egea, P., López-Cerero, L., Torres, E., Gómez-Sánchez, M. del C., Serrano, L., Navarro Sánchez-Ortiz, M. D., Rodríguez-Baño, J., & Pascual, A. (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(2), 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.002>
- Eguiño, R. (2014, diciembre 2). Manejo | Pita Pinta Asturiana [Blog]. *Pita Pinta Asturiana*. http://www.pita-pinta.com/?page_id=742
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2022). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters* (Version 12.0). <https://www.eucast.org>
- European Food Safety Authority (EFSA), & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2025). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic

and indicator bacteria from humans, animals and food in 2022–2023. *EFSA Journal*, 23(3), e9237. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9237>

Fenollar, A. (2020). *Estudio de la transmisión de resistencias a antibióticos mediante métodos moleculares en el sector avícola y su implicación para la salud pública* [Universitat Politècnica de València]. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/149399>

Francech Vidal, A. (2006) *Gallinas de raza* (2ª Ed.) Leizaran Grafitak, SL. ISBN: 84-605-81155-1 (pp. 110-113)

Gabry, J., & Veen, D. (2022). *workflowr: A framework for reproducible and collaborative data science using R* (R package version 1.7.0). <https://CRAN.R-project.org/package=workflowr>

Garcia, P. G., Silva, V. L., & Diniz, C. G. (2011). Occurrence and antimicrobial drug susceptibility patterns of commensal and diarrheagenic *Escherichia coli* in fecal microbiota from children with and without acute diarrhea. *The Journal of Microbiology*, 49(1), 46-52. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-0172-8>

García-Béjar, B., García De Blas Martín, I., Arévalo-Villena, M., & Briones Pérez, A. (2021). High Prevalence of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Isolates from Retail Poultry Products in Spain. *Animals*, 11(11), 3197. <https://doi.org/10.3390/ani11113197>

Gentilini, E. (2007). Chapter 19. Antimicrobianos. En N. O. Stanchi (Ed.), *Microbiología Veterinaria* (1ª ed., pp. 162-178). Inter-Médica S.A.I.C.I. https://www.libinter.com.ar/libro.php?libro_id=463

Giovanardi, D., Campagnari, E., Ruffoni, L. S., Pesente, P., Ortali, G., & Furlattini, V. (2005). Avian pathogenic *Escherichia coli* transmission from broiler breeders to their progeny in an integrated poultry production chain. *Avian Pathology*, 34(4), 313-318. <https://doi.org/10.1080/03079450500179046>

Gobierno del Principado de Asturias. (2024). *Resolución 2024-07735* (Boletín Oficial del Principado de Asturias (BOPA) Nos. 2024-07735). https://sede.asturias.es/ast/bopa-disposiciones?p_p_id=pa_sede_bopa_web_portlet_SedeBopaDispositionWeb&p_p_lifecycle=0&_pa_sede_bopa_web_portlet_SedeBopaDispositionWeb_mvcRenderCommandName=%2Fdisposition%2Fdetail&p_r_p_dispositionText=2024-07735&p_r_p_dispositionReference=2024-07735&p_r_p_dispositionDate=16%2F09%2F2024

Gómez, J., García-Vázquez, E., & Hernández-Torres, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Revista Española de Quimioterapia*, 28(1), 1-9.

Gómez-Osorio, L. M. (2022, julio 29). *Del comensalismo a la patogenicidad: E.coli patogénica aviar (APEC) y su importancia en la era de retiro de antibióticos*. Engormix.

https://www.engormix.com/avicultura/avicultura-enfermedades-bacterianas/del-comensalismo-patogenicidad-coli_a51040/

Gow, S. P., Waldner, C. L., Harel, J., & Boerlin, P. (2008). Associations between Antimicrobial Resistance Genes in Fecal Generic *Escherichia coli* Isolates from Cow-Calf Herds in Western Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3658-3666. <https://doi.org/10.1128/AEM.02505-07>

Grossman, T. H. (2016). Tetracycline Antibiotics and Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(4), a025387. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025387>

Haldorsen, B. C., Simonsen, G. S., Sundsfjord, A., & Samuelsen, Ø. (2014). Increased prevalence of aminoglycoside resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. In Norway is associated with the acquisition of AAC(3)-II and AAC(6')-Ib. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 78(1), 66-69. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.10.001>

Hedman, H. D., Eisenberg, J. N. S., Trueba, G., Rivera, D. L. V., Herrera, R. A. Z., Barrazaeta, J. V., Rodriguez, G. I. G., Krawczyk, E., Berrocal, V. J., & Zhang, L. (2019). Impacts of small-scale chicken farming activity on antimicrobial-resistant *Escherichia coli* carriage in backyard chickens and children in rural Ecuador. *One Health*, 8, 100112. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2019.100112>

Hooper, D. C. (2003). Chapter 3. Mechanisms of Quinolone Resistance. En D. C. Hooper & E. Rubinstein (Eds.), *Quinolone Antimicrobial Agents* (pp. 41-67). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1128/9781555817817.ch3>

Hopkins, K. L., Davies, R. H., & Threlfall, E. J. (2005). Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent developments. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(5), 358-373. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006>

Ibrahim, M., Zango, U. U., Abubakar Shawai, S. A., & Shamsuddin, I. M. (2019). A review on β -lactam antibiotic drug resistance. *Drug Design, Development and Therapy*, 3(2).

Jacoby, G. A. (2009). AmpC β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161-182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>

Jacoby, G. A. (2017). Chapter 17. Plasmid-Mediated Quinolone Resistance. En D. L. Mayers, J. D. Sobel, M. Ouellette, K. S. Kaye, & D. Marchaim (Eds.), *Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance, Volume 1* (pp. 265-268). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46718-4_17

Johnson, J. R., Johnston, B., Clabots, C., Kuskowski, M. A., & Castanheira, M. (2010). *Escherichia coli* Sequence Type ST131 as the Major Cause of Serious Multidrug-Resistant *E. coli*

Infections in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 51(3), 286-294. <https://doi.org/10.1086/653932>

Joseph, J., Zhang, L., Adhikari, P., Evans, J. D., & Ramachandran, R. (2023). Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) in Broiler Breeders: An Overview. *Pathogens*, 12(11), 1280. <https://doi.org/10.3390/pathogens12111280>

Kabir, S. M. L. (2010). Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(1), 89-114. <https://doi.org/10.3390/ijerph7010089>

Kampranis, S. C., & Maxwell, A. (1998). The DNA Gyrase-Quinolone Complex. *Journal of Biological Chemistry*, 273(35), 22615-22626. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22615>

Kemmett, K., Williams, N. J., Chaloner, G., Humphrey, S., Wigley, P., & Humphrey, T. (2014). The contribution of systemic *Escherichia coli* infection to the early mortalities of commercial broiler chickens. *Avian Pathology*, 43(1), 37-42. <https://doi.org/10.1080/03079457.2013.866213>

Kolde, R. (2019). *pheatmap: Pretty heatmaps* (Versión 1.0.12) [Paquete R]. CRAN. <https://CRAN.R-project.org/package=pheatmap>

Lakhotia, R. L., & Stephens, J. F. (1973). Drug Resistance and R Factors Among Enterobacteria Isolated from Eggs. *Poultry Science*, 52(5), 1955-1962. <https://doi.org/10.3382/ps.0521955>

Landman, W. J. M., & Van Eck, J. H. H. (2015). The incidence and economic impact of the *Escherichia coli* peritonitis syndrome in Dutch poultry farming. *Avian Pathology*, 44(5), 370-378. <https://doi.org/10.1080/03079457.2015.1060584>

Lettieri, T., Loos, R., Marinov, D., Navarro Cuenca, A., & Sanseverino, I. (2018). *State of the art on the contribution of water to antimicrobial resistance*. Publications Office of the European Union.

Liu, J., Keelan, P., Bennett, P. M., & Enne, V. I. (2009). Characterization of a novel macrolide efflux gene, *mef(B)*, found linked to *sul3* in porcine *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(3), 423-426. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn523>

Manges, A. R., Smith, S. P., Lau, B. J., Nuval, C. J., Eisenberg, J. N. S., Dietrich, P. S., & Riley, L. W. (2007). Retail Meat Consumption and the Acquisition of Antimicrobial Resistant *Escherichia coli* Causing Urinary Tract Infections: A Case–Control Study. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4(4), 419-431. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0026>

Markland, S. M., LeStrange, K. J., Sharma, M., & Kniel, K. E. (2015). Old Friends in New Places: Exploring the Role of Extraintestinal *E. coli* in Intestinal Disease and Foodborne Illness. *Zoonoses and Public Health*, 62(7), 491-496. <https://doi.org/10.1111/zph.12194>

- Mellata, M. (2013). Human and Avian Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Infections, Zoonotic Risks, and Antibiotic Resistance Trends. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(11), 916-932. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1533>
- Mezhoud, H., Boyen, F., Touazi, L., Garmyn, A., Moula, N., Smet, A., Haesbrouck, F., Martel, A., Iguer-Ouada, M., & Touati, A. (2015). Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in broiler breeding roosters: Presence in the reproductive tract and effect on sperm motility. *Animal Reproduction Science*, 159, 205-211. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.06.021>
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2025). *Raza aviar Pita Pinta* [Página web institucional]. Recuperado el 16 de febrero de 2025, de <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo-razas/aviar/pita-pinta/default.aspx>
- Monleon, R., Martin, M. P., & John Barnes, H. (2008). Bacterial orchitis and epididymo-orchitis in broiler breeders. *Avian Pathology*, 37(6), 613-617. <https://doi.org/10.1080/03079450802499134>
- Monroy, I., Catalá-Gregori, P., & Sevilla-Navarro, S. (2025). Assessment of antibiotic resistance and virulence in *Escherichia coli* strains isolated from poultry in Spain. *Poultry Science*, 104(2), 104838. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.104838>
- Monroy, M., Knöbl, T., Bottino, J. A., Ferreira, C. S. A., & Ferreira, A. J. P. (2005). Virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates obtained from broiler breeders with salpingitis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 28(1), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.001>
- Nguyen, V. T., Carrique-Mas, J. J., Ngo, T. H., Ho, H. M., Ha, T. T., Campbell, J. I., Nguyen, T. N., Hoang, N. N., Pham, V. M., Wagenaar, J. A., Hardon, A., Thai, Q. H., & Schultsz, C. (2015). Prevalence and risk factors for carriage of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* on household and small-scale chicken farms in the Mekong Delta of Vietnam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(7), 2144-2152. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv053>
- Nolan, L. K., Vaillancourt, J., Barbieri, N. L., & Logue, C. M. (2020). Chapter 18. Colibacillosis. En D. E. Swayne (Ed.), *Diseases of Poultry: Vol. Vol. 2* (14^a ed., pp. 770-830). Wiley-Blackwell.
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. A. (2021). Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
- Perry, A. (2011). *E. coli* Can Survive in Streambed Sediments for Months. *USDA ARS Online Magazine*, 59(6). <https://agresearchmag.ars.usda.gov/2011/jul/ecoli>

- Persoons, D., Haesebrouck, F., Smet, A., Herman, L., Heyndrickx, M., Martel, A., Catry, B., Berge, A. C., Butaye, P., & Dewulf, J. (2011). Risk factors for ceftiofur resistance in *Escherichia coli* from Belgian broilers. *Epidemiology & Infection*, *139*(5), 765-771. <https://doi.org/10.1017/S0950268810001524>
- Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN). (2024). *Informe español ESUAvet 2023: Vigilancia armonizada de resistencias a antibióticos en bacterias indicadoras en animales productores de alimentos en España*. <https://www.resistenciaantibioticos.es/sites/default/files/2025-03/Informe%20Espa%C3%B1ol%20ESUAvet%202023.pdf>
- Poirel, L., Jayol, A., & Nordmann, P. (2017). Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews*, *30*(2), 557-596. <https://doi.org/10.1128/CMR.00064-16>
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, *6*(4), 6.4.14. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
- Poulsen, L. L., Thøfner, I., Bisgaard, M., Christensen, J. P., Olsen, R. H., & Christensen, H. (2017). Longitudinal study of transmission of *Escherichia coli* from broiler breeders to broilers. *Veterinary Microbiology*, *207*, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.05.029>
- R Core Team. (2023). *R: A language and environment for statistical computing* [Software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, *13*(6), 151-171. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.08.003>
- Rivera-Gomis, J., Marín, P., Martínez-Conesa, C., Otal, J., Jordán, M. J., Escudero, E., & Cubero, M. J. (2021a). Antimicrobial Resistance of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* Commensal Isolates from Laying Hen Farms in Spain. *Animals*, *11*(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/ani11051284>
- Rivera-Gomis, J., Marín, P., Otal, J., Galecio, J. S., Martínez-Conesa, C., & Cubero, M. J. (2021b). Resistance patterns to C and D antibiotic categories for veterinary use of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. Commensal isolates from laying hen farms in Spain during 2018. *Preventive Veterinary Medicine*, *186*, 105222. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105222>
- Roth, N., Hofacre, C., Zitz, U., Mathis, G. F., Moder, K., Doupovec, B., Berghouse, R., & Domig, K. J. (2019a). Prevalence of antibiotic-resistant *E. coli* in broilers challenged with a multi-resistant

- E. coli* strain and received ampicillin, an organic acid-based feed additive or a synbiotic preparation. *Poultry Science*, 98(6), 2598-2607. <https://doi.org/10.3382/ps/pez004>
- Roth, N., Käsbohrer, A., Mayrhofer, S., Zitz, U., Hofacre, C., & Domig, K. J. (2019b). The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry Science*, 98(4), 1791-1804. <https://doi.org/10.3382/ps/pey539>
- Rubens, R., Arruda, I., Almeida, R., Nóbrega, Y., Carneiro, M., & Dalmolin, T. (2024). Challenges in the Detection of Polymyxin Resistance: From Today to the Future. *Microorganisms*, 12(1), 101. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010101>
- Saeed, M. A., Saqlain, M., Waheed, U., Ehtisham-ul-Haque, S., Khan, A. U., Rehman, A. ur, Sajid, M., Atif, F. A., Neubauer, H., & El-Adawy, H. (2023). Cross-Sectional Study for Detection and Risk Factor Analysis of ESBL-Producing Avian Pathogenic *Escherichia coli* Associated with Backyard Chickens in Pakistan. *Antibiotics*, 12(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050934>
- Sarba, E. J., Kelbesa, K. A., Bayu, M. D., Gebremedhin, E. Z., Borena, B. M., & Teshale, A. (2019). Identification and antimicrobial susceptibility profile of *Escherichia coli* isolated from backyard chicken in and around ambo, Central Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 85. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1830-z>
- Saudo, C., Abecia, A., & López, D. (2019). *Exterior de las Gallinas*. DR HERRIOT.
- Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. A., & Charlier, P. (2008). The penicillin-binding proteins: Structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(2), 234-258. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00105.x>
- Schnappinger, D., & Hillen, W. (1996). Tetracyclines: Antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Archives of Microbiology*, 165(6), 359-369. <https://doi.org/10.1007/s002030050339>
- Sevilla-Navarro, S., Catalá-Gregori, P., Torres-Boncompte, J., Orega, M. T., Garcia-Llorens, J., & Cortés, V. (2022). Antimicrobial Resistance Trends of *Escherichia coli* Isolates: A Three-Year Prospective Study of Poultry Production in Spain. *Antibiotics*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081064>
- Sgariglia, E., Aconiti Mandolini, N., Napoleoni, M., Medici, L., Fraticelli, R., Conquista, M., Gianfelici, P., Staffolani, M., Fisichella, S., Capuccella, M., Sargenti, M., & Perugini, G. (2019). Antibiotic resistance pattern and virulence genes in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from different breeding systems. *Veterinaria Italiana*, 55(1), 26-33. <https://doi.org/10.12834/VetIt.1617.8701.1>

- Smith, A. U. (1949). The control of bacterial growth in fowl semen. *The Journal of Agricultural Science*, 39(2), 194-200. <https://doi.org/10.1017/S0021859600005013>
- Société Française de Microbiologie. (2021). *Comité de l'antibiogramme: recommandations 2021*. <https://www.sfm-microbiologie.org>
- Soodan, M. (2022). *Incidence of antimicrobial resistant pathogenic Escherichia coli in poultry reared under intensive and backyard production systems* [Master's thesis, College of Veterinary and Animal Sciences]. <https://krishikosh.egranth.ac.in/server/api/core/bitstreams/5dd4fbf5-7d11-47ec-9024-3941dd9eda1c/content>
- Stanley, V. G., Woldesenbet, S., Gray, C., & Hinton, A. (1996). Sensitivity of Escherichia coli 0157:H7 Strain 932 to Selected Anticoccidial Drugs in Broiler Chicks. *Poultry Science*, 75(1), 42-46. <https://doi.org/10.3382/ps.0750042>
- Sykes, R. (2010). The 2009 Garrod Lecture: The evolution of antimicrobial resistance: a Darwinian perspective. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(9), 1842-1852. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq217>
- Thrusfield, M., Christley, R., & Brown, H. (2018). *Veterinary epidemiology* (4.^a ed.). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118280249>
- Tivendale, K. A., Logue, C. M., Kariyawasam, S., Jordan, D., Hussein, A., Li, G., Wannemuehler, Y., & Nolan, L. K. (2010). Avian-Pathogenic *Escherichia coli* Strains Are Similar to Neonatal Meningitis *E. coli* Strains and Are Able To Cause Meningitis in the Rat Model of Human Disease. *Infection and Immunity*, 78(8), 3412-3419. <https://doi.org/10.1128/IAI.00347-10>
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3472-3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Travis, R. M., Gyles, C. L., Reid-Smith, R., Poppe, C., McEwen, S. A., Friendship, R., Janecko, N., & Boerlin, P. (2006). Chloramphenicol and kanamycin resistance among porcine *Escherichia coli* in Ontario. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(1), 173-177. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl207>
- Uyanik, T., Gülel, G. t., & Alişarlı, M. (2021). Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacterales from organic and conventional chicken meats. *Letters in Applied Microbiology*, 72(6), 783-790. <https://doi.org/10.1111/lam.13472>
- Van den Bogaard, A. E., London, N., Driessen, C., & Stobberingh, E. E. (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(6), 763-771. <https://doi.org/10.1093/jac/47.6.763>

- Van Duijkeren, E., Schink, A.-K., Roberts, M. C., Wang, Y., & Schwarz, S. (2018). Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiology Spectrum*, 6(2), 6.2.14. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0019-2017>
- Vong, O. (2021, abril 23). CASFM / EUCAST AVRIL 2021 V1.0. *Société Française de Microbiologie*. <https://www.sfm-microbiologie.org/2021/04/23/casfm-avril-2021-v1-0/>
- Wang, S., Meng, Q., Dai, J., Han, X., Han, Y., Ding, C., Liu, H., & Yu, S. (2014). Development of an Allele-Specific PCR Assay for Simultaneous Sero-Typing of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Predominant O1, O2, O18 and O78 Strains. *PLoS ONE*, 9(5), e96904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096904>
- World Health Organization. (2021). WHO integrated global surveillance on ESBL-producing *E. coli* using a “One health” approach: implementation and opportunities.
- Wu, S., Dalsgaard, A., Hammerum, A. M., Porsbo, L. J., & Jensen, L. B. (2010). Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 47. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-47>
- Zhang, F. Y., Huo, S. Y., Li, Y. R., Xie, R., Wu, X. J., Chen, L. G., & Gao, Y. H. (2014). A survey of the frequency of aminoglycoside antibiotic-resistant genotypes and phenotypes in *Escherichia coli* in broilers with septicaemia in Hebei, China. *British Poultry Science*, 55(3), 305-310. <https://doi.org/10.1080/00071668.2014.891096>
- Zong, S., Xu, D., Zheng, X., Zaeim, D., Wang, P., Han, J., & Qu, D. (2022). The diversity in antimicrobial resistance of MDR Enterobacteriaceae among Chinese broiler and laying farms and two mcr-1 positive plasmids revealed their resistance-transmission risk. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.912652>
- Zou, W., Li, C., Yang, X., Wang, Y., Cheng, G., Zeng, J., Zhang, X., Chen, Y., Cai, R., Huang, Q., Feng, L., Wang, H., Li, D., Zhang, G., Chen, Y., Zhang, Z., & Zhang, H. (2018). Frequency of antimicrobial resistance and integron gene cassettes in *Escherichia coli* isolated from giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) in China. *Microbial Pathogenesis*, 116, 173-179. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.034>