

Prevalencia de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de aves de corral: primer reporte en Cajamarca, Perú

Prevalence of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry: first report in Cajamarca, Peru

Rodolfo G. Gamarra-Ramírez^{1*}; María L. Díaz-Pereyra¹,
Norma E. Gamarra-Ramírez², Luis Vargas-Rocha¹

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos comúnmente utilizados en aves de corral en Cajamarca, Perú. Se tomaron hisopados cloacales de $n = 105$ aves de corral clínicamente sanas y se cultivaron en Agar MacConkey para el aislamiento de *E. coli*. Las pruebas de antibiograma se realizaron utilizando la técnica de Difusión en Disco, y la interpretación de resistencia o susceptibilidad se basó en las zonas de inhibición establecidas por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio. La prevalencia de resistencia a gentamicina (100%), neomicina (100%) y tilosina (96.19%) fue «extra alta», a tetraciclina (59.05%) fue «muy alta», a sulfametoxazol/trimetoprima (43.81%) fue «alta» y a enrofloxacin (11.43%) fue «moderada». Además, se observó resistencia multidroga con dos (1.90%), tres (27.62%), cuatro (31.19%), cinco (26.67) y seis (7.62%) antibióticos combinados. Únicamente el convivir con otras especies animales representó un factor de riesgo OR 2.357 [IC95% 1.049-5.297], $p=0.038$. Se destacó una marcada prevalencia de resistencia bacteriana en *E. coli* de aves de corral de Cajamarca a los antibacterianos comúnmente utilizados. Se enfatiza la necesidad de implementar medidas efectivas de control y

¹ Laboratorio de Microbiología Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca, Perú

² Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Facultad de Ingeniería de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Áncash, Perú

* Autor correspondiente: Rodolfo G. Gamarra-Ramírez: rgamarra@unc.edu.pe

Recibido: 20 de junio de 2024

Aceptado para publicación: 8 de febrero de 2025

Publicado: 30 de abril de 2025

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

prevención de la resistencia a los antimicrobianos en la avicultura para salvaguardar la salud pública y la seguridad alimentaria en la ciudad.

Palabras clave: aves de corral, enterobacteria, *Gallus gallus domesticus*, multidrogorresistencia, resistencia bacteriana

ABSTRACT

The study aimed to determine the prevalence of *Escherichia coli* resistance to commonly used antimicrobials in poultry from Cajamarca, Peru. Cloacal swabs were taken from $n = 105$ clinically healthy poultry and cultured on MacConkey agar for isolation of *E. coli*. Antibigram susceptibility testing was performed using the Disk Diffusion technique, and interpretation of resistance or susceptibility was based on the inhibition zones established by the Clinical and Laboratory Standards Institute. The prevalence of resistance to gentamicin (100%), neomycin (100%) and tylosin (96.19%) was «extra high», to tetracycline (59.05%) was «very high», to sulfamethoxazole/trimethoprim (43.81%) was «high» and to enrofloxacin (11.43%) was «moderate». In addition, multidrug resistance was observed with two (1.90%), three (27.62%), four (31.19%), five (26.67) and six (7.62%) combined antibiotics. Only cohabitation with other animal species represented a risk factor OR 2.357 [95%CI 1.049-5.297], $p=0.038$. A marked prevalence of bacterial resistance in *E. coli* from poultry in Cajamarca to commonly used antibacterials was highlighted. The need to implement effective control and prevention measures for antimicrobial resistance in poultry farming is emphasized to safeguard public health and food safety in the city.

Keywords: poultry, enterobacteria, *Gallus gallus domesticus*, multidrug resistance, bacterial resistance

INTRODUCCIÓN

La avicultura representa una fuente significativa de ingresos para los pequeños agricultores en países en desarrollo. Desempeña un papel crucial en la satisfacción de las necesidades diarias de proteínas humanas a través del consumo de carne y huevos (Attia *et al.*, 2022). Sin embargo, se ha observado un uso altamente inapropiado de varios antibióticos en el proceso de crianza, sin tener en cuenta la salud del consumidor ni el impacto ambiental (Habiba *et al.*, 2023).

Se considera que una de las razones de la resistencia a los antibióticos en humanos está principalmente asociada con el uso generalizado de antibióticos no terapéuticos en animales (Martin *et al.*, 2015). El proceso de

infección cruzada de algunas bacterias resistentes a los antibióticos y los genes de resistencia a los antibióticos pueden transferirse a los humanos a través del contacto directo con animales, la exposición a heces de animales o aguas residuales y al consumo de productos alimenticios provenientes de animales contaminados (Founou *et al.*, 2016; Sazykin *et al.*, 2021). Los productos animales como la carne y los huevos son una vía clave para patógenos extraintestinales multirresistentes, especialmente *Escherichia coli* (Díaz-Jiménez *et al.*, 2020).

Las aves de corral son significativas para las comunidades rurales a pesar de una productividad relativamente baja. Representan un valioso activo al proporcionar ingresos en efectivo, satisfacer necesidades religiosas y socioculturales, fomentar el tiempo en fa-

milia y satisfacer los requerimientos nutricionales de las comunidades locales (Akinola y Essien, 2011). Sin embargo, las políticas y regulaciones inadecuadas en países de ingresos bajos y medianos han contribuido en gran medida al aumento del consumo de antibióticos y de infecciones resistentes a los medicamentos (Van Boeckel *et al.*, 2019). Por lo tanto, es importante realizar estudios para evaluar la situación de la resistencia a los antimicrobianos en las aves de corral en ubicaciones específicas, ya que cada área tiene sus propias prácticas comerciales y preferencias por los protocolos de tratamiento de enfermedades.

Para abordar esta brecha y comprender el estado inicial de la resistencia bacteriana en las aves criadas al traspatio, se planteó el presente estudio con el objetivo de determinar la prevalencia de resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos comúnmente utilizados en aves de corral en la ciudad de Cajamarca, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Muestreo

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Cajamarca (provincia Cajamarca, Perú). Dado que no había información de antecedentes disponible para el área de estudio, el tamaño de la muestra se estimó en $n = 97$, considerando una población infinita, un nivel de confianza del 95%, una proporción del 50% y una precisión del 10% (Charan *et al.*, 2021). Sin embargo, debido a que la ciudad de Cajamarca estaba políticamente dividida en 15 sectores, y para obtener muestras representativas de cada uno de ellos, el tamaño de muestra requerido aumentó a 105 aves (siete muestras por sector).

El muestreo se realizó de manera aleatoria dentro de las manzanas ubicadas en cada sector. Se visitaron los hogares, y aquellos con aves de corral fueron invitados a partici-

par en el estudio. En los casos en que los propietarios no tenían aves de corral o no estaban dispuestos a participar, se visitaba el siguiente hogar hasta obtener un caso válido. Los propietarios que voluntariamente aceptaron participar debían cumplir con el criterio de que sus aves no hubieran recibido tratamiento antibiótico y estuvieran clínicamente sanas. Así, se tomó una muestra por ave (*Gallus gallus domesticus*) y por hogar. En este proceso, se recolectaron datos sobre el sexo, la edad, el origen, el propósito de la crianza, la convivencia con otra especie animal en la misma casa y el tipo de alimentación para identificar posibles factores de riesgo.

Cada ave fue sujeta suavemente por el propietario para tomar una única muestra de hisopado cloacal utilizando un hisopo estéril. Las muestras fueron depositadas en tubos de ensayo que contenían caldo de peptona al 0.1% y fueron transportadas al Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca.

Análisis Bacteriológico

Las muestras se sembraron en placas de Petri que contenían Agar MacConkey (preparado según las instrucciones del producto) e incubadas en estufa a 37 °C durante 18 a 24 h. Posteriormente se realizaron las lecturas fenotípicas y la identificación de colonias de *E. coli* (Figura 1A).

De las colonias identificadas, se obtuvo un cultivo puro inoculando en caldo peptonado al 1%. Este fue incubado a 37 °C durante 18 a 24 h. Para la confirmación de la bacteria aislada, se realizaron pruebas bioquímicas IMViC (Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Citrato) y todas confirmaron que se trataba de *E. coli* (MacWilliams, 2009a, 2009b; McDevitt, 2009).

En placas de Petri (90 × 15 mm) que contenían agar Mueller Hinton se realizó la prueba de Difusión en Disco con las bacterias *E. coli* identificadas, según Bauer *et al.*

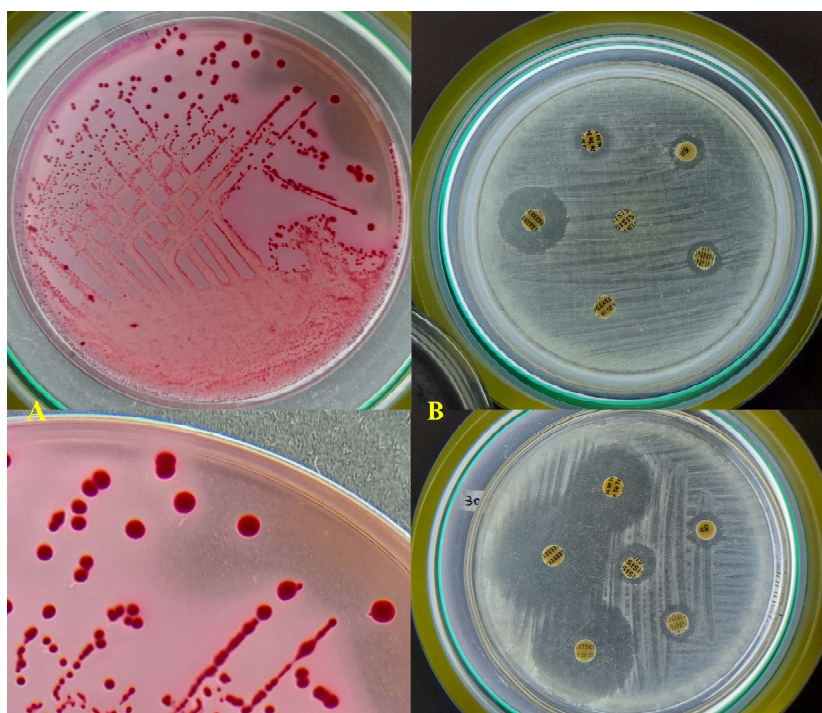


Figura 1. Colonias de *Escherichia coli* aisladas de aves de corral en agar MacConkey (A) y zonas de inhibición de los antibacterianos evaluados en agar Mueller Hinton (B)

(1966). Se distribuyeron seis discos, cada uno impregnado con los siguientes agentes antibacterianos: gentamicina (10 µg) (Bioanalyse®, Turquía), tetraciclina (30 µg), neomicina (30 µg), sulfametoxazol/trimetoprima (1.25/23.7 µg), enrofloxacin (30 µg) y tilosina (30 µg) (E.M.V., Chile). Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 h.

Para la selección de los agentes antibacterianos, se realizaron consultas en clínicas veterinarias y tiendas agro-veterinarias ubicadas en la ciudad de Cajamarca. Durante estas visitas, se identificaron los seis agentes antibacterianos más comúnmente utilizados y vendidos para la aplicación en aves de corral. La información se recopiló de seis centros, limitando el número de centros visitados debido a la similitud de los productos disponibles en cada uno de ellos; es decir, no se observó una variación sustancial entre ellos.

Determinación de la Resistencia Bacteriana

Después de 18 h de incubación de *E. coli* con los discos antibacterianos se realizaron las lecturas. Considerando las zonas de inhibición (Figura 1B), y siguiendo las normas de rendimiento para pruebas de susceptibilidad por dilución y disco antimicrobiano para bacterias aisladas de animales del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI, 2024), las cepas se clasificaron como Resistentes (R), Intermedias (I) o Sensibles (S). Dado que el CLSI indica que la tilosina y la neomicina no cuentan con halos de inhibición estandarizados en animales, se utilizaron los valores de azitromicina y amikacina de uso humano como referencia por pertenecer a la misma familia de antibióticos (mecanismo de acción similar); macrólidos y aminoglucósidos, respectivamente. Además,

según los resultados, la prevalencia de resistencia se situó dentro de los niveles mencionados por la EFSA - ECDC (2024): Extra Alta (>70%), Muy Alta (>50 - 70%), Alta (>20 - 50%), Moderada (>10 - 20%), Baja (>1 - 10%), Muy Baja (>0.1 - 1%) y Rara (<0.1%).

Análisis Estadístico

Los datos se organizaron en MS Excel y se calcularon las prevalencias e intervalos de confianza del 95%. Se realizó un análisis de regresión logística binaria en SPSS v. 27 para calcular los Odds Ratio (OR) e identificar posibles factores de riesgo con la presencia de resistencia en *E. coli*. Se consideró un nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Las aves muestreadas eran de ambos sexos y tenían edades que oscilaban entre 2 y 55 meses (media $\pm$ DE: 13.79 ± 8.25). Provenían de crianzas en libertad así como de ambientes criados en casa desde su nacimiento. Algunas aves se mantenían como mascotas, mientras que otras estaban destinadas al consumo. Además, algunas aves compartían su espacio con otras especies como cer-

dos, pavos, patos, conejos, cobayos, perros y gatos. En cuanto a su dieta, algunas aves se alimentaban con comida casera (maíz, trigo, cebada, alfalfa [Figura 2]), alimento comercial balanceado, y una dieta mixta que incluía una combinación de comida casera y alimento comercial balanceado.

Todos los aislamientos fueron resistentes al menos a un agente antibacteriano. El 100% de las muestras fueron resistentes a gentamicina y neomicina. En contraste, enrofloxacin fue el agente antibacteriano al que *E. coli* mostró el porcentaje más alto de susceptibilidad. La mayor cantidad de los aislados de *E. coli* correspondieron al grupo de los resistentes, seguido de la categoría sensible y por último los de valor intermedio (Cuadro 1).

El 50% de los antibacterianos evaluados se clasificaron en el nivel «extra alta», mientras que los demás se ubicaron en los niveles de «muy alta», «alta», y «moderada». No se observaron antibacterianos en las categorías «baja», «muy baja» o «rara» (Cuadro 2). Además, se observó que todas las combinaciones posibles de los antibacterianos utilizados mostraron resistencia a más de un fármaco (Figura 3).



Figura 2. Condiciones de alimentación en aves de corral en la ciudad de Cajamarca, Perú: A. Alimentación con maíz y, B. Alimentación suplementada con alfalfa

Cuadro 1. Porcentaje (%) de susceptibilidad de agentes antimicrobianos contra *E. coli* aislada de aves de corral (n = 105) en la ciudad de Cajamarca (Perú)

Antibacteriano	Sensible		Intermedio		Resistente	
	Casos	% $\pm$ IC 95%	Casos	% $\pm$ IC 95%	Casos	% $\pm$ IC 95%
Tetraciclina	30	28.6 $\pm$ 8.6	13	12.4 $\pm$ 6.3	62	59.1 $\pm$ 9.4
Gentamicina	0	00.0 $\pm$ 0.0	0	00.0 $\pm$ 0.0	105	100.0 $\pm$ 0.0
Neomicina	0	00.0 $\pm$ 0.0	0	00.0 $\pm$ 0.0	105	100.0 $\pm$ 0.0
Sulfametoxazol/trimetoprima	56	53.3 $\pm$ 9.5	3	2.9 $\pm$ 3.2	46	43.8 $\pm$ 9.5
Enrofloxacin	87	82.9 $\pm$ 7.2	6	5.7 $\pm$ 4.4	12	11.4 $\pm$ 6.1
Tilosina	1	1.0 $\pm$ 1.9	3	2.9 $\pm$ 3.2	101	96.2 $\pm$ 3.7

IC: Intervalo de confianza

Cuadro 2. Clasificación de la prevalencia de resistencia antimicrobiana de *E. coli* aisladas de aves de corral (n = 105) de la ciudad de Cajamarca (Perú)

Nivel de resistencia ¹	Antibacteriano	Resistencia (%)
Extra alta (>70%)	Gentamicina	100.0
	Neomicina	100.0
	Tilosina	96.2
Muy alta (>50 a 70%)	Tetraciclina	59.0
Alta (>20 a 50%)	Sulfametoxazol/trimetoprima	43.8
Moderada (>10 a 20%)	Enrofloxacin	11.4

* Niveles de resistencia antimicrobiana según la EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2024

Al realizar el análisis de regresión logística univariada para identificar posibles factores de riesgo con la ocurrencia de resistencia de *E. coli* en aves de corral, los tres antibióticos que mostraron alta prevalencia (gentamicina, neomicina y tilosina) no cumplieron con los criterios estadísticos. De los tres restantes, solamente el cohabitar con otra especie animal mostró asociación significativa (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

Se encontró que la resistencia de *E. coli* aislada de aves de corral fue muy alta a gentamicina, neomicina y tilosina. Otros estudios

también han reportado una considerable resistencia de *E. coli* aislada de aves de corral. Un estudio realizado en Brasil sugirió que los pollos podrían actuar como reservorios potenciales de cepas patógenas de *E. coli* para los humanos. En dicho estudio, se identificó resistencia en el 85.5% de los aislamientos, siendo la prevalencia más alta para tetraciclina (69.5%), sulfonamidas (58.3%) y estreptomycin (63.8%) (Oliveira *et al.*, 2019).

Los resultados de prevalencia de resistencia de *E. coli* coinciden para algunos antibacterianos y difieren para otros. Por ejemplo, en Sao Paulo (Brasil) se encontró alta resistencia a enrofloxacin (65.8%), tetraciclina (34.2%), sulfametoxazol/trimeto-

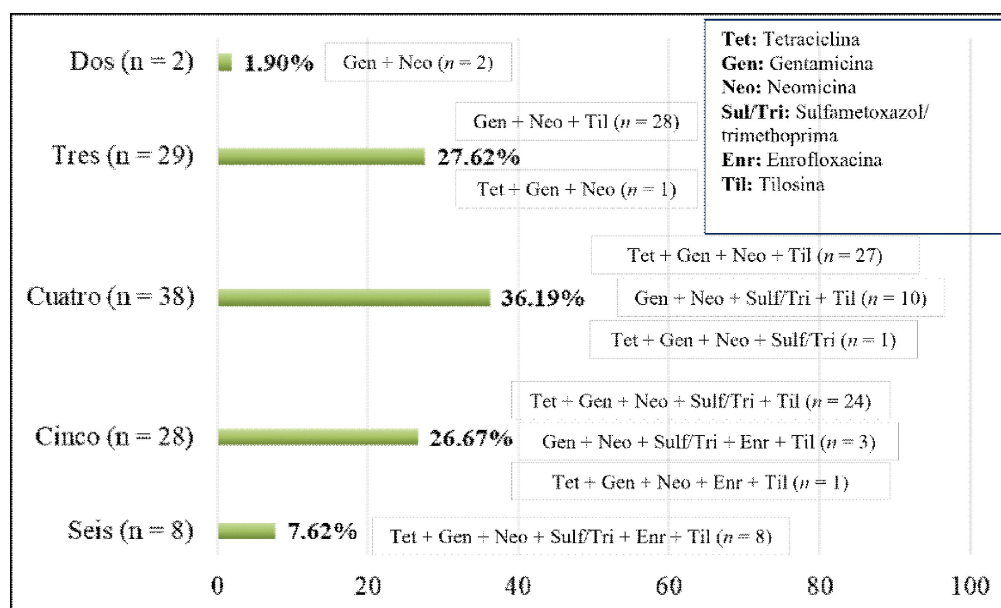


Figura 3. Prevalencia de resistencia de *E. coli* aislada de aves de corral según el número de antibacterianos identificados como resistentes

prima (25.0%) y gentamicina (13.2%) en *E. coli* aislado de pollos y aves de corral (Cardoso *et al.*, 2019). En otro estudio en Jamaica, la resistencia a tetraciclina ocurrió con una frecuencia del 82.4% en aislamientos de gallinas ponedoras (Miles *et al.*, 2006). Estas diferencias y similitudes pueden deberse a las preferencias en el uso de ciertos antibióticos en cada región.

Según los criterios de EFSA-ECDC (2024), las bacterias se consideran multidrogorresistentes cuando son resistentes a por lo menos tres clases de antimicrobianos, y corresponsistas cuando hay resistencia combinada a dos antimicrobianos específicos de importancia clínica. Basándose en esta clasificación, el presente estudio identificó que *E. coli* mostró resistencia a diversas combinaciones de antibacterianos. Este fenómeno también ha sido reportado anteriormente, donde la resistencia multidroga se considera un problema que podría transmitirse a otros animales y humanos (Szmolka y Nagy, 2013). Existe preocupación incluso por la resistencia sustancial de *E. coli* a múltiples clases de

antibióticos, incluyendo fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación (Brätfelan *et al.*, 2023).

Dado que se ha indicado que la resistencia a más de un antibacteriano en los aislamientos de *E. coli* en aves podría deberse al uso indiscriminado y prolongado de concentraciones subterapéuticas y al uso inapropiado de terapias antimicrobianas (Mellata, 2013), se podría argumentar que la resistencia multidroga observada en el presente estudio se debe al uso extendido de antibacterianos, así como a la transmisión vertical de padres a su descendencia, e incluso a la transmisión horizontal con otras aves o especies animales con las que entran en contacto.

Investigaciones previas han señalado la asociación entre el uso de aguas residuales en la avicultura y la adquisición de resistencia antimicrobiana (Elmi *et al.*, 2021), así como el uso inapropiado de antibióticos sin prescripción veterinaria (Mandal *et al.*, 2022). Además, se ha demostrado que un manejo sanitario deficiente, como el tamaño grande

Cuadro 3. Analisis de regresión logística univariada para identificar factores de riesgo a la prevalencia de resistencia antimicrobiana contra cepas de *E. coli* aisladas de aves de corral en Cajamarca (Perú)

Variable	Covariable	Tetraciclina		Sulfametoxazol / trimetoprima		Enrofloxacin	
		OR [95% IC]	<i>P</i> valor	OR [95%IC]	<i>P</i> valor	OR [95%IC]	<i>P</i> valor
Edad	Ref. (<1 año; n=54)						
	>1 año (n=51)	0.982 [0.45-2.14]	0.96	0.948 [0.44-2.05]	0.89	0.730 [0.22-2.47]	0.61
Sexo	Ref. (Macho; n = 58)						
	Hembra (n=47)	0.502 [0.22-1.12]	0.09	1.284 [0.59-2.79]	0.53	1.153 [0.34-3.90]	0.82
Procedencia	Ref. (Campo; n=52)						
	Casa (n=53)	0.955 [0.44-2.08]	0.91	0.828 [0.38-1.79]	0.63	0.979 [0.29-3.26]	0.97
Propósito de crianza	Ref. (Mascota; n=40)						
	Consumo (n=65)	0.793 [0.35-1.78]	0.57	0.467 [0.20-1.06]	0.07	0.289 [0.06-1.40]	0.12
Cohabita con otra especie animal	Ref. (No; n=58)						
	Sí (n=47)	2.357 [1.05-5.30]	0.04*	0.567 [0.26-1.24]	0.16	0.867 [0.26-2.93]	0.82
Tipo de alimento	Ref. (Mixta; n=48)						
	Concentrado (n=45)	0.977 [0.43-2.23]	0.10	1.023 [0.45-2.33]	0.10	0.683 [0.18-2.60]	0.58
	Casa (n=12)	1.429 [0.38-5.40]	0.60	1.960 [0.54-7.07]	0.30	1.400 [0.24-0.80]	0.70

OR: Odds ratio; IC: Intervalo de confianza

*Significativo estadísticamente a un nivel de confianza del 95%

de los lotes, prácticas deficientes de bioseguridad, higiene inadecuada de los trabajadores e insuficiente desinfección en pollos de engorde, está asociado con la resistencia a los antibióticos (Bhargavi *et al.*, 2023). Estos hallazgos subrayan la importancia de un manejo adecuado en la avicultura para mitigar la resistencia antimicrobiana.

Es importante destacar que el aumento de la resistencia bacteriana de *E. coli* representa un grave problema de salud pública, ya que puede transmitirse entre especies a través del contacto directo con animales, la exposición a heces de los animales o aguas residuales, y el consumo de productos alimen-

ticios de animales contaminados (Founou *et al.*, 2016; Sazykin *et al.*, 2021). En el caso de las aves de corral, la transmisión a través de la carne y huevos es una vía clave para patógenos multirresistentes extraintestinales (Díaz-Jiménez *et al.*, 2020). Esta situación se confirma aun más por la presencia de resistencia a los antibióticos en casos de *E. coli* aislado de carne de pollo de producción convencional, libre de antibióticos y de producción familiar y minorista (Sanchez *et al.*, 2020). Se ha sugerido que la carne de pollo comercial no solo representa un riesgo indirecto para la salud pública como portadora potencial de *E. coli* no patógeno multirresistente, sino que además podría llevar

patotipos patógenos de *E. coli* para el hombre (Hussain *et al.*, 2017).

El concepto de la agricultura orgánica podría considerarse como una alternativa para reducir o prevenir la resistencia bacteriana, ya que en este tipo de producción no se aplican antibióticos, permitiendo así la obtención de carne y huevos libres de antibióticos. Esta afirmación es consistente con los hallazgos de un estudio donde los aislamientos de *E. coli* de pollos orgánicos fueron susceptibles a la mayoría de los antibióticos (Murray *et al.*, 2021); sin embargo, se han encontrado niveles altos de resistencia a antibióticos en gallinas ponedoras orgánicas a pesar de no recibir tratamientos antimicrobianos (Hess *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

En el contexto de la avicultura en Cajamarca (Perú), se observa una marcada prevalencia de resistencia bacteriana, lo cual plantea serias preocupaciones sobre la eficacia terapéutica de los antimicrobianos. Los análisis bacteriológicos revelaron un escenario desalentador, con todas las cepas de *Escherichia coli* mostrando resistencia a tres o más antibióticos, mientras que la resistencia a gentamicina, neomicina y tilosina alcanzó niveles extraordinarios superiores al 95%. Se destaca la necesidad de implementar medidas efectivas para controlar y prevenir la resistencia antimicrobiana en la avicultura, con el objetivo de salvaguardar la salud pública y la seguridad alimentaria en la ciudad.

LITERATURA CITADA

1. **Akinola LAF, Essien A. 2011.** Relevance of rural poultry production in developing countries with special reference to Africa. *Worlds Poult Sci J* 67: 697-705. doi: 10.1017/S0043933911-000778
2. **Attia YA, Rahman MT, Hossain MJ, Basiouni S, Khafaga AF, Shehata AA, Hafez HM. 2022.** Poultry production and sustainability in developing countries under the COVID-19 crisis: lessons learned. *Animals* 12: 644. doi: 10.3390/ani12050644
3. **Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. 1966.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized disk method. *Am J Clin Pathol* 36: 493-496.
4. **Bhargavi D, Sahu R, Nishanth MAD, Doijad SP, Niveditha P, Kumar ORV, Sunanda C, et al. 2023.** Genetic diversity and risk factor analysis of drug-resistant *Escherichia coli* recovered from broiler chicken farms. *Comp Immunol Microb* 93: 101929. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101929
5. **Brätfelan DO, Tabaran A, Colobatiu L, Mihaiu R, Mihaiu M. 2023.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from chicken meat in Romania. *Animals* 13: 3488. doi: 10.3390/ani13223488
6. **Cardoso ALSP, Tessari ENC, Luciano RL, Zanatta GF, Kanashiro AMI. 2019.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from commercial birds. *Biológico* 81: 1-8. doi: 10.31368/1980-6221v81a10013
7. **Charan J, Kaur R, Bhardwaj P, Singh K, Ambwani SR, Misra S. 2021.** Sample size calculation in medical research: a primer. *Ann Natl Acad Med Sci* 57: 74-80. doi: 10.1055/s-0040-1722104
8. **CLSI. 2024.** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 7th ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
9. **Díaz-Jiménez D, García-Meniño I, Fernández J, García V, Mora A. 2020.** Chicken and turkey meat: consumer exposure to multidrug-resistant Enterobacteriaceae including MCR-

- carriers, uropathogenic *E. coli* and high-risk lineages such as ST131. *Int J Food Microbiol* 331: 108750. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108750
10. [EFSA] **European Food Safety Authority**, [ECDC] **European Centre for Disease Prevention and Control**. 2017.
11. **The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021–2022**. EFSA J 22: e8583. doi: 10.2903/j.efsa.-2024.8583
12. **Elmi SA, Simons D, Elton L, Haider N, Hamid MMA, Shuaib YA, Khan MA, et al. 2021**. Identification of risk factors associated with resistant *Escherichia coli* isolates from poultry farms in the east coast of peninsular Malaysia: a cross sectional study. *Antibiotics* 10: 117. doi: 10.3390/antibiotics-10020117
13. **Founou LL, Founou RC, Essack SY. 2016**. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Front Microbiol* 7: 1881. doi: 10.3389/fmicb.2016.01881
14. **Habiba UE, Khan A, Mmbaga EJ, Green IR, Asaduzzaman M. 2023**. Use of antibiotics in poultry and poultry farmers- a cross-sectional survey in Pakistan. *Front Public Health* 11: 1154668. doi: 10.3389/fpubh.2023.-1154668
15. **Hess C, Troxler S, Jandreski-Cvetkovic D, Zloch A, Hess M. 2022**. *Escherichia coli* isolated from organic laying hens reveal a high level of antimicrobial resistance despite no antimicrobial treatments. *Antibiotics* 11: 467. doi: 10.3390/antibiotics11040467
16. **Hussain A, Shaik S, Ranjan A, Nandanwar N, Tiwari SK, Majid M, Baddam R, et al. 2017**. risk of transmission of antimicrobial resistant *Escherichia coli* from commercial broiler and free-range retail chicken in India. *Front Microbiol* 8: 2120. doi: 10.3389/fmicb.2017.02120.
17. **MacWilliams MP. 2009a**. Citrate test protocol. Washington DC: American Society for Microbiology. 7 p.
18. **MacWilliams MP. 2009b**. Indole test protocol. Washington DC: American Society for Microbiology. 9 p.
19. **Mandal AK, Talukder S, Hasan MM, Tasmim ST, Parvin MS, Ali MY, Islam MT. 2022**. Epidemiology and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in broiler chickens, farmworkers, and farm sewage in Bangladesh. *Vet Med Sci* 8: 187-199. doi: 10.1002/vms3.664
20. **Martin MJ, Thottathil SE, Newman TB. 2015**. Antibiotics overuse in animal agriculture: a call to action for health care providers. *Am J Public Health* 105: 2409-2410. doi: 10.2105/AJPH.2015.302870
21. **McDevitt S. 2009**. Methyl red and Voges-Proskauer test protocols. Washington DC: American Society for Microbiology. 9 p.
22. **Mellata M. 2013**. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne Pathog Dis* 10: 916-932. doi: 10.1089/fpd.2013.1533
23. **Miles TD, McLaughlin W, Brown PD. 2006**. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *BMC Vet Res* 2: 7. doi: 10.1186/1746-6148-2-7
24. **Murray M, Salvatierra G, Dávila-Barclay A, Ayzanoa B, Castillo-Vilcahuaman C, Huang M, Pajuelo MJ, et al. 2021**. Market chickens as a source of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in a peri-urban community in Lima, Peru. *Front Microbiol* 12: 635871. doi: 10.3389/fmicb.2021.635871
25. **Oliveira ES, Cardozo MV, Borzi MM, Borges CA, Guastalli EAL, Ávila FA. 2019**. Highly pathogenic and multidrug resistant avian pathogenic *Escherichia coli* in free-range chickens from Brazil. *Braz J Poultry Sci* 21: 001-008. doi: 10.1590/1806-9061-2018-0876

26. **Sanchez HM, Whitener VA, Thulsiraj V, Amundson A, Collins C, Duran-Gonzalez M, Giragossian E, et al. 2020.** Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from conventional, no antibiotics, and humane family owned retail broiler chicken meat. *Animals* 10: 2217. doi: 10.3390/ani10122217
27. **Sazykin IS, Khmelevtsova LE, Seliverstova EY, Sazykina MA. 2021.** Effect of antibiotics used in animal husbandry on the distribution of bacterial drug resistance (Review). *Appl Biochem Micro+* 57: 20-30. doi: 10.1134/S000-3683821010166
28. **Szmolka A, Nagy B. 2013.** Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health. *Front Microbiol* 4: 258. doi: 10.3389/fmicb.2013.00258
29. **Van Boeckel TP, Pires J, Silvester R, Zhao C, Song J, Criscuolo NG, Gilbert M, Bonhoeffer S, Laxminarayan R. 2019.** Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science* 365: eaaw1944. doi: 10.1126/science.-aaw1944