



REVISTA DE MEDICINA VETERINARIA

ISSN 1852-771X. VOLUMEN 97 – Nº 3 – AÑO 2016



SOCIEDAD DE MEDICINA VETERINARIA

REPÚBLICA ARGENTINA



Revista de Medicina Veterinaria

Creada el 6 de agosto de 1915

Buenos Aires, Argentina
PUBLICACIÓN CUATRIMESTRAL
ISSN 1852-771X

Latindex Catálogo Folio N° 13.462
Abstracts del Commonwealth Agricultural Bureau (CAB)

Su objetivo es publicar trabajos originales e inéditos relacionados con las Ciencias Veterinarias para mantener actualizados a los socios de la Sociedad de Medicina Veterinaria, acrecentar su perfeccionamiento y brindar un medio de jerarquía para que la comunidad científica del país pueda difundir conocimientos relacionados con la problemática local de las Ciencias Veterinarias.

Desde su iniciación es norma que los artículos que se publican sean juzgados previamente por árbitros que dictaminan sobre sus merecimientos. A las normas de este referato y a las de redacción y publicación de la Revista se accede en www.someve.org.ar.

DIRECTOR

Marcela Rebuelto MV(UBA), Doctora de la Universidad de Buenos Aires, Especialista en Bioética (FLACSO), Ex-Profesora Asociada Regular, Farmacología, FCVet, UBA.

CONSEJO EDITORIAL

Adela Agostini, MV (UBA), Diplomada en Salud Pública (UBA), Especialista en Docencia Universitaria, ex Profesora Regular Asociada de Veterinaria en Salud Pública, Universidad de Buenos Aires.

Estela B. Bonzo, MV (UBA), Profesora Adjunta de Epidemiología Básica, Universidad Nacional de La Plata.

Claudio Stiebel, MV (UBA), MS (Auburn), Dpto. Zoonosis, Municipalidad Gral. San Martín, Prov. de Buenos Aires.

PROPIETARIO

Sociedad de Medicina Veterinaria, Buenos Aires, Argentina.

PRODUCCIÓN

VUALA Comunicación – info@vuala.com - Roosevelt 2633, 7° "A" (C1428BOO). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

SECRETARÍA DE REDACCIÓN

Sociedad de Medicina Veterinaria
Chile 1856 - C1227AAB Buenos Aires - Argentina
Tel./Fax: 054-11-4381-7415
e-mail: revista@someve.com.ar
<http://www.someve.com.ar>



Revista de Medicina Veterinaria

Volumen 97 – Número 3 – Año 2016

ÍNDICE

Editorial	5
Concomitancia de infección por <i>Cryptococcus neoformans</i> y <i>Hepatozoon</i> sp. en un gato doméstico	6 - 10
<i>Concomitant infection by <i>Cryptococcus neoformans</i> and <i>Hepatozoon</i> sp. in a domestic cat</i>	
Ricardo Iachini; Jimena Vidal; Juan José Montiel	
Resistencia a antibióticos de cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas de efluentes de predios lecheros de Buenos Aires, Argentina	11 - 15
<i>Antibiotic resistance of <i>Escherichia coli</i> isolates obtained from dairy farms effluents in Buenos Aires, Argentina</i>	
María Alejandra Herrero, Marcela Rebuerto, Susana Fortunato, Sonia E. Korol	
X Reunión Argentina de Patología Veterinaria	16 - 102
Resúmenes	

Sociedad de Medicina Veterinaria

Fundada el 27 de marzo de 1897
 Personería Jurídica N° C-524, otorgada por decreto del P. E. del 26 de febrero de 1917

Chile 1856 - C1227AAB Buenos Aires - Argentina
 Tel./Fax: 054-11-4381-7415

e-mail: info@someve.com.ar
 www.someve.com.ar

COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente:	Dr. Florestán Maliandi (h)	Vocales titulares:	Dra. Elvira Falzoni	Revisores de Cuentas:
Vicepresidente:	Dra. Mabel Basualdo		Dr. Fernando Ruíz	Titulares:
Secretario:	Dr. Leonardo Sepiurka		Dr. Juan C. Sassaroli	Dr. Carlos Schenk
Prosecretario:	Dr. Guillermo Berra	Vocales suplentes:	Dra. Ana María Tondi	Dr. Alfredo Civetta
Tesorero:	Dra. Ana María Barboni		Dr. Armando Perpere	
Protesorero:	Dra. Marcela Rebuelto			Suplentes:
Secretario de Actas:	Dra. Estela Bonzo			Dr. Alberto Carugati
				Dr. Mario Casas

CAPÍTULOS

Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria (Aapavet)
 Asociación Argentina de Cardiología Veterinaria
 Asociación Argentina de Historia de la Veterinaria (Asarhive)
 Asociación Argentina de Bienestar Animal (AsArBA)
 Asociación Argentina de Patología Veterinaria
 Asociación Argentina de Inmunología
 Asociación Argentina de Salud Pública, con dos subcapítulos de
 Producción de Alimentos y Seguridad Alimentaria y de Zoonosis
 Asociación Argentina de Veterinarios en Fauna Silvestre y Animales de Compañía no Convencionales

Artículo original

Resistencia a antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas de efluentes de predios lecheros de Buenos Aires, Argentina

María Alejandra Herrero^{1*}, Marcela Rebuelto¹, Susana Fortunato², Sonia E. Korol²¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280, C1427CWO, Ciudad Autónoma de Buenos Aires²Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad de Buenos Aires. Junín 954 C1113AAD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires

* Correo electrónico: aherrero@fvvet.uba.ar

No existen conflictos de interés

RESUMEN

El manejo inadecuado de los efluentes de producciones ganaderas intensivas constituye un riesgo potencial para el medio ambiente, ya que éstos pueden vehiculizar distintos contaminantes, como bacterias resistentes a antibióticos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la susceptibilidad a ciertos antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de lagunas de tratamiento de efluentes de tambos bovinos de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Para ello, se obtuvieron muestras de lagunas de efluentes de doce tambos, de las cuales se aislaron veintitrés cepas de *E. coli*, a las que se les determinó la resistencia fenotípica mediante la prueba de difusión en disco. La resistencia (%) fue de 56; 16; 91; 83; 100; 4 y 5 para aminopenicilina, ampicilina-sulbactam, cefalotina, gentamicina, neomicina, kanamicina y tetraciclina, respectivamente. Todas las cepas aisladas fueron resistentes al menos a un antibiótico. Una sola cepa mostró multiresistencia. No hubo aislamientos de *Escherichia coli* resistentes a ceftiofur, ciprofloxacina o sulfametoxazol+trimetoprima. Las cepas resistentes a ampicilina/sulbactam presentaron resistencia intermedia a gentamicina, pero fueron susceptibles a tetraciclina, sulfa-trimetoprim y ciprofloxacina. Nuestros resultados muestran la presencia de bacterias fenotípicamente resistentes a varios antibióticos en lagunas de tratamiento de efluentes de diversos tambos poniendo en evidencia un potencial riesgo de contaminación ambiental.

Palabras clave: resistencia a antibióticos; efluentes de tambos, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

El problema de la resistencia bacteriana frente a antibióticos de uso frecuente en el tratamiento de infecciones es un tema que preocupa tanto a la medicina humana como a la veterinaria. La OMS, con la contribución de la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal), ha elaborado en el marco del enfoque "Una sola salud", un documento para tratar de manera prioritaria la resistencia a los agentes antimicrobianos¹. En dicho documento cita, como posibles riesgos de infección con organismos resistentes, entre otros, la exposición a cultivos contaminados con bosta o estiércol, y

ABSTRACT

Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolates obtained from dairy farms effluents in Buenos Aires, Argentina
Improper handling of effluents from intensive livestock operations is a potential risk to the environment, since they can carry different pollutants, such as antibiotic-resistant bacteria. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates obtained from samples of lagoon effluents of dairy farms in the province of Buenos Aires, Argentina. Twenty-three *E. coli* isolates were recovered from the water samples collected from effluent lagoons of 12 dairy farms. Phenotypic resistance was determined by the disk diffusion test. Resistance (%) was 56; 16; 91; 83; 100; 4 and 5 for aminopenicillin; ampicillin-sulbactam; cephalothin; gentamicin; neomycin; kanamycin and tetracycline, respectively. All isolates were resistant to at least one antibiotic. A single isolate was classified as multidrug-resistant. There were no isolates resistant to ceftiofur, ciprofloxacin or sulfamethoxazole + trimethoprim. Isolates resistant to ampicillin / sulbactam had intermediate resistance to gentamicin, but kept susceptibility to tetracycline, sulfa-trimethoprim and ciprofloxacin. Our results show the presence of phenotypically resistant bacteria to various antibiotics in effluent lagoons of dairy farms confirming their potential risk of environmental pollution.

Key words: antibiotic resistance; dairy effluents, *Escherichia coli*

el escurrimiento de producciones animales que contaminan el agua. Los sistemas de producción ganadera intensivos, como tambos y feedlots, son considerados de importancia en cuanto a la contaminación del ambiente, y su posible efecto sobre la salud de los seres humanos². En nuestro país, la mayoría de estas producciones, especialmente los tambos, utiliza el sistema de lagunas para el tratamiento de los efluentes generados. Estos efluentes provienen de la higiene de las instalaciones (limpieza de los equipos y de la sala, y de los corrales de espera), a lo que se agrega la carga de heces y orina de los animales durante el tiempo de

espera para el ordeño y la de pistas de alimentación, que generalmente se encuentran próximas a las instalaciones de ordeño³. Estos efluentes pueden llegar al ambiente por diversas situaciones (vertido directo a cuerpos de agua superficiales, escurrimiento, desborde de lagunas, filtración a aguas subterráneas, reutilización como fertilizantes) constituyendo un riesgo potencial para el medio ambiente y para la salud humana y animal^{4,5}.

En el uso frecuente de antibióticos, tanto en tambos como feedlots con fines terapéuticos o promotores de crecimiento, la preocupación se centra principalmente en la relación entre su uso, el desarrollo de resistencia bacteriana, y la llegada de bacterias resistentes al ambiente⁶. Esta resistencia se encuentra mediada por la presencia de genes de resistencia antibiótica (GRA), presentes en numerosas bacterias, aún cuando no haya habido contacto previo con fármacos antimicrobianos. Se han encontrado GRA relacionados a diversos grupos antibióticos, como las tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos y lincosamidas, cloranfenicol, sulfamidas y beta-lactámicos en bacterias aisladas del ambiente⁷. Diversos estudios han sugerido la relación entre la presencia de GRA en suelo y aguas como también en las prácticas agropecuarias, ya que la disposición de los residuos animales podría ser una posible ruta de diseminación de la resistencia antibiótica que se genera en los animales de producción a causa de los tratamientos con antibióticos⁸ y que se transfiere a las bacterias ambientales^{6, 9-12}. La presencia de antibióticos en los efluentes de las producciones intensivas puede generar efectos adversos en el ecosistema y, al actuar sobre microorganismos de la microbiota ambiental, colaborar en la producción y persistencia de GRA ambientales, aumentando así el "pool global de resistencia"^{8,13}.

Estudios previos han demostrado la contaminación de aguas superficiales y profundas relacionada a la presencia de sistemas de producción intensivos, incluyendo contaminación por bacterias resistentes¹⁴⁻²⁰. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la susceptibilidad a ciertos antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de lagunas de tratamiento de efluentes de tambos bovinos de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Toma de muestras

Se trabajó con doce tambos de la provincia de Buenos Aires, con previa autorización del propietario. En cada tambo se establecieron puntos de muestreo en el centro de las lagunas de efluentes, y se tomaron dos muestras de efluentes líquidos de acuerdo con el procedimiento de la American Public Health Association²¹, en otoño y primavera. Las lagunas pertenecían a instalaciones de ordeño, siendo en todos los casos una única laguna de paredes de tierra y sin separadores de sólidos en forma previa a la llegada del efluente a la laguna. En general eran de forma rectangular, con largo entre 50 y 100 m y ancho entre 7 y 15 m, dependiendo del tamaño del rodeo. La profundidad era variable habiéndose determinado una profundidad media de 1,95 m (rango entre 1,2 y 3,5 m). En general no estaban diseñadas para un tratamiento del residuo orgánico (efluente), sino respondían a la cantidad de tierra extraída utilizada para elevar la instalación de ordeño.

Las muestras se recolectaron en envases estériles de 500 ml de capacidad, a una profundidad de 50 cm sin remover el agua para evitar la movilización de sedimentos. Los envases estaban adosados a un tubo muestreador que permitía abrir y cerrar la tapa desde el extremo del tubo²¹. Las muestras se conservaron

refrigeradas y fueron analizadas dentro de las 24 horas.

Aislamiento y determinación de la sensibilidad *in vitro* a los antimicrobianos

A partir de las muestras obtenidas se realizó el recuento de coliformes termotolerantes por la técnica de recuento en placa conteniendo el medio de cultivo ChromAgar™ ECC (CHROMagar Microbiology, París, France)²¹. Las muestras provenientes de las lagunas fueron diluidas al décimo en solución fisiológica estéril, a partir de dichas diluciones se sembraron alícuotas de 0,1 ml en placas de medio cromogénico Chromagar ECC y fueron incubadas en estufa de cultivo a 44,5°C durante 24 horas. Las colonias características de *Escherichia coli* fueron identificadas mediante el sistema API 20 E (BioMerieux, Argentina).

La sensibilidad a drogas antimicrobianas se determinó por el método de difusión en agar con discos²² de acuerdo a los estándares aprobados para animales por el Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)^{23,24}. Se prepararon suspensiones bacterianas en solución salina estéril, con una turbiedad correspondiente al estándar 0,5 de la escala de Mac Farland (BioMerieux, L'Etoile, France), y se inocularon con hisopo estéril en placas de agar Mueller Hinton. Posteriormente, se aplicaron los monodiscos de antibióticos con pinza estéril sobre la superficie del medio de cultivo, a razón de tres monodiscos de diferentes antibióticos por placa. Las placas de Petri fueron incubadas en aerobiosis en estufa de cultivo a 35°C. Luego de 18 horas de incubación se midió el diámetro de los halos formados. Las cepas fueron identificadas como R (resistente), I (intermedio) ó S (sensible), siguiendo los criterios de interpretación específicos para bacterias aisladas de animales²³. Para el análisis, la susceptibilidad intermedia fue incluida en la categoría R. Se definió cepa bacteriana multiresistente a aquella que mostraba resistencia al menos a un antibiótico de por lo menos tres grupos²⁵.

Los antimicrobianos ensayados fueron: grupo betalactámico: ampicilina 10 µg; ampicilina+ sulbactam 10+10 µg; cefalotina 30 µg; ceftiofur 30 µg; grupo aminoglucósidos: gentamicina 10 µg; neomicina 30 µg; kanamicina 30 µg; grupo fluoroquinolonas: ciprofloxacina 5 µg; grupo tetraciclinas: tetraciclina 30 µg; y grupo sulfamidas: trimetoprim+sulfametoxazol 1,25+23,75 µg. Todos los monodiscos de antibióticos fueron provistos por OXOID (Basingstoke, Reino Unido), BRITANIA (Buenos Aires, Argentina) y BBL (Sparks, Estados Unidos). Se utilizó como cepa control *E. coli* ATCC 25922 (CLSI, 2008).

RESULTADOS

Se aislaron dos cepas de *E. coli* de cada una de las muestras obtenidas, a excepción de un tambo del cual se recuperó una sola cepa. De las veintitrés cepas utilizadas en la determinación de resistencia, una resultó ser resistente a un antibiótico; catorce a tres antibióticos, cuatro a cuatro antibióticos, y cuatro a cinco antibióticos. Todas las cepas mostraron resistencia a uno o varios antimicrobianos. El porcentaje de aislamientos resistentes a cada uno de los antibióticos probados se muestra en la Figura 1. Ninguna de las cepas estudiadas fueron resistentes a ceftiofur, ciprofloxacina o sulfametoxazol+trimetoprima, mientras que todas las cepas fueron resistentes a neomicina. Las cepas de sensibilidad intermedia fueron ocho (33%), ocho (34%) y dieciocho (75%) para la ampicilina, cefalotina y gentamicina, respectivamente. La cepa de *E. coli* resistente a tetraciclina presentó también resistencia a betalactámicos y aminoglucósidos, siendo la única que se podría calificar como multiresistente. Las cepas aisladas resistentes a ampicilina/sulbactam (4) presentaron resistencia intermedia

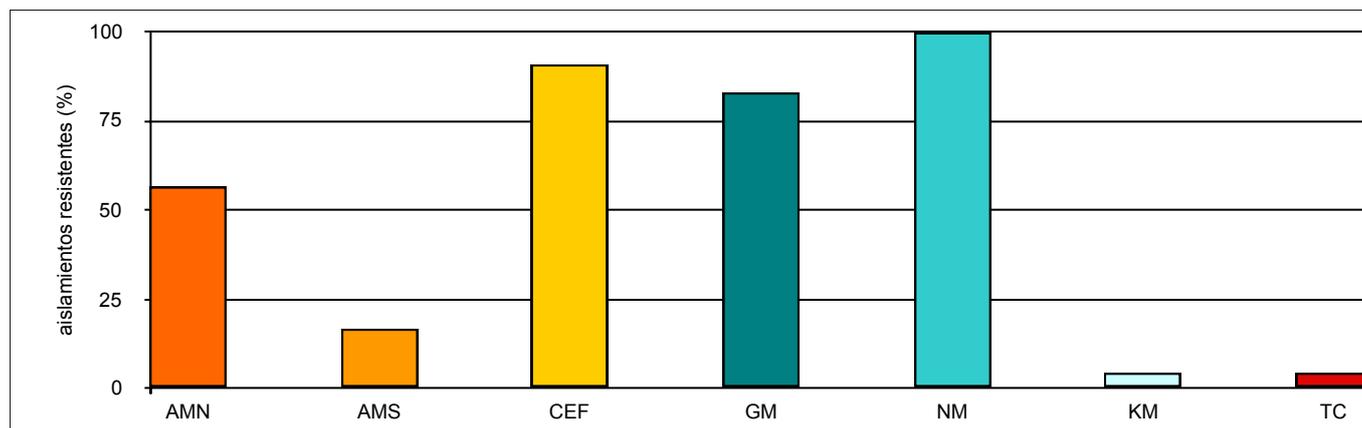


Figura 1. Porcentaje de resistencia a diferentes antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* aisladas de lagunas de efluentes de tambos de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

AMN: ampicilina; **AMS:** ampicilina+subactam; **CEF:** cefalotina; **GM:** gentamicina; **NM:** neomicina; **KM:** kanamicina; **TC:** tetraciclina.

a gentamicina, pero mantenían susceptibilidad a tetraciclina, sulfa-trimetoprim y ciprofloxacina. La potenciación de la ampicilina con el sulbactam duplicó el número de cepas sensibles.

DISCUSIÓN

En la Argentina, los rodeos lecheros han registrado una tendencia a la intensificación y concentración durante los últimos años, generando una cantidad creciente de efluentes, con el consiguiente riesgo para la salud pública. Uno de los motivos de preocupación es el ingreso al ambiente de GRA presentes en microorganismos que han sido expuestos a la presencia de antibióticos. Para algunos autores, los genes de resistencia antibiótica deberían ser considerados como contaminantes emergentes, ya que se encuentran presentes en varios compartimientos ambientales, incluyendo las lagunas de efluentes de producciones ganaderas²⁶. Sin embargo, la presencia de organismos resistentes en lagunas de efluentes de producciones intensivas está poco explorada en nuestro país.

En este trabajo se determinó la resistencia fenotípica de cepas de *E. coli* aisladas de muestras provenientes de las lagunas de efluentes de 12 tambos de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Los tambos muestreados poseen más de 80 vacas en ordeño, con una producción de al menos 14 kg de leche/vaca/día, y el tratamiento biológico de efluentes consiste en una única laguna de estabilización, con dimensiones variables y sin un control estricto de operación. En todos los establecimientos se mantienen registros de las enfermedades (mastitis, metritis, piétn, diarrea del ternero, enfermedades respiratorias, onfaloflebitis) y su tratamiento tanto de las vacas (secas y en ordeño) como de los terneros. Esto permitió identificar en cada establecimiento los antibióticos más utilizados, que fueron los posteriormente seleccionados para el presente estudio de resistencia bacteriana. En general, los beta-lactámicos fueron los antibióticos más frecuentemente utilizados debido a que se emplean como terapia de elección en enfermedades de las mamas; seguidos por los aminoglucósidos y en menor proporción los macrólidos. Secundariamente se utilizan oxitetraciclina, sulfadoxina, lincomicina, enrofloxacina (en terneros) y florfenicol²⁷.

Escherichia coli fue elegida para este estudio por ser una bacteria relevante ya que es la enterobacteria hallada con mayor frecuencia en diferentes especies y matrices ambientales, en especial en aquellas provenientes de producciones ganaderas²⁸. *E. coli* sobrevive en agua¹⁷, y

presenta numerosos mecanismos que le permiten generar antibiótico-resistencia y transmitirla a otras bacterias, aún en medios acuáticos²⁹. Los resultados de este trabajo deben ser interpretados como descriptivos, considerando las limitaciones del diseño que impiden generalizar nuestros hallazgos, ya que el muestreo no fue probabilístico. Por otro parte, debido a que las cepas utilizadas fueron aisladas de muestras obtenidas de una matriz ambiental (lagunas de efluentes), nuestros resultados no son comparables con aquellos obtenidos con cepas aisladas de los animales directamente o de las heces.

Nuestros resultados mostraron la alta susceptibilidad de las cepas de *E. coli* aisladas a ceftiofur, fluoroquinolonas y sulfas potenciadas, antibióticos de escaso uso en esos tambos²⁷, así mismo solo una cepa aislada pudo ser clasificada como multirresistente. La mayor resistencia se observó para la ampicilina, gentamicina y neomicina, y puede estar asociada al largo tiempo que estos antibióticos han sido utilizados en el tratamiento de las infecciones en vacas lecheras en estos tambos en particular.

La baja resistencia a fluoroquinolonas, representada en nuestro estudio por la ciprofloxacina, es coincidente con lo reportado por otros autores. En EEUU, Anderson y Sobsey¹⁶ determinaron la resistencia de cepas de *E. coli* aisladas del agua subterránea en dos criaderos intensivos de cerdos que almacenaban los efluentes en lagunas y después los aplicaban al suelo. En concordancia con nuestros resultados, estos autores no encontraron resistencia a ciprofloxacina y enrofloxacina. La resistencia a tetraciclinas (clortetraciclina y tetraciclina) mostró grandes diferencias, ya que en las muestras de agua subterránea de un criadero alcanzó a 10% de diecinueve aislamientos, y en el otro el 80% de setenta y uno. En cuanto a los aminoglucósidos, la resistencia fue de 20%, 15% y 0% de las cepas para neomicina, estreptomina y gentamicina, respectivamente. El 20% del total de las cepas mostró resistencia a ampicilina, único betalactámico probado. Así mismo, el 20% de las cepas mostró resistencia a sulfametoxazol.

Sayad y col.¹⁵ aislaron *Escherichia coli* de diversas matrices animales y ambientales, y de diferentes especies (ganado bovino, ovino, equino, porcino, aves, ciervos, gansos salvajes). En un análisis de muestras ambientales (depósitos de estiércol, como lagunas de efluentes, fosos, áreas de alojamiento de los animales) obtenidas de establecimientos de ganado bovino, la resistencia fue del 15,8% para tetraciclinas, 30,9% para cefalotina, 4,2% para sulfisoxazol, 9,5% para estreptomina y 1,7% para ampicilina. En cuanto a la multirresistencia (definida como resistencia a 3

o más agentes) se encuentra en aproximadamente el 10% de los aislamientos tomados del ambiente. En coincidencia con nuestros resultados, no se encontró resistencia a fluoroquinolonas (ofloxacin).

También en EEUU, Li y col.¹⁸ aislaron *Escherichia coli* de diversas zonas de dos tambos (laguna de efluentes, suelos que habían sido fertilizados con efluentes, agua profunda y establos de terneros y vacas). El análisis de todas las cepas aisladas (n=80) demostró que eran principalmente resistentes a tetraciclinas (25,0%) y betalactámicos, representados por cefoxitina (25,0%), amoxicilina/clavulánico (23,8%), ampicilina (22,5 %), y ceftiofur (16,3%); mientras que para aminoglucósidos (kanamicina, gentamicina y amikacina) la resistencia era menor a 5%. Todas las cepas resultaron susceptibles a ciprofloxacina. Se encontró multiresistencia, definida como resistencia a 3 o más antibióticos, en el 27% de las cepas aisladas. Los autores concluyen que el patrón de resistencia sigue el uso frecuente de antibióticos en tambos. A diferencia de lo encontrado en nuestro estudio, la resistencia demostrada para la aminopenicilina y aminopenicilina potenciada fue similar. De las veintitrés cepas aisladas por Li y col. de las lagunas de efluentes, solo nueve mostraron resistencia a alguno de los antibióticos probados.

Maal-Bared y col.¹⁷ aislaron *E. coli* no 0157 en diversos puntos del curso de agua del río Elk, EEUU, zona agrícola-ganadera, con tambos y criaderos de pollos como principal actividad. En este estudio, la frecuencia de resistencia fue mayor para la tetraciclina (60%) y ampicilina (23%), y menor para estreptomycin (8%) y ciprofloxacina (0.5%), sin embargo los niveles de resistencia fueron diferentes según los puntos de muestreo y la calidad del agua, siendo menores en la zona menos expuesta a la contaminación antropogénica.

En China, Zhang y col.¹⁹ tomaron muestras del agua del río Jiyun, en el cual descargan los efluentes de varios establecimientos ganaderos (cerdos y bovinos) sin tratamiento previo alguno, y aislaron cepas de *E. coli* (n = 218). La resistencia que más frecuentemente se detectó fue a clortetraciclina (61%) y tetraciclina (50%); del grupo de betalactámicos solo se probó la ampicilina, que mostró una resistencia de aproximadamente 50%, similar a la gentamicina (46%), menor valor mostró la resistencia a la sulfamidas y sulfamidas potenciadas (<39%). En este estudio se determinó una alta resistencia a fluoroquinolonas (levofloxacina, 30%), así como una alta multiresistencia (72%), a diferencia de lo obtenido en nuestro estudio y en los anteriormente citados.

En un estudio realizado por Um y col. en Francia²⁰ con el fin de evaluar la importancia de *Escherichia coli*

enteropatógena antibiótico-resistente en el ambiente se obtuvieron muestras del agua de la planta de tratamiento de efluentes en dos mataderos bovinos diferentes, uno de bovinos adultos y otro de terneros, que empleaban el mismo proceso de tratamiento, y que lo descargaban al ambiente. Se determinó menor resistencia en los aislamientos de *E. coli* obtenidos de los efluentes del matadero de ganado bovino adulto, siendo la mayor resistencia para tetraciclina (8%), ampicilina (3%), sulfonamidas (5%) y estreptomycin (5%), con baja multiresistencia (3.8% de las cepas aisladas). Por el contrario, en los efluentes del matadero de terneros, se detectaron altos porcentajes de resistencia para tetraciclina (88%), ampicilina (65%), sulfonamidas (60%) y estreptomycin (55%), se observó menor resistencia a ciprofloxacina (3%), cefalotina (3%) y ampicilina-clavulánico (2%). El 73,1% de las cepas mostró multiresistencia; y 18,8% fueron resistentes a al menos 6 de los antibióticos probados.

Los resultados reportados en los trabajos realizados en EEUU¹⁵⁻¹⁸ muestran, en general, mayor resistencia para tetraciclinas y sulfamidas, menor resistencia a ampicilina y aminoglucósidos, y mayor porcentaje de cepas aisladas multiresistentes que los hallados en el presente estudio. Por el contrario, el nivel de resistencia obtenido por Zhang y col.¹⁹ resultó, a excepción de la resistencia a la ampicilina, mayor a lo encontrado en nuestro estudio. Es importante tener en cuenta la diferente definición de multiresistencia que utilizan algunos de los autores citados en este trabajo^{15,18}, ya que si se considera como multiresistentes cepas que son resistentes a más de 3 antibióticos se encontrará con mayor número que si se categoriza las cepas considerando los grupos a los cuales pertenecen los antibióticos, como se ha elegido para nuestro estudio.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran la presencia de bacterias fenotípicamente resistentes o multiresistentes, dependiendo del caso, a varios antibióticos, en lagunas de tratamiento de efluentes de diversos tambos. Además ponen en evidencia el riesgo potencial de contaminación ambiental que ocasiona el vertido de efluentes provenientes de producciones ganaderas intensificadas que contienen bacterias portadoras de genes de resistencia.

Agradecimientos

A la Universidad de Buenos Aires por el apoyo financiero dentro del Programa UBACyT (proyectos 20020130100498BA y 20020130100378BA) y a los productores que permitieron el acceso a sus predios para realizar la toma de muestras.

REFERENCIAS

1. (WHO. Global action plan on antimicrobial resistance. 2015. Disponible en : http://www.who.int/drugresistance/global_action_plan/en
2. Thorne PS. Environmental health impacts of concentrated animal feeding operations: anticipating hazards-searching for solutions. *Environ Health Perspect.* 2007;115(2):296-297
3. Nosetti, L., Herrero, M. A., Pol, M., Maldonado May, V., Iramain, M. S., Flores, M. C. Cuantificación y caracterización de agua y efluentes en establecimientos lecheros, I. Demanda de agua y manejo de fluentes. *InVet* 2002a; 4(1): 37-43.
4. Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. *Chemosphere.* 2009 30;75(4):417-434.
5. Herrero, M.A., Gil, S.B. 2008 Consideraciones ambientales de la intensificación ganadera (review). *Ecología Austral*, Vol 18: 273-289.
6. Martínez JL. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environ Pollut.* 2009; 157(11):2893-2902.
7. Zhang XX, Zhang T, Fang HH. Antibiotic resistance genes in water environment. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009 Mar 1;82(3):397-414.
8. Teuber M. Veterinary use and antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol* 2001;4(5):493-499.
9. Agersø Y, Wulff G, Vaclavik E, Halling-Sørensen B, Jensen LB. Effect of tetracycline residues in pig manure slurry on tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet (M) in soil microcosms. *Environ Int* 2006;32 (7):876-882.
10. Chee-Sanford JC, Aminov RI, Krapac IJ, Garrigues-Jeanjean

- N, Mackie RI. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Applied Environ Microbiol* 2001;67(4):1494-1502.
11. Li X, Watanabe N, Xiao C, Harter T, McCowan B, Liu Y, Atwill ER. Antibiotic-resistant *E. coli* in surface water and groundwater in dairy operations in Northern California. *Environ Monit Assess* 2014;186(2):1253-1260.
 12. Peak N, Knapp CW, Yang RK, Hanfelt MM, Smith MS, Aga DS, Graham DW. Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies. *Environ Microbiol* 2007;9(1):143-51.
 13. You Y, Silbergeld EK. Learning from agriculture: understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. *Front. Microbiol* 2014;5:284
 14. Anderson, McKeon DM, Calabrese JP, Bissonnette GK. Antibiotic resistant gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. *Water Res* 1995; 29(8):1902-1908.
 15. Sayah RS, Kaneene JB, Johnson Y, Miller R. Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic-and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(3):1394-1404
 16. Anderson ME, Sobsey MD. Detection and occurrence of antimicrobially resistant *E. coli* in groundwater on or near swine farms in eastern North Carolina. *Water Sci Technol* 2006; 54(3):211-218.
 17. Maal-Bared R, Bartlett KH, Bowie WR, Hall ER. Phenotypic antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *E. coli* O157 isolated from water, sediment and biofilms in an agricultural watershed in British Columbia. *Sci Total Environ*. 2013 Jan 15;443:315-323.
 18. Li X, Watanabe N, Xiao C, Harter T, McCowan B, Liu Y, Atwill ER. Antibiotic-resistant *E. coli* in surface water and groundwater in dairy operations in Northern California. *Environ Monit Assess* 2014;186(2):1253-1260.
 19. Zhang X, Li Y, Liu B, Wang J, Feng C, Gao M, Wang L. Prevalence of veterinary antibiotics and antibiotic-resistant *Escherichia coli* in the surface water of a livestock production region in northern China. *PLoS One*. 2014; 9(11):e111026.
 20. Um MM, Barraud O, Kérouédan M, Gaschet M, Stalder T, Oswald E, Dagot C, Ploy MC, Brugère H, Bibbal D. Comparison of the incidence of pathogenic and antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains in adult cattle and veal calf slaughterhouse effluents highlighted different risks for public health. *Water Res*. 2016;88:30-38.
 21. APHA - American Public Health Association, AWWA - American Water Works Association y WEF - the Water Environment Federation (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Ed.* Washington DC, USA: American Public Health Association. Disponible en:http://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_1000-3000.pdf
 22. Bauer A, Kirby M, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1996;45:493-496.
 23. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard-third edition.CLSI document M31-A3. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008
 24. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. CLSI document M100-S19. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical Laboratory Standard Institute; 2009.
 25. Magiorakos, A.P.; Srinivasan, A.; Carey, R.B.; Carmeli, Y.; Falagas, M.E.; Giske, C.G.; Harbarth, S.; Hindler, J.F.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012, 18:268–281
 26. Pruden A, Pei R, Storteboom H, Carlson KH. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. *Environ Sci Technol* 2006;40(23):7445-7450.
 27. Pereyra VG, Pol M, Pastorino F, Herrero A. Quantification of antimicrobial usage in dairy cows and preweaned calves in Argentina. *Prev Vet Med* 2015;122(3):273-279.
 28. Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, Singh A, Bartholomew MJ, McDermott PF. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(5):741-749.
 29. Canal N, Meneghetti KL, de Almeida CP, da Rosa Bastos M, Otton LM, Corção G. Characterization of the variable region in the class 1 integron of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from surface water. *Braz J Microbiol*. 2016;47(2):337-344.