

Estudio retrospectivo de multirresistencia antimicrobiana en aislamientos de *Escherichia coli* de terneros con diarrea neonatal

Maximiliano J. Spetter¹, Enrique L. Louge Uriarte², Ramón A. González Pasayo², Rosana Malena², Ana R. Moreira^{2*}

¹Residencia Interna en Salud Animal, INTA EEA Balcarce. Ruta 226, km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires, Argentina

²Grupo de Sanidad, INTA EEA Balcarce. Ruta 226, km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires, Argentina

*correo electrónico: moreira.ana@inta.gob.ar

(Recibido 3 de marzo de 2015; Aceptado 31 de julio de 2015)

Palabras clave: antimicrobiano, multirresistencia, *Escherichia coli*, diarrea, ternero

Keywords: antimicrobial multiple resistance, *Escherichia coli*, diarrhea, calf

RESUMEN

Escherichia coli es una de las principales etiologías de la diarrea neonatal de los terneros y el tratamiento de esta enfermedad incluye el uso de antimicrobianos. Se realizó un estudio retrospectivo durante un período de 22 años con la finalidad de identificar los antimicrobianos de uso más frecuente para el tratamiento de dicha enfermedad y evaluar la frecuencia de resistencia antimicrobiana en aislamientos de *Escherichia coli* de terneros en dos sistemas productivos. Las muestras de materia fecal se obtuvieron de 93 terneros con diarrea (rodeo para carne, n= 57; rodeo lechero, n= 36) de 1-60 días de vida, los cuales procedían de 57 establecimientos. En 93 aislamientos de *Escherichia coli* se evaluó la sensibilidad *in vitro* frente a 26 antimicrobianos, de 10 familias diferentes, utilizando el método de Kirby-Bauer. No se utilizaron técnicas complementarias para diferenciar los aislamientos de *Escherichia coli* en patógenos o comensales. La información inherente a los terneros y a los tratamientos con antimicrobianos se obtuvo a partir de las anamnesis realizadas o de las fichas que acompañaron a las muestras remitidas al laboratorio. La mayoría de los aislamientos presentaron resistencia a sulfonamidas (88,5%), oxitetraciclina (87%) y enrofloxacin (67%) y estos antimicrobianos fueron comúnmente utilizados para el tratamiento de la diarrea de los terneros. El 88% de los aislamientos de terneros de rodeos para carne y el 95% de los aislamientos de terneros de rodeos lecheros mostraron multirresistencia antimicrobiana. Asimismo, estos últimos desarrollaron resistencia hacia un mayor número de familias de antimicrobianos. El 86% de los aislamientos presentaron resistencia a los antimicrobianos que habían sido utilizados para el tratamiento de los terneros. El mayor nivel de multirresistencia (82%) se encontró en los aislamientos obtenidos en terneros de 1-15 días de vida. La multirresistencia antimicrobiana es una característica fenotípica que está ampliamente distribuida en los aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de terneros con diarrea. Esta característica tendría una mayor importancia en los aislamientos procedentes de terneros de rodeos lecheros.

SUMMARY

Retrospective study of multiple antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from neonatal calves with diarrhea

Escherichia coli is one of the main etiologies of diarrhea in neonatal calves and antimicrobials are frequently used for therapeutic purposes. A retrospective study over a 22 year period was conducted in order to compare antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from diarrheic calves in two husbandry systems. Ninety three fecal samples (beef, n = 57; dairy, n = 36) were collected from 1- to 60-day old diarrheic calves belonging to 57 farms. The antimicrobial susceptibility profiles were evaluated in 93 *Escherichia coli* isolates using the Kirby-Bauer method. A total of 26 antimicrobials from 10 different families were included in the analyses. No additional techniques were performed to differentiate among commensal and pathogenic *Escherichia coli*. Most of the isolates showed resistance to sulfonamides (88.5%), oxitetracycline (87%) and enrofloxacin (67%), all of them being widely used for the treatment of calf diarrhea. Multiple antimicrobial resistance was demonstrated in 88% of the isolates from beef calves and in 95% of the isolates from dairy ones. Nevertheless, isolates from dairy calves revealed a broader spectrum of resistance to different antimicrobial families. In addition, 86% of the isolates displayed resistance to those antimicrobials that had been previously used for the treatment of calves. The higher frequency (82%) of multiple antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolates was observed in 1- to 15-day old calves. Multiple antimicrobial resistance represents a phenotypic feature that remains widely spread among *Escherichia coli* isolates from neonatal calves with diarrhea. Nevertheless, this feature seems to acquire more importance in dairy calves.

INTRODUCCIÓN

La diarrea neonatal de los terneros (DNT) es una enfermedad multifactorial y compleja en la que interactúan factores predisponentes (manejo, nutrición, medio ambiente, edad e inmunidad) y diferentes agentes infecciosos (bacterias y virus) y parasitarios (protozoos)^{25,34}. Esta enfermedad puede afectar a terneros recién nacidos y hasta los 45 días de vida²⁶, sin embargo los casos de diarrea se presentan con mayor frecuencia en las primeras 2-3 semanas de vida¹². La DNT causa pérdidas económicas directas debidas a las muertes y a los gastos en tratamientos que ocasiona, y además produce pérdidas indirectas por la disminución en el crecimiento de los terneros luego de su recuperación clínica³².

Escherichia coli ocasiona infecciones de importancia para la salud humana y animal en todo el mundo¹, siendo también una de las causas más frecuentes de enfermedad en los terneros²⁰. Cualquiera sea la etiología de la DNT, está demostrado que existe un sobrecrecimiento de coliformes, y fundamentalmente de *E. coli*, en el intestino delgado de los terneros afectados. La colonización e infección por esta bacteria puede ocasionar alteraciones en las funciones del intestino y además, aumenta el riesgo de bacteriemia y septicemia⁹.

Por otra parte, *E. coli* es una de las bacterias que presenta la mayor diversidad de mecanismos de resistencia antimicrobiana dentro de la familia *Enterobacteriaceae*³⁸. Además, tiene la particularidad de ser muy eficiente para aumentar la resistencia, no sólo por su rápida multiplicación, sino también por su capacidad para transferir genes de resistencia hacia otras cepas o especies bacterianas^{2,36}.

La terapia antimicrobiana es esencial para disminuir la morbilidad y mortalidad asociadas a la diarrea y septicemia de los terneros⁹. Sin embargo, el uso sistemático e indiscriminado de antimicrobianos ha contribuido al incremento de la resistencia²⁹. En general, la resistencia a los antimicrobianos en bacterias patógenas y comensales se manifiesta, mantiene y disemina por la presión de selección ejercida por el uso indiscriminado de los mismos³⁷. En los últimos años, la multiresistencia antimicrobiana ha sido definida como aquella resistencia hacia más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, que además debe tener relevancia clínica (dificultad para el tratamiento) y epidemiológica (transmisión del mecanismo de resistencia)²⁴.

La resistencia antimicrobiana en animales es un problema potencial para la salud humana⁷. Diferentes trabajos de investigación proponen que el uso excesivo de antimicrobianos, fundamentalmente durante la crianza de animales de producción, genera bacterias zoonóticas y resistentes, las cuales facilitan la transferencia de genes de resistencia entre las bacterias del ambiente animal y las patógenas para humanos^{11,37}. Por esta razón, se han propuesto medidas tendientes a restringir y regular el uso de antimicrobianos en la producción animal de Europa y Norteamérica^{14,15}. Así, el uso de algunos antimicrobianos de gran utilidad en medicina humana han sido prohibidos para fines terapéuticos o productivos en animales^{15,16}.

Los objetivos de este trabajo fueron: (i) identificar los antimicrobianos de uso más frecuente para el tratamiento de la DNT, (ii) evaluar y comparar la resistencia antimicrobiana en aislamientos de *E. coli* obtenidos de terneros con diarrea en dos sistemas de producción bovina.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestreo, animales y establecimientos

El estudio retrospectivo comprendió un período de 22 años (enero de 1991 a diciembre de 2013). En el mismo se incluyó

un total de 93 terneros de 1- 60 días de vida con diarrea. El tipo de muestreo fue por conveniencia (no probabilístico)³⁶, según la demanda por parte de los veterinarios. Las muestras de materia fecal se recolectaron de terneros de rodeos para carne ($n= 57$), los cuales procedían de 33 establecimientos ganaderos ubicados en la provincias de Córdoba (1) y Buenos Aires (32). Además, se obtuvieron muestras de materia fecal de terneros de rodeos lecheros ($n= 36$) en 24 establecimientos de las provincias de Córdoba (2) y Buenos Aires (22). La información se obtuvo de la base de datos del Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado de la EEA Balcarce, INTA. Los registros del uso de antimicrobianos en los establecimientos, edades de los terneros muestreados y tratamientos con antimicrobianos previos a los muestreos, se obtuvieron de las anamnesis realizadas durante las visitas de diagnóstico o de las fichas que acompañaron a las muestras remitidas al laboratorio de bacteriología.

2. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*

Las muestras de materia fecal se sembraron en placas de agar MacConkey (Difco, MD, USA) y de agar Base Columbia (Oxoid, Hampshire, ENG) con el agregado de sangre bovina defibrinada (v/v, 7%). Luego se incubaron durante 18-24 h a 37°C en condiciones aerobias. Las colonias que fermentaron la lactosa en el agar MacConkey fueron identificadas con pruebas bioquímicas estándares para enterobacterias³. No se utilizaron técnicas complementarias para diferenciar los aislamientos de *E. coli* en patógenos o comensales.

3. Prueba de sensibilidad a los antimicrobianos

A partir de los aislamientos de *E. coli* se determinó la sensibilidad *in vitro* frente a diferentes antimicrobianos. Para ello se utilizó la prueba de difusión con discos individuales de Kirby-Bauer, siguiendo las normas establecidas por el CLSI^{8,31}. Las placas de agar Mueller-Hinton (Oxoid, Hampshire, ENG) fueron sembradas con un hisopo estéril embebido en una suspensión bacteriana de turbidez estandarizada (equivalente a 0,5 en la escala de McFarland²⁷). Posteriormente, se colocaron los discos impregnados con antimicrobianos a diferentes concentraciones (Oxoid, Hampshire, ENG). Las placas se incubaron durante 18-20 h a 37°C en aerobiosis y se midieron los halos de inhibición del crecimiento, interpretándose los resultados como sensible o resistente⁸.

Se evaluaron un total de 26 antimicrobianos pertenecientes a 10 familias, entre ellas: (1) anfenicoles (cloranfenicol 30 µg, florfenicol 30 µg); (2) aminoglucósidos (amicacina 30 µg, estreptomina 300 µg, gentamicina 10 µg, kanamicina 30 µg, neomicina 30 µg); (3) fluoroquinolonas (enrofloxacin 5 µg, norfloxacin 10 µg); (4) penicilinas (ampicilina 10 µg, amoxicilina/ácido clavulánico 30 µg, penicilina G 10 UI); (5) cefalosporinas (cefalexina 30 µg, cefalotina 30 µg, cefaclor 30 µg, cefotaxima 30 µg); (6) macrólidos (eritromicina 15 µg, tilmicosina 15 µg); (7) tetraciclinas (oxitetraciclina 30 µg, doxiciclina 30 µg, tetraciclina 30 µg); (8) sulfonamidas (sulfonamida 300 µg, sulfametoxazol/trimetoprima 25 µg); (9) polimixinas (polimixina B 300 UI); (10) quinolonas (ácido nalidíxico 30 µg, ofloxacin 5 µg).

Como criterio de clasificación, se consideró multiresistente a todo aislamiento de *E. coli* que presentó resistencia a cuatro o más familias de antimicrobianos^{8,33}.

RESULTADOS

El 47,5% (27/57) de los establecimientos evaluados emplearon antimicrobianos para el tratamiento de la DNT, el 35% (20/57) de los mismos no implementó ningún tratamiento antimicrobiano y en el 17,5% (10/57) restante no se obtuvo esta información. La oxitetraciclina (32%, 20/63), las sulfonamidas (22%, 14/63) y la enrofloxacin (19%,

12/63) fueron los antimicrobianos de uso más frecuente en los terneros tratados (Figura 1).

A partir de los terneros muestreados se obtuvieron un total de 93 aislamientos de *E. coli*, los cuales fueron utilizados para realizar los antibiogramas. Las frecuencias relativas de los aislamientos de *E. coli* resistentes a cada uno de los antimicrobianos se indican en la Tabla 1. El 100% de los aislamientos mostró resistencia hacia al menos un

antimicrobiano. Analizando ambos sistemas de producción en forma conjunta, las proporciones de aislamientos de *E. coli* resistentes a sulfonamidas, oxitetraciclina y enrofloxacina fueron de 88,5%, 87% y 67%, respectivamente. Todos los aislamientos obtenidos en terneros de rodeos para carne desarrollaron sensibilidad a la ofloxacina, mientras que el 100% de los aislamientos *E. coli* en terneros de rodeos lecheros mostraron resistencia a la cefalexina (Tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de aislamientos de *Escherichia coli* con resistencia a diferentes antimicrobianos en terneros con diarrea de rodeos para carne y lecheros

Antimicrobiano	Rodeos para carne (n = 57) [†]		Rodeos lecheros (n = 36) [†]	
	S (%) [*]	R (%) [#]	S (%)	R (%)
Ácido nalidíxico	84	16	sd ^{&}	sd
Amicacina	90	10	91	9
Amoxicilina/ácido clavulánico	36	64	7	93
Ampicilina	37	63	9	91
Cefaclor	50	50	29	71
Cefalexina	7	93	0	100
Cefalotina	27	73	14	86
Cefotaxima	71	29	95	5
Cloranfenicol	76	24	35	65
Doxiciclina	50	50	sd	sd
Enrofloxacina	17	83	49	51
Eritromicina	2	98	3	97
Estreptomina	83	17	56	44
Florfenicol	67	33	44	56
Gentamicina	87	13	80	20
Kanamicina	52	48	18	82
Neomicina	26	74	10	90
Norfloxacina	89	11	43	57
Ofloxacina	100	0	58	42
Oxitetraciclina	18	82	8	92
Penicilina G	5	95	sd	sd
Polimixina B	80	20	sd	sd
Sulfonamida	7	93	16	84
Tetraciclina	33	67	sd	sd
Tilmicosina	4	96	sd	sd
Trimetoprima/sulfametoxazol	65	35	25	75

[†] Número de aislamientos de *Escherichia coli*

^{*} Sensible (S); [#] resistente (R); [&] sin dato (sd)

Muy pocos aislamientos de *E. coli* (obtenidos de un ternero de rodeo para carne y de dos terneros de rodeos lecheros) presentaron resistencia a la totalidad de los antimicrobianos evaluados. Por otra parte, la gentamicina fue el antimicrobiano con menor nivel de resistencia (20% o menos) en los aislamientos de *E. coli* obtenidos de ambos sistemas productivos (Tabla 1). En aquellos animales que recibieron una terapia previa con antimicrobianos, se determinó que el 86% de los aislamientos de *E. coli* presentaron resistencia frente a los mismos (Tabla 2). Además, entre el 67-100% de los aislamientos de dichos terneros (Tabla 2) mostraron resistencia a los antimicrobianos de uso más frecuente para el tratamiento de la DNT (Figura 1).

El 95% (34/36) de los aislamientos de terneros de rodeos lecheros y el 88% (50/57) de los aislamientos de terneros de rodeos para carne mostraron multiresistencia antimicrobiana. Sin embargo, en los terneros de rodeos lecheros se observó una mayor proporción de aislamientos de *E. coli* con multiresistencia hacia 7, 8 y 9 familias de antimicrobianos. En cambio, en los terneros de rodeos para carne se observó una mayor proporción de aislamientos de *E. coli* con multiresistencia frente a 4, 5 y 6 familias de antimicrobianos (Figura 2).

Según la información analizada, el 64,5% (60/93) de las muestras de materia fecal disponían de datos referentes a las edades de los terneros muestreados. Los rangos por edades fueron de 1-15 días (65%, 39/60), 16-30 días (25%, 15/60) y 31-60 días (10%, 6/60). A partir de esta información y de los resultados de los antibiogramas, se observó que el nivel de resistencia de los aislamientos de *E. coli* tendió a aumentar a medida que disminuía la edad de los terneros. Los niveles de multiresistencia de los aislamientos según los rangos por edades fueron de 82% (32/39) (1-15 días), 73% (11/15) (16-30 días) y 66% (4/6) (31-60 días).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó que los aislamientos de *E. coli* de terneros con diarrea presentaron un elevado nivel de resistencia frente a diferentes antimicrobianos. Sin embargo, es posible que haya existido cierta sobreestimación de la resistencia¹⁸, ya que sólo se estudiaron aislamientos obtenidos de terneros con diarrea. En un estudio similar, Gunn y col.¹⁹ analizaron la resistencia de *E. coli* frente a 12 antibióticos y observaron un 95% de aislamientos resistentes en terneros con diarrea y un 70% en terneros

Tabla 2. Prueba de sensibilidad antimicrobiana en aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de terneros que previamente recibieron tratamiento

Antimicrobiano del tratamiento	No. de aislamientos	S (%) [*]	R (%) [#]
Oxitetraciclina	20	10	90
Sulfonamida	14	0	100
Enrofloxacina	12	33	67
Florfenicol	4	25	75
Tilmicosina	4	0	100
Estreptomina	3	0	100
Amoxicilina/ácido clavulánico	2	0	100
Tetraciclina	1	0	100
Gentamicina	1	100	0
Penicilina/estreptomina	1	0	100
Trimetoprima/sulfametoxazol	1	100	0
Total	63	14	86

Porcentajes de aislamientos de *Escherichia coli* sensibles (S)^{*} y resistentes (R)[#]

sanos. Asimismo, Gow y col.¹⁷ determinaron que existen 4,3 veces más posibilidades de hallar resistencia antimicrobiana en las cepas de *E. coli* aisladas de terneros con diarrea en comparación con aquellas provenientes de terneros sanos. Diferentes autores^{19,32,38} han observado niveles de multiresistencia bacteriana similares a los encontrados en este trabajo. El uso continuo de antibióticos sería el principal factor que contribuye al desarrollo de la resistencia antimicrobiana ya que ejerce una mayor presión de selección sobre *E. coli*^{11,5,9,10,22,28}. Por lo tanto, en nuestro

estudio, la terapia previa con antimicrobianos en la mayoría de los terneros muestreados podría haber seleccionado aislamientos de *E. coli* resistentes. Además, la utilización de antibióticos aumenta la resistencia, no sólo en las bacterias que forman parte de la microbiota normal sino también en las bacterias patógenas³⁸.

Durante este estudio no se utilizaron técnicas complementarias (bacteriológicas y moleculares) para evaluar la patogenicidad potencial de los aislamientos de *E. coli*. Por lo tanto, algunos de ellos podrían haber sido

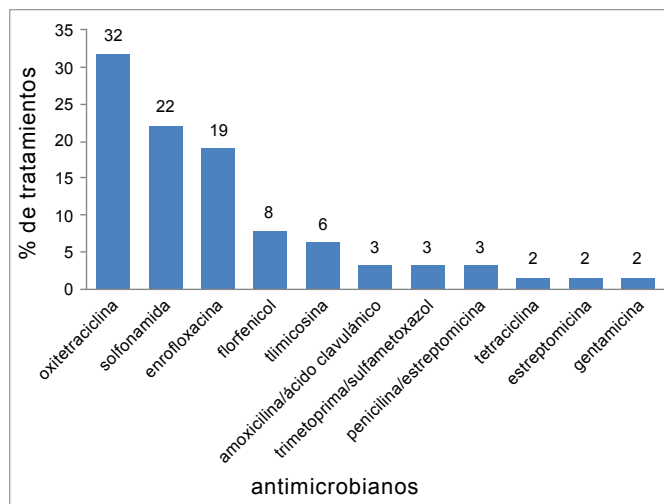


Figura 1. Distribución porcentual de los antimicrobianos utilizados para el tratamiento de la diarrea en terneros de diferentes establecimientos

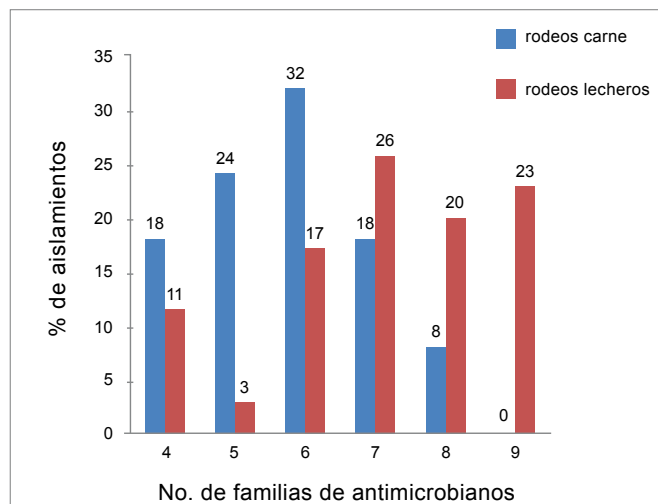


Figura 2. Porcentaje de aislamientos de *Escherichia coli* con multiresistencia hacia diferentes familias de antimicrobianos según el sistema productivo

comensales de la microbiota intestinal. En relación a ello, Orden y col.³² encontraron que las cepas de *E. coli* negativas para algunos factores de virulencia (verotoxinas, factor necrotizante citotóxico, F5, F17, F41 e intimina) suelen tener una menor sensibilidad a diferentes antimicrobianos y la multiresistencia se presenta con mayor frecuencia. Por lo tanto, las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos tendrían relevancia clínica cuando se analizan cepas de *E. coli* patógenas⁹. Sin embargo, las *E. coli* comensales son buenos indicadores de la presión de selección ejercida por los antimicrobianos^{23,30} y constituirían los reservorios para la transferencia de genes de resistencia hacia bacterias patógenas^{22,28,33}. Asimismo, las pruebas de sensibilidad antimicrobiana serían de utilidad para conocer la situación de la resistencia antimicrobiana en una explotación ganadera o región determinada³⁷.

El mayor nivel de multiresistencia (7, 8 y 9 familias de antimicrobianos) en los aislamientos obtenidos de terneros de rodeos lecheros resulta un hallazgo interesante. Un estudio demostró que la adición de antibióticos al sustituto lácteo de los terneros y el nivel de multiresistencia en los aislamientos de *E. coli* obtenidos de dichos terneros están significativamente asociados⁵. En nuestros sistemas productivos, es posible que la práctica de adicionar antibióticos al sustituto lácteo o a la leche ejerza una presión de selección en los aislamientos de *E. coli*.

El presente estudio indica que la multiresistencia antibiótica es frecuente en los aislamientos de *E. coli* obtenidos de terneros durante sus dos primeras semanas de vida (82% de los aislamientos de *E. coli*). En este sentido, Berge y col.⁴ y Werckenthin y col.³⁸ observaron una elevada frecuencia de multiresistencia en cepas de *E. coli* aisladas en terneros de 3-21 días de vida. El nivel de resistencia se reduce a medida

que aumenta la edad de los terneros^{13,22} y esto se explica por una disminución gradual en el recuento de *E. coli* totales y resistentes a antibióticos²¹.

La amplia difusión de la multiresistencia antibiótica tendría implicancias muy importantes, no sólo por la falta de eficacia de los antibióticos utilizados para el tratamiento de la DNT, sino también por el riesgo que representaría para la salud pública el ingreso de cepas bacterianas multiresistentes en la cadena alimentaria^{7,35,37}.

CONCLUSIONES

Los antimicrobianos utilizados con mayor frecuencia para el tratamiento de la DNT incluyeron la oxitetraciclina, las sulfonamidas y la enrofloxacina. En coincidencia con esta observación, los aislamientos de *E. coli* obtenidos de terneros que previamente habían sido tratados con dichos antimicrobianos mostraron un elevado nivel de resistencia. La multiresistencia antimicrobiana es una característica fenotípica que se halla ampliamente distribuida en los aislamientos de *E. coli* obtenidos de terneros con diarrea. Sin embargo, este fenómeno tendría mayor importancia en los aislamientos de *E. coli* obtenidos de terneros procedentes de rodeos lecheros.

Agradecimientos

A los integrantes del SDVE y del Laboratorio de Bacteriología (EEA Balcarce, INTA) por su valiosa contribución para el presente trabajo.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aarestrup FM, Bager F, Jensen NE, Madsen M, Meyling A, Wegener HC. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. *APMIS* 1998; 106:606-622.
2. Alexander TW, Yanke LJ, Topp E, Olson ME, Read RR, Morck DW *et al.* Effect of subtherapeutic administration of antibiotics on the prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* bacteria in feedlot cattle. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74:4405-4416.
3. Barrow GI, Feltham RKA. *Cowan and Steel's Manual for the identification of medical bacteria*, 3rd. Ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1993.
4. Berge ACB, Atwill ER, Sischo WM. Assessing antibiotic

- resistance in fecal *Escherichia coli* in young calves using cluster analysis techniques. *Prev Vet Med* 2003; 61:91-102.
5. Berge ACB, Moore DA, Sisco WM. Field trial evaluating the influence of prophylactic and therapeutic antimicrobial administration on antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* in dairy calves. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72:3872-3878.
 6. Bywater R, Deluyker H, Deroover E, de Jong A, Marion H, McConville M *et al.* A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54:744-754.
 7. Catry B, Laevens H, Devriese LA, Opsomer G, De Kruif A. Antimicrobial resistance in livestock. *J. Vet. Pharmacol Therap* 2003; 26:81-93.
 8. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement; M100-S20. Wayne, PA, EE.UU. 2010.
 9. Constable PD. Treatment of calf diarrhea: Antimicrobial and ancillary treatments. *Vet Clin Food Anim* 2009; 25:101-120.
 10. DeFrancesco KA, Cobbold RN, Rice DH, Besser TE, Hancock DD. Antimicrobial resistance of comensal *Escherichia coli* from dairy cattle associated with recent multi-resistant salmonellosis outbreaks. *Vet Microbiol* 2004; 98:55-61.
 11. de Toro M, Sáenz Y, Cercenado E, Rojo-Bezares B, García-Campello M, Undabeitia E *et al.* Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in *Salmonella enterica* from three Spanish hospitals. *Int Microbiol* 2011; 14:173-181.
 12. Doll K. Diarrea neonatal. En: *Medicina Interna y Cirugía del Bovino*. Dirksen, G., Gründer, H-D., Stöber, M. (Eds.), Buenos Aires, Intermédica, 2005, p. 510-521.
 13. Edrington TS, Farrow RL, Carter BH, Islas A, Hagevoort GR, Callaway TR *et al.* Age and diet effects on fecal populations and antibiotic resistance of a multi-drug resistant *Escherichia coli* in dairy calves. *Agric Food Anal Bacteriol* 2012; 2:162-174.
 14. FDA, Food and Drug Administration. The judicious use of medically important antimicrobial drugs in food-producing animals (Guidance #209) 2010. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM216936.pdf>
 15. Forsberg KJ, Reyes A, Wang B, Selleck EM, Sommer MO, Dantas G. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. *Science* 2012; 337:1107-1111.
 16. Gagliotti C, Balode A, Baquero F, Degener J, Grundmann H, Gür D *et al.* *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: bad news and good news from the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, formerly EARSS), 2002 to 2009. *Euro Surveill* 2011; 16:19819. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19819>
 17. Gow SP, Waldner CL, Rajic A, McFall ME, Reid-Smith R. Prevalence of antimicrobial resistance in fecal generic *Escherichia coli* isolated in western Canadian cow-calf herds. Part I - Beef calves. *Can J Vet Res* 2008; 72:82-90.
 18. Gunn GJ, Low JC. Analysis of passive surveillance data for antimicrobial resistance from cases of neonatal bovine enteritis. *Vet Rec* 2003; 152:537-539.
 19. Gunn GJ, Hall M, Low JC. Comparison of antibiotic resistance for *Escherichia coli* populations isolated from groups of diarrhoeic and control calves. *Vet J* 2003; 165:172-174.
 20. Hariharan H, Coles M, Poole D, Page R. Antibiotic resistance among enterotoxigenic *Escherichia coli* from piglets and calves with diarrhea. *Can Vet J* 2004; 45:605-606.
 21. Hoyle DV, Knight HI, Shaw DJ, Hillman K, Pearce MC. 2004. Acquisition and epidemiology of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in a cohort of newborn calves. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53:867-871.
 22. Khachatryan AR, Hancock DD, Besser TE, Call DR. Role of calf-adapted *Escherichia coli* in maintenance of antimicrobial drug resistance in dairy calves. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70:752-757.
 23. Levin BR, Lipsitch M, Perrot V, Schrag S, Antia R, Simonsen L *et al.* The population genetics of antibiotic resistance. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):9-16.
 24. López-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Med Intensiva* 2011; 35:41-53.
 25. Louge Uriarte EL, Chayer R, Quiroga MA, Álvarez LI, Nosedá R, Melucci O. Diarrea neonatal en terneros de un rodeo de cría: caracterización clínica y tratamientos. *Rev Med Vet (B Aires)* 2008; 89, 6:200-205.
 26. Marguerite J, Fumuso E, González C, Becaluba M, Biagioni R, Confalonieri O *et al.* Diarreas neonatales en terneros de rodeos de cría. *Rev Vet Arg* 2001; 177:517-533.
 27. McFarland J. Nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *J Am Med Assoc* 1907; 14:1176-1178.
 28. Mercer HD, Pocerull D, Gaines S, Wilson S, Bennet JV. Characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from animals: relationship to veterinary and management uses of antimicrobial agents. *Appl Microbiol* 1971; 22:700-705.
 29. Moredo FA, Vigo GB, Cappuccio JA, Piñeyro P, Perfumo CJ, Giacoboni GI. Resistencia a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos de la República Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2007; 39:227-229.
 30. Murray BE. Problems and dilemmas of antimicrobial resistance. *Pharmacotherapy* 1992; 12:86-93.
 31. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: M100-S7, vol. 17, no. 2. Villanova, PA: NCCLS, 1997.
 32. Orden JA, Ruiz-Santa-Quiteria JA, García S, Cid D, De la Fuente R. *In vitro* susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from diarrhoeic dairy calves to 15 antimicrobial agents. *J Vet Med* 2000; 47:329-335.
 33. Sáenz Y, Briñas L, Domínguez E, Ruiz J, Zarazaga M, Vila J, *et al.* Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:3996-4001.
 34. Scott PR, Hall GA, Jones PW, Morgan JH. Calf Diarrhoea. En: *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle*. Andrews, H., Blowey, R.W., Boyd, H., Eddy, R.G. (Eds.), Oxford, Blackwell Science Ltd, 2004, p. 185-213.
 35. Teuber M. Veterinary use and antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol* 2001; 4:493-499.
 36. Thrusfield, M. Chapter 13: Surveys. En: *Veterinary Epidemiology*, 3rd ed. Blackwell Science Ltd, 2005, p. 228-246.
 37. van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14:327-335.
 38. Werckenthin C, Seid S, Ried J, Kiossis E, Wolf G, Stolla R *et al.* *Escherichia coli* isolates from young calves in Bavaria: *in vitro* susceptibilities to 14 antimicrobial agents. *J Vet Med* 2002; 49:61-65.