

Epidemiología de las resistencias bacterianas. Bases metodológicas para su prevención y control

EPIDEMIOLOGY OF BACTERIAL RESISTANCE. METHODOLOGICAL BASES FOR ITS PREVENTION AND CONTROL.

Alberto GONZÁLEZ FERNÁNDEZ¹, María L. FERNÁNDEZ VALENTÍ²

¹ Servicio de Salud Pública Área 2. Dirección General de Ordenación e Inspección. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid. C/ Océano Pacífico n.º 3. Coslada. 28821. Madrid. Tlf: ++34 916723218. Correo-e: alberto.gonzalez@salud.madrid.org

² Servicio de Salud Pública del Área 8. Dirección General de Ordenación e Inspección. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

RESUMEN

Desde el mismo momento en que se empezaron a detectar microorganismos antibiótico-resistentes, la comunidad científica comprendió su trascendencia sanitaria; y desde entonces, se ha trabajado mucho en su lucha, desde muy diferentes perspectivas.

Al echar la vista atrás y contemplar el enorme esfuerzo que se ha hecho y se sigue haciendo, nos ha parecido que podría resultar útil, hacer una revisión de la epidemiología de las resistencias bacterianas, con el fin de conocer en profundidad los eslabones que intervienen en su cadena epidemiológica.

Y al estudiar las resistencias bacterianas desde el punto de vista epidemiológico; y comprendiendo su base genética, hemos intentado detectar de forma precisa sobre qué agentes etiológicos y en qué mecanismos de transmisión podemos intervenir; y con qué herramientas de intervención.

Palabras clave: Antibióticos, resistencias bacterianas, cadena epidemiológica, mecanismos de transmisión.

INTRODUCCIÓN

El creciente aumento de cepas resistentes a antibióticos, ha despertado la alarma entre la comunidad científica, ante la amenaza de asistir a la transformación de multitud de procesos infecciosos hasta ahora sensibles a los antibióticos, en enfermedades graves, e incluso mortales. El fenómeno de la *resistencia bacteriana* (RB) a los antibióticos se ha convertido así, en uno de los problemas de Salud Pública más importantes al que nos enfrentamos.

El objetivo del presente trabajo, es intentar definir un sencillo modelo epidemiológico en las enfermedades por microorganismos antibiótico-resistentes (a partir de sus bases genéticas), que nos ayude a identificar de forma sistemática, aquellos eslabones de la cadena epidemiológica en los que se puede introducir la resistencia bacteriana; y de esa manera,

intentar diseñar una metodología sistemática de prevención y control.

MATERIAL Y MÉTODOS

Partiendo de sus bases genéticas, se ha intentado definir un modelo epidemiológico, utilizando para ello la bibliografía especializada.

RESULTADOS

Modelo epidemiológico de las resistencias bacterianas

Agente etiológico

Existen dos tipos de resistencia bacteriana:

- Hablamos de *resistencia bacteriana intrínseca* o *natural*, cuando todas las cepas de la especie son resistentes.

- Y de *resistencia bacteriana adquirida*, cuando dentro de una especie típicamente susceptible, se encuentran cepas resistentes.

En general, la comunidad científica admite que el riesgo de transmisión horizontal de RB intrínseca es mínimo; mientras que el riesgo de transmisión horizontal de RB adquirida es alto.

Los *mecanismos* por los que la bacteria resiste al antimicrobiano son:

RB intrínseca o natural: En este caso, la bacteria posee de forma natural, alguna particularidad que dificulta la acción del antimicrobiano:

1. La bacteria carece de moléculas-diana para el antimicrobiano (puntos de unión).
2. Tales moléculas-diana presentan baja afinidad por el antimicrobiano.
3. La bacteria es poco permeable.
4. O bien posee un sistema de “extrusión activa” del antimicrobiano (“sistema de bombeo”).

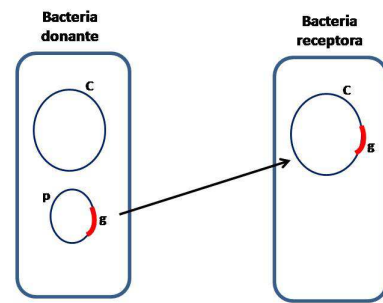
RB adquirida:

1. Adquirida por *mutación*: En este caso, el gen que codifica la síntesis de la molécula diana, muta. De esta forma, el quimioterápico no encuentra su molécula-diana en la estructura celular del microorganismo. Parece ser que las bacteria resistentes a los antimicrobianos por mutación, son sin embargo más sensibles a los factores medio ambientales, manteniéndose así el equilibrio entre la flora antibiótico sensible y antibiótico resistente.
2. Adquirida por incorporación de genes o *recombinación genética*: Puede ser que:
 - El nuevo gen incorporado al microorganismo, codifique la síntesis de enzimas que inactivan al antimicrobiano (p.e. betalactamasas, acetil transferasas, etc).
 - El nuevo gen incorporado, codifique la síntesis de moléculas-diana con una estructura molecular diferente, que el antimicrobiano no puede reconocer.
 - El nuevo gen incorporado, codifique la síntesis de sistemas enzimáticos de extrusión, que bombean y expulsan el antibiótico.

Pues bien, los microorganismos con RB adquirida por recombinación genética - sobre todo si transportan elementos genéticos móviles - son los que presentan mayor riesgo de transmitir horizontalmente su resistencia.

La recombinación genética se produce siempre por transferencia del gen de resistencia desde un plásmido (plásmido de resistencia o plásmido R) al ADN del microorganismo receptor.

Los plásmidos son secuencias de ADN circulares, independientes del cromosoma; y con su propia capacidad de replicación.



C: cromosoma (núcleo); p: plásmido; g: gen de resistencia.

Así pues, un plásmido R es un plásmido que transporta genes de resistencia, y puede ser:

- *Conjugativo*: Lo que significa que contiene genes que codifican proteínas, con la facultad de transmitir copias suyas a otras células.
- *No conjugativo*: No tienen esa facultad; pero pueden ser movilizables: Dentro de la misma bacteria donante, pueden transferirse a otro plásmido que sí sea conjugativo.

Por otra parte, la recombinación genética se puede producir por:

1. *Conjugación*: Las dos bacterias se fusionan y se produce la transferencia del gen de resistencia desde el plásmido R de la bacteria donante al cromosoma de la bacteria receptora.
2. *Transducción*: Mediante un bacteriófago. Éste infecta a la bacteria donante e integra el gen de resistencia en su propio plásmido. A continuación, infecta a la bacteria receptora, y le integra en su cromosoma, el gen de resistencia.
3. *Transformación*: El plásmido con el gen de resistencia es extracelular; a partir de una bacteria donante lisada.

Y además, tanto en los cromosomas como en los plásmidos, existen elementos genéticos que favorecen la transmisión del gen de resistencia:

- o Los *transposones*: Fragmentos de ADN que pueden moverse de un plásmido a otro plásmido o al cromosoma, transportando en su interior, genes de resistencia.
- o Los *integrones*: Fragmentos de ADN que contienen genes de resistencia; y con capacidad para escindirse e integrarse (merced a integrasas) en otros puntos.

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), en su Informe “*Opinión del panel de aditivos en alimentación animal sobre los criterios para evaluar bacterias usadas como aditivos en alimentación animal con respecto a su posible resistencia a antibióticos de importancia humana o veterinaria 25/05/2005*”, nos muestra tres importantes conclusiones en relación a los distintos tipos de RB:

- a) Que el riesgo de difusión de RB intrínseca o natural, se ha de considerar mínimo.

b) Que el riesgo asociado a RB adquiridas por mutación en genes cromosómicos, es bajo y aceptable.

c) Y que el riesgo asociado a RB adquiridas por recombinación genética es mucho mayor.

Así pues, el agente etiológico responsable de una infección antibiótico-resistente, podría ser cualquier bacteria patógena que hubiera adquirido genes de resistencia por recombinación genética.

Ahora bien, en la epidemiología de las resistencias bacterianas, nos vemos obligados a considerar no sólo a las bacterias patógenas resistentes (como puede ser *Salmonella* o *Staphylococcus aureus* antibiótico-resistentes); sino también a aquellas otras bacterias resistentes que siendo saprofitas o comensales, pueden sin embargo difundir sus genes de resistencia a bacterias patógenas (es el caso de las bacterias habituales de la flora intestinal).

Sabemos que como respuesta a su necesidad de supervivencia, cualquier bacteria sometida a presión antibiótica, tiende a “hacerse” resistente (mediante la adquisición de genes de resistencia o por mutación). Por consiguiente, aunque el abanico de bacterias con capacidad potencial para adquirir y difundir resistencias sería inabordable, parecería lógico centrar la atención sobre:

- Aquellas bacterias patógenas responsables de los procesos infecciosos más habituales en medicina humana y veterinaria; que como es lógico, son las bacterias que más presión antibiótica están recibiendo.
- Aquellas bacterias no patógenas y potencialmente difusoras de resistencias, que indirectamente están recibiendo dicha presión (fundamentalmente, las bacterias comensales intestinales, consecuencia de tratamientos antibióticos vía oral).

Entender este hecho resulta de capital importancia a la hora de diseñar las actividades de vigilancia epidemiológica: No sólo es importante vigilar las bacterias resistentes; sino también vigilar la tendencia de los procesos patológicos más habituales y de los antibióticos más utilizados, con el fin de predecir qué bacterias podemos esperar que se hagan resistentes; y a qué antibióticos.

Mecanismos de transmisión al ser humano

1. El tratamiento en medicina humana con antibióticos de forma reiterada y a dosis bajas (tratamientos interrumpidos o a dosis subterapéuticas, automedicación con “pautas dosis/tiempo de administración” inadecuadas, utilización de antibióticos adulterados o caducados, etc.):

En particular, el uso reiterado y a baja dosis de los antibióticos, acelera y amplifica la resistencia. En general, este hecho puede ser debido:

- A una mala praxis.
- A la automedicación.

- Al uso de medicamentos caducados o fraudulentos, en los países pobres.

En un principio, se planteó la posibilidad de que el propio antibiótico como sustancia química, provocase la mutación genética necesaria en la bacteria sospechosa; pero se ha demostrado que la verdadera razón se debe a que el antibiótico administrado de forma reiterada y a dosis bajas, provoca la destrucción de la flora sensible, pero no destruye a las bacterias resistentes o menos sensibles. Al desaparecer la flora sensible competitiva, la resistente prolifera y desborda el equilibrio natural entre ambas. Cuando dichos antibióticos se administran por vía oral, son las bacterias comensales del tracto digestivo, las que desarrollan resistencia. *La importantísima consecuencia de la aparición de bacterias comensales entéricas resistentes, es que se abre la posibilidad de la transmisión interhumana de resistencias (vía fecal-oral).*

De todo ello se deduce la importancia que en la lucha contra las resistencias juega:

- El “uso prudente” de los antibióticos.
- La sensibilización de la población (pacientes) sobre su correcto uso.
- La instauración de procedimientos de autorización que garanticen la eficacia de los tratamientos administrados.

2. La ingestión de alimentos (carnes, leches, huevos y pescados) con residuos de antibióticos:

La presencia de tales residuos (por encima de los Límites Máximos Residuales establecidos) en los alimentos, se debe a la administración de antibióticos en los animales vivos (con fines terapéuticos o profilácticos) en dosis excesivas, o sin haber respetado los Períodos de Espera reglamentarios. En realidad, nos encontramos ante un variante del caso anterior: El individuo se ve sometido involuntariamente a un tratamiento (reiterado y a baja dosis) con antibióticos vía oral. Al ser la vía de administración oral, nos encontramos de nuevo ante la posibilidad de la transmisión interhumana de resistencias. Una vez más, se pone de manifiesto la importancia de utilizar de forma prudente y correcta los antibióticos; en este caso, en Medicina Veterinaria.

3. La ingestión de Alimentos Modificados Genéticamente que contengan marcadores-genes de resistencia a antibióticos (ARMGs):

Durante la modificación genética de plantas y otros organismos modificados genéticamente (OMGs), se utilizan habitualmente “marcadores genéticos”. Los marcadores genéticos son secuencias de ADN que se utilizan para “marcar” o localizar la presencia del gen modificado. Resulta que dichos marcadores a su vez, contienen con frecuencia genes que codifican resistencia a antibióticos específicos (ARMGs).

Lo que preocupa es que a partir de tales ARMGs, se sinteticen “proteínas de resistencia a antibióticos”, que pudieran comprometer los tratamientos antibióticos orales.

Ahora bien, en lo que respecta a la probabilidad de difusión horizontal de estos ARMGs desde el Organismo Modificado Genéticamente a bacterias intestinales o ambientales, el Panel de Expertos de la EFSA lo considera “*un suceso muy improbable*” (*EFSA Scientific Advice on the use of antibiotic resistance marker genes in genetically modified plants 19/04/2004*).

En cualquier caso, el problema se está afrontando desde una doble perspectiva:

- Por un lado, la Directiva 2001/18 ha exigido que los OMG que contengan genes de resistencia a antibióticos utilizados en medicina humana o veterinaria, sean tomados en particular consideración a la hora de llevar a cabo los ensayos de riesgo ambientales. El fin último de ello, pasa por identificar y eliminar aquellos OMG que contengan ARMGs con posibles efectos adversos para la salud humana o la seguridad ambiental.
- Por otra parte, el Panel de Expertos de la EFSA, ha propuesto clasificar los ARMGs en tres grupos con medidas preventivas diferentes:
 - a) Grupo ARMGs 1: Son aquellos que contienen genes de resistencia ampliamente distribuidos en el suelo y las bacterias entéricas, y que confieren resistencia a antibióticos con poca relevancia en medicina humana y de uso restringido a casos definidos en medicina veterinaria. En este grupo se incluyen los genes *nptII* que codifican resistencia a vancomicina y neomicina, y con un histórico de 13 años de utilización segura en cultivos; así como el gen *hph* que codifica resistencia a higromicina; antibiótico que no se emplea en medicina humana. Para este grupo de marcadores, no se exigirían restricciones especiales ni en el campo de la experimentación; ni en la puesta en el mercado.
 - b) Grupo ARMGs 2: Son aquellos que contienen genes de resistencia ampliamente distribuidos en microorganismos ambientales, y confieren resistencia a antibióticos usados para terapia humana y animal en casos definidos. En este grupo se incluyen los genes *CmR* que codifican resistencia a cloramfenicol, *amp^r*, que codifica resistencia a ampicilina, y *aadA*, a estreptomina y espectinomicina. Su uso se debería restringir exclusivamente al campo de la investigación; y no a plantas modificadas genéticamente para su puesta en el mercado.
 - c) Grupo ARMGs 3: Son aquellos que contienen genes de resistencia a antibióticos

muy relevantes en terapia humana como el gen *nptIII*, que confiere resistencia a amikacina y el gen *tetA*, a tetraciclinas. El uso de tales genes, se debería evitar en todos los casos.

4. *La incorporación al organismo, de microorganismos resistentes “procedentes de” o “a través de” las siguientes vías:*

A) Por ingestión, o bien de alimentos contaminados “en origen” (obtenidos de animales que “en vida” eran portadores de aquellos microorganismos); o bien de alimentos que se han contaminado a lo largo de la cadena alimentaria con tales microorganismos:

El alimento se puede contaminar con gérmenes patógenos:

- Bien porque el animal del que se obtuvo, era portador de aquel germen (pensemos por ejemplo en un queso fresco contaminado con *Brucella melitensis* resistente),
- Bien porque el alimento se ha contaminado durante su elaboración (imaginemos ahora una canal que durante su evisceración se contamina con *Campylobacter* resistente).

Actualmente, los alimentos se consideran el principal vector de diseminación de resistencias bacterianas. Y en particular, el mayor riesgo se asocia con agentes zoonóticos de transmisión alimentaria, tales como *Salmonella* y *Campylobacter*, procedentes del ganado (“*Opinión del panel de aditivos en alimentación animal sobre los criterios para evaluar bacterias usadas como aditivos en alimentación animal con respecto a su posible resistencia a antibióticos de importancia humana o veterinaria 25/05/2005*”).

De todo ello se deduce, la importancia de garantizar la adecuada higiene en los procesos productivos (carnización, procesado de carnes, leches, pescados y huevos). Existe en este sentido, una amplia normativa (Reglamentos 852, 853 y 854/2004) dirigida a regular las condiciones higiénico sanitarias de los procesos productivos.

B) *Por contacto con animales vivos, enfermos o portadores de bacterias resistentes (Brucella melitensis, Tuberculosis zoonótica por Mycobacterium bovis resistentes, etc.):*

En general, los animales portadores de microorganismos resistentes, juegan un papel muy importante en la epidemiología de las resistencias bacterianas, ya sea actuando como fuente de infección; ya sea actuando como vector a través de alimentos obtenidos de ellos.

De todo ello se deduce, la gran importancia que en la lucha contra las resistencias, juega la prevención de los procesos infecciosos tanto en animales de producción como en animales de compañía, con el fin de reducir en lo posible, la necesidad de administrar antibióticos (higiene de las explotaciones, vacunaciones y otros tratamientos alternativos, normas de bienestar animal, y en general

todas aquellas medidas alternativas que sirvan para reforzar la inmunocompetencia de los animales). No hay que olvidar en este sentido, que el uso de antibióticos sigue siendo indispensable para el tratamiento de procesos infecciosos tanto en medicina humana como animal. Si pudiéramos de hecho prescindir de ellos, con toda seguridad las resistencias bacterianas no existirían, puesto que en definitiva su aparición no es otra cosa que consecuencia de la presión selectiva que ejercemos frente a ellos; y la respuesta de los gérmenes a su necesidad de supervivencia frente a dicha presión.

C) Por contacto con bacterias resistentes presentes en el medio ambiente: Se trata de bacterias saprofitas que pueden transferir sus resistencias adquiridas, a patógenos humanos (p. ej. bacterias entéricas procedentes de animales de producción o de compañía que contaminan los suelos). De lo que se deduce la importancia que tiene el tratamiento higiénico de los purines y la retirada higiénica de las heces de nuestras mascotas.

Mecanismos de transmisión a los animales

Dado el papel tan importante que la Medicina Veterinaria juega en las resistencias bacterianas, es necesario analizar las causas por las que los animales llegan a ser portadores de bacterias resistentes:

1) Al igual que ocurre en Medicina Humana, hay que considerar en primer lugar, la administración de antibióticos en los tratamientos veterinarios terapéuticos y profilácticos de forma reiterada y a baja dosis, ya sea consecuencia de una mala praxis, de la “auto-medicación” en dosis/tiempo inadecuados, o la utilización de medicamentos adulterados o caducados.

2) En Medicina Veterinaria sin embargo, hay que añadir un mecanismo de transmisión especialmente importante: La utilización de antibióticos como promotores del crecimiento: Se trata una vez más, de una variante del supuesto anterior. La administración de antibióticos a dosis subterapéuticas en los piensos animales, provoca un aumento en el índice de conversión y una mejora en la ganancia de peso de los animales de producción; razón por la que se han usado profusamente. Tras un intenso debate, y un largo proceso de restricción en su uso; definitivamente ha quedado prohibida la utilización de antibióticos como promotores del crecimiento.

Ya en su Dictamen de 28/05/99, el Comité Científico Director de la EFSA, señaló que la utilización de antimicrobianos como promotores del crecimiento y que también se usen en Medicina humana (es decir, cuando exista un riesgo de resistencia bacteriana cruzada), se debía ir reduciendo; y finalmente, suprimirse. Más adelante, en su segundo Dictamen de 10 y 11/05/01, se confirma la necesidad de prever un período de tiempo suficiente para reemplazar dichos antimicrobianos por productos alternativos, pues la retirada precipitada de los mismos, podía tener repercusiones negativas en la sanidad animal.

Finalmente se dictó el Reglamento 1831/2003 de aditivos en alimentación animal prohibiendo su utilización y, estableciendo el 2005 como plazo. Así pues, a partir de esa fecha, quedó prohibido el uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento (quedaron prohibidos los hasta entonces autorizados; y no se autorizan nuevos antibióticos para su utilización como aditivos en los piensos). Durante ese plazo, la EFSA se comprometió a examinar los progresos realizados en la búsqueda de sustancias y métodos alternativos (gestión de explotaciones, higiene, alimentación, etc.).

3) La utilización de aditivos microbianos en los piensos animales, abre de nuevo la posibilidad de transferirse genes de resistencia a la flora intestinal del ganado. Ante esta posibilidad, la autorización de este tipo de aditivos ha sido regulada de manera específica: Actualmente, se hace necesario evaluar la presencia de determinantes de resistencia a antibióticos (de uso humano o animal) en tales microorganismos. Los microorganismos propuestos se han de someter a la acción de una batería de 13 antibióticos, y comprobar si son susceptibles o resistentes a las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) establecidas como “puntos de ruptura”. Si son resistentes, se exige una investigación genética más profunda. A raíz de estas nuevas exigencias, se han ido realizando numerosos estudios de resistencias en bacterias usadas en alimentación animal (*Bacterias lácticas*, *Enterococos*, etc.), se han detectado nuevos transposones e integrones, etc.

DISCUSIÓN

Revisar la cadena epidemiológica de las enfermedades por microorganismos antibiótico resistentes (agentes etiológicos y mecanismos de transmisión), nos puede ayudar a identificar de forma precisa, aquellos eslabones en los que se introduce el peligro de transmisión de resistencias; y de esa manera, intentar dirigir su prevención y control de forma sistemática.

La epidemiología de las resistencias bacterianas parece poner de relieve la gran importancia que en su lucha, pueden llegar a tener las *siguientes tres líneas de intervención*:

1) *La vigilancia epidemiológica*: Existen en este sentido, numerosas Redes internacionales de Vigilancia que están realizando una labor importantísima (DANMAP, SVARM/SWEDRES, NORM-NORMVET, MARAN, La Red de Vigilancia Veterinaria en España, Estudio de Sanders et al 2002, Estudio de Moreno et al 2002, etc.). Podría ser interesante en este sentido, intentar coordinar de forma más estrecha, el gran esfuerzo de todas estas redes, hacia los objetivos comunes que todas ellas persiguen (búsqueda de agentes infecciosos sometidos a mayor presión antibiótica y antibióticos más usados en medicina humana y animal, vigilancia de los agentes

infeciosos, plásmidos de resistencia, transposones e integrones con mayor probabilidad o riesgo de difusión de genes de resistencia; muy en particular, la vigilancia de bacterias comensales entéricas, etc.); con el fin en última instancia, de optimizar ese esfuerzo.

2) La *Educación Sanitaria* resulta clave en el éxito de cualquier programa de Salud Pública. Se ha demostrado de hecho muchas veces, como la herramienta más eficiente en Salud Pública (por su relación coste/eficacia): Desde las Administraciones Sanitarias se vienen realizando grandes esfuerzos en este sentido, en forma de campañas de divulgación. Podría ser interesante en este sentido, intentar diseñar un *Programa de Educación Sanitaria Integral*, que incluya programas de Formación específicos dirigidos a cada uno de los profesionales implicados (médicos, veterinarios, farmacéuticos, ganaderos, profesionales de mataderos e industrias alimentarias, población general consumidora de antibióticos, etc.).

3) Y los *procedimientos de autorización* de medicamentos, OMGs, promotores y aditivos en alimentación animal, etc.

Algunos de los principales Organismos Internacionales, han dictado Códigos de Buenas Prácticas y Recomendaciones que son referencia en la lucha contra las Resistencias Bacterianas. Desde el punto de vista normativo, se aprecia sin embargo una legislación muy dispersa: Puesto que las Resistencias Bacterianas son un efecto secundario de la mala "praxis" en diferentes ámbitos (en el uso de medicamentos, en la sanidad animal, en la seguridad alimentaria, en el medio ambiente, etc.), la legislación al abordar estos ámbitos, levanta sin querer barreras contra las Resistencias. No existe sin embargo una normativa que específicamente aborde el problema de las RB de forma unificada, o un texto normativo de carácter obligatorio, que recapitule aquellas recomendaciones. En este sentido, los principales Organismos de Salud Pública (OMS, FAO, etc.) advierten de la necesidad de difundir una Normativa que contenga y obligue a los distintos sectores, a actuar de acuerdo con unas prácticas correctas.

BIBLIOGRAFÍA

- Quimioterapia antimicrobiana: Microbiología. Prescott.
- Agentes antimicrobianos y microorganismos. Doctor Pedro F. Mateos. Departamento de Microbiología y Genética. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apuacuba/a3agentes_antimicrobianos_y_microorganismos.pdf
- EFSA Scientific Advice on the use of antibiotic resistance marker genes in genetically modified plants 19/04/2004. www.efsa.europa.eu
- Opinión del panel de aditivos en alimentación animal sobre los criterios para evaluar bacterias usadas como aditivos en alimentación animal con respecto a su posible resistencia a antibióticos de importancia humana o veterinaria 25/05/2005. www.efsa.europa.eu
- Resistencia bacteriana a los antibióticos. Olga Gimeno y Carmelo Ortega. http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/antib_portugal1.pdf
- Resistencia bacteriana a los antibióticos. Enrique Iáñez. www.biologia.edu.ar/microgeneral/microianez/21_micro.htm
- Antibioterapia y salud pública. Olga Gimeno y Carmelo Ortega. http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/antib_portugal.pdf
- Antibiotic growth- promoters in food animals. FAO/OMS. www.fao.org/ag/againfo/resources/es/pubs_vph.html
- Guide to good dairy farming practice. FAO. www.fao.org/docrep/006/y5224e/y5224e00.htm
- Uso de antimicrobianos em animales de consumo. FAO. www.fao.org/docrep/007/y5468s/y5468s00.htm
- Estrategia mundial OMS de contención de La resistencia a los antimicrobianos. OMS. www.antibioticos.msc.es/PDF/resist_OMS_estrategia_mundial_resumen.pdf
- Código de Prácticas para reducir al mínimo y contener la resistencia a los antimicrobianos. CAC/RCP 61-2005.