

PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *Salmonella* GRUPO D (MÓVILES E INMÓVILES) AISLADAS DE PONEDORAS COMERCIALES EN COLOMBIA

J. Mantilla¹, M. Pulido², J. Jaime³

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Posgrado en Salud y Producción Animal,
Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá

Artículo recibido: 26 de enero de 2010; aprobado: 24 de mayo de 2010

RESUMEN

Las infecciones originadas por bacterias del género *Salmonella* son una de las principales causas de pérdidas económicas en la industria avícola, se caracterizan generalmente por la presentación de cuadros diarreicos y septicémicos que llevan a las aves a una marcada disminución en la producción y a la muerte. En Colombia, debido al efecto negativo que produce *Salmonella* spp. en las aves, y con el objetivo de poder controlar la enfermedad, se utiliza una gran variedad de productos antimicrobianos, de los cuales no se posee suficiente información acerca de su comportamiento en cuanto a sensibilidad y resistencia frente a las cepas de *Salmonella* spp. de campo. El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de 20 cepas de *Salmonellas* grupo D (móviles e inmóviles) aisladas de aves ponedoras comerciales en Colombia frente a diferentes antimicrobianos. Para su aislamiento y tipificación se utilizaron técnicas microbiológicas convencionales, pruebas bioquímicas, serológicas y pruebas de susceptibilidad a los antibióticos por difusión en agar. Los resultados revelaron una resistencia total hacia la estreptomicina, seguida de altas resistencias para tetraciclina y florfenicol, y una menor resistencia a productos como fosfomicina y cloramfenicol.

Palabras clave: *Salmonella* grupo D, prueba sensibilidad antimicrobiana, difusión en gel agar, sensidiscos antimicrobianos, ponedoras comerciales.

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TEST OF ISOLATES OF *Salmonella* GROUP D (MOBILE AND NON MOBILE) FROM COMMERCIAL LAYING HENS IN COLOMBIA

ABSTRACT

Infections caused by *Salmonella* bacteria are a major cause of economic losses in the poultry industry, because caused mainly by the presentation of diarrheas and septicemic birds leading to a marked decrease in the production death. In Colombia due to the negative effect by *Salmonella* spp. in poultry, and with the aim of controlling the

1. jmmantillap@unal.edu.co
2. mpulidola@unal.edu.co
3. jjaimec@unal.edu.co

disease, the people have been using a variety of antimicrobials, which do not possess sufficient information about its behavior in terms of sensitivity and resistance against strains of *Salmonella* spp. field. The aim of this study was to determine the response of 20 strains of *Salmonella* group D (mobile and non mobile) isolated from commercial laying hens in Colombia against different antimicrobials. For the isolation and characterization are using conventional microbiological techniques, biochemical tests, serological testing and antibiotic susceptibility by agar diffusion. The results revealed a total resistance to streptomycin, followed by tetracycline and Florfenicol and less resistance to products such as Fosfomicin and chloramphenicol.

Key words: *Salmonella* group D, antimicrobial susceptibility test, agar gel diffusion, sensidisc, antimicrobials, and commercial layers hens.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por *Salmonella* spp. en aves son producidas por dos tipos de microorganismos; las causadas por especies de *Salmonellas* móviles dentro de las cuales está *Salmonella enteritidis* que ocasiona las denominadas enfermedades paratifoideas, y las causadas por *Salmonellas* inmóviles en donde se encuentran *Salmonella gallinarum* causante de la tifoidea aviar, la cual afecta principalmente a aves adultas, y *Salmonella pullorum* que produce la pullorosis y afecta por lo general a aves jóvenes; aunque la motilidad en *Salmonella pullorum* es todavía controversial (1, 2, 3, 4). Ambas enfermedades son de gran importancia en la industria avícola debido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad que generan. En cuanto a las cepas móviles hay que tener en cuenta las implicaciones que poseen en salud pública.

Los productos como amoxicilinas, tetraciclinas y fluoroquinolonas podrían ser efectivos para el tratamiento, aunque ninguno de estos fármacos son capaces de eliminar la infección por completo (5). El aumento en los niveles de resistencia frente a los antimicrobianos utilizados comúnmente es relativo, y muchas veces estos tratamientos pueden fallar debido a que la cepa infectante se vuel-

ve resistente a éstos, lo que conlleva a la persistencia de la enfermedad (6).

El desarrollo de cepas resistentes frente a los antimicrobianos comúnmente usados es un tema de preocupación no solo en medicina veterinaria sino en salud pública. En muchos países se ha encontrado una alta proporción de cepas de *Salmonella* spp., resistentes a múltiples medicamentos y la principal causa de esta resistencia es el uso excesivo e indiscriminado de éstos (7)

La resistencia bacteriana es la capacidad de un microorganismo para desarrollar mecanismos de defensa contra la acción de los antibióticos (8), esta puede ser innata o adquirida (9, 10). La resistencia adquirida puede generarse por alteraciones que sufre el microorganismo debido a mutaciones cromosómicas o por mecanismos de transferencia de genes. Se han identificado varios elementos que participan en la transferencia de genes de resistencia, de los cuales los más conocidos son transposones, bacteriófagos, plásmidos, integrones y cassettes genéticos de resistencia. Estos tres últimos implicados en la resistencia de *Salmonella* spp. (11, 12, 13).

Con respecto a los mecanismos de resistencia que posee *Salmonella* spp. se conocen los siguientes:

- Producción de enzimas que inactivan los antibióticos siendo las betalactamasas las más importantes; a este mecanismo se le atribuye gran parte de la resistencia de *Salmonella* spp. frente a penicilinas, cefalosporinas, ampicilinas, ceftiofur y ceftriaxona (14, 15). Gran parte de la resistencia a aminoglucósidos en *Salmonella* spp. se asocia a la modificación de enzimas que incluyen a los aminoglucósidos fosfotransferasas, aminoglucósidos acetiltransferasas y adeniltransferasas, los cuales funcionan mediante la fosforilación, acetilación y adenilación de sus aminoglucósidos (16).
- Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana; esto generalmente se da por medio de mutaciones, para el caso de las quinolonas estas mutaciones se dan en los genes que codifican para las topoisomerasas bacterianas, éstas son el sitio de acción de estos fármacos (8, 10, 17, 18).
- La expulsión de antibióticos como tetraciclina y cloramfenicol mediante bombas de flujo (10).

Existe gran variedad de técnicas de laboratorio que permiten evaluar la sensibilidad de bacterias in vitro; dentro de éstas se encuentran las pruebas de difusión por discos y las pruebas de dilución en caldo y en agar, esta última es la más utilizada debido a que se encuentra normalizada y está recomendada por el Comité Nacional para la Normatización de Laboratorios Clínicos (NCCLS, por su sigla en inglés). Dentro de estas pruebas se encuentra el método de Kirby-Bauer, el cual ha sido descrito de manera más completa, y se han desarrollado tablas de interpretación respaldadas por datos

clínicos y de laboratorio; este método consiste en el uso de una cantidad determinada del antimicrobiano en un disco de papel (sensidisco) aplicado sobre la superficie del agar en el que se ha sembrado el microorganismo, de esta forma se genera un gradiente de concentración del antimicrobiano. La sensibilidad del microorganismo está indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del sensidisco (19, 20, 21).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la susceptibilidad de 20 cepas de *Salmonella* grupo D (móviles e inmóviles) aisladas en ponedoras comerciales en Colombia, que presentaron cuadros de elevada mortalidad y disminución en la producción, frente a 18 productos, con el fin de evaluar la respuesta de estas cepas frente a antimicrobianos tanto de uso común como restringido en avicultura (cloramfenicol).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas utilizadas

Para este trabajo se utilizaron 20 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de ponedoras comerciales, las cuales fueron tipificadas y clasificadas como grupo D, utilizando antiseros polivalentes para *Salmonella* (Poly A-I y Vi) (B.D Difco®) y antisero *Salmonella* factor 9 para grupo D (B.D Difco®). Se realizaron pruebas de motilidad con los agares Sulfuro Indol Motilidad (SIM) y Medio para Prueba de Motilidad (Motility Test Medium), el resultado fue 13 aislamientos de cepas inmóviles y 7 de cepas móviles; a las 13 inmóviles se les realizó tipificación molecular mediante PCR específico con lo que se obtuvieron 11 cepas de *Salmonella gallinarum* y 2 cepas de *Salmonella pullorum*.

Prueba de sensibilidad

Se preparó el agar Mueller-Hinton, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (OXOID®), y se vertió en cajas de Petri de 150 mm dejando un espesor de 15 milímetros (aproximadamente 20 a 25 mililitros). Posteriormente, se sometió a prueba de esterilidad la cual consiste en la incubación por 24 horas a 37 °C. Una vez transcurrido este tiempo se verificó que no hubiera crecimiento de colonias en el medio, lo que significaba que se podía utilizar para la prueba.

Se realizó una suspensión de la bacteria en solución salina al 0,85% (tubo 0,5 de la escala de Mac-Farland), lo cual es

equivalente a inocular $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ml, y se procedió a la siembra en el medio Mueller-Hinton. Se seleccionaron los sensibilizados teniendo en cuenta que se trataba de enterobacterias gram negativas (22); se introdujeron 7 discos, 6 en la periferia y 1 en el centro, y fueron incubados durante 24 horas a 37 °C. Luego del periodo de incubación se midieron los halos con una regla de medición común. Los resultados se interpretaron como sensible, sensibilidad media o resistente de acuerdo con el diámetro del halo de inhibición tomado en mm y usando como referencia la tabla del NCCLS (tabla 1).

TABLA 1. Lectura e interpretación de las zonas de inhibición

Antimicrobiano	Resistente (Halo mm)	Sensibilidad media (Halo mm)	Sensible (Halo mm)
Amikacina	12	13-14	15
Amoxicilina	16	17-20	21
Ampicilina	12	13-15	16
Cefalexina	13	14-17	18
Ciprofloxacina	12	13-17	16
Cloramfenicol	12	13-16	17
Doxiciclina	10	11-15	16
Enrofloxacina	14	15-18	19
Estreptomina	12	13-16	17
Florfenicol	12	13-17	18
Fosfomicina	15	16-20	21
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato	13	14-16	17
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y Tilosina	16	17-20	21
Gentamicina	12	13-15	16
Kanamicina	15	16-20	21
Norfloxacina	14	15-16	17
Tetraciclina	14	15-17	18
Trimetoprim sulfa	18	19-22	23

Fuente: Normas CLSI-NCCLS, 2005.

RESULTADOS

Para el análisis de datos los resultados se expresaron en medidas de tendencia central como frecuencia y promedio, representados en figuras y tablas.

De las 20 cepas de *Salmonella* grupo D analizadas, se pudo determinar una resistencia total frente a estreptomycin con 20 cepas resistentes (100%), tetra-

ciclina con 18 (90%), florfenicol con 13 (65%), y una menor resistencia a productos como fosfomicina más tilosina en donde no se presentaron cepas resistentes, mientras la combinación fosfomicina más fructuosa obtuvo 2 cepas resistentes (10%) y fosfomicina sola mostró una cepa resistente (5%) (tabla 2, figura 1).

TABLA 2. Resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana (difusión en agar) de 20 aislamientos de *Salmonella* grupo D en ponedoras comerciales

Antimicrobiano	Resistencia (N° cepas)	%	Sensibilidad Media	%	Sensibilidad (N° cepas)	%
Amikacina	6	30	5	25	9	45
Amoxicilina	9	45	8	40	3	15
Ampicilina	6	0	10	50	4	20
Cefalexina	8	40	0	0	12	60
Ciprofloxacina	6	30	8	40	6	30
Cloramfenicol	1	5	2	10	17	85
Doxiciclina	7	35	9	45	4	20
Enrofloxacin	6	30	6	30	8	40
Florfenicol	13	65	3	15	4	20
Fosfomicina	1	5	6	30	13	65
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato	2	10	0	0	18	90
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y Tilosina	0	0	0	0	20	100
Gentamicina	4	20	6	30	10	50
Kanamicina	6	30	7	35	7	35
Norfloxacin	4	20	15	75	1	5
Estreptomycin	20	100	0	0	0	0
Tetraciclina	18	90	1	5	1	5
Trimetoprim sulfá	0	0	3	15	17	85

La sensibilidad en ambas cepas fue elevada para fosfomicina más fructuosa con un 92,3% para cepas inmóviles y 85,7% para cepas móviles. En el caso del cloramfenicol se observó una cepa móvil resistente y una cepa inmóvil con sensi-

bilidad media, que alcanza el 92,3% de sensibilidad.

Para la estreptomycin todas las cepas obtuvieron el mismo porcentaje de resistencia (100%). La resistencia varió en los casos de tetraciclinas pues fue mayor

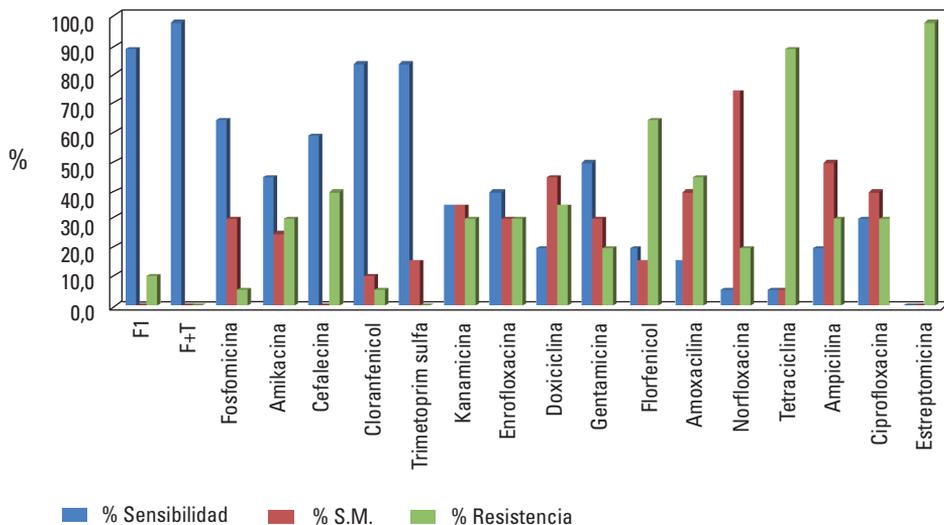


FIGURA 1. Resultados de la prueba de sensibilidad antibiograma de 20 aislamientos de *Salmonella* grupo D provenientes de ponedoras comerciales (%)

F1: Fosfomicina más fructosa F+T: Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y Tilosina

en cepas inmóviles (92,3%) comparada con la resistencia de las cepas móviles (85,7%), la cual obtuvo una cepa con sensibilidad media frente a este fármaco. Las cepas inmóviles mostraron un mayor grado de resistencia frente a florfenicol con 76,9%, amikacina 38,5%, doxiciclina 38,5% y fosfomicina con el 7,7%, frente a las cepas móviles que mostraron para estos antibióticos un 42,9, 14,3, 28,6 y 0% de resistencia respectivamente. Las cepas móviles obtuvieron mayor resistencia para cefalexina, ampicilina y ciprofloxacina, las tres con el 57,1%; kanamicina y enrofloxacina, ambas con 42,9%, comparadas con las cepas inmóviles que obtuvieron para cefalexina y kanamicina 30,8%; enrofloxacina y norfloxacina

23,1%, y ampicilina y ciprofloxacina con 15,4% de resistencia (tabla 3, figura 2).

Comparando el comportamiento de las cepas de *Salmonella gallinarum* y *Salmonella pullorum* frente a estos antimicrobianos (tabla 4, figura 3) se pudo establecer que las cepas de *S. pullorum* tuvieron mayor porcentaje de resistencia frente a productos como amikacina y fosfomicina. Para todos los antimicrobianos, las cepas de *Salmonella gallinarum* mostraron más sensibilidad y tuvieron un comportamiento similar frente a trimetoprim sulfá, fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y cloranfenicol, a diferencia de una cepa *S. gallinarum* que tuvo una sensibilidad media frente a este último medicamento. En cuanto a estreptomicina, ambas cepas fueron resistentes.

TABLA 3. Resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana (difusión en agar) de cepas de *Salmonella* grupo D (13 inmóviles y 7 móviles)

Antimicrobiano	Inmóviles						Móviles					
	Resistencia N° cepas	%	SM	%	Sensibilidad N° cepas	%	Resistencia N° cepas	%	SM	%	Sensibilidad N° cepas	%
Amikacina	5	38,5	3	23,1	5	38,5	1	14,3	2	28,6	4	57,1
Amoxicilina	6	46,2	5	38,5	2	15,4	3	42,9	3	42,9	1	14,3
Ampicilina	2	15,4	7	53,8	4	30,8	4	57,1	3	42,9	0	0,0
Cefalexina	4	30,8	0	0,0	9	69,2	4	57,1	0	0,0	3	42,9
Ciprofloxacina	2	15,4	7	53,8	4	30,8	4	57,1	1	14,3	2	28,6
Cloramfenicol	0	0	1	7,7	12	92,3	1	14,3	1	14,3	5	71,4
Doxiciclina	5	38,5	5	38,5	3	23,1	2	28,6	4	57,1	1	14,3
Enrofloxacin	3	23,1	6	46,2	4	30,8	3	42,9	0	0,0	4	57,1
Streptomycin	13	100	0	0,0	0	0,0	7	100	0	0,0	0	0,0
Florfenicol	10	76,9	1	7,7	2	15,4	3	42,9	2	28,6	2	28,6
Fosfomicina	1	7,7	5	38,5	7	53,8	0	0	1	14,3	6	85,7
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato	1	7,7	0	0,0	12	92,3	1	14,3	0	0,0	6	85,7
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y Tilosina	0	0	0	0,0	13	100	0	0	0	0,0	7	100
Gentamicina	2	15,4	5	38,5	6	46,2	2	28,6	1	14,3	4	57,1
Kanamycin	4	30,8	3	23,1	6	46,2	3	42,9	3	42,9	1	14,3
Norfloxacin	3	23,1	9	69,2	1	7,7	1	14,3	6	85,7	0	0,0
Tetracycline	12	92,3	1	7,7	0	0,0	6	85,7	0	0,0	1	14,3
Trimetoprim sulf	0	0	2	15,4	11	84,6	0	0	1	14,3	6	85,7

SM: sensibilidad media

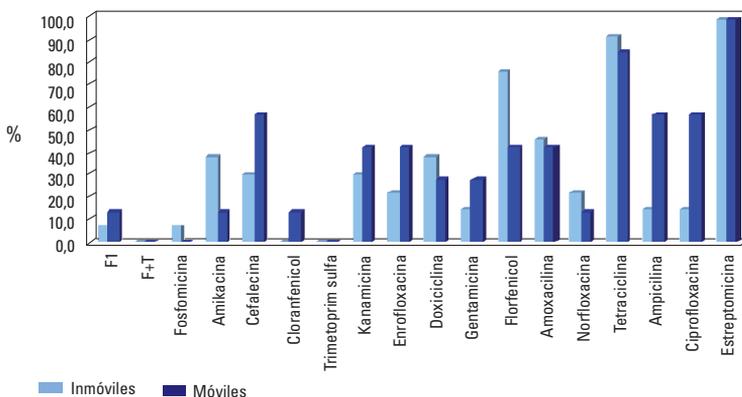


FIGURA 2. Resultados de la prueba de sensibilidad de 20 cepas de *Salmonella* grupo D (13 inmóviles y 7 móviles) aisladas de ponedoras comerciales (porcentaje de resistencia)

TABLA 4. Resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana (difusión en agar) de 11 cepas de *Salmonella gallinarum* y 2 de *Salmonella pullorum*

Antimicrobiano	<i>Salmonella gallinarum</i>						<i>Salmonella pullorum</i>					
	Resistencia N° cepas	%	SM	%	Sensibilidad N° cepas	%	Resistencia N° cepas	%	SM	%	Sensibilidad N° cepas	%
Amikacina	3	27,3	3	27,3	5	45,5	2	100	0	0,0	0	0,0
Amoxicilina	6	54,5	3	27,3	2	18,2	0	0,0	2	100	0	0,0
Ampicilina	1	9,1	7	63,6	3	27,3	1	50	0	0,0	1	50
Cefalexina	4	36,4	0	0,0	7	63,6	0	0,0	0	0,0	2	100
Ciprofloxacina	1	9,1	6	54,5	4	36,4	1	50	1	50	0	0,0
Cloramfenicol	0	0,0	1	9,1	10	90,9	0	0,0	0	0,0	2	100
Doxiciclina	5	45,5	3	27,3	3	27,3	0	0,0	2	100	0	0,0
Enrofloxacina	3	27,3	4	36,4	4	36,4	0	0,0	2	100	0	0,0
Estreptomicina	11	100	0	0,0	0	0,0	2	100	0	0,0	0	0,0
Florfenicol	8	72,7	1	9,1	2	18,2	2	100	0	0,0	0	0,0
Fosfomicina	1	9,1	4	36,4	6	54,5	0	0,0	1	50	1	50
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato	0	0,0	0	0,0	11	100	1	50	0	0,0	1	50
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y Tilosina	0	0,0	0	0,0	11	100	0	0,0	0	0,0	2	100
Gentamicina	2	18,2	5	45,5	4	36,4	0	0,0	0	0,0	2	100
Kanamicina	3	27,3	3	27,3	5	45,5	0	0,0	1	50	1	50
Norfloxacina	1	9,1	9	81,8	1	9,1	2	100	0	0,0	0	0,0
Tetraciclina	10	90,9	1	9,1	0	0,0	2	100	0	0,0	0	0,0
Trimetoprim sulfa	0	0,0	2	18,2	9	81,8	0	0,0	0	0,0	2	100

SM: sensibilidad media

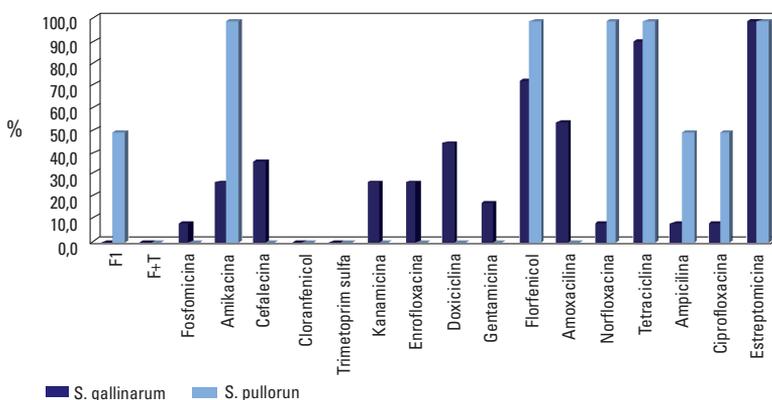


FIGURA 3. Resultados de la prueba sensibilidad de 11 cepas de *S. gallinarum* y 2 de *S. pullorum* aisladas de ponedoras comerciales (porcentaje de resistencia)

CONCLUSIONES

De acuerdo con los datos obtenidos en los análisis realizados a 20 cepas de *Salmonella* grupo D (móviles e inmóviles) aisladas en ponedoras comerciales, se pudo observar un comportamiento de resistencia muy variado que va desde el 0% para productos combinados como fosfomicina más tilosina y trimetoprim sulfá, hasta el 95% y 100% para productos de uso común, como estreptomina y tetraciclinas. Los porcentajes de sensibilidad que presentaron los productos combinados se pueden deber a que aún se registra poco uso de éstos. Por el contrario, los elevados niveles de resistencia que se evidenciaron para otros medicamentos podrían explicarse por el continuo uso de los mismos, lo que genera una presión de selección sobre las cepas de *Salmonellas* grupo D aisladas.

El cloramfenicol ha sido prohibido por la OIE en animales de abasto. Por tal motivo, se esperaría un porcentaje de sensibilidad del 100%, pero el valor obtenido fue de 85%, por tal motivo es recomendable tomar medidas estrictas de control para el uso de estos productos.

Comparando cepas móviles con inmóviles se pudo observar que ambas obtuvieron una respuesta similar para tetraciclina y estreptomina, con un porcentaje de resistencia por encima del 90%, esto puede deberse al continuo uso de estos medicamentos para tratar dos tipos de enfermedades en aves (púlorosis y tifoidea aviar, producidas por las cepas inmóviles y enfermedades paratifoideas producidas por cepas móviles).

Tanto *Salmonella pullorum* como *Salmonella gallinarum* mostraron resistencia similar a estreptomina y tetraciclinas; por el contrario, frente a amikacina, la biovariedad *gallinarum* fue más sensible,

por tal motivo sería necesario realizar un estudio en donde se evalúe un número mayor de cepas de *Salmonella pullorum*, con el fin de poder determinar con mayor precisión su comportamiento frente a estos antimicrobianos.

El género *Salmonella* son microorganismos que se puede transmitir directamente de la gallina, ya sea por su presencia en los folículos ováricos o por contaminación en la cáscara mediante materia fecal. Es importante resaltar que la presencia de esta bacteria altera la calidad e inocuidad del huevo, no solo por contaminación directa, sino por los residuos de antimicrobianos utilizados indiscriminadamente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Colombia por facilitar las instalaciones para el desarrollo del experimento. Al Laboratorio de Patología Aviar, y a todo su personal, por su colaboración y por contribuir al desarrollo del proyecto.

REFERENCIAS

1. Holt P, Chaubal L. Detection of motility and putative synthesis of flagellar proteins in *Salmonella pullorum* cultures. J Clin Microbiol 1997; 35 (4): 1016-20.
2. Chaubal L, Holt PS. Characterization of swimming motility and identification of flagellar proteins in *Salmonella pullorum* isolates. Am J Vet Res 1999;60:1322-7.
3. Chadfield S, Christensen JP, Madsen M, Sonne HJ, Bisgaard M. Application of molecular methods for identification of strains classified as *Salmonella enterica* serovar 6, 7 by conventional serotyping. Avian Pathol 2002; 31:271-6.
4. Figueroa I, Rodríguez A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp. Rev Latinoam Microbiol 2005; 47:25-42.

5. Pattison M. Poultry diseases. 6 ed. Elsevier Health Sciences; 2008. pp.116-8.
6. Varma JK, Greene KD, Ovitt J, Barrett TJ, Medalla F, Angulo FJ. Hospitalization and antimicrobial resistance in *Salmonella* outbreaks, 1984-2002; 2005. Disponible en: www.cdc.gov/eid. 11, 6, 943-946.
7. World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific assessment; 2003 December 1-5; Ginebra, Suiza.
8. Jáuregui L, Zulaica H, Rojo L, Moreno F. Factores de riesgo para la adquisición de bacterias multirresistentes. Anales Médicos. An Med Asoc Med Hosp ABC 1996; 41(4):161-4.
9. Oficina de evaluación tecnológica (OTA). Impacts of antibiotic resistant bacteria. Washington D.C.; 1995.
10. Page C, Curtis M, Sutter M, Walkerm J, Hoffman B. Farmacología integrada infecciones bacterianas. Mecanismos de acción. Farmacología Integrada. Madrid: Elsevier; 1998. pp. 422-43.
11. Nastasi A, Mammina C. Presence of class I integrons in multidrug-resistant, low-prevalence *Salmonella* serotypes. Italy. Emerg Infect Dis 2001; 7(3):455-8.
12. Poole K. Overcoming multidrug resistance in gram-negative bacteria. Curr Opin Invest Drugs 2003; 4(2):128-139.
13. Chu C, Chiu C. Evolution of the virulence plasmids of non-typhoid *Salmonella* and its association with antimicrobial resistance. Microb Infect 2006; 8:1931-6.
14. Revathi G, Shannon K, Stapleton P, Jain KG. An outbreak of extended-spectrum, beta-lactamase-producing *Salmonella senftenberg* in a burns ward. J Hosp Infect 1998; 40:295-302.
15. Aarestrup FM, Hasman H, Olsen I, Sørensen G. International spread of bla_{CMY-2}-mediated cephalosporin resistance in a multiresistant *Salmonella enterica* serovar *heidelberg* isolate stemming from the importation of a boar by Denmark from Canada. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:1916-17.
16. Foley SL, Lynne AM. Food animal-associated *Salmonella challenges*: pathogenicity and antimicrobial resistance. J Anim Sci 2008; 86:173-87.
17. Heisig P. High-level fluoroquinolone resistance in a *Salmonella typhimurium* isolates due to alterations in both gyrA and gyrB genes. J Antimicrob Chemother 1993; 32:367-77.
18. Daza RM. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: Su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Inf Ter Sist Nac Salud 1998; 22:5767.
19. Malbrán C. Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales: test de difusión por discos y test de dilución. Buenos Aires: Ministerio de Salud, Subsecretaría de Investigación y Tecnología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Departamento Bacteriología, Servicio Antimicrobianos; 2001 (Documento M31-A NCCLS-Junio 1999).
20. Comité Nacional para la Normatización de Laboratorios Clínicos (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standard 2007; Seventh edition m2-a7; 20, 1.
21. Comité Nacional para la Normatización de Laboratorios Clínicos (NCCLS). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement 2001; m100-s11, 21, 1.
22. Famiglietti A, Quinteros M, Vázquez M, Marín M, Incola F, Radice M et ál. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en enterobacteriaceae. Rev Argent Microbiol 2005; 37:57-66.