

Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en Cepas de *Salmonella enterica* aisladas de infecciones en animales

DETECTION OF ACCSuT, BLEE AND AMPC RESISTANCE PHENOTYPES IN *SALMONELLA ENTERICA* STRAINS ISOLATED FROM INFECTIONS IN ANIMALS

David Centeno S.^{1,2}, Guillermo Salvatierra R.¹, Sonia Calle E.¹

RESUMEN

El objetivo del estudio fue detectar la presencia de perfiles de resistencia, BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido), AmpC (Betalactamasas AmpC) y fenotipo ACCSuT (resistencia a oxitetraciclina, ampicilina, estreptomycin, sulfatrimetopim y cloranfenicol) en aislados de *Salmonella enterica* mediante el uso de la técnica de Kirby Bauer. Se utilizaron 50 aislados de *Salmonella enterica* identificados según norma ISO: 6579 (2002) provenientes del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se trabajó con 20 antibióticos de relevancia en medicina humana y veterinaria. El 96% (48/50) de los aislados fueron resistentes a por lo menos un antibiótico. Las frecuencias más altas de resistencia se presentaron al cloranfenicol (94%), tobramicina (72%) y oxitetraciclina (49%). Se observaron porcentajes de resistencia bajos en aztreonam (5%), cefalosporinas (2-7%), sulfatrimetoprim (4%) y gentamicina (2%), resistencia intermedia a ciprofloxacino (4%) y una alta sensibilidad (100%) para amikacina. El 2% de los aislados presentó el fenotipo de resistencia BLEE, 2% el de betalactamasas tipo AmpC y 2% el fenotipo ACCSuT. Los resultados encontrados resaltan la importancia de la información generada por las pruebas de sensibilidad y su uso fundamental en la vigilancia y la detección de patrones de resistencia en *Salmonella*.

Palabras clave: *Salmonella entérica*; BLEE; AmpC; ACCSuT; resistencia antibiótica

ABSTRACT

The aim of this study was to detect the presence of resistance profiles, ESBL (Extended Spectrum Betalactamases), AmpC (AmpC Betalactamases) and ACCSuT phenotype (resistance to oxytetracycline, ampicillin, streptomycin, sulfatrimetropim, and chloramphenicol) in *Salmonella enterica* isolates by using the Kirby Bauer technique. Fifty isolates of *Salmonella enterica* identified according to ISO standard: 6579 (2002) were taken from the Laboratory of Microbiology of the Faculty of Veterinary Medicine of the National University of San Marcos. Twenty antibiotics of relevance in human and veterinary medicine were used. The results showed that 96% (48/50) of the isolates were resistant to at least one antibiotic. The highest frequencies of resistance were presented to chloramphenicol (94%), tobramycin (72%) and oxytetracycline (49%). Low resistance was observed in aztreonam (5%), cephalosporins (2-7%), sulfatrimethoprin (4%) and gentamicin (2%), intermediate resistance to ciprofloxacin (4%) and a high sensitivity (100%) to amikacin. In addition, 2% of the isolates presented the BLEE resistance phenotype, 2% the AmpC type beta-lactamases and 2% the ACCSuT phenotype. The results highlight the importance of the information generated by the sensitivity tests and their fundamental use in the monitoring and detection of resistance patterns in *Salmonella*.

Key words: *Salmonella enterica*; BLEE; AmpC; ACCSuT; antibiotic resistance

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una zoonosis de distribución mundial (Terragno *et al.*, 2007) y una de las causas más importantes de gastroenteritis en el humano, asociada al consumo de productos cárnicos (Baptista *et al.*, 2009). Usualmente, las infecciones gastroentéricas cursan con una gastroenteritis autolimitante. No obstante, es preocupante el incremento de aislados de *Salmonella enterica* resistentes a los antibióticos utilizados para el tratamiento (Terragno *et al.*, 2007; Guerri *et al.*, 2004; De Toro *et al.*, 2011).

La aparición y propagación de cepas de *Salmonella* spp con fenotipo multidrogorresistente ACCSuT (resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos, fenicoles, tetraciclinas y sulfamidas) o capaces de producir β -lactamasas se reportan globalmente, pues confieren resistencia a los betalac-

támicos y comprometen opciones terapéuticas. Existen diversos fenotipos de resistencia a betalactámicos, entre los que destacan cepas con BLEE (betalactamasas de espectro extendido) y betalactamasas tipo AmpC (Winokur *et al.*, 2001; Martínez y Ruiz de Alegría, 2009). En el Perú no se cuenta con suficiente información sobre fenotipos de resistencia en *Salmonella* de origen animal debido a la falta de estudios y dificultad técnica para su detección (Lezameta *et al.*, 2010).

El objetivo del estudio fue determinar los perfiles de resistencia y la presencia de cepas ACCSuT, BLEE y AmpC de 50 aislados de *Salmonella enterica* provenientes de diversas especies de animales domésticos, con el fin de generar conocimientos sobre la magnitud y distribución de estos fenotipos y contribuir en la vigilancia de la resistencia antibiótica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Experimental

Se utilizaron 50 aislados de *Salmonella enterica* del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima, Perú) durante 2015. Solo fueron utilizados los aislados obtenidos durante el periodo 2013-2015 e identificados según norma ISO: 6579(2002) como criterio de inclusión. Fueron utilizados aislados de distintas especies animales: ave 6, bovino 1, cobayo 19 y porcino 24. En tal sentido, no fue necesario realizar un cálculo de tamaño de muestra, debido a que el enfoque del estudio fue caracterizar la resistencia antimicrobiana de todos los aislamientos de *Salmonella* que cumplan con el criterio de inclusión indicado.

Reactivación de los Aislados

Los aislados de *Salmonella enterica* estaban criopreservados en viales de 1.5 ml utilizando caldo de cultivo tripticasa de soya (TSB) y glicerol 87%, en una proporción 50/50. Para el estudio, cada aislado fue sembrado por triplicado en agar nutritivo tripticasa de soya para su reactivación (Sánchez y Corrales, 2005).

Método Kirby Bauer

Se detectó la resistencia de los aislados a 20 antibióticos representativos de las distintas familias, siguiendo las recomendaciones del CLSI (2015). Los antibióticos utilizados fueron: ampicilina (10 µg), amoxicilina con ácido clavulónico (20 µg + 10 µg), cefalotina (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), cefepima (30 µg), aztreonam (30 µg), cefoxitina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), gentamicina (10 µg), tobramicina (10 µg), neomicina (30 µg), amikacina (30 µg), estreptomina (10 µg), ácido nalidíxico (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), oxitetraciclina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), trimetoprim/sulfametoxazol (1.25 µg + 23.75 µg) y cloxacilina (200 µg).

Detección del Fenotipo de Resistencia ACSSuT

Se evaluó el fenotipo de resistencia ACSSuT según resultados. Se consideró a un aislado positivo si presentó resistencia a cloranfenicol, ampicilina, estreptomina, sulfamidas, y tetraciclina.

Detección Fenotípica de β-lactamasas de Espectro Extendido (BLEE)

Se evaluó la presencia de BLEE mediante la técnica de doble disco según EUCAST (De Toro *et al.*, 2011). El protocolo consistió en situar un disco con cefotaxima, ceftazidima, cefepima y aztreonam a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con amoxicilina-ácido clavulánico. Se examinó visualmente la apariencia de las zonas de inhibición. Los resultados se interpretaron como positivo si se observó una ampliación del halo de inhibición o «zona fantasma».

Detección Fenotípica de β-lactamasas tipo AmpC

Se utilizaron dos protocolos para su detección.

- *Método de aproximación de discos.* Propuesto por Sanders C y Sanders W (1979), aplicable para β-lactamasas AmpC inducibles. La técnica consistió en colocar un disco de cefoxitina (antibiótico inductor) a una distancia de 27 mm centro-centro de un disco de ceftazidima y ceftriaxona (antibiótico sustrato, revelador o testigo). Los resultados se interpretaron como positivos si se observó un achatamiento del halo de inhibición (forma de D).
- *Uso de inhibidores específicos.* Se situó un disco con cefotaxima y un disco con ceftazidima a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco con cloxacilina o ácido borónico (Mirelis *et al.*, 2006). Los resultados se interpretaron como positivo si se observó una

Cuadro 1. Frecuencia de la susceptibilidad de 50 aislados de *Salmonella enterica* a 20 antibióticos

Antibiótico	Sensible		Intermedio		Resistente	
	n	%	n	%	n	%
Ácido nalidíxico (AN)	25	50	6	12	19	38
Amikacina (MK)	50	100	0	0	0	0
Amoxicilina-ácido clavulánico (AMC)	39	78	0	0	11	22
Ampicilina (AM)	32	64	5	10	13	26
Aztreonam (AZ)	44	88	1	2	5	10
Cefalotina (CF)	44	88	0	0	6	12
Cefepima (FEP)	44	88	3	6	3	6
Cefotaxima (CTX)	48	96	1	2	1	2
Cefoxitina (FOX)	42	84	2	4	6	12
Ceftazidima (CAZ)	42	84	3	6	5	10
Ceftriaxona (CRO)	48	96	0	0	2	4
Ciprofloxacina (CIP)	48	96	2	4	0	0
Cloranfenicol (C)	1	2	2	4	47	94
Cloxacilina (CX)	25	50	4	8	21	42
Estreptomina (S)	28	56	8	16	14	28
Gentamicina (G)	44	88	4	8	2	4
Neomicina (N)	25	50	5	10	20	40
Oxitetraciclina (OXT)	7	14	12	24	31	62
Sulfatrimetoprim (SXT)	42	84	4	8	4	8
Tobramicina (NN)	6	12	8	16	36	72

ampliación del halo de inhibición de cefotaxima o ceftazidima en la zona próxima al disco con cloxacilina (sinergia) o presencia de una «zona fantasma» (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor.

RESULTADOS

El 96% (48/50) de los aislados fueron resistentes a por lo menos un antibiótico. Las frecuencias más altas de resistencia se presentaron al cloranfenicol 94% (47/50), seguido por tobramicina 72% (36/50), oxitetraciclina 62% (31/50), cloxacilina 42% (21/50), neomicina 40% (20/50), ácido

nalidíxico 38% (19/50), estreptomina 28% (14/50), ampicilina 26% (13/26) y amoxicilina-ácido clavulánico 22% (11/22). Por otro lado, se observó porcentajes de resistencia bajos en aztreonam (10%), cefalosporinas (2-12%), sulfatrimetoprim (8%) y gentamicina (4%), así como una resistencia intermedia a ciprofloxacina (4%) y una sensibilidad del 100% para amikacina (Cuadro 1).

Se detectó la presencia del fenotipo ACSSuT en un 2% del total de aislados (1/50). El 80% de aislados presentó fenotipo de multidrogorresistencia (resistencia a tres o más antibióticos). Entre ellos, cloranfenicol-oxitetraciclina-tobramicina, cloranfenicol-ácido nalidíxico-tobramicina-neomicina y

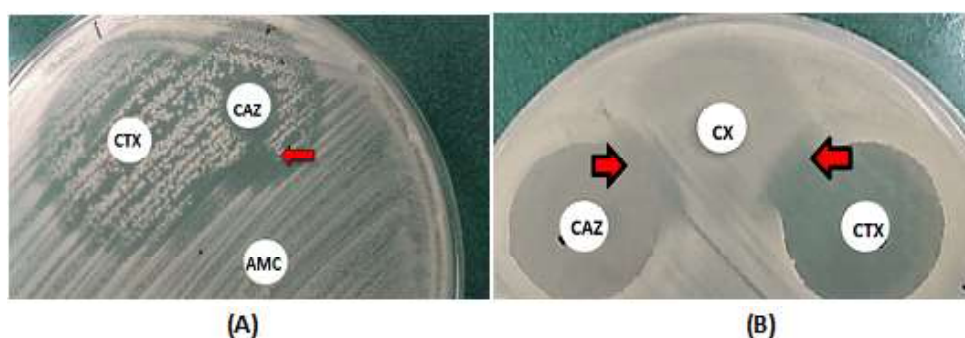


Figura 1. A. Presencia de fenotipo BLEE. Deformación (sinergia) del halo de inhibición de cefalosporina (ceftazidima) en presencia de ácido clavulánico (AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima); B. Presencia del fenotipo AmpC. Ampliación del halo de inhibición en la zona próxima a la cloxacilina (CX: cloxacilina, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima)

cloranfenicol-ácido nalidixico-oxitetraciclina-neomicina-tobramicina.

Según el protocolo utilizado para detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), el 2% (1/50) presentó un fenotipo de resistencia compatible (Figura 1). En el caso de las β -lactamasas AmpC se detectó el 2% (1/50) de aislados compatibles según el protocolo que incluyó el uso de inhibidores (Figura 2).

DISCUSIÓN

El 2% (1/50) resultó positivo al fenotipo de resistencia ACCSuT. La presencia de este fenotipo multidrogorresistente (cloranfenicol, ampicilina, estreptomina, sulfamidas, y tetraciclina) dificulta la elección de tratamiento debido a su amplio rango de resistencia. Este fenotipo no es muy común en *Salmonella*, aunque se han observado su presencia en 29.5% de 280 aislados de *Salmonella enterica* en hospitales españoles con este fenotipo (De Toro *et al.*, 2013).

Entre los antibióticos más utilizados para el tratamiento de infecciones producidas por *Salmonella enterica* figura la amoxicilina con

ácido clavulánico, cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas. La resistencia a fluoroquinolonas resulta todavía infrecuente en *Salmonella enterica*, posiblemente debido a que supone un alto coste energético para la bacteria (O'Regan *et al.*, 2010); por lo tanto, la resistencia intermedia encontrada en ciprofloxacino en dos aislados (4%) debe ser observada, ya que resultados de resistencia intermedia sirven como señales de alerta con relación al surgimiento de cepas resistentes. Los porcentajes de resistencia de 10% para ceftazidima, 2% para cefotaxima y 4% para ceftriaxona no son altos, aunque resulta preocupante el incremento de aislados de *Salmonella enterica* resistentes a cefalosporinas, antibióticos de amplio uso para el tratamiento (De Toro *et al.*, 2011).

El panorama de resistencia observado para el cloranfenicol resulta previsible. El cloranfenicol, fue una de las drogas de elección para el tratamiento de la fiebre tifoidea debido a su bajo costo y respuesta terapéutica satisfactoria. Los resultados señalaron resistencia elevada (94%) para el cloranfenicol, lo que demuestra que el estándar de sensibilidad a este antibiótico ha cambiado con el tiempo (Costa y Hofer, 1971; Edwards y Howell, 1986). Esta resistencia progresiva ha

sido descrita en México, India, Vietnam, Tailandia, Corea y Perú, así como para la ceftriaxona y al ácido nalidíxico (Rowe *et al.*, 1997; Hakanen *et al.*, 2005; Su *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2009).

El panorama general de resistencia encontrada para tobramicina (72%), oxitetraciclina (62%), cloxacilina (42%), neomicina (40%), ácido nalidíxico (38%), estreptomycin (28%), ampicilina (26%) y amoxicilina-ácido clavulánico (22%) debe ser observado con detenimiento, ya que los valores de resistencia sirven como señales de alerta para una mejor vigilancia con relación al surgimiento de cepas resistentes. El incremento de *Salmonella enterica* multirresistente a los antibióticos es un problema de importancia clínica (De Toro *et al.*, 2013). Uno de los factores más importantes que causan esta resistencia es el uso indiscriminado de antibióticos de forma empírica y por automedicación, sin una investigación para el diagnóstico adecuado de laboratorio, sea por falta de estructura y condiciones o por desinformación y negligencia de parte de los profesionales de salud en medicina humana y veterinaria (Fernandes y Ribeiro Filho, 2000).

El 2% de los aislados en el estudio presentó un fenotipo de resistencia compatible a BLEE. En un estudio en el Perú se encontró un 2.6% de *Salmonella* productora de BLEE de un total de 235 muestras fecales provenientes del Instituto Nacional del Niño (Colquechagua *et al.*, 2015). La detección de un aislado de *Salmonella enterica* compatible con BLEE es un importante motivo de preocupación de salud pública. La prevalencia de este tipo de β -lactamasas es muy baja en *Salmonella* (0.2-7%), pero compromete la eficacia del tratamiento con cefalosporinas de tercera generación (Meakins *et al.*, 2008; Pardos de la Gándara *et al.*, 2011).

Otro 2% de aislados presentó un fenotipo de resistencia compatible a β -lactamasas tipo AmpC. El hallazgo de este

tipo de enzimas tiene relevancia clínica indiscutible; más aún, cuando se han encontrado mecanismos de resistencia asociados. Muchos laboratorios no determinan la presencia de AmpC debido, entre otras causas, a que se requieren reactivos no disponibles de manera rutinaria en el laboratorio clínico. Es importante recalcar que las enzimas AmpC se asocian a fracasos terapéuticos, por lo que es importante que se empleen métodos para su detección fenotípica, haciendo una correcta lectura del antibiograma (Martínez, 2009).

La aparición de cepas de *Salmonella* resistentes a los antibióticos está relacionada con el abuso en la aplicación de estos agentes para el tratamiento en humanos y producciones pecuarias (WHO, 2004; De Toro, 2013). La propagación de cepas de *Salmonella* resistentes a los antimicrobianos ha sido reconocida por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), y la Organización Mundial de Salud (OMS), como un serio problema global de salud humana y animal (WHO, 2004; OIE, 2008; FAO, 2017). El desarrollo de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos no es un fenómeno inesperado ni nuevo; sin embargo, es una situación problemática debido a la frecuencia con la que nuevos fenotipos de resistencia emergentes ocurren (OIE, 2008). La presión selectiva ejercida por factores externos, como el mal uso, venta libre y falta de suficientes normas regulatorias del uso de antibióticos en medicina humana, veterinaria o agricultura, junto a los diversos mecanismos de resistencia y transferencia genética que poseen las bacterias, contribuyen considerablemente a esta situación.

CONCLUSIONES

- El 80% (40/50) de aislados de *Salmonella enterica* presentó mutidrogosresistencia a tres o más familias de antibióticos.

- Se identificó el fenotipo de penta-resistencia ACCSuT en el 2% (1/50) de aislados de *Salmonella enterica*.
- En el 2% de aislados se detectó la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
- En el 2% de aislados se detectó la presencia de betalactamasas tipo AmpC.

LITERATURA CITADA

1. **Baptista F, Alban L, Ersbøll A, Nielsen L. 2009.** Factors affecting persistence of high *Salmonella* serology in Danish pig herds. *Prev Vet Med* 92: 301-308. doi: 10.1016/j.prevetmed.2009.08.005
2. **[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fifth formational supplement. CLSI 35(3) M100-S25.
3. **Costa GA, Hofer E. 1971.** Resistência ao cloranfenicol de amostras de *Salmonella typhi* isoladas em alguns Estados do Brasil. *Hospital* 79: 229-242.
4. **De Toro M. 2013.** Resistencia a â-láctamicos y fluoroquinolonas en *Salmonella enterica*. Mecanismos moleculares y elementos de movilización génica. Tesis Doctoral. Logroño: Universidad de La Rioja. 343 p.
5. **De Toro M, Sáenz Y, Cercenado E, Rojo-Bezares B, García-Campello M, Undabeitia E, Torres C. 2011.** Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in *Salmonella enterica* from three Spanish hospitals. *Int Microbiol* 14: 173-181. doi: 10.2436/20.1501.01.146
6. **De Toro M, Seral C, Rojo-Bezares B, Torres C, Castillo J, Sáenz Y. 2013.** Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella enterica*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 32: 4-10. doi: 10.1016/j.eimc.2013.03.006
7. **Edwards P, Howell W. 1986.** Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. New York: Elsevier. 536 p.
8. **Colquechagua A, Sevilla C, Gonzales E. 2015.** Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú. *Rev Per Med Exp Salud Pública* 32: 26-32. doi: 10.17843/rpmesp.2015.321.1571
9. **[FAO]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura 2017.** Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/antimicrobial-resistance/es/>
10. **Fernandes AT, Ribeiro Filho N. 2000.** Infecção hospitalar. En: Fernandes AT, Fernandes MAV, Ribeiro Filho N (eds). *Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde*. São Paulo: Atheneu. p 163-214.
11. **Guerri ML, Aldueña A, Echeita A, Rotger R. 2004.** Detection of integrons and antibiotic-resistance genes en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated with resistance to ampicillin and variable susceptibility to amoxicillin-clavulanate. *Int J Antimicrob Agents* 24: 327-333. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.04.009
12. **Hakanen AJ, Lindgren M, Huovinen P, Jalava J, Siitonen A, Kotilainen P. 2005.** New quinolone resistance phenomenon in *Salmonella enterica*: nalidixic acid-susceptible isolates with reduced fluoroquinolone susceptibility. *J Clin Microbiol* 43: 5775-5778. doi: 10.1128/JCM.43.11.5775-5778.2005
13. **ISO. 2012. ISO 6579:2002.** Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp [Internet]. Available in: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=29315
14. **Kumar Y, Sharma A, Mani KR. 2009.** High level of resistance to nalidixic acid in *Salmonella enterica* serovar Typhi in Central India. *J Infect Dev Ctries* 3: 467-469.

15. **Lezameta L, Gonzales Escalante E, Tamariz J. 2010.** Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasa de espectro extendido. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 27: 345-351.
16. **Martínez L, Ruiz de Alegría C. 2009.** *Escherichia coli* resistente a gentamicina y sensible a amikacina. En: Alós JI, Cantón R, Martínez-Martínez L, Vila J (eds). Atlas del antibiograma. España: Biomérieux University. p 141-143.
17. **Martínez D. 2009.** Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica. *Rev Soc Venez Microbiol* 29(2): 78-83.
18. **Meakins S, Fisher IS, Berghold C, Germer-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M, Luzzi I, et al. 2008.** Antimicrobial drug resistance in human nontyphoidal *Salmonella* isolates in Europe 2000-2004: a report from the Enter-net International Surveillance Network. *Microb Drug Resist* 14: 32-35. doi: 10.1089/mdr.2008.0777
19. **Mirelis B, Rivera A, Miró E, Mesa R, Navarro F, Coll P. 2006.** A simple phenotypic method for differentiation between acquired and chromosomal AmpC B-lactamases in *Escherichia coli*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24: 370-372. doi: 10.1157/13089690
20. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2008.** Métodos de laboratorio para los ensayos de sensibilidad de las bacterias frente a los antimicrobianos. [Internet]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.1_M-C3%A9todos_laboratorio.pdf
21. **O'Regan E, Quinn T, Frye JG, Pagès JM, Porwollik S, Fedorka-Cray PJ, McClelland M, Fanning S. 2010.** Fitness costs and stability of a high-level ciprofloxacin resistance phenotype in *Salmonella enterica* serotype enteritidis: reduced infectivity associated with decreased expression of *Salmonella* pathogenicity island 1 genes. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 367-374. doi: 10.1128/AAC.00801-09
22. **Pardos de la Gándara M, Seral C, Castillo García J, Rubio Calvo C, Weill FX. 2011.** Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing *Salmonella enterica* isolates in Saragosa, Spain (2001-2008). *Microb Drug Resist* 17: 207-213. doi: 10.1089/mdr.2010.0105
23. **Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ. 1997.** Multidrug-resistant *Salmonella typhi*: a worldwide epidemic. *Clin Infect Dis* 24(Suppl 1): S106-S199. doi: 10.1093/clinids/24.Supplement_1.S106
24. **Sánchez L, Corrales L. 2005.** Evaluación de la congelación para conservación de especies autóctonas bacterianas. *Nova* 3(4): 21-29.
25. **Sanders CC, Sanders WE. 1979.** Emergence of resistance to cefamandole: posible role of cefoxitin inducible β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 15: 792-797.
26. **Su LH, Wu TL, Chia JH, Chu C, Kuo AJ, Chiu CH. 2005.** Increasing ceftriaxone resistance in *Salmonella* isolates from a university hospital in Taiwan. *J Antimicrob Chemother* 55: 846-852. doi: 10.1093/jac/dki116
27. **Terragno R, Caffer M, Bruno S, Binsztein N. 2007.** *Salmonella*: aislamiento, identificación y serotipificación. En: Manual de procedimientos. Argentina: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán». 76 p. [Internet]. Disponible en: http://bvs.panalimentos.org/local/File/Manual_Salmonella_1-02-07.pdf
28. **[WHO]. 2004.** Joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific Assessment. [Internet]. Available in: <http://www.fao.org/3/a-bq500e.pdf>
29. **Winokur P, Canton R, Casellas J, Legakis N. 2001.** Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype of isolates from Europe the Americas and the Western Pacific Region. *Clin Infect Dis* 32(Suppl 2): S94-S103.