

Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario

TANIA JUNOD^a, JUANA LÓPEZ-MARTIN^a, PAULA GÄDICKE^a

Antimicrobial susceptibility of animal and food isolates of *Salmonella enterica*

Departamento Patología y Medicina Preventiva, Universidad de Concepción, Campus Chillán.
^aMédico veterinario.

Recibido el 25 de abril de 2012, aceptado el 15 de noviembre de 2012.

Correspondencia a:
Tania Junod
Av. Vicente Méndez 595,
Chillán, Chile.
Fono: 56-42-208908
Fax: 56-42-273201,
E-mail: taniajunod@udec.cl

Background: Bacterial resistance to one or more antimicrobials is worrisome. **Aim:** To determine the susceptibility to antimicrobials of *Salmonella enterica* isolates from animals and food, from the Laboratory of Veterinary Microbiology at the University of Concepción. **Material and Methods:** The samples were isolated according to traditional microbiological methods standardized protocols. Resistance was determined by the Kirby-Bauer method and minimal inhibitory concentration (MIC), following Clinical and Laboratory Standards Institute recommendations (2008). **Results:** Nine serotypes were identified among the 68 isolates. Strains were resistant to one or more antibiotics and 11 patterns of resistance were identified. Multidrug resistance (MDR) was observed in 20.5% of the strains tested. The most common was Oxytetracycline resistance (69.1%). In food, the predominant serotype was *S. Derby* (2.9%) and *S. Senftenberg* (2.9%), which is commonly found in food intended for animal consumption. In samples of animal origin, the predominant serotypes were *S. infantis* (33.8%) and *S. Group E* (3.9 ;;-) (23.5%). **Conclusions:** The frequency of resistance found and the impending risk that these strains could reach humans through the food chain, should prompt a follow-up study of this pathogen.

(Rev Med Chile 2013; 141: 298-304).

Key words: Drug resistance, bacterial; Microbial sensitivity tests; *Salmonella enterica*.

El género *Salmonella* presenta más de 2.500 serovares diferentes, algunos con gran virulencia y resistencia a múltiples antibióticos^{1,2,3}. La amplia distribución de *Salmonella enterica* en el entorno, su prevalencia en la cadena alimentaria global, su virulencia y adaptabilidad tienen un enorme impacto en medicina, en salud pública y en la economía, dado el incremento de los brotes que se han presentado tanto en Chile como a nivel mundial^{4,5}. El principal reservorio de *Salmonella* corresponde al tracto gastrointestinal de mamíferos, reptiles, aves e insectos, domesticados y salvajes^{6,7,8}, estos animales jugarían un importante rol en la diseminación de este microorganismo en el medioambiente⁹. El uso indiscriminado de antibióticos en animales puede aumentar

la selección de bacterias resistentes, que no sólo pueden infectar al hombre sino también causarle enfermedad. Se ha evidenciado la asociación entre el uso de antibióticos en alimentos animales con la resistencia de *Salmonella* aisladas en humanos¹⁰. Esto trae consecuencias sobre la salud humana como infecciones de mayor severidad y aumento de la frecuencia en tratamientos fallidos¹⁰. Muchos microorganismos presentan resistencia a múltiples antibióticos, y debido a que la diseminación de genes de resistencia puede ocurrir entre cepas bacterianas de distinta especie y origen, el impacto en salud pública es relevante^{11,12}.

Existen programas de vigilancia de la resistencia antibiótica orientados principalmente a patógenos humanos, agentes causantes de zoonosis y

bacterias indicadoras¹³. Como un aporte en esta área, el objetivo del presente trabajo fue determinar la susceptibilidad y patrones de resistencia a diferentes antibióticos en cepas de *Salmonella enterica* aisladas en muestras de origen alimentario y animal. Esto dado que la resistencia en estos microorganismos va en aumento y es de vital importancia el conocer la situación en nuestro país para tomar medidas cautelares e idear estrategias que minimicen la presentación de resistencia tanto en antibióticos de uso veterinario como de uso humano.

Material y Métodos

Origen de las muestras

Se analizaron todos los aislados bacterianos obtenidos de muestras ingresadas al laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad de Concepción, durante dos años (junio de 2007 a junio de 2009).

Aislamiento y tipificación de *Salmonella* spp.

Se utilizó el método bacteriológico tradicional (FDA-BAM)¹⁴. Las muestras fueron sometidas a un preenriquecimiento en Agua Peptona tamponada (Merck®) por 24 h a 37°C, luego un enriquecimiento selectivo en caldo Tetrionato/caldo Rappaport por 24 h a 37°C, finalmente las muestras fueron traspasadas a placas de Agar XLD con Novobiocina (15 µm/ml) (Merck®) por 24-48 h a 42°C. Las colonias sospechosas de *Salmonella* se sometieron a una confirmación fenotípica en TSI, LIA, Citrato de Simmons y SIM (Merck®) a 37°C por 24-48 h y a confirmación serológica por aglutinación con suero polivalente O. Las cepas positivas fueron enviadas al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) para su serotipificación. Además, una vez aisladas se mantuvieron en cepario a -20°C.

Pruebas para determinar susceptibilidad antibiótica

Una vez tipificadas, las cepas aisladas durante el período fueron testeadas mediante método Kirby-Bauer bajo normas del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008), para verificar susceptibilidad a los siguientes antibióticos: enrofloxacin 30 µg, oxitetraciclina 30 µg, ceftiofur 30 µg, ampicilina 10 µg, sulfametoxazol-trimetropim 25 µg, amoxicilina 20 µg, y florfenicol 30 µg.

Los puntos de corte de resistencia se basaron en los especificados por CLSI (2008) (Tabla 1). Como control de calidad, se utilizó la cepa *E. coli* ATCC 25922¹⁵. Las cepas que presentaron resistencia a tres o más antibióticos de grupos farmacológicos no relacionados se consideraron como resistentes a múltiples drogas (MDR), con estos antecedentes se establecieron patrones según serovares.

A todas aquellas cepas de *Salmonella enterica* que resultaron resistentes mediante el método Kirby-Bauer frente a uno o más de los antibióticos analizados, se les realizó concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante método de macro dilución en series de caldo Mueller Hinton (Merck®), de acuerdo a las indicaciones del CLSI(2008). Se preparó una solución madre de cada uno de los antibióticos y la lectura de los tubos fue realizada luego de su siembra e incubación por 24 h a 37°C en caldo Mueller-Hinton expresada en µg/ml¹⁵.

Análisis estadístico

Para relacionar resistencia de cada antibiótico con el serovar de *Salmonella* y el origen de aislamiento, se realizaron regresiones logísticas multivariadas para el total de las cepas aisladas utilizando el software Stata SE 10.0 para Windows¹⁶, donde la variable dependiente fue la resistencia a cada antibiótico y las variables independientes el origen y serovar de las cepas; estas variables se probaron como confusores y se buscaron interacciones entre ellas, luego se construyeron los modelos en forma retrograda¹⁷. Las diferencias entre las medianas de CMI de cepas resistentes (según método Kirby-Bauer) entre los serovares y orígenes de aislamiento, se establecieron mediante test de Kruskal-Wallis, cuando existió un número adecuado de datos. Se realizó el cálculo de la CIM₅₀ y CIM₉₀. Además, para buscar los grupos de resistencia a antibióticos más relacionados con los serovares y orígenes se realizó un análisis de correspondencias múltiples (MCA), en el cual se grafican las dos dimensiones que agrupan la mayor variabilidad de los datos¹⁸, utilizando SE 10.0 para Windows.

Resultados

Aislamiento y tipificación de cepas

Se obtuvieron un total de 68 aislados de *Salmonella enterica* provenientes de bovinos, equinos, cerdos, gaviotas y alimentos, en el laboratorio de

Tabla 1. Antibióticos y concentraciones utilizadas para las pruebas de susceptibilidad en *Salmonella enterica*

Antibiótico	Abreviación	Niveles de susceptibilidad y resistencia ^a			
		Kirby Bauer		CMI	
		Resistente a (mm)	Sensible a (mm)	Resistente a (µm/ml)	Sensible a (µm/ml)
Enrofloxacin	Enr	≤ 16 ^b	≥ 23 ^b	≥ 4 ^b	≤ 1 ^b
Oxitetraciclina	Oxi	≤ 14	≥ 19	≥ 16	≤ 4
Ceftiofur	Cef	≤ 17 ^b	≥ 21 ^b	≥ 32 ^b	≤ 8 ^b
Ampicilina	Amp	≤ 13	≥ 17	NT	NT
Sulfametoxazol-trimetoprim	SuTri	≤ 10	≥ 16	NT	NT
Sulfadiazina	Sul	NT	NT	≥ 512	≤ 256
Trimetoprim	Tri	NT	NT	≥ 16	≤ 8
Amoxicilina	Amx	≤ 13	≥ 17	≥ 32/16	≤ 8/4
Florfenicol	Flo	≤ 12 ^b	≥ 18 ^b	≥ 32 ^b	≤ 8 ^b
Flumequina	Flu	NT	NT	≥ 4 ^b	≤ 1 ^b

NT: no testeado mediante este método. a: Los niveles de susceptibilidad y resistencia son los especificados en el CLSI (CLSI, 2008). b: No hay criterio de interpretación en el CLSI, las cepas se consideran resistentes a las concentraciones indicadas.

Tabla 2. Serovares positivos de *S. enterica* según origen de la muestra

Cepa bacteriana	n positivos					Total
	Alimento	Bovino	Equino	Cerdo	Gaviota	
<i>S. Thyphimurium</i>	0	3	2	4	0	9
<i>S. Worthington</i>	0	0	0	1	0	1
<i>S. Infantis</i>	1	0	0	23	0	24
S. GRUPO E (3,9:-:-)	0	0	0	16	0	16
<i>S. Enteritidis</i>	0	0	0	0	10	10
<i>S. Anatum</i>	0	0	0	1	0	1
<i>S. Derby</i>	2	0	0	2	0	4
<i>S. Senftenberg</i>	2	0	0	0	0	2
<i>S. Cholerasuis</i>	0	0	0	1	0	1
Total por cepa	5	3	2	48	10	68

Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad de Concepción. Se identificaron 9 serovares de *Salmonella* (Tabla 2). El 92,65% provenía de aislados de origen animal y el resto de origen alimentario. De los 63 aislados de origen animal 76,19% provenía de cerdos, 15,87% de gaviotas, 4,76% de bovinos y 3,17% de equinos.

Los aislados de *Salmonella thyphimurium* de

equino y porcino provenían de tracto gastrointestinal, y las de bovino provenían de bazo e hígado. Para *S. infantis* aislado en alimento, correspondía a un alimento destinado a consumo animal. Todas las *Salmonella enteritidis* provenía de tracto gastrointestinal. Uno de *Salmonella Derby* fue aislada de un alimento destinado a consumo humano, mientras que la otra fue de alimento destinado a consumo animal. Las dos cepas de *S. Senftenberg*

Tabla 3. Patrones MDR en serovares de *Salmonella* (Método Kirby Bauer)

Serovar	n aislados		Patrones de resistencia antimicrobiana MDR (número de serovares resistentes)
	Analizados	Resistentes (uno o más antibióticos)	
<i>S. Thyphimurium</i>	9	6	SuTri, Oxi, Amx, Amp (1) SuTri, Oxi, Cef (1)
<i>S. GRUPO E (3,9;-;-)</i>	16	14	Oxi, Amx, Cef, Enr, Amp (1) SuTri, Oxi, Amx, Enr, Amp (1) SuTri, Oxi, Flo, Amx, Amp (2) SuTri, Oxi, Cef (1) SuTri, Oxi, Amx, Cef, Amp (1) SuTri, Oxi, Flo (1)
<i>S. Derby</i>	4	4	SuTri, Oxi, Flo, Amx, Cef, Enr, Amp (1) SuTri, Oxi, Cef (1)

Tabla 4. Rangos de CMI₅₀ y CMI₉₀ en las cepas de *Salmonella* (n = 68)

Antibiótico	CMI ₅₀ (µg/mL)	CMI ₉₀ (µg/mL)
Enrofloxacino	2	16
Florfenicol	32	128
Oxitetraciclina	256	512
Sulfadoxina	256	512
Flumequina	128	512
Trimetoprim	1.024	1.024
Amoxicilina	512	1.024
Ceftiofur	16	16

fueron aisladas desde alimento destinado a consumo humano.

Susceptibilidad antibiótica

En las pruebas de susceptibilidad antibiótica (método Kirby Bauer), 34 cepas (50%) fueron resistentes a alguno de los antibióticos utilizados en el estudio, los cuales son de uso en terapia veterinaria y humana (Tabla 3). El 69,1% de las cepas presentó resistencia a oxitetraciclina.

Los aislados de *S. enteritidis*, *S. Worthington* y *S. anatum* fueron susceptibles a todos los antibióticos analizados en este estudio.

El 16,18% de las cepas analizadas presentaron MDR, que correspondió a 3 de los serovares aislados en este estudio: *S. thyphimurium* (22,2%),

S. Grupo E (3,6;-;-) (43,75%) y *S. Derby* (50%) (Tabla 3), siendo el 90,91% proveniente de porcinos. Se encontraron 11 patrones diferentes que incluyeron un mínimo de tres antibióticos y máximo de siete. El patrón más frecuente incluyó tres antibióticos: Cef,Oxi,STX; encontradas en *S. Derby*, *S. thyphimurium* y *S. Grupo E (3,9;-;-)*.

El modelo de regresión logística, que presentó relación significativa, indica que *S. Grupo E (3,9;-;-)*, tuvo más riesgo de ser resistente a oxitetraciclina que *S. thyphimurium* (OR: 7,7; IC95% 1,15; 51,17) ($p < 0,05$) para este grupo de cepas, mientras que los orígenes no demostraron asociación significativa con el riesgo de resistencia ($p > 0,05$).

El análisis de CMI para oxitetraciclina (30 cepas) indicó 96,66% de serovares resistentes. Los serovares *S. Derby* y *S. thyphimurium*, ambas aisladas de cerdos, fueron resistentes a ceftiofur. Enrofloxacino presentó 33,33% de los serovares resistentes, también provenientes de cerdos. Para el caso de amoxicilina, todos los serovares fueron resistentes según el análisis de CMI, mientras que para florfenicol se observó 60% de serovares resistentes. Para sulfadiazina (12 cepas) hubo 25% de serovares resistentes, mientras que flumequina (68 cepas) presentó 95,58% de serovares resistentes. Los rangos de CMI₅₀ y CMI₉₀ se observan en la Tabla 4.

El análisis gráfico exploratorio (MCA) que en sus dos dimensiones relaciona la resistencia y origen de las cepas, explican 91,7% de la variabilidad total (Figura 1). Se observó que las cepas resistentes se agrupan hacia la izquierda, en relación a las cepas susceptibles que se agrupan en

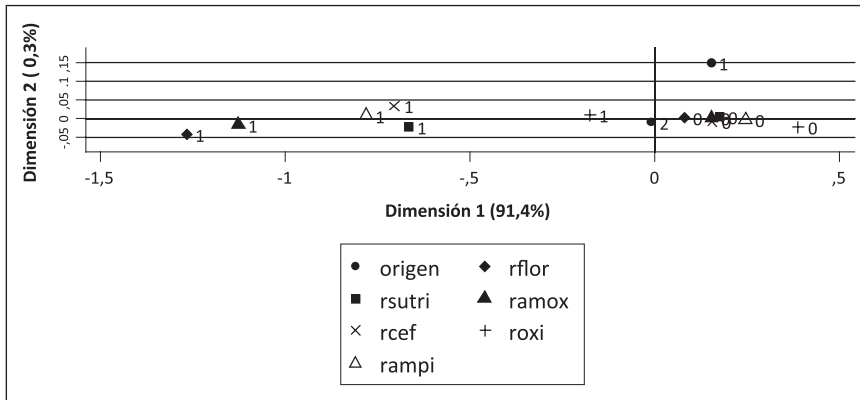


Figura 1. Relación entre susceptibilidad antibiótica y origen de las cepas de *Salmonella*. 0: susceptible; 1: resistente para cada uno de los antibióticos. Origen: 1: Alimentario; 2: Animal.

el eje hacia la derecha, explicado en 91,4% por la dimensión 1. El origen alimentario difiere del origen animal, al encontrarse alejado del eje y de los otros puntos, su variabilidad está dada por la dimensión 2. Esto indicaría que las resistencias y susceptibilidades pudiesen asociarse a algún tipo de factor o efecto, dado que todas estas variables no estarían actuando de forma independiente.

Discusión

Los diferentes serovares aislados en este estudio corresponden a serovares no tifoideos de *S. enterica*, que son considerados zoonóticos en los países en desarrollo¹⁹. Los resultados de serotipificación muestran la existencia de una amplia variedad de serovares⁹ circulantes en la zona de la región del Bío Bío, tanto en animales y alimentos. En alimento se determinaron dos serovares, *S. Derby* que se describe habitualmente asociado a porcinos²⁰ y *S. Senftenberg*. *S. Derby* en este estudio provenía de alimento destinado a aves en una crianza traspatio²¹ en la que se encontraban otros animales de granja cercanos, por lo que se pudiese sospechar de una transmisión entre especies. El serovar *S. Derby* ha sido uno de los aislados más frecuentes en humanos²². Es importante entonces contar con alimentos inocuos para plantales animales y así asegurar el estatus sanitario de ellos y minimizar el riesgo de llegar al ser humano.

En el informe de la Red de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos OPS del año 2004, en nuestro país los serovares más frecuentes en aislamientos de alimentos fueron: *S.4,12:d:-*, *S. thyphimurium*, *S. enteritidis*, *S. Derby* y *S. Senf-*

tenberg. Este último, en el presente reporte, fue identificado como cepa MDR pese a que en el año 2004, de acuerdo a la OPS, no presentó resistencia frente a ninguno de los antibióticos utilizados. La resistencia de los aislados animales totales entregado por la OPS señala que los serovares más frecuentes fueron *S.4,12:d:-*, *S. thyphimurium*, *S. enteritidis* y *S. infantis*. Sólo algunas cepas de *S.4,12:d:-* presentaron resistencia a ampicilina, cloranfenicol, amoxicilina-ácido clavulánico y ácido nalidíxico²³, que difiere de las resistencias encontradas en este reporte donde algunas cepas fueron MDR frente a antibióticos de las mismas familias, lo que apoya el hecho de un aumento de la resistencia en los aislados de *Salmonella spp.* Este comportamiento puede asociarse a la variabilidad en las poblaciones de *Salmonella* dado por patrones genéticos diversos. Esto se explica por la adquisición o presentación de diferentes mecanismos de resistencia dado por la diversidad de la población de *Salmonella spp.* presente.

En los serovares de origen animal predominan *S. infantis* y *S. Grupo E (3,9;-;-)* aisladas desde cerdos, lo cual indica que estos serovares en las distintas etapas de producción no son capaces de establecerse de forma endémica a diferencia de *S. thyphimurium*, *S. choleraesuis* o *S. Derby* entre otros²⁴. Hay que considerar también que algunos de los serovares analizados son de origen silvestre, aislados a partir de gaviotas, las cuales pueden actuar como diseminadoras de estos agentes hacia otros animales, incluido el hombre, o bien hacia alimentos.

Es importante destacar que una de las cepas aisladas corresponde al serovar Worthington, este serovar ha sido descrito en algunos países como

un patógeno emergente causal de meningitis neonatal^{25,26}. Este serovar fue aislado de cerdo, con baja resistencia a antibióticos, por lo que la terapia antimicrobiana frente a éste en humanos, debiera dar buenos resultados.

Los resultados obtenidos de alta resistencia a oxitetraciclina (69,1%) son similares a lo detectado por Alaniz²⁷ que alcanzaba 57,4% en *Salmonella* de origen animal. También es importante destacar que se encontraron resistencias a ampicilina, flumequina, ceftiofur y sulfadiazina-trimetoprim. Algunos de estos compuestos, junto a las tetraciclinas, han sido utilizados por décadas en la producción animal, ya sea como profilaxis o con fines terapéuticos, y en tratamiento de infecciones humanas por lo que su resistencia está ampliamente difundida²⁸. Es por esto que estos tratamientos en la actualidad son poco efectivos, como por ejemplo el uso de amoxicilina en personas²⁹.

Según el análisis exploratorio observado en la construcción del MCA, la variabilidad de el origen alimentario y animal indica que la mantención y diseminación de cepas resistentes se explicaría por factores como sistemas de producción, manejos de tratamientos antibióticos, contacto con reservorios naturales, entre otros^{30,31}.

Los valores de CMI que superan los niveles mínimos de interpretación de resistencia antibiótica, se relacionan con la expresión de ciertas enzimas que deben ser detectadas mediante estudios moleculares³².

Dado que este es uno de los pocos estudios de caracterización de *Salmonella enterica* en el país, da una visión de la susceptibilidad antimicrobiana presentada por los aislados de origen animal y alimentario de forma transversal, pero como es un muestreo a conveniencia, es necesario realizar estudios que sean representativos a nivel poblacional para identificar los sectores más afectados e ir evaluando la evolución de la resistencia presentada principalmente en animales y ambiente. Además es importante contar con pruebas basadas en técnicas moleculares a fin de aportar mayor información para la caracterización y genotipificación de los aislados de *Salmonella* spp. en nuestro país.

Conclusiones

La tipificación de los aislados analizados en el estudio logró determinar 9 diferentes serovares potencialmente zoonóticos, los cuales presentan

resistencia a uno o más de los antibióticos utilizados en el estudio, encontrándose además que 20,5% de las cepas presentan MDR, principalmente de cerdos y siendo oxitetraciclina la droga con mayor aislados resistentes (69,1%).

El serovar *S. infantis* tiene una menor probabilidad de presentar resistencia a sulfa-trimetoprim que *S. thyphimurium* y el serovar *S.* grupo E (3,9;-;-) tiene mayor riesgo de resistencia frente a ampicilina que *S. thyphimurium* para el grupo de cepas analizadas.

Agradecimientos: INNOVA BIOBIO y Laboratorio Veterquímica® por su disposición y aporte al desarrollo de esta investigación.

Referencias

1. Lauderdale TL, Frank M, Aarestrup, Pei-Chen Chen, Jui-Fen Lai, Hui-Ying Wang, et al. Multidrug resistance among different serotypes of clinical *Salmonella* isolates in Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2006; 55: 149-55.
2. Kim HJ, Si-Hong P, Hae-Yeong K. Comparison of *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* LT2 and Non-LT2 *Salmonella* Genomic Sequences, and Genotyping of *Salmonellae* by Using PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72 (9): 6142-51.
3. Zhao S, McDermott PF, White DG, Qaiyumi S, Friedman SL, Abbott JW, et al. Characterization of multidrug resistant *Salmonella* recovered from diseased animals. *Vet Microbiol* 2007; 123: 122-32.
4. Whiting RC, Hogue A, Schlosser WD, Ebel ED, Morales RA, Baker A, et al. A quantitative process model for *Salmonella enteritidis* in shell eggs. *J Food Sci* 2000; 65 (5): 864-9.
5. Fica AM, Alexandres S, Prat A, Fernández J, Fernández I, Heitmann. Cambios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile. Desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. *Rev Chil Infect* 2001; 18 (2): 85-93.
6. Toro HC, Saucedo C, Borie RE, Gough H, Alcaíno. Status of free-living Pigeons in the city of Santiago. *Avian. Pathol* 1999; 28: 619-23.
7. Wray RM, Davies DM. Control ambiental de *Salmonella*. *Avicultura Profesional* 2000; 18 (5): 18-21.
8. González-Acuña D, Silva F, Moreno L, Cerda F, Donoso S, Cabello J, et al. Detección de algunos agentes zoonóticos en la paloma doméstica (*Columba livia*) en la ciudad de Chillán, Chile. *Rev Chil Infect* 2007; 24 (3): 199-203.

9. Gopee NV, Adesiyun AA, Caesar K. Retrospective and longitudinal study of *salmonellosis* in captive wildlife in Trinidad. *J Wildl Dis* 2000; 36: 284-93.
10. Angulo FJ, Nargund VN, Chiller TC. Evidence of an association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2004a; 51 (8-9): 374-9.
11. Rice LB. Bacterial Monopolist: The Bundling and Dissemination of antimicrobial Resistance Genes in Gram Positive Bacteria. *Clinical Infectious Diseases* 2000; 31: 762-9.
12. Van den Bogaard AE, Willems R, London N, Top J, Stobberingh EE. Antibiotic resistance of faecal *enterococci* in poultry, farmers and poultry slaughterers. *J Of Antimicrob Chemother* 2002; 49: 497-505.
13. Lanz R, Kuhnert, Boerlin P. Antimicrobial resistance and resistance gene determinant in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. *Vet Microbiol* 2002; 91: 73-84.
14. FDA (Food and Drug Administration). Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition. 1995. Chapter 5. *Salmonella*. En: *Food Borne Pathogens* Monograph Number 1 *Salmonella*. 1997. Oxoid.
15. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard- third edition 2008; 28 (8).
16. StataCorp. Stata Statistical Software/SE 10.0 for Windows: College Station, TX: 543 StataCorp. LP., 2007.
17. Dohoo IW, Martin, Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research*. National Library of Canada Cataloguing in Publication. 2003.
18. Vivanco M. *Análisis estadístico multivariable*. Teoría y Práctica. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 1999.
19. Threlfall EJ. Antimicrobial Drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food-and water-borne infection. *FEMS Microbiol Rev* 2002; 26: 141-8.
20. Ibar MP, Vigo G, Piñeyro P, Caffer MI, Quiroga P, Perfumo C, et al. Serovariedades de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* en porcinos de faena y su resistencia a los antimicrobianos. *Revista Argentina de Microbiología* 2009; 41: 156-62.
21. Troncoso L. Detección de *Salmonella spp.* en crías de gallina de tipo artesanal de la provincia de Ñuble (Chile). *Memoria de Título*, Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción. 2007.
22. Usera MA, Aladueña A, Días R, De La Fuente M, Cerdán P, Gutiérrez R, et al. Análisis de las cepas de *Salmonella spp.* aisladas de muestras de origen humano en España en el año 2001. *Boletín Epidemiológico Semanal (España)* 2003; 11: 133-44.
23. OPS/HDM/CD/A/408/06. 2005. Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos-2004-Brasil-Brazil 27 al 29 de julio.
24. Baggesen DL, Wegener HC, Bager F, Stege H, Christensen J. Herd Prevalence of *Salmonella enterica* infections in Danish slaughter pigs determined by microbiological testing. *Preventive Veterinary Medicine* 1996; 26: 201-13.
25. Ghadage DP, Bal AM. Antibiotic Susceptibility Pattern of *Salmonella* worthington Isolated from Neonates-A Retrospective Study. *Jpn J Infect Dis* 2002; 55: 45-6.
26. Muley VA, Pol SS, Dohe VB, Nagdawane RP, Arjunwadkar VP, Pandit DP, et al. Neonatal outbreak of *Salmonella* worthington in a general hospital. *Indian J Med. Microbiol* 2004; 22 (1): 51-3.
27. Alaniz RO, Ibarra MLR, Barbosa BTR, Morales ALJ. Resistencia a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* aisladas de fuentes animales. *Vet Méx* 1997; 28: 215-20.
28. Breuil J, Brisabois A, Casin I, Armand-Lefevre L, Frémy S, Collatz E. Antibiotic resistance in *Salmonellae* isolates from humans and animals in France: comparative data from 1994 and 1997. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000; 46: 965-71.
29. Gebreyes WA, Altiera C. Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar *Typhimurium* Isolates from Swine. *Journal Of Clinical Microbiolog* 2002; 40 (8): 2813-22.
30. Nollet N, Houf K, Dewulf J, De Kruif A, De Zutter L, Maes D. *Salmonella* in sows: a longitudinal study in farrow-to-finish pig herds. *Vet Res* 2005; 36: 645-56.
31. García-Feliz C, Carvajal A, Collazos JA, Rubio P. Herd-level risk factors for faecal shedding of *Salmonella enterica* in Spanish fattening pigs. *Preventive Veterinary Medicine* 2009; 91: 130-6.
32. Tenover FC, Mohamed MJ, Gorton TS, Dembek ZF. Detection and Reporting of Organism Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Survey of Laboratories in Connecticut. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 4065-70.