

Original

Resistencia a antimicrobianos en *Salmonella* no *typhi* en Castilla y León

N. Delgado Ronda¹, J.L. Muñoz Bellido^{1,2}, R. Ibáñez Pérez³, M.I. García García^{1,2}, R. Serrano Heranz⁴, S. Muñoz Criado^{1,2} y J.A. García-Rodríguez^{1,2}

¹Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología Médica, Universidad de Salamanca;

²Departamento de Microbiología, Hospital Universitario de Salamanca;

³Unidad de Microbiología y ⁴Servicio de Medicina Interna, Hospital Nuestra Señora de Sonsoles, Ávila

RESUMEN

Se estudió la sensibilidad a antimicrobianos de 309 aislamientos de *Salmonella* spp. obtenidos en tres hospitales de la Comunidad de Castilla y León, que dan asistencia a las provincias de Salamanca, Ávila y Zamora. Se determinó su sensibilidad a 18 antimicrobianos mediante dilución en agar siguiendo las normas del NCCLS, y se determinaron los fenotipos de multiresistencia más frecuentes en cada una de las provincias estudiadas. Se observaron claras diferencias de sensibilidad entre *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, que constituyen los dos serotipos principales en nuestro medio. *S. typhimurium* mostró una resistencia a amoxicilina del 70%, que se asociaba a resistencia a estreptomycin, sulfamidas, tetraciclinas y cloranfenicol en un 44% de las cepas. *S. enteritidis* fue sensible a la mayoría de antimicrobianos ensayados, pero mostró una tasa de resistencia a amoxicilina del 23,3%, sólo superada por la resistencia al ácido nalidixico, del 49,6%, que fue mayor en *S. enteritidis* que en los otros serotipos estudiados. No se observó resistencia a las cefalosporinas, ni a ninguna fluoroquinolona según los puntos de corte de los NCCLS. Sin embargo, según los criterios de MENSURA, se encontró un 9% de resistencia a ciprofloxacino en *S. typhimurium*. La resistencia a cotrimoxazol y gentamicina se situó por debajo del 10% para todos los serotipos estudiados. Los resultados indican que *S. typhimurium* muestra mayor resistencia y una muy alta frecuencia de multiresistencia; por el contrario, *S. enteritidis*, en nuestra área, muestra grados significativos de resistencia sólo a la amoxicilina y al ácido nalidixico, aunque en la mayoría de los casos ésta no guarda correlación con una reducción de la sensibilidad a las fluoroquinolonas.

Palabras clave: *Salmonella* - Antimicrobianos - Resistencia - Castilla y León

Antimicrobial drug resistance in non-typhi *Salmonellae* in Castilla y León

SUMMARY

We studied the antibiotic susceptibility of 309 *Salmonella* isolates obtained from three hospitals serving the provinces of Salamanca, Ávila and Zamora in the region of Castilla y León (mid-west Spain). The susceptibility to 18 antibiotics was studied using the agar dilution method, according to NCCLS guidelines, and the most common multiresistance phenotypes were determined for each province. We observed clear susceptibility differences between the two main serotypes found, *S. enteritidis* and *S. typhimurium*. Seventy percent of *S. typhimurium* were resistant to amoxicillin. In 44% of these isolates, amoxicillin resistance was associated with resistance to streptomycin, sulfonamides, tetracyclines and chloramphenicol. *S. enteritidis* was susceptible to most antibiotics tested; amoxicillin resistance was observed in 23.3%, and nalidixic acid resistance in 49.6%. Resistance to nalidixic acid was higher in *S. enteritidis* than in any other serotypes. According to NCCLS breakpoints, no strain was resistant to fluoroquinolones. However, according to MENSURA criteria, 9% of *S. typhimurium* isolates were resistant to ciprofloxacin. Resistance to cotrimazole and gentamicin was less than 10% for all the serotypes tested. The results indicate that *S. typhimurium* showed greater resistance and a high multidrug resistance rate. Conversely, *S. enteritidis* showed high resistance only to amoxicillin and nalidixic acid, though in most cases there was no correlation between this resistance and reduced susceptibility to fluoroquinolones.

Key words: *Salmonella* - Antibiotics - Resistance - Castilla y León

INTRODUCCIÓN

Las primeras cepas de *Salmonella* resistentes a antimicrobianos se detectaron en torno a 1950, pero hasta 1980 las distintas especies de *Salmonella* no tifoidea eran consideradas microorganismos relativamente sensibles. Fue en la década de 1990 cuando la resistencia antimicrobiana emergió como un gran problema de salud pública (1-3), y se produjo un aumento de la resistencia a ampicilina, cloranfenicol y cotrimoxazol, que a veces llevaba asociada resistencia a otros antimicrobianos, como aminoglucósidos o tetraciclinas, tal como se observó en *Salmonella typhimurium* DT104 (4-7). En esta década también empezaron a aparecer aislamientos con sensibilidad disminuida a las quinolonas (8) y *Salmonella* portadoras de betalactamasas de espectro extendido con resistencia a cefalosporinas de tercera generación (9-13) o *Salmonella* resistentes al imipenem (14, 15).

Existen numerosos estudios que relacionan este aumento de la resistencia con el uso de antimicrobianos en animales (16-19), en los que pueden utilizarse como promotores del crecimiento, como profilácticos o con fines terapéuticos (20-22). Cuando se usan como promotores se utilizan con frecuencia a concentraciones bajas, subinhibitorias, lo cual significa que las bacterias quedan expuestas a dosis subletales durante largos periodos de tiempo y a veces en sucesivas generaciones, y ello parece favorecer la aparición y el mantenimiento de la resistencia.

La resistencia a las quinolonas (23) plantea un grave problema dado que son fármacos altamente eficaces en terapéutica. Aunque en España y otros países europeos la resistencia a las quinolonas es baja, en los últimos años se ha descrito un aumento alarmante de la resistencia al ácido nalidíxico y de cepas con sensibilidad disminuida a estos antimicrobianos (24-28).

El concepto de sensibilidad o resistencia es distinto según se empleen los puntos de corte de los NCCLS (≤ 1 mg/l sensible, ≥ 4 mg/l resistente) o de MENSURA ($\leq 0,1$ mg/l sensible, ≥ 4 mg/l resistente) (29). En veterinaria las quinolonas llevan utilizándose diez años, desde que en 1993 se aprobó enrofloxacin, la primera quinolona de uso exclusivamente animal. Los defensores del uso de quinolonas en veterinaria, aunque aceptan el aumento del número de cepas con sensibilidad disminuida a las quinolonas (CMI 0,1-0,5 mg/l), consideran que tal uso tiene un bajo poder de selección de resistencia dado el amplio margen, hasta ≥ 4 mg/l, necesario para considerar a una cepa resistente (23). No obstante, recientemente se han descrito fallos en la respuesta clínica al tratamiento con quinolonas cuando las cepas tienen CMI entre 0,06 y 0,2 mg/l (30). Esta circunstancia ha hecho cuestionar la validez de los puntos de corte propues-

tos por el NCCLS para *Salmonella*, dado que podrían estar enmascarando la verdadera existencia de resistencia a las quinolonas (31-33).

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamientos bacterianos

Se estudiaron 309 aislamientos de *Salmonella* procedentes de tres hospitales de la Comunidad de Castilla y León, identificados entre finales del año 2000 y principios de 2001. De ellos, 139 provenían del Hospital Universitario de Salamanca, 126 del Hospital Virgen de la Concha de Zamora y 44 del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila. Las muestras procedían tanto de pacientes ingresados (fundamentalmente en Medicina Interna y Pediatría) como de los atendidos en Centros de Salud del Área Sanitaria de los distintos hospitales.

Las muestras de heces se procesaron según las técnicas habituales. Se sembraron en McConkey, XLD y medios de enriquecimiento (selenito). Los microorganismos que en medio de Kligler mostraron unas características compatibles con el género *Salmonella* se seleccionaron para proceder posteriormente a su identificación mediante sistemas automáticos con sustratos específicos (*Wider*, *Microscan*, Dade International Inc., West Sacramento, USA). Los aislamientos identificados como *Salmonella* spp. se serotipificaron mediante pruebas de aglutinación en porta con antiseros comerciales (*Difco*®) frente a antígenos O y H.

Se obtuvieron 157 *S. typhimurium*, 133 *S. enteritidis* y 19 cepas que no pertenecían a los dos serotipos anteriores y que, de manera mayoritaria, se podían englobar dentro de los serogrupos C1 y C2 del esquema Kauffmann-White.

Antibiotipo

El estudio de la sensibilidad se efectuó determinando la CMI de los aislamientos mediante diluciones seriadas en agar Mueller Hinton, siguiendo las normas de los NCCLS. Se utilizó como control de calidad la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922. Los porcentajes de resistencia al ciprofloxacino se expresaron también considerando los puntos de corte de MENSURA.

Todos los antimicrobianos fueron suministrados como polvo valorado estándar: amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefazolina, cefuroxima, cefotaxima, cefepima, aztreonam, imipenem, ácido nalidíxico, ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, tetraciclina, cloranfenicol, sulfametoxazol, trimetoprima-sulfametoxazol, gentamicina y estreptomicina.

RESULTADOS

Existen claras diferencias de sensibilidad en función del serotipo. El fenómeno de la resistencia antimicrobiana afecta de manera más marcada a *S. typhimurium*, con la excepción de un antimicrobiano, que es el ácido nalidíxico. La mayor parte de las cepas resistentes de *S. typhimurium* lo fueron a más de un antimicrobiano. El fenotipo de multi-resistencia más frecuentemente encontrado fue a amoxicilina, tetraciclinas, cloranfenicol, estreptomina y sulfamidas, en un 27,3% de los aislamientos, y un fenotipo muy similar que incluye este perfil más ácido clavulánico y que supone el 17,1% de los aislamientos (Tablas 1 a 5).

Dentro del grupo de los betalactámicos, el que tiene mayor tasa de resistencia es la amoxicilina, aunque hay considerables diferencias entre los distintos serotipos: es mucho menor en *S. enteritidis* (23,3%) que en *S. typhimurium* (76,4%) y en los serotipos distintos de los dos anteriores (68,42%), con $CMI_{90} \geq 128$ mg/l.

Todas las cefalosporinas mostraron una buena actividad *in vitro* frente a *Salmonella*. En ninguno de los serotipos se encontró resistencia a cefotaxima ni a cefepima. La resistencia a las cefalosporinas de primera y segunda generación fue nula en *S. enteritidis*, mínima en *S. typhimurium* (0,6%) y ligeramente más elevada en los grupos C1 y C2 (5%).

Entre las quinolonas, la única no fluorada incluida en el estudio, el ácido nalidíxico, fue la que presentó una actividad más limitada frente a todas las cepas de *Salmonella* estudiadas. Este antimicrobiano fue el único de los ensayados

que se mostró más activo frente a *S. typhimurium* que frente a *S. enteritidis*. Casi un 50% de las cepas pertenecientes a los serogrupos C1 y C2 y al serotipo *enteritidis* mostraron $CMI \geq 128$ mg/l.

Si se consideran los criterios de sensibilidad de los NCCLS no se encontró resistencia a ninguna de las fluoroquinolonas estudiadas. Sin embargo, si se considera el punto de corte de MENSURA, los serogrupos C1 y C2 son los que presentan más cepas resistentes a las quinolonas (31%), seguidas del serotipo *typhimurium* (9,5%). El ciprofloxacino fue la fluoroquinolona que mostró mejor actividad *in vitro*.

La tasa de resistencia a otros antimicrobianos, como la gentamicina o el cotrimoxazol, no superó el 10% en ninguno de los serotipos estudiados.

DISCUSIÓN

La enorme mejora de las condiciones sanitarias generales de la población a lo largo de la segunda mitad del siglo XX, en los países desarrollados, ha hecho que infecciones que suponían un gran problema de salud hayan visto reducida drásticamente su prevalencia. Éste es el caso de las salmonelosis de reservorio humano, como las fiebres tifoideas y paratíficas. Sin embargo, en el caso de las salmonelosis no tifoideas, no sólo no ha disminuido su prevalencia sino que durante los últimos años ha aumentado el número de casos declarados a los distintos sistemas de información microbiológica (34). Además, a lo largo de la última

Tabla 1. Sensibilidad a diversos antimicrobianos de las cepas de *Salmonella enteritidis* estudiadas.

Antimicrobiano	CMI_{50}	CMI_{90}	Intervalo	Resistencia, % (resist./total)
Amoxicilina	0,5	>128	0,5->128	23,3 (31/133)
Amoxicilina-ácido clav.	1	4	0,5-128	0,9 (1/133)
Cefazolina	2	4	1-16	0
Cefuroxima	8	8	1-16	0
Cefotaxima	0,1	0,1	0,008-0,2	0
Cefepima	0,016	0,03	0,008-0,2	0
Aztreonam	0,06	0,1	0,008-0,2	0
Imipenem	0,2	0,5	0,1-0,5	0
Ácido nalidíxico	32	>128	1->128	49,62 (66/133)
Ciprofloxacino	0,03	0,06	0,008-0,2	0/3* (4/133)
Levofloxacino	0,06	0,2	0,016-0,5	0
Moxifloxacino	0,5	0,2	0,03-0,5	0
Tetraciclinas	1	2	0,5->128	8,2 (11/133)
Cloranfenicol	4	4	2->128	3 (4/133)
Gentamicina	0,2	0,5	0,1-128	3,7 (5/133)
Estreptomina	2	4	1-128	6 (8/133)
Sulfametoxazol	32	64	8->512	6,7 (9/133)
Cotrimoxazol	0,0016	0,003	0,008-32	1,5 (2/133)

*Los porcentajes de resistencia al ciprofloxacino se expresan según el punto de corte de los NCCLS/MENSURA.

Tabla 2. Sensibilidad a diversos antimicrobianos de las cepas de *Salmonella typhimurium* estudiadas.

Antimicrobiano	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Intervalo	Resistencia, % (resist./total)
Amoxicilina	>128	>128	0,5->128	76,4 (120/157)
Amoxicilina-ácido clav.	8	16	0,2-32	4,45 (7/157)
Cefazolina	2	4	1->128	0,6 (1/157)
Cefuroxima	8	16	2->128	1,9 (3/157)
Cefotaxima	0,1	0,2	0,03-1	0
Cefepima	0,1	0,5	0,016-4	0
Aztreonam	0,1	0,1	0,06-0,2	0
Imipenem	0,2	0,2	0,06-1	0
Ácido nalidíxico	8	64	1->128	12,73 (20/157)
Ciprofloxacino	0,03	0,06	0,008-0,2	0/9,5* (15/157)
Levofloxacino	0,06	0,2	0,03-0,5	0
Moxifloxacino	0,06	0,5	0,03-0,5	0
Tetraciclinas	32	>128	0,5->128	75,15 (118/157)
Cloranfenicol	128	>128	0,06->128	71,33 (112/157)
Gentamicina	0,5	8	0,06-128	6,36 (10/157)
Estreptomina	32	128	1->128	73,8 (116/157)
Sulfametoxazol	>512	>512	8->512	73,8 (116/157)
Cotrimoxazol	0,1	0,2	0,016->128	8,2 (13/157)

*Los porcentajes de resistencia a ciprofloxacino se expresan según el punto de corte de los NCCLS/MENSURA.

Tabla 3. Sensibilidad a diversos antimicrobianos de las cepas de *Salmonella* de los serogrupos C1 y C2 estudiadas.

Antimicrobiano	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Intervalo	Resistencia, % (resist./total)
Amoxicilina	>128	>128	1->128	68,42 (13/19)
Amox.-ácido clav.	16	>128	1->128	47,36 (9/19)
Cefazolina	2	16	1-64	5,2 (1/19)
Cefuroxima	8	16	2-32	5,2 (1/19)
Cefotaxima	0,06	0,2	0,03-0,2	0
Cefepima	0,06	0,1	0,016-0,2	0
Aztreonam	0,1	0,2	0,06-0,5	0
Imipenem	0,1	0,2	0,1-0,2	0
Ácido nalidíxico	16	>128	16->128	42,10 (8/19)
Ciprofloxacino	0,03	0,2	0,016-1	0/31* (6/19)
Levofloxacino	0,06	0,1	0,03-1	0
Moxifloxacino	0,1	0,5	0,03-2	0
Tetraciclinas	1	128	1-128	47,36 (9/19)
Cloranfenicol	4	>128	2->128	21,05 (4/19)
Gentamicina	0,5	0,5	0,2-32	5,2 (1/19)
Estreptomina	8	64	2-128	47,3 (9/19)
Sulfametoxazol	0,06	0,1/1,9	0,016-64	5,2 (1/19)
Cotrimoxazol	32	32	16->512	10,52 (2/19)

*Los porcentajes de resistencia a ciprofloxacino se expresan según el punto de corte de los NCCLS/MENSURA.

década, el aumento de la incidencia se ha visto acompañado de un aumento de la resistencia a diversos antimicrobianos (35).

Los resultados obtenidos en relación con la sensibilidad de *Salmonella* reflejan que el fenómeno de la resistencia afecta más intensamente a *S. typhimurium*, mientras que *S. enteritidis* sigue manteniéndose relativamente sensible.

Las tasas de resistencia a la amoxicilina encontradas en *S. enteritidis* y *S. typhimurium* son similares a las referidas en otros estudios nacionales y extranjeros (36, 37). La resistencia a la amoxicilina suele asociarse con resistencia a la estreptomina, las sulfamidas, las tetraciclinas y el cloranfenicol. En este estudio, un 44% de los aislamientos presentaron este perfil de pentarresistencia; cifra intermedia

entre las publicadas en Francia (70%) y en Estados Unidos (35%). La diferencia de sensibilidad a la amoxicilina entre los distintos serotipos se acentúa para otros antimicrobianos ensayados. Así, la tasa de resistencia de *S. typhimurium* para las tetraciclinas, el cloranfenicol, la estreptomicina y

Tabla 4. Incidencia de resistencia y multiresistencia antimicrobiana en los distintos serotipos de *Salmonella*.

Aislamientos (n)	Resistentes* n (%)	Multiresistentes** n (%)
<i>S. typhimurium</i> (157)	147 (93,6)	115 (73,2)
<i>S. enteritidis</i> (133)	93 (70)	7 (5,2)
Otros serotipos (19)	14 (74)	9 (47,3)

*Aislamientos resistentes a uno o más antimicrobianos.

**Aislamientos resistentes a cuatro o más antimicrobianos.

Tabla 5. Patrones de multiresistencia más frecuentes en los aislamientos de *S. typhimurium* estudiados.

Patrones*	Nº de aislamientos
S Te C A Su Sxt	1
Te C A Su Na	1
Te G Su Sxt	1
Te C Su Sxt	1
Te C G A Su Sxt	2
S Te C G A Su	1
S Te C G A Su Sxt	1
S Te C A Ac Su	2
S Te C G A Su	1
S T C A Ac Su	1
S T Cfx Cfx A Ac Su	1
Te C A Su Sxt	1
S Te C A Ac	1
Te C G A Su Sxt	1
A Te Su Sxt	1
S Te C Su	2
A Ac Te C S Su	5
A Te C S Su	43
A Te Su C	2
A Te S Su	5
A Ac Te C S Su	27
S Te Su Na	1
A Te Su Sxt G	1
A Te S Su C Na	2
A Ac Te Su C	1
A Te S Su C G Sxt	3
S Te A Ac Su Cfx Cfx	1

*Los antimicrobianos señalados en negrita presentaron sensibilidad intermedia.

A: amoxicilina; Ac: amoxicilina-ácido clavulánico; Te: tetraciclinas; Na: ácido nalidíxico; S: estreptomicina; Su: sulfametoxazol; Sxt: trimetoprima-sulfametoxazol; C: cloranfenicol; G: gentamicina; Cfx: cefazolina; Cfx: cefuroxima.

las sulfamidas oscila entre el 71% y el 75%, dependiendo del antimicrobiano, mientras que para *S. enteritidis* es diez veces menor, ya que no sobrepasa el 8%. Esta tasa de resistencia es similar a la encontrada en la mayoría de los estudios publicados (38, 39). En este sentido hay que tener en cuenta que algunos de estos antimicrobianos, por su bajo coste y su amplio espectro de actividad, han tenido un gran uso en animales. Probablemente fue éste el motivo de que, hace ya años, comenzara a aumentar la resistencia a algunos de ellos, como las tetraciclinas (40, 41), el cloranfenicol (42) y las sulfamidas (36). De hecho, la alta tasa de resistencia que ya existía en algunos patógenos productores de enfermedades animales fue lo que motivó la introducción de las quinolonas en veterinaria a mediados de la pasada década.

La posibilidad más aceptada para explicar esta diferencia de sensibilidad entre distintos serotipos es que quizá una cepa o un grupo de cepas hayan adquirido en algún momento la capacidad de resistir a la acción de los antimicrobianos, y en consecuencia, a favor de la presión ecológica por ellos ejercida, se hayan convertido en microorganismos predominantes, lo que ha repercutido en una mayor prevalencia de la resistencia en todos los ámbitos en que pueden encontrarse estos microorganismos, tanto en animales como en humanos.

Las cefalosporinas mostraron una buena actividad *in vitro* frente a todos los serotipos estudiados. El uso de estos antimicrobianos no ha sido habitual en nutrición animal, lo que supone una presión ecológica considerablemente menor. Por otra parte, al carecer *Salmonella* del gen *ampC*, que codifica habitualmente las cefalosporinasas cromosómicas presentes en otras enterobacterias, la inducción o desrepresión del mencionado gen no es posible. A pesar de que la adquisición horizontal de este tipo de genes es una causa de resistencia entre bacilos gramnegativos, hay muy pocos casos descritos de *Salmonella* productoras de beta-lactamasas plasmídicas tipo AmpC (43, 44). Ello puede deberse a la necesidad de adquirir tanto el gen *ampC* como su regulador, el *ampR*, dado que la alta producción de AmpC puede ser perjudicial para *Salmonella*. Por lo tanto, la carencia de los genes implicados en el mecanismo de resistencia más habitual, junto con una presión ecológica insuficiente para seleccionar cepas portadoras de otros mecanismos que pudieran surgir, justifica esta baja frecuencia de resistencia (45).

No se encontró resistencia al aztreonam ni a las cefalosporinas de tercera o cuarta generación. Aunque se han descrito casos (46, 47) de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación mediada por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Salmonella*, en este momento

se trata de un tipo de resistencia muy infrecuente. No obstante, hay que tener en cuenta que algunas de las cepas portadoras de BLEE descritas tienen un origen clonal (48-50). Éste es probablemente el mayor riesgo de cara a una hipotética, y en este momento poco probable, difusión de la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (51, 52). La adquisición de plásmidos codificadores de BLEE por cepas multirresistentes que han demostrado una gran capacidad para su difusión clonal podría facilitar la extensión de la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, probablemente no tanto por presión ecológica directa sino por presión ecológica indirecta, a través de antimicrobianos de otras familias a los que también fuera resistente la clona implicada.

En el grupo de las quinolonas, si se admiten los puntos de corte definidos por los NCCLS para ciprofloxacino, habría que considerar sensibles al 100% de las cepas aisladas en nuestro estudio, ya que las CMI más altas encontradas son de 0,2 mg/l en el caso de *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, y 1 de mg/l en los serotipos C1 y C2 (31%). A diferencia de lo observado con ciprofloxacino, la resistencia al ácido nalidíxico es muy superior en *S. enteritidis* (49,6%) que en *S. typhimurium* (12,7%). Las cepas de *S. enteritidis* muestran dos picos modales, uno en 8 mg/l y otro, el mayor, en ≥ 128 mg/l, en las que con toda probabilidad hay que suponer la presencia de algún factor de resistencia adquirido. Todos los aislamientos de *S. typhimurium* y *S. enteritidis* con sensibilidad disminuida a las quinolonas presentaron resistencia al ácido nalidíxico, con CMI ≥ 128 mg/l. Sin embargo, mientras que en *S. typhimurium* también se dio la relación inversa (la práctica totalidad de las cepas resistentes al ácido nalidíxico mostraron sensibilidad disminuida al ciprofloxacino), la gran mayoría de las cepas de *S. enteritidis* con resistencia al ácido nalidíxico no mostraron sensibilidad disminuida al ciprofloxacino. Por tanto, parece que en *S. enteritidis* la resistencia al ácido nalidíxico, en la mayoría de los casos, no implica resistencia a las fluoroquinolonas. Resultados similares se han obtenido en estudios previos que han demostrado que, en *S. enteritidis*, la resistencia a algunas quinolonas no se correlaciona bien con la presencia de mutaciones en el DNA de la girasa (53).

Estos resultados sugieren que debe haber otros mecanismos causantes de la resistencia a las quinolonas en *Salmonella* spp., como una disminución de la permeabilidad por modificaciones en las proteínas de la membrana externa o algún mecanismo de flujo (54-56).

La cuestión es si esa resistencia al ácido nalidíxico, aun no originando resistencia cruzada a las fluoroquinolonas, podría constituir un punto de partida debido a que las cepas resistentes tuvieran más facilidad para desarrollar cambios

adicionales que precipitasen la resistencia a las quinolonas. De cómo se comporten estas cepas dependerá mucho, probablemente, la evolución de la resistencia. En conjunto, los resultados relativos a las fluoroquinolonas indican unos grados de resistencia muy bajos, si nos remitimos a los puntos de corte de los NCCLS, pero sensiblemente más altos si nos remitimos a otros criterios más restrictivos.

A la vista de los resultados obtenidos en este estudio, la incidencia de multirresistencia ha aumentado. Es necesaria una mayor vigilancia con la finalidad de impedir el aumento y la diseminación de la resistencia antimicrobiana.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio ha sido financiado por un Proyecto de Investigación de la Junta de Castilla y León (Proyecto 112/01).

Correspondencia: Prof. J.A. García Rodríguez, Departamento de Microbiología, Hospital Universitario, Pº de San Vicente s/n, 37007 Salamanca. Tel.: 923 26 48 25; Fax: 923 26 22 61. E-mail: jagarrod@usal.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Cormican, M., Butler, C., Morris, D., Corbett-Feeney, G., Flynn, J. Antibiotic resistance amongst *Salmonella enterica* species isolated in the Republic of Ireland. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 116-118.
2. Angulo, F., Griffin, P. Changes in antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 436.
3. Davis, M., Hancock, D., Beeser, T. y cols. Changes in antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar typhimurium isolates from humans and cattle in the northwestern United States, 1982-1997. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 802.
4. Ridley, A., Threlfall, E. Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella typhimurium* DT104. *Microb Drug Resist* 1998; 4: 2.
5. Briggs, C., Fratamico, P. Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella typhimurium* DT 104. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 846-849.
6. Arcangioli, M., Leroy-Sétrin, S., Martel, J., Chaslus-Dancla, E. A new chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integron structures in *Salmonella typhimurium* DT 104. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 174: 327-332.
7. Threlfall, E. Epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104-a truly international multiresistant clone. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 7-10.
8. Herikstad, H., Hayes, P., Mokhtar, M., Fracaro, M., Threlfall, E., Angulo, F. Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 371.
9. Baraniak, A., Sadowy, E., Hryniewicz, W., Gniadkowski, M. Two different extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in one of the first ESBL-producing *Salmonella* isolates in Poland. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1095-1097.

10. Rankin, S., Aceto, H., Cassidy, J. y cols. *Molecular characterization of cephalosporin-resistant Salmonella enterica serotype newport isolates from animals in Pennsylvania*. J Clin Microbiol 2002; 40: 4679-4684.
11. Ferran, E., Pérez-Trallero, J., Marimón, R., Gomariz, M., Mirelis, B. *CMY-2-producing Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Proteus mirabilis and Escherichia coli strains isolated in Spain (October 1999-December 2000)*. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 383-389.
12. Bradford, P., Yang, Y., Sahm, D., Grope, I., Gardovska, D., Storch, G. *CTX-M-5. A novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase from an outbreak of Salmonella typhimurium in Latvia*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 1980-1984.
13. Gazouli, M., Sidorenko, S., Tzelepi, E., Kozlova, N., Gladin, D., Tzouveleki, L. *A plasmid-mediated β -lactamase conferring resistance to cefotaxime in a Salmonella typhimurium clone found in St Petersburg, Russia*. J Antimicrob Chemother 1998; 41: 119-121.
14. Miriagou, V., Tzouveleki, L., Rossiter, S., Tzelepi, E., Angulo, F., Whichard, J. *Imipenem resistance in a Salmonella clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1297-1300.
15. Armand-Lefèvre, L., Leflon-Guibout, V., Brendin, J. y cols. *Imipenem resistance in Salmonella enterica serovar wien related to porin Loss and CMY-4 β -lactamase production*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1165-1168.
16. Balis, E., Vatopoulos, A., Kanelopoulou, M. y cols. *Indications of in vivo transfer of an epidemic R plasmid from Salmonella enteritidis to Escherichia coli of the normal human gut flora*. J Clin Microbiol 1996; 34: 977-979.
17. Diez, P., Calderón, V. *Empleo de antibióticos en veterinaria*. Rev Esp Quimioterap 1997; 10: 275-280.
18. McEwen, S., Fedorka-Cray, P. *Antimicrobial use and resistance in animals*. Clin Infect Dis 2002; 34: S93-S106.
19. O'Brien, T. *Emergence, spread and environmental effect of antimicrobial resistance: How use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else*. Clin Infect Dis 2002; 34: S78-S84.
20. Cancho, B., García, M., Simal, J. *El uso de los antibióticos en la alimentación animal: Perspectiva actual*. Cienc Tecnol Aliment 2000; 3: 39-47.
21. Angulo, F. *Agentes antimicrobianos en acuicultura: Impacto potencial en la salud pública*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2000; 20: 217-219.
22. Fey, P., Safranek, T., Rupp, M. y cols. *Ceftriaxone-resistant Salmonella infection acquired by a child from cattle*. N Engl J Med 2000; 342: 1242-1249.
23. Griggs, D., Hall, M., Jin, Y., Piddock, L. *Quinolone resistance in veterinary isolates of Salmonella*. J Antimicrob Chemother 1994; 33: 1173-1189.
24. Orden, J., de la Fuente, R. *Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal*. Rev Esp Salud Pública 2001; 75: 4.
25. Hakanen, A., Kotilainen, P., Jalava, J., Siitonen, A., Huovinen, P. *Detection of decreased fluoroquinolone susceptibility in Salmonellas and validation of nalidixic acid screening test*. J Clin Microbiol 1999; 37: 3572-3577.
26. Griggs, D., Gensberg, K., Piddock, L. *Mutations in gyrA gene of quinolone-resistant Salmonella serotypes isolated from humans and animals*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 1009-1013.
27. Piddock, L., Ricci, V., McLaren, I., Griggs, D. *Role of mutation in the gyrA and parC genes of nalidixic-acid resistant Salmonella serotypes isolated from animals in the United Kingdom*. J Antimicrob Chemother 1998; 41: 635-641.
28. Molbak, K., Gerner-Smidt, P., Wegener, H. *Increasing quinolone resistance in Salmonella enterica serotype enteritidis*. Emerg Infect Dis 2002; 8: 514.
29. Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos (MENSURA). *Recomendaciones del Grupo MENSURA para la selección de antimicrobianos en el estudio de la sensibilidad y criterios para la interpretación del antibiograma*. Rev Esp Quimioterap 2000; 13: 73-86.
30. Vasallo, F., Martín-Rabadán, P., Alcalá, L., García-Lechuz, J., Rodríguez-Crèixems, M., Bouza, E. *Failure of ciprofloxacin therapy for invasive nontyphoidal salmonellosis*. Clin Infect Dis 1998; 26: 534-535.
31. Crump, J., Barret, T., Nelson, J., Angulo, F. *Reevaluating fluoroquinolone breakpoints for Salmonella enterica serotype typhi and for nontyphi salmonellae*. Antimicrob Resist 2003; 37: 75-81.
32. Moller, F., Wiuff, C., Molbak, K., Threlfall, E. *Is the time to change fluoroquinolone breakpoints for Salmonella spp?* Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 827-829.
33. Threlfall, E., Ward, L., Skinner, J., Smith, H., Lacey, S. *Ciprofloxacin-resistant Salmonella typhi and treatment failure*. Lancet 1999; 353: 1590-1591.
34. Hohmann, E. *Nontyphoidal salmonellosis*. Clin Infect Dis 2001; 32: 263-269.
35. Cruchaga, S., Echeita, A., Aladueña, A., García-Peña, J., Frias, N., Usera, M. *Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998*. J Antimicrob Chemother 2001; 47: 315-321.
36. Breuil, J., Brisabois, A., Casin, I., Armand-Lefèvre, L., Frémy, S., Collatz, E. *Antibiotic resistance in Salmonellae isolated from humans and animals in France: Comparative data from 1994 and 1997*. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 965-971.
37. Gil-Setas, A., Mazón, A., Martín, C., Urtiaga, M., Inza, M. *Salmonellosis no tifoidea en un área de salud de Navarra, España*. Rev Esp Salud Pública 2002; 76: 49-56.
38. Olivera, S., Castillo, F., Lorente, M. *Resistencia antibiótica en cepas clínicas de Salmonella enterica aisladas en Zaragoza*. Rev Esp Quimioterap 2002; 15: 152-157.
39. Sirvent, E., Ruiz, M., Rodríguez, J., Royo, G. *Serotipos y sensibilidad antibiótica del género Salmonella en Elche*. Rev Esp Quimioterap 2002; 15: 55-60.
40. Chopra, I., Roberts, M. *Tetracycline antibiotics: Mode de action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance*. Microbiol Molec Biol 2001; 65: 232-260.
41. Frech, G., Schwarz, S. *Tetracycline resistance in Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 288.
42. Bolton, L., Kelley, L., Lee, M., Fedorka-Cray, P., Maurer, J. *Detection of multidrug-resistant Salmonella enterica serotype typhimurium DT 104 based on a gene which confers cross-resistance to florfenicol and chloramphenicol*. J Clin Microbiol 1999; 37: 1348.
43. Gaillot, O., Clément, C., Simonet, M., Philippon, A. *Novel transferable β -lactam resistance with cephalosporinase characteristic in Salmonella enteritidis*. J Antimicrob Chemother 1997; 39: 85-88.

44. Koeck, J.L., Arlet, G., Philippon, A. y cols. *A plasmid-mediated CMY-2 β -lactamase from Algerian clinical isolate of Salmonella seftenberg*. FEMS Microbiol Lett 1997; 152: 255-260.
45. Morosini, M., Alaya, J., Baquero, F., Martínez, J., Blázquez, J. *Biological cost of AmpC production for Salmonella enterica serotype typhimurium*. Antimicrob Agents Chemother 2000; 4: 31-37.
46. Mhand, R., Brahim, N., Moustaqi, N. *Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing Salmonella typhimurium by phenotypic and genotypic typing methods*. J Clin Microbiol 1999; 37: 3769-3773.
47. Conza, J., Ayala, J., Power, P., Mollerach, M., Gutkind, G. *Novel class I integron (InS21) carrying bla_{CTX-M-2} in Salmonella enterica serovar infantis*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2257-2261.
48. Koeck, J., Arlet, G., Philippon, A. y cols. *A plasmid-mediated CMY-2 lactamase from an Algerian clinical isolate of Salmonella seftenberg*. FEMS Microbiol Lett 1997; 152: 255-260.
49. Miriagou, V., Filip, R., Coman, G., Tzouvelekis, L. *Expanded-spectrum cephalosporin-resistant Salmonella strains in Romania*. Clin Microbiol 2002; 40: 4334-4336.
50. Llanes, C., Kirchgessner, V., Plesiat, P. *Propagation of TEM-and PSE-type β -lactamases among amoxicillin-resistant Salmonella spp. isolated in France*. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2430-2436.
51. Tassios, P., Gazouli, M., Tzelepi, E. y cols. *Spread of a Salmonella typhimurium clone resistant to expanded-spectrum cephalosporins in three european countries*. J Clin Microbiol 1999; 37: 3774-3777.
52. Villa, L., Mammina, C., Miriagou, V. *Multidrug and broad-spectrum cephalosporin resistance among Salmonella enterica serotype enteritidis clinical isolates in southern Italy*. J Clin Microbiol 2002; 40: 2662-2665.
53. Liebana, E., Clouting, C., Cassar, C. y cols. *Comparison of gyrA mutations, cyclohexane resistance and the presence of class I integrons in Salmonella enterica from farm animals in England and Wales*. J Clin Microbiol 2002; 40: 1481-1486.
54. Giraud, E., Cloeckert, A., Kerboeuf, D., Chaslus-Dancla, E. *Evidence for active efflux as the primary mechanism of resistance to ciprofloxacin in Salmonella enterica serovar typhimurium*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 44: 1223-1228.
55. Randall, L., Cooles, S., Sayers, A., Woodward, M. *Association between cyclohexane resistance in Salmonella of different serovars and increased resistance to multiple antibiotics, disinfectants and dyes*. J Med Microbiol 2001; 50: 919-924.
56. Nikaido, H. *Multiple antibiotic resistance and efflux*. Curr Opin Microbiol 1998; 1: 516-523.