

Original

Evolución de la resistencia a quinolonas y betalactámicos en distintos serogrupos de *Salmonella* durante la última década en un centro hospitalario de Madrid

M.L. Güerri Santos y R. Rotger

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Paz, Madrid

RESUMEN

Se ha estudiado la resistencia a antimicrobianos en 3230 cepas de *Salmonella* enterica aisladas en el Hospital Universitario La Paz (Madrid) durante 1991-2001. Ha destacado la resistencia a los betalactámicos del serogrupo B4: del 84% a la ampicilina en 2000 y del 45% a amoxicilina-ácido clavulánico en 1996. La resistencia a las cefalosporinas se mantiene moderada, aunque en el año 2000 llegó al 37% para cefazolina en el serogrupo C2-8. El aumento de la resistencia a las quinolonas de primera generación se observa para todos los serogrupos, pero es especialmente llamativo para D9 y C2-8, que pasan de una resistencia del 6% y 15%, respectivamente, en el año 1991, al 40% y 85% en el año 2001. Aunque de momento no se han observado resistencias importantes al ciprofloxacino, consideramos necesario un seguimiento de la actividad de las fluoroquinolonas sobre este microorganismo.

Palabras clave: *Salmonella* - Antibióticos - Resistencia - Betalactámicos - Quinolonas

Change in resistance to quinolones and betalactams in different serogroups of *Salmonella* during the last decade in a Madrid hospital

SUMMARY

The prevalence of antibiotic resistance was studied in 3,230 strains of *Salmonella* enterica isolated in the Hospital Universitario La Paz in Madrid, Spain, from 1991 to 2001. Betalactam antibiotic resistance has been notorious in serogroup B4; the highest prevalence of ampicillin resistance (84%) was reached in 2000 and that of amoxicillin-clavulanic acid (45%) in 1996. Resistance to cephalosporins has been controlled, although in 2000 cefazolin resistance reached 37% in serogroup C2-8. An increase in first generation quinolone resistance was detected in every serogroup, especially in D9 and C2-8, which showed an increase from 6% and 15% in 1991, respectively, to 40% and 85% in 2001. Although important resistance to ciprofloxacin has not yet been detected, the activity of fluoroquinolones against *Salmonella* must be closely monitored.

Key words: *Salmonella* - Antibiotic resistance - Betalactams - Quinolones

INTRODUCCIÓN

Salmonella enterica es la bacteria que con más frecuencia causa infecciones transmitidas por alimentos en España (1). El serotipo *enteritidis*, perteneciente al serogrupo D9, es el que se aísla más a menudo en nuestro país, seguido del serotipo *typhimurium*, que forma parte del serogrupo B4 (2). El resultado de la infección, en la mayoría de los casos, es una gastroenteritis aguda, que suele ser autolimitada, y el único tratamiento recomendado consiste en prevenir la deshidratación, pero en las formas graves, tanto intestinales como extraintestinales, que afectan sobre todo a pacientes inmunodeprimidos, debe instaurarse rápidamente el tratamiento antibiótico para evitar mayores complicaciones (3).

La resistencia de *Salmonella* a los antibióticos ha aumentado considerablemente en los últimos años en España (4-6) y en otros países de Europa (7-9) y del mundo (10, 11). Entre los factores que han contribuido a este aumento destacamos el abuso de antibióticos en los países desarrollados, tanto en seres humanos a consecuencia de la automedicación o la prescripción innecesaria (12-14) como en animales, bien con fines profilácticos o terapéuticos y como promotores del crecimiento (15, 16) en los países desarrollados. Este incremento de las resistencias se ha manifestado especialmente en el serotipo *typhimurium*, en forma de multiresistencia, mientras que en *S. enteritidis* se ha descrito un aumento menos importante, sobre todo en la resistencia a la ampicilina y al ácido nalidíxico (17). Dos aspectos llamativos de la resistencia de *S. typhimurium* han sido la emergencia del clon multiresistente fagotipo DT104 en países tan diversos como Reino Unido (18), Israel (19), República Checa (20), Holanda (21), Noruega (22), Alemania (23) y Estados Unidos (24), entre otros, y la dismi-

nución paulatina de la sensibilidad a las quinolonas debida, entre otros motivos, a mutaciones en el gen *gyrA* presentes tanto en cepas de origen animal como humano (25, 26). Por este motivo, hemos considerado de interés el estudio de la evolución de la resistencia a los antibióticos en los distintos serogrupos de *Salmonella* aislados en nuestro servicio. Por la importancia del Hospital Infantil dentro de la Ciudad Sanitaria La Paz, muchas de las muestras analizadas proceden de niños, lo que implica que en muchos casos se ha requerido tratamiento antimicrobiano. Por lo tanto, y para facilitar la elección de un tratamiento empírico eficaz, creemos importante conocer la situación de las resistencias de *Salmonella* en la última década.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron en el estudio 3230 cepas aisladas de muestras recibidas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario La Paz (Madrid) desde el 1 de enero de 1991 hasta el 31 de diciembre de 2001.

El aislamiento se realizó en medios selectivos diferenciales, según las muestras, y la identificación bioquímica de las cepas por el sistema semiautomático GNI (*Gram Negative Identification*) Vitek® o el sistema Wider® a partir del año 2000. El serogrupo se determinó con los antisueros específicos (Difco®) mediante aglutinación en portaobjetos. No se determinaron antígenos flagelares de primera y segunda fase para todas las cepas, por lo que no se hablará de serotipos sino de serogrupos. La sensibilidad a los distintos antibióticos se determinó por el método PASCO® hasta 1999 y con el sistema semiautomático WIDER® (BioMerieux) a partir del año 2000.

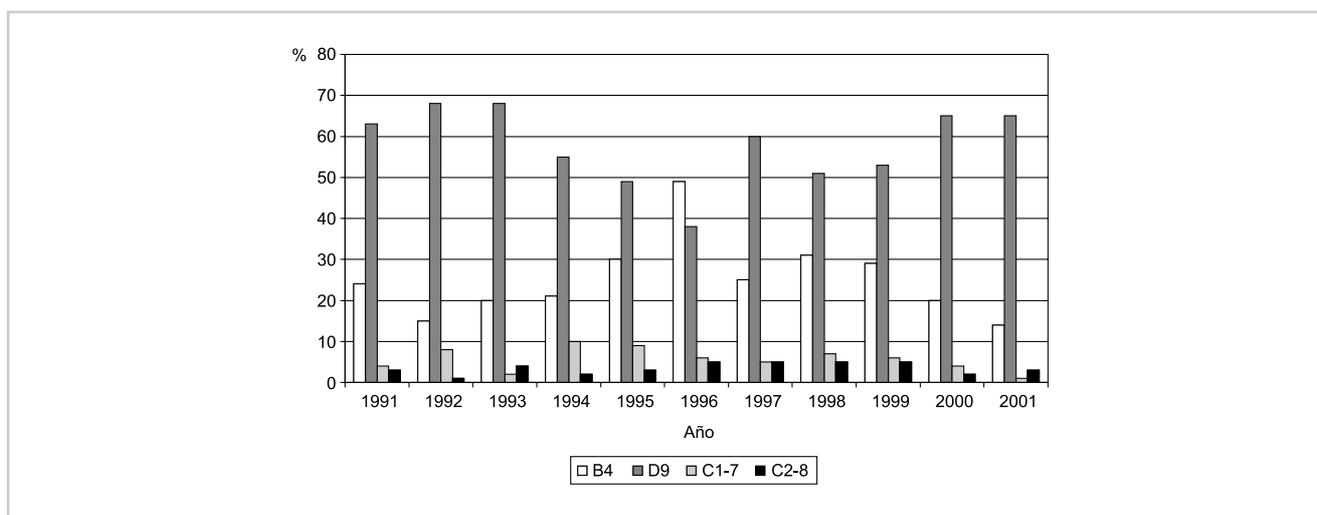


Figura 1. Distribución por serogrupos de las cepas de *Salmonella* aisladas entre 1991 y 2001.

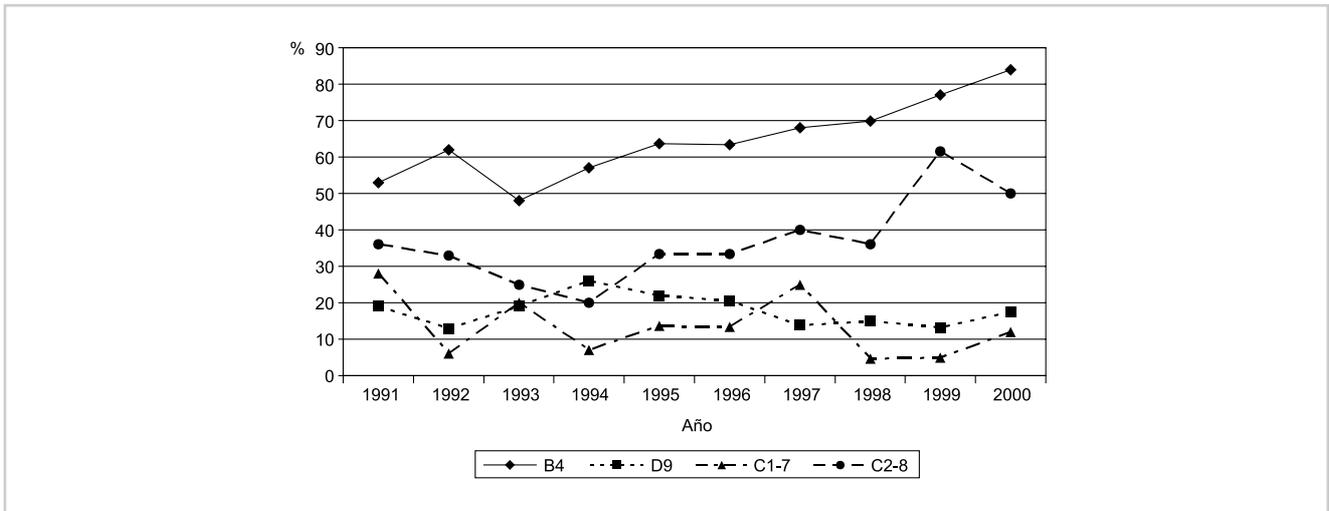


Figura 2. Evolución de la resistencia a la ampicilina de los distintos serogrupos de *Salmonella* representada en porcentaje de cepas resistentes aisladas cada año.

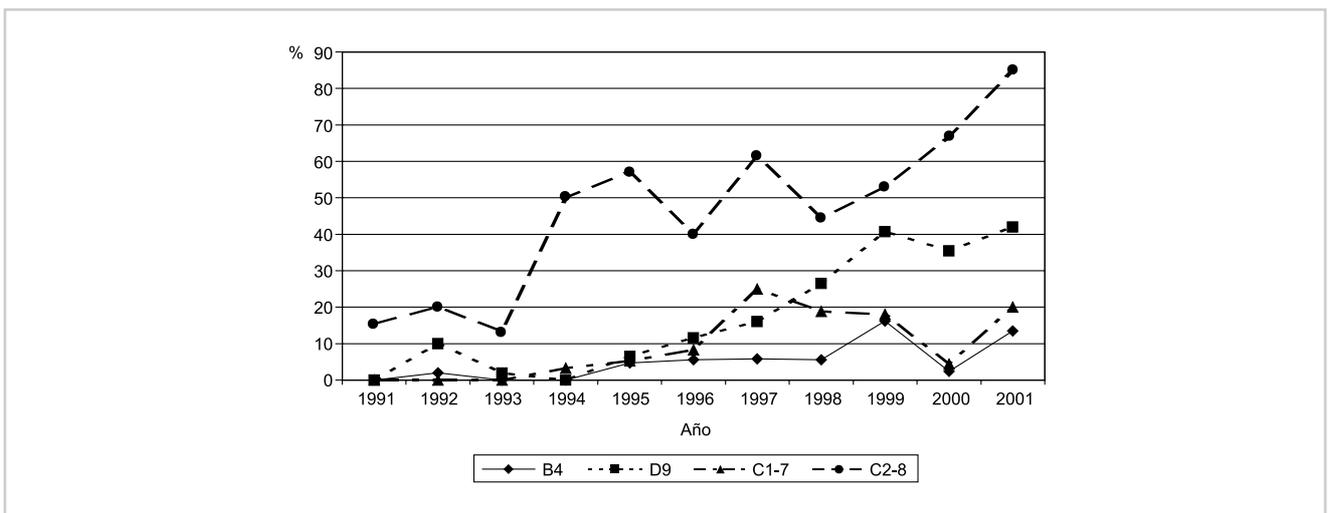


Figura 3. Evolución de la resistencia al ácido nalidíxico de los distintos serogrupos de *Salmonella* representada en porcentaje de cepas resistentes aisladas cada año.

Los dos grupos de antibióticos estudiados fueron los betalactámicos (ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, piperacilina, cefazolina, cefuroxima y cefotaxima) y las quinolonas (ácido nalidíxico y ciprofloxacino).

hubo una inversión en la proporción de serogrupos, pasando a ser el B4 el más frecuente; desde ese año, el porcentaje de cepas pertenecientes al serogrupo D9 cada vez es mayor, en detrimento de un aislamiento cada vez menos frecuente de cepas del serogrupo B4.

RESULTADOS

Evolución de los serogrupos

De las 3230 cepas, 1998 eran del serogrupo D9, 905 del B4, 190 del C1-7 y 137 del C2-8. En la Fig. 1 se representan los datos por año y se puede observar que la distribución de los serogrupos no fue igual todos los años. En 1996

Evolución de las resistencias

Betalactámicos

El serogrupo más resistente a la ampicilina fue el B4, al cual pertenece el serotipo *typhimurium* (84% de cepas resistentes en el año 2000). Como se puede observar en la

Tabla 1. Evolución de la sensibilidad al ciprofloxacino durante los años del estudio, en porcentaje de cepas que presentan cada CMI. Se han resaltado en negrita los máximos alcanzados en 1966, y en cursiva la tendencia al aumento de las cepas con CMI = 1 mg/l en los últimos años.

Serogrupo	Año	CMI				
		0,12 mg/l	0,25 mg/l	0,5 mg/l	1 mg/l	2 mg/l
B4	1995	91	9	0	0	0
	1996	0	12	10	76	2
	1997	0	40	15	55	0
	1998	90	6	4	0	0
	1999	90	5	4	<i>1</i>	0
	2000	90	5	2	<i>3</i>	0
	2001	85	2	3	<i>10</i>	0
D9	1995	89	7	4	0	0
	1996	0	7	5	88	0
	1997	0	95	5	0	0
	1998	70	15	15	0	0
	1999	65	5	0	<i>30</i>	0
	2000	62	8	0	<i>30</i>	0
	2001	59	1	0	<i>40</i>	0
C1-7	1995	100	0	0	0	0
	1996	0	0	0	95	0
	1997	0	27	0	73	0
	1998	75	20	5	0	0
	1999	30	15	15	40	0
	2000	100	0	0	0	0
	2001	71	0	0	29	0
C2-8	1995	2	8	85	5	0
	1996	0	0	0	100	0
	1997	0	14,3	28,6	28,6	14
	1998	55	0	11	33	0
	1999	46,2	0	0	<i>53,8</i>	0
	2000	33,3	0	0	<i>66,7</i>	0
	2001	27	0	0	<i>72</i>	0

Fig. 2, la resistencia a este antibiótico muestra un ligero aumento en los últimos años para este serogrupo y para el C2-8, que en España suele estar representado por el serotipo *hadar*. En el resto de los serogrupos no se observó este gradual aumento en el porcentaje de cepas resistentes.

Respecto a las cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, no observamos ninguna tendencia a aumentar o disminuir la resistencia, siendo en general todos los serogrupos más sensibles a las cefalosporinas. La resistencia a la cefuroxima no superó en ningún caso el 12% y fue más frecuente para el serogrupo B4.

Se aislaron, únicamente en el año 2001, dos cepas resistentes a la cefotaxima pertenecientes al serogrupo C1-7, en concreto al serotipo *virchow*.

Respecto a la asociación amoxicilina-ácido clavulánico, hay que destacar la gran resistencia del serogrupo B4, que

alcanzó al 45% de las cepas en el año 1996; no obstante, en el conjunto de la década el porcentaje de cepas resistentes fluctúa de manera aleatoria entre el 25% y el 45%, sin que se observe ninguna tendencia clara. El resto de los serogrupos fueron mucho más sensibles a amoxicilina-ácido clavulánico, no superando en ningún caso el 15% de cepas resistentes.

Quinolonas

El serogrupo más resistente al ácido nalidíxico resultó ser el C2-8, como se ilustra en la Fig. 3, llegando a un 86% de cepas resistentes en el año 2001. Se observó una tendencia gradual de todos los serogrupos a aumentar la resistencia en los últimos años. Sólo se aislaron tres cepas resistentes al ciprofloxacino, una en el año 1996, perteneciente al serogrupo B4, y dos en 1997, del serogrupo C2-8.

Se estudió con más detalle la evolución de las CMI de ciprofloxacino para los distintos serogrupos durante los últimos siete años. Los resultados de las CMI para los serogrupos D9, B4, C1-7 y C2-8 aparecen en la Tabla 1.

DISCUSIÓN

El serogrupo más prevalente en la última década ha sido el D9 (61%), seguido del B4 (25%), al igual que ha ocurrido en el resto de los países europeos en el mismo periodo (8, 9). Los serogrupos C1-7 y C2-8 han sido mucho menos frecuentes, suponiendo un 6% y un 2,3% de los aislamientos, respectivamente. Son datos globales, pero es importante observar la evolución de los dos serogrupos más importantes durante los once años del estudio: en 1996 hay una inversión de serogrupos, pasando a ser B4 el predominante, con un 40% de los aislamientos, por encima del serogrupo D9 (31%); desde esa fecha se observa un claro aumento del serogrupo D9 en detrimento del B4. La diferencia entre ambos es cada vez mayor, llegando a un 72% del D9 frente a un 17% del B4 en el año 2001. En otras regiones de España (4-6) y en otros países de Europa y del resto del mundo también se ha observado esta tendencia descendente del serogrupo B4 a partir del año 1996 (27, 28). Numerosos autores atribuyen el aumento de *S. typhimurium* en los años 1996-1997 a la emergencia del clon multirresistente DT104 (10, 19, 21, 29). Por otro lado, en un estudio realizado sobre el origen de los serotipos, se observa que *S. enteritidis* es predominante en huevos y carnes de aves de corral, mientras que *S. typhimurium* predomina en otros tipos de carne (30), por lo que se puede suponer que el consumo de productos avícolas también ha contribuido al aumento de las gastroenteritis por el serotipo *enteritidis* en los últimos años.

El serotipo *enteritidis*, el más aislado dentro del serogrupo D9, es globalmente más sensible a los antibióticos que el resto de los serotipos. En España los datos muestran unos porcentajes globales de resistencia del 33,3% para *S. typhimurium*, principal representante del serogrupo B4 en humanos, frente al 4,56% para *S. enteritidis* (31). Además, el aumento de la resistencia a los distintos antibióticos observado en los últimos años para *S. typhimurium* no se aprecia en *S. enteritidis*. La resistencia a la ampicilina del serogrupo B4 ha sufrido un lento pero constante aumento en nuestro medio desde 1993, año en que la mitad de las cepas eran sensibles a este antibiótico, hasta llegar a un 70% de cepas resistentes en el año 2001, en concordancia con lo que ocurre en otras zonas de España (6).

Respecto a las cefalosporinas, el serogrupo más resistente a la cefuroxima resultó ser el B4, seguido del C2-8 y

con el D9 en último lugar. Un gran porcentaje (48%) de los pacientes en que se aislaron estas cepas resistentes provenían de servicios como cirugía, medicina interna o cuidados intensivos, y estaban tratados con antibióticos de amplio espectro. Las muestras restantes procedían del servicio de urgencias y el 57% de los pacientes en que se aislaron había tomado antibióticos en los días anteriores al cultivo.

La mayor resistencia del serogrupo B4 a amoxicilina-ácido clavulánico podría deberse a que a este serogrupo pertenece el fagotipo multirresistente DT104, que suele mostrar resistencia a los inhibidores de betalactamasas por producción de varias betalactamasas simultáneamente o hiperproducción de una de ellas; cualquiera de los dos mecanismos hace que la cantidad de enzimas producidas por la bacteria sea tal que el inhibidor es incapaz de actuar de forma eficaz (8).

El grupo de antibióticos para el cual el aumento de cepas resistentes ha sido más evidente, sin duda, es el de las quinolonas, y en concreto el ácido nalidíxico, pasando de un 6% de cepas resistentes del serogrupo D9 en el año 1995 a un 40% en el año 2001. Lo mismo ha ocurrido en el resto de los serogrupos. Estos datos coinciden con lo observado por otros autores, que hablan de resistencias que alcanzan al 60% de las cepas del serotipo *enteritidis* (7), aunque en nuestro caso el porcentaje haya sido algo menor. No obstante, el 86% de nuestras cepas pertenecientes al serogrupo C2-8 son resistentes a esta quinolona, hecho que podría atribuirse a la distinta distribución de serotipos de *Salmonella* en los alimentos, ya que, como se comentó anteriormente, los serotipos *hadar* (principal representante del serogrupo C2-8) y *enteritidis* se aíslan predominantemente de aves, a diferencia de otros serotipos, como el *typhimurium*, que se relaciona sobre todo con la carne de cerdo u otros animales (30). El gran uso de quinolonas (enrofloxacino) en aves podría justificar la mayor resistencia de los serotipos *hadar* y *enteritidis* al ácido nalidíxico. Esta facilidad del ácido nalidíxico de seleccionar cepas resistentes se ha observado también en otros miembros de la familia de las enterobacterias (32).

La aparición de cepas resistentes al ácido nalidíxico debe estudiarse con precaución, porque suele preceder a la aparición de resistencia a las fluoroquinolonas (33), y debemos interpretarlo como un marcador de futuras resistencias. Afortunadamente, los alarmantes datos de resistencia al ácido nalidíxico no se observan con las quinolonas de mayor espectro. La sensibilidad a las fluoroquinolonas se ha mantenido en países tan diversos como Estados Unidos, Irlanda, República Checa o Israel, donde no se ha aislado ninguna cepa resistente (10, 12, 20), y en aquellos donde se ha aislado alguna cepa resistente, como el Reino Unido, la

frecuencia ha sido bajísima. En España, estudios realizados en distintas ciudades no encuentran cepas resistentes al ciprofloxacino, aunque en general se constata un aumento de la CMI para este antibiótico (4-6). Estas cepas, que serían consideradas sensibles según los criterios del NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 2000), así como por otros estamentos como el SFM (*Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie*, 1999) o el BSAC (*British Society for Antimicrobial Chemotherapy*, 1999), serían resistentes según MENSURA (Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos), ya que los puntos de corte para ciprofloxacino y *Salmonella* (CMI = 0,1 mg/l para ser considerada sensible) son distintos.

Teniendo en cuenta los fracasos terapéuticos ocurridos en pacientes infectados por cepas de *Salmonella* resistentes al ácido nalidíxico y con sensibilidad disminuida al ciprofloxacino (34), consideramos que los puntos de corte propuestos por el NCCLS para ciprofloxacino son excesivamente altos. Utilizando los criterios del grupo MENSURA estas cepas serían resistentes, lo que obligaría al clínico a buscar una alternativa a las fluoroquinolonas para tratar a estos pacientes, evitando así el posible fracaso terapéutico.

La disminución de la sensibilidad de *Salmonella* a las quinolonas se puede atribuir a distintos factores, entre los que destacan el uso de quinolonas en animales (15, 16) y el abuso de estos antibióticos como profilácticos, o su uso empírico para tratar cuadros tan inespecíficos como la diarrea del viajero (13). No obstante, no siempre es posible relacionar el uso de antibióticos, tanto en humanos como en animales, con el aumento de resistencias, ya que este problema se debe a un complejo proceso multifactorial en que el uso de antibióticos es sólo uno de los factores.

Correspondencia: Dra. M^a Luisa Güerri Santos, C/Palencia 17A, 28004 Alcalá de Henares (Madrid).

BIBLIOGRAFÍA

1. Centro Nacional de Epidemiología. *Resultados de la declaración al sistema de información microbiológica*. Bol Epidemiol Sem 2002; 10: 282.
2. Usera, M.A., Cano, R., Echeita, A. *Análisis de los serotipos de Salmonella spp. aislados en España en el periodo 1986-1992*. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 13: 138-145.
3. Orden Gutiérrez, J.A., de la Fuente López, R. *Repercusiones en salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal*. Rev Esp Salud Pública 2001; 75: 313-320.
4. Olivera, S., Castillo, F.J., Llorente, M.T. y cols. *Resistencia antibiótica en cepas clínicas de Salmonella enterica aisladas en Zaragoza*. Rev Esp Quimioterap 2002; 15: 152-157.
5. Gil-Setas, A., Mazón, A., Martín, A., Urriaga, M., Inza, M. *Non-typhoid salmonellosis in a basic health area of Navarra, Spain*. Rev Esp Salud Pública 2002; 76: 49-56.
6. Bautista, M.F., Martínez-Brocal, A., Usera, M.A. y cols. *Serotipos y susceptibilidad a antimicrobianos de Salmonella sp. en la provincia de Granada*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002; 20: 151.
7. Frost, J.A., Kelleher, A., Rowe, B. *Increasing ciprofloxacin resistance in salmonellas in England and Wales 1991-1994*. J Antimicrob Chemother 1996; 37: 85-91.
8. Llanes, C., Kirchgessner, V., Plesiat, P. *Propagation of TEM and PSE type beta-lactamases among amoxicillin resistant Salmonella spp. isolated in France*. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2430-2436.
9. 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.
10. Glynn, M.K., Boop, C., Dewitt, W., Dabney, P., Mokhtar, M., Angulo, F. *Emergence of multidrug-resistant Salmonella enterica serotype typhimurium DT104 infections in the United States*. N Engl J Med 1998; 338: 1333-1338.
11. Yildirmak, T., Yazgan, A., Ozceengiz, G. *Multiple drug resistance patterns and plasmid profiles of non-typhi salmonellae in Turkey*. Epidemiol Infect 1998; 121: 303-307.
12. Lázaro, E., Madurga, M. *Evolución del consumo de antibióticos en España, 1985-2000*. Med Clin 2002; 118: 561-568.
13. Bojalil, R., Calva, J.J. *Antibiotic misuse in diarrhea. A household survey in a Mexican community*. J Clin Epidemiol 1994; 47: 147-156.
14. Reyes, H., Guiscafre, H., Muñoz, O., Pérez-Cuevas, R., Martínez, H., Gutiérrez, G. *Antibiotic noncompliance and waste in upper respiratory infections and acute diarrhea*. Infect Agents Dis 1994; 3: 266-273.
15. Pérez Gorriño, B., Baquero, F. *Antibióticos como aditivos a piensos*. Rev Esp Quimioterap 1998; 1: 98-99.
16. Díez, P., Calderón, V. *Empleo de antibióticos en veterinaria*. Rev Esp Quimioterap 1997; 10: 275-280.
17. Soto, S.M., González-Hevia, M.A., Mendoza, M.C. *Antimicrobial resistance in clinical isolates of Salmonella enterica serotype enteritidis: Relationships between mutations conferring quinolone resistance, integrons, plasmids and genetic elements*. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 1287-1291.
18. Threlfall, E., Ward, L., Skinner, J.A., Rowe, B. *Increase in multiple antibiotic resistance in nontyphoidal Salmonellas from humans in England and Wales: A comparison of data for 1994 and 1996*. Microb Drug Resist 1997; 3: 263-266.
19. Metzger, E., Agmon, V., Andoren, N., Cohen, D. *Emergence of multi-drug-resistant Salmonella enterica serotype typhimurium phage-type DT104 among salmonellae causing enteritis in Israel*. Epidemiol Infect 1998; 121: 555-559.
20. Karpiskova, R., Benes, C., Dedicova, D. *Aparición de Salmonella typhimurium DT104 resistente a múltiples fármacos en la República Checa*. Eurosurveillance 1999; 4: 56-58.
21. Sandvang, D., Aarestrup, F.M., Jensen, L.B. *Characterisation of integrons and antibiotic resistance genes in Danish multiresistant Salmonella enterica typhimurium DT104*. FEMS Microbiol Lett 1997; 160: 37-41.
22. Alvseike, O., Skerve, E. *Prevalence of a Salmonella subspecies diarizonae in Norwegian sheep herds*. Prev Vet Med 2002; 52: 277-285.

23. Almuth, L., Prager, R., Streckel, W., Rabsch, W., Gerike, B., Tschäpe, H. *Wird der Salmonella-enterica-Stamm DT104 des serovar Typhimurium der neue Führende epidemiotyp in Deutschland.* Robert Koch Institute Info 1997; 1: 10.
24. Davies, M.A., Hancock, D.D., Besser, T.E. y cols. *Changes in antimicrobial resistance among Salmonella enterica serovar typhimurium isolates from human and cattle in the northwestern United States, 1982-1997.* Emerg Infec Dis 1999; 5: 802-806.
25. Heisig, P., Kratz, B., Halle, E. y cols. *Identification of DNA gyrase A mutations in ciprofloxacin-resistance isolates of Salmonella typhimurium from men and cattle in Germany.* Microb Drug Res 1995; 1: 211-218.
26. Reche, M.P., García de los Ríos, J.E., Jiménez, P.A., Rojas, A.M., Rotger, R. *gyrA mutations associated with nalidixic acid-resistant salmonellae from wild birds.* Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 3108-3109.
27. CDC. Department of Health and Human Services. *Salmonella surveillance. Annual Tabulation Summary 1996.*
28. World Health Organization. *Multidrug resistance Salmonella typhimurium.* WHO Fact Sheet 1997; 139: 1-4.
29. Rivera, M.J., Rivera, N., Castillo, J., Rubio, M.C., Gómez-Lus, R. *Molecular and epidemiological study of Salmonella clinical isolates.* J Clin Microbiol 1997; 29: 927-932.
30. Holmberg, S.D., Osterholm, M.H., Senger, K.A., Cohen, M.L. *Animal to man transmission of antimicrobial resistant Salmonella: Investigations of U.S. outbreaks.* New Engl J Med 1984; 311: 617-622.
31. Martínez, R., Orden, B., Millán, R. *Evolución de la resistencia de Salmonella enterica en atención primaria.* Enferm Infec Microbiol Clin 2002; 20: 179.
32. Ronal, A.R., Turck, M., Petersdorf, R.G. *A critical evaluation of nalidixic acid in urinary tract infections.* N Engl J Med 1966; 275: 1081-1089.
33. Turnidge, J. *Epidemiology of quinolone resistance. Eastern hemisphere.* Drugs 1995; 49: 43-47.
34. Aarestrup, F.M., Wiuff, C., Molbak, K., Threlfall, E.J. *Is it time to change fluoroquinolone breakpoints for Salmonella spp.?* Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 827-829.