



Universidad
Zaragoza

Grado en Nutrición Humana y Dietética

**Resistencia de aislamientos de
Salmonella no tifoidea en humanos a
antibióticos de interés terapéutico en
personas**

Alumna: Clara E. Carretero Nieto

Tutora de la Universidad de Zaragoza: Marta Fajó Pascual

Departamento de Microbiología, Medicina Preventiva y Salud Pública

Resumen

Introducción: Salmonelosis es tras campylobacteriosis la infección bacteriana de origen alimentario más frecuente en España y Europa. El hecho de que las resistencias de aislamientos de *Salmonella* a antibióticos de interés terapéutico estén aumentando presenta un problema grave para tratar infecciones invasivas causadas por esta bacteria.

Objetivos: Investigar la tendencia temporal (2009-2011) en aislamientos en personas de *Salmonella* no tifoidea y su resistencia a antibióticos de interés terapéutico como ciprofloxacino (fluoroquinolona) y cefotaxima (cefalosporina de 3^a generación), valorando diferencias en Europa vs. España y entre serovares Typhimurium vs Enteritidis.

Métodos: Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de artículos utilizando bases de datos como PubMed o Scielo y páginas de organismos oficiales como EFSA o AESAN.

Resultados: El número de aislamientos en personas de *salmonella* no tifoidea parece disminuir desde 2003. Esa disminución se ha producido sobre todo para *S.Enteritidis*. *S.Typhimurium* muestra más resistencia a cefotaxima que *S.Enteritidis* tanto en Europa como en España. Para ciprofloxacino el porcentaje de resistencia encontrado en ambos serovares es más bajo en España que en el resto de Europa. El consumo de antibióticos en personas en España es mayor que la media Europea.

Discusión: La disminución de aislamientos de *Salmonella* no tifoidea sobre todo del serovar *Enteritidis* desde 2004 sugeriría que las medidas de control tomadas en granjas aviares han sido efectivas. La presencia de distintos niveles de resistencia de los dos serovares podría interpretarse como una mayor presión antibiótica en las poblaciones animales que actuarían como hospedadores. El abuso de antibióticos en personas se ha sugerido como una causa del incremento de la antibioresistencia, y el consumo en España es mayor que la media europea. Es necesario continuar recogiendo datos de antibioresistencias en Europa y sobre todo utilizar métodos estandarizados que aumenten la comparabilidad de los datos entre países.

Contenido

Listado de Abreviaturas.....	4
1.- Introducción	5
2.- Objetivos	14
3.- Material y métodos.....	14
4.- Resultados.....	15
5.- Discusión	25
6.- Conclusiones	28
7.- Bibliografía	30

Listado de Abreviaturas

EFSA: European Food Safety Authority

UE: Unión Europea

AESAN: Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición

ECDC: European Center for Disease Prevention and Control

WHO: World Health Organization

QRDR: Quinolone Resistance-Determining Region

Ac. Nalidíxico: Ácido Nalidíxico

EU: European Union

DDD: Defined Daily Dose

1.- Introducción

***Salmonella* no tifoidea**

Salmonella spp. son una familia de bacterias que provocan en humanos la enfermedad denominada salmonelosis, la cual pertenece al grupo de enfermedades de transmisión alimentaria. Es una zoonosis, una enfermedad o infección que es transmitida, directa o indirectamente, entre animales y humanos. La bacteria se encuentra comúnmente en el intestino de aves y mamíferos sanos. Puede llegar a humanos a través de huevos o carne contaminada, más frecuentemente por productos avícolas y carne de cerdo.

Salmonella spp. son un género de bacterias que se encuentran dentro de la familia de las Enterobacteriaceae. Se caracterizan por ser bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, con flagelos y porque no tienen cápsula ni desarrollan esporas. Serotipos de *Salmonella enterica subespecie enterica* son causante de enfermedad en humanos. Se puede dividir al género *Salmonella* en dos especies principales: *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*. En esta última se incluyen 6 subespecies, la antes nombrada *Salmonella enterica subespecie enterica* es la de mayor interés desde un punto de vista clínico. Muchos miembros de esta subespecie fueron nombrados según el lugar dónde el serovar o serotipo fue aislado por primera vez^[1]. En este texto, los organismos serán nombrados por el género seguido del serovar, es decir, S.Enteritidis, también conocida como salmonella no tifoidea. Dentro de *S. enterica* se pueden encontrar hasta 2.500 serovares (o serotipos) y su prevalencia cambia con el tiempo. Los serotipos indican un tipo de microorganismo infeccioso que se clasifica en función de los antígenos que se encuentran en la superficie celular. Los serotipos permiten diferenciar organismos a nivel de subespecie. Así, un determinado serotipo es una subpoblación de microorganismos infecciosos que se distingue de otras subpoblaciones de su misma especie mediante pruebas serológicas. Por lo tanto, puede que la respuesta inmunitaria de nuestro organismo al serotipo de un microorganismo no surja efecto frente a otro serotipo de la misma especie. Los serotipos pueden clasificarse según su virulencia, existencia de lipopolisacáridos en bacterias Gram negativas, presencia de exotoxinas, plásmidos, bacteriófagos u otras particularidades biológicas que distinguen a dos elementos de la misma especie.

La salmonelosis humana asociada a origen alimentario, cursa con un período de incubación de entre 6-48 horas y habitualmente se presentan los siguientes síntomas: gastroenteritis más o menos grave con diarreas, náuseas y vómitos, dolor de cabeza, dolor abdominal y en ocasiones fiebre. En algunos enfermos, normalmente niños, personas mayores o personas inmunodeprimidas, la enfermedad puede pasar a ser invasiva, penetrando en el torrente sanguíneo, cursando en este caso con bacteriemia. Así, pueden llegar a producirse daños en órganos e incluso pudiendo ser mortal o

producir secuelas a largo plazo como la artritis reactiva. Será en el caso de que exista bacteriemia cuando se administren antibióticos para resolver la infección^[2]. Sólo en la Unión Europea se comunican más de 100.000 casos al año. EFSA (European Food Safety Authority) ha estimado que la carga económica total de la salmonelosis humana podría suponer hasta 3 billones de euros al año^[3]. En los últimos años, la aparición de resistencias a antibióticos de uso terapéutico en humanos ha preocupado a muchos profesionales de la salud, ya que puede llegar a suponer un gran problema de salud pública. Por ello en este estudio se pretende intentar esclarecer las posibles causas de estas resistencias y que se puede hacer al respecto.

Actualmente existe una amplia gama de antibióticos en el mercado. En este estudio se aportarán datos de los de elección para el tratamiento de salmonelosis; sobre los que se expondrán resultados encontrados sobre antibioresistencias. A continuación se explica brevemente las características generales de los antimicrobianos de elección para el tratamiento de infecciones como la salmonelosis.

Según la estructura química de los antibióticos se pueden dividir en las siguientes categorías:

- Cefalosporinas:
 - o De primera generación: son β -lactámicos que impiden la síntesis de peptidoglicano, pero son menos sensibles que otros β -lactámicos a las β -lactamasas.
 - o De segunda generación: como otros β -lactámicos impiden la síntesis de peptidoglicano. Son más eficaces que la penicilina frente a las bacterias Gram negativas.
 - o De tercera generación: también interrumpen la síntesis de peptidoglicano. Estas cefalosporinas se utilizan en el tratamiento de infecciones graves por microorganismos resistentes a otros β -lactámicos. Es a este grupo al que pertenece la **cefotaxima**. Es de este grupo y concretamente de este antibiótico, sobre el que tratamos en este estudio.
 - o De cuarta generación: impiden la formación de peptidoglicano.
 - o De quinta generación: impiden la formación de peptidoglicano.
- Penicilinas: Igual que otros β -lactámicos inhiben la síntesis de peptidoglicano y se prescriben para una amplia gama de infecciones. Dentro de este grupo encontramos a la **ampicilina**. Se proporcionarán más adelante en este trabajo datos de este antibiótico, ya que es un medicamento clásico, que por desgracia está empezando a caer en desuso

debido a las altas resistencias que presenta, cómo discutiremos más adelante (Tablas 1 a 6).

- Quinolonas: inhiben a la DNA girasa, la topoisomerasa y otras enzimas participantes en la transcripción del DNA de las bacterias. Presentan baja actividad frente a microorganismos anaerobios. En este grupo encontramos al **ciprofloxacino** y al **ácido nalidíxico**. Será también sobre este grupo, y concretamente sobre estos antibióticos sobre los que trataremos en este estudio.
- Trimetoprim: bacteriostático que inhibe la formación de ácido fólico en la bacteria. Se suele utilizar para infecciones urinarias, pero debido a su amplio espectro también se utiliza en infecciones gastrointestinales como la salmonelosis.

Posibles mecanismos de resistencia desarrollados por *Salmonella* a los antibióticos de elección para tratamiento de salmonelosis.

Hay estudios que indican que, el problema de resistencia a antibióticos por parte de *Salmonella* hace años que existe^{[4],[5],[6]}. En 1999 Eurosurveillance^[7] ya anunció la creación de una nueva red para la vigilancia y control de casos de salmonelosis en Europa, debido a que las antibioresistencias presentaban un problema importante para tratar la enfermedad. No sólo la presencia de resistencia a un antibiótico es un problema, también la presencia de multiresistencias, es decir, resistencias a varios de los antibióticos relevantes clínicamente de forma simultánea^[8].

Los antibióticos tradicionales como ampicilina, cloramfenicol y sulfametoxazol-trimetoprim, no son ya adecuados para el tratamiento de la salmonelosis invasiva. El alto porcentaje de resistencia que presenta *Salmonella* a estos, hace que su uso sólo aumente las posibilidades de retrasar el comienzo del tratamiento de la infección, poniendo en peligro al paciente. Los dos agentes que han permanecido relativamente eficaces en los últimos tiempos han sido las fluoroquinolonas y cefalosporinas de amplio espectro, que se convierten en el tratamiento de elección actualmente. A pesar de esto, la emergencia de resistencias en serovares de *Salmonella* complican la elección del tratamiento más adecuado para el paciente. A continuación se resumen los mecanismos de resistencia que se conocen hasta ahora para *Salmonella*^[9].

Fluoroquinolonas

Como para otros miembros de la familia Enterobacteriaceae, la resistencia a las fluoroquinolonas en *Salmonella* es principalmente debida a mutaciones en la región determinante de resistencia a la quinolona (QRDR según sus siglas en inglés, *Quinolone Resistance-Determining Region*, denominación que será empleada a partir de ahora en el texto) situada en los genes de la DNA girasa. Los puntos de mutación más frecuentes en la porción *gyrA* de las *Salmonellas* resistentes a las quinolonas son cambios en aminoácidos como ácido aspártico a glicina, asparagina o tirosina, y, de serina a fenilalanina, tirosina o alanina.

Otro mecanismo que puede participar en la resistencia a fluoroquinolonas es un sistema de eflujo recientemente descubierto, el AcrAB-TolC, y sus genes reguladores. Estos sistemas de eflujo son complejos proteicos en la membrana celular que ayudan a las células a deshacerse del tóxico, en este caso, los antibióticos. Parece que este mecanismo juega un papel importante en la resistencia. Recientemente se ha identificado un inhibidor de la bomba de eflujo que ha demostrado eficacia inhibitoria, lo que hace considerarlo un potencial agente terapéutico en combinación con fluoroquinolonas a la hora de tratar infecciones por serotipos de *Salmonella* con un alto nivel de resistencia a dichos antibióticos. De todos modos, este inhibidor de la bomba de eflujo está todavía pendiente de evaluación clínica.

También han sido descubiertas alteraciones en la expresión de proteínas y lipopolisacáridos de la membrana externa de especímenes resistentes a quinolonas^[9].

Cefalosporinas de amplio espectro

Las resistencias presentadas a este tipo de antibióticos se deben a la producción por parte del microorganismo de cefalosporinasas de amplio espectro. Según algunos informes^[9], se pone de manifiesto que *Salmonella* produce una variedad de dichas enzimas, la mayoría de las cuales son β -lactamasas de amplio espectro, las cuales pueden hidrolizar tanto cefalosporinas como cefamicinas. Los genes que se encargan de transmitir esta información son transportados por plásmidos conjugados, transposones o integrones. Estos elementos genéticos móviles pueden expandirse horizontalmente entre organismos entéricos. Esto significa que la resistencia de *Salmonella* a antibióticos puede ser debida, no sólo a la presión derivada del mal uso o abuso de antibióticos en alimentos para animales, sino que, además, puede que se haya convertido en resistente a través de la adquisición de plásmidos resistentes a medicamentos de otros patógenos entéricos, que se encuentren en el tracto intestinal del paciente o del animal.

La evidencia encontrada tipificando genes indica que, tanto la diseminación clonal como la transferencia horizontal de genes resistentes contribuyen a la expansión de la resistencia^[8]. De los dos, parece que la transmisión a través de conjugación juega un papel más importante. De hecho, se ha observado, que plásmidos resistentes se recombinan con plásmidos virulentos específicos para un serotipo de *Salmonella*, y así forman un plásmido híbrido virulento/resistente. Parece que estas pequeñas evoluciones dan a la *Salmonella* no sólo una ventaja para la supervivencia en un medio desfavorable con presencia de medicamentos, sino además la posibilidad de crear un nuevo linaje genético con el que expandirse; resultando en el incremento general de la prevalencia de resistencia a medicamentos ante infecciones de *Salmonella spp.* tanto en animales como en humanos^[9].

Dentro de la subespecie *S. enterica*, los serotipos que más frecuentemente causan enfermedad son *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. Son los serovares más reportados por los países miembros de la Unión Europea, cuando se realiza identificación de serotipos al estudiar infecciones en animales y en

humanos. S.Enteritidis tiene como hospedador mayoritario a la gallina, por lo que se suele encontrar en huevos, ovoproductos o pollo para consumo. S.Typhimurium tiene como hospedador habitual al cerdo, aunque también se encuentra en productos avícolas como segundo serovar más abundante detrás de S.Enteritidis. A pesar de que parece que S.Infantis está aumentando su presencia en productos avícolas, siguen siendo S.Enteritidis y S.Typhimurium los más encontrados en productos avícolas. Un problema de estos dos últimos serotipos es que se pueden encontrar también en otros tipos de animales como ganado vacuno o granjas de pavos en cantidades importantes. En 2009, de 4.306 aislamientos serotipados, 1.699 (39,5 %) se identificaron como S.Typhimurium para el total de aislamientos en casos de salmonelosis reportados por 12 estados miembros a la EFSA^[3]. En España de 29 aislamientos, el 3,4 % se identificó como S.Typhimurium. Es, por su alta presencia tanto en Europa como en España, de estos dos serovares en los que se va a centrar este trabajo (si se hablara de otro serovar se especificaría, como por ejemplo S.Dublin).

Según el Boletín Epidemiológico Semanal^[10] entre los años 2000 y 2008 se declararon 58.407 casos de infección por *Salmonella* no tifoidea que fueron identificados en 31 laboratorios diferentes de 12 comunidades autónomas de España. De estos se seleccionaron 53.801 para realizar un estudio de tendencia temporal. En 47.078 de los casos se comunicó información sobre el serotipo causante de la infección. 29.319 casos de salmonelosis fueron causados por S.Enteritidis (62,28 %) y 6.784 casos (14,41 %) fueron causados por el serovar S.Typhimurium en España durante el periodo 2000-2008. El tercer serovar en causar infección durante estos años fue *Salmonella* grupo D con 3.293 casos (6,99 %), aproximadamente la mitad de los que causa el segundo serovar. Se ha observado que la presencia de S.Enteritidis disminuye en los aislamientos, descenso que no se observa tan claramente en S.Typhimurium. Esto puede ser debido a que este último serovar no está tan vinculado a granjas avícolas que es dónde más énfasis se ha hecho con las medidas de control que ya en 2004 los entonces denominados Ministerios de Sanidad y Consumo, y de Agricultura, Pesca y Alimentación, presentaron conjuntamente como Programa de Control de *Salmonella* en Huevos y Ovoproductos en España. Así pues, se puede apreciar por qué estos serovares son los más estudiados, ya que tanto en España como en el resto de Europa son los que más frecuentemente causan infección (en el año 2008 EFSA informó^[11] que el 58,0 % de los casos de salmonelosis en humanos fueron causados por S.Enteritidis y el 21,9 % por S.Typhimurium siendo los más importantes).

Incluso si nos remontamos en el tiempo, en España, durante los años 1986-2005 se declararon entre 756 y 1.217 brotes anuales de enfermedades de transmisión alimenticia. De todos estos brotes alrededor de un 40 % se relacionaron con el consumo de huevos y derivados y, dentro de estos brotes, cerca de un 85 % de los brotes fueron adjudicados a *Salmonella spp.* como agente de enfermedad. Alrededor de un 53 % de los aislamientos estudiados se atribuyeron al serotipo

Enteritidis. Así mismo, *Salmonella spp.* se establecieron como causantes de la enfermedad en el 98 % de los brotes causados por consumo de huevos y ovoproductos en los que se completó la identificación del agente etiológico^[1]. Como podemos ver, es muy importante seguir las normas de higiene en restauración. Ya que muchos de estos brotes y/o casos podrían evitarse cuajando los huevos al cocinarse, sustituyendo el huevo crudo por ovoproductos pasteurizados, excepto cuando el alimento en cuestión tenga un posterior tratamiento térmico superior a 75 °C en el corazón del alimento^[12], o evitando comer carne cruda o semicocinada o incluso comprobando la temperatura en el corazón de la carne (al menos 75 °C) al prepararla.

Según el Boletín Epidemiológico Semanal de España^[10] y otros estudios^[13] realizados para analizar la situación epidemiológica de esta enfermedad en España, en el periodo 2000-2008, informa de una distribución por edades distinta según el aislamiento se produjera en heces o sangre. Cuando el aislamiento se produjo en heces, el 50 % de los casos se encontraba en menores de 10 años. Si el aislamiento se realizaba en sangre, el 85 % de los casos se encontraba en sujetos mayores de 15 años. Esto podría deberse a que en niños menores de 10 años se realizan más esfuerzos por determinar la causa microbiológica de una gastroenteritis que en adultos, para los cuáles se identificó la bacteria causante de la gastroenteritis cuando ya se encontraba en la sangre. En cuanto al sexo, la salmonelosis es una enfermedad que afecta a los dos géneros por igual. Cabe destacar la estacionalidad de la enfermedad, ya que es en verano cuando más casos se declaran, en España y en Europa. Esto se debe probablemente a que la temperatura ideal de crecimiento para *Salmonella spp.* es de 37 °C.

A continuación se muestran dos gráficas que ilustran la distribución por serovares de la gastroenteritis por *Salmonella no tifoidea* en España (Fig. 1) y Europa (Fig. 2):

Figura 1: Frecuencia de aislamientos de Salmonella no tifoidea por serovar en España entre 2000-2008^[10].

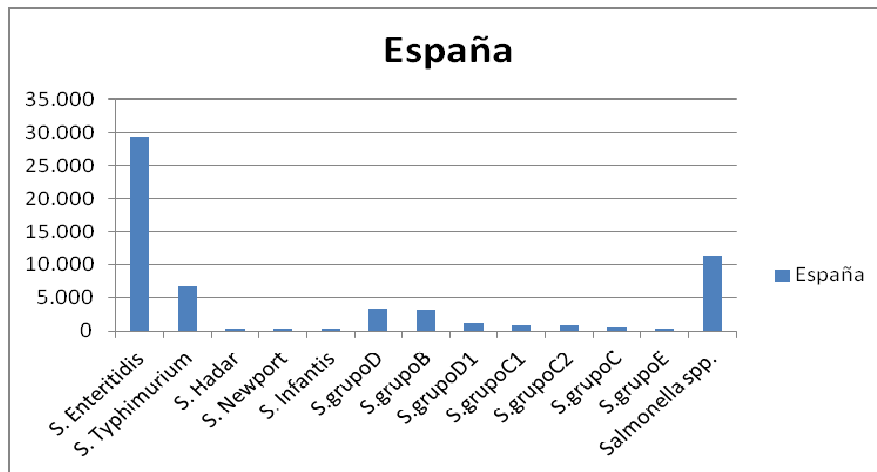
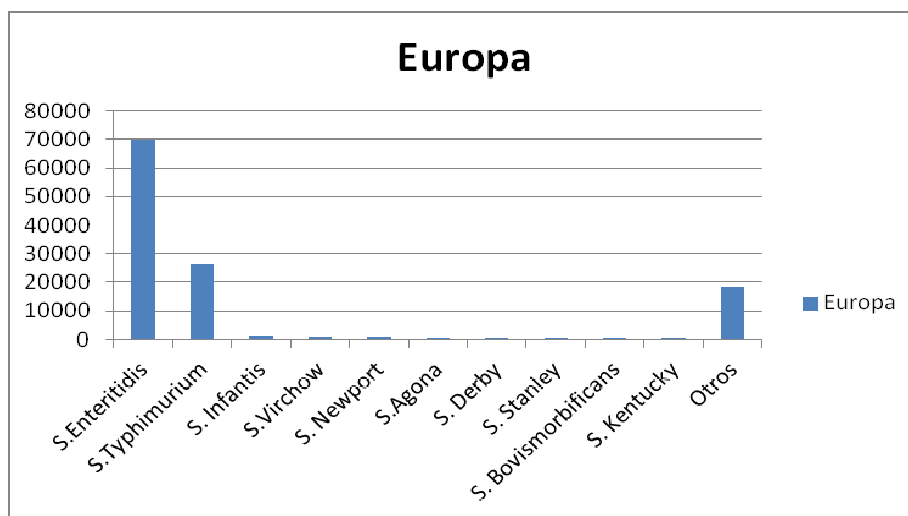


Figura 2: Frecuencia de aislamientos de Salmonella no tifoidea por serovar en Europa 2008^[11].



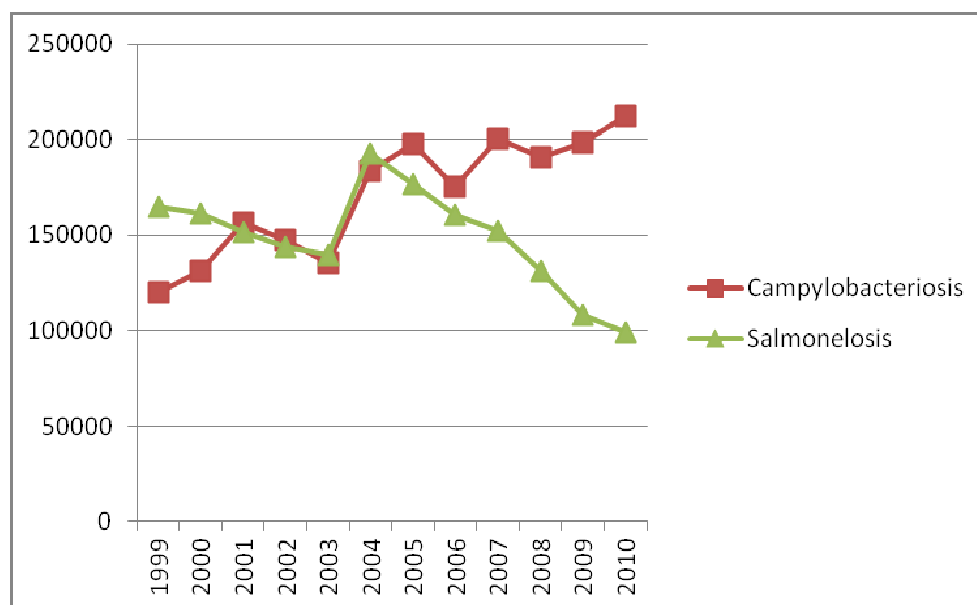
El número de casos de S. Enteritidis en Europa mostró un aumento hasta el año 2003 y luego un descenso continuado importante reduciéndose el número de casos en un 71%. En cambio este comportamiento no se observa en S. Typhimurium, que se mantiene estable durante todo el periodo aunque parece presentar una tendencia ascendente en los últimos años (aumento del 24% en 2008 respecto al año anterior^[11]).

Según los informes sobre zoonosis y enfermedades zoonóticas de la EFSA de 2007 a 2010^{[14],[11],[3],[15]}, S. Enteritidis fue el serovar más encontrado en aislamientos de gallinas y en pollo para consumo. En este último producto, la presencia de S. Infantis ha aumentado probablemente debido a la introducción de los datos aportados por Hungría, país en el que S. Infantis es el serovar predominante

(96 % de todos los aislamientos). A lo que se suma que en Austria y Rumania más del 70 % de todos los aislamientos de *Salmonella* en pollo para consumo identificados fueron de *S. Infantis*. Por otro lado *S. Typhimurium* fue el serovar más detectado en aislamientos de cerdo y carne de cerdo de 2007 a 2010 en Europa, aunque el porcentaje ha ido disminuyendo a lo largo de estos años. De esta información se puede deducir que el principal hospedador de *S. Enteritidis* es la especie aviar o las aves y el principal hospedador de *S. Typhimurium* es el cerdo.

Hay que tener en cuenta que fue en el año 1993^[16] cuando comenzó una campaña de control y reducción de *Salmonella spp.* en granjas avícolas de gallinas ponedoras promovida por la EFSA y que se llevó a cabo en todos los estados miembros de la UE. Estas medidas fueron tomadas a partir de estudios de serovares de *Salmonella spp.* en distintas especies animales. Según datos de la EFSA^[15], en 2010 para toda Europa, el serovar más presente en *Gallus gallus* fue *S. Enteritidis* con un 16,8 % y en carne de cerdo y cerdo el más encontrado fue *S. Typhimurium*. Dichos programas obligatorios de control se centraban en dos serotipos en concreto *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. Fue en 2007 cuando se añadió al programa los serovares *S. Infantis*, *S. Virchow* y *S. Hadar*. Se comenzó a seguir una regulación similar en granjas avícolas de pollo para consumo a partir de 2008, cubriendo primero los dos serovares *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. Así mismo en 2010 se pusieron en marcha programas de control en granjas de pavos. Se cree que gracias a eso, la tendencia de salmonelosis ha disminuido a lo largo de los últimos años. En la siguiente gráfica (Fig. 3) se observa la incidencia de campylobacteriosis y salmonelosis (las dos zoonosis más importantes en Europa). Los datos son de casos en Europa en el periodo de 1999 a 2010.

Figura 3: Casos de salmonelosis reportados en Europa entre los años 1999-2010^{[17],[18],[19],[14],[11],[3],[15]}



Cómo se observa en la gráfica, la tendencia general de la salmonelosis ha sido disminuir. Con excepción del salto apreciable entre 2003 y 2004, que se cree puede ser debido a la incorporación en la recogida de datos de 10 nuevos países miembros. Sin embargo, en los países miembros “antiguos” la tendencia ha sido la reducción de los casos^[17]. En España también se ha observado una disminución de los casos de salmonelosis de 2000 a 2008^[10].

Como se ha señalado anteriormente, el tratamiento con antibiótico de la salmonelosis sólo se recomienda cuando se trata de una salmonelosis invasiva. Se trata de una enfermedad intestinal normalmente autolimitante, pero es esencial un tratamiento antibiótico si la infección pasa al torrente sanguíneo. La presente revisión pretende proveer información sobre la situación actual de las resistencias a antibióticos de mayor interés terapéutico para tratar casos de salmonelosis en humanos, en concreto sobre fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación (ambos antibióticos de amplio espectro), para los serotipos más frecuentemente aislados en las gastroenteritis por salmonella no tifoidea. Estos son los antibióticos que actualmente se están utilizando, ya que los antibióticos usados anteriormente (como ampicilina o tetraciclinas) han pasado a ser prácticamente inútiles, al menos en nuestro entorno. En la última década, las fluoroquinolonas y cefalosporinas de amplio espectro, antibióticos que se habían empezado a utilizar hace relativamente poco tiempo, han empezado a presentar problemas de resistencia en ciertos serotipos de salmonella no tifoidea^[4].

2.- Objetivos

El objetivo de este trabajo fue:

1. Investigar la tendencia temporal (2009-2011) en aislamientos en humanos de *Salmonella* no tifoidea de la resistencia a antibióticos de interés terapéutico como fluoroquinolona y cefotaxima, valorando diferencias por:
 - a. Países: España vs otros países europeos
 - b. Serovares: Typhimurium vs Enteritidis

3.- Material y métodos

Para el desarrollo de este trabajo se llevó a cabo una búsqueda de literatura durante los meses de marzo, abril y mayo de 2013 que fue limitada a los idiomas español, inglés y alemán. Con este fin se utilizaron bases de datos especializadas como PubMed, Scielo e Ibecs. Además se investigó en páginas web de organismos oficiales relevantes para el tema que tratamos como EFSA (European Food Safety Agency <http://www.efsa.europa.eu/>), AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición www.aesan.msc.es/), ECDC (European Center for Disease Prevention and Control <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>), WHO (World Health Organization www.who.int/es y www.who.int/en) y Boletín Epidemiológico Semanal (Instituto de Salud Carlos III <http://revista.isciii.es/index.php/bes>).

Las palabras clave a utilizar en la búsqueda fueron:

Epidemiología, resistencias a antibióticos, *Salmonella entérica*, *Salmonella* no tifoidea, España, Europa, prevalencia, quinolonas, cefalosporinas.

Los criterios de selección que la investigadora utilizó para decidir si un artículo era relevante o no para la investigación fueron:

- 1) que contuvieran datos sobre salmonelosis en humanos y/o resistencias a antibióticos en humanos y/o animales para Europa y/o España.
- 2) que explicaran posibles motivos para las resistencias a antibióticos de interés terapéutico en humanos en aislamientos de *Salmonella* no tifoidea.
- 3) que explicaran la epidemiología de *Salmonella* no tifoidea y sus mecanismos de infección.

4.- Resultados

Resistencia de *Salmonella* entérica a antibióticos de interés terapéutico

Cómo ya se ha hablado en la introducción, las resistencias a antibióticos son un problema real. A continuación se presentan los resultados encontrados, centrándonos a los antibióticos más importantes para la enfermedad como son las fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación, que ya fueron nombrados en la introducción.

Datos de resistencia en humanos (EFSA 2009-2011)

El último informe de la EFSA sobre resistencias microbianas^{[4],[5],[6]}, que representan el 25,9 % de los casos en humanos confirmados de salmonelosis no tifoidea en la UE, revela valores muy altos de resistencia en aislamientos de *Salmonella* no tifoidea procedentes de humanos, especialmente en el serotipo S.Typhimurium, para ampicilina, tetraciclinas y sulfonamidas, y altos para estreptomina. La resistencia a los antibióticos clínicamente relevantes como ciprofloxacino y cefotaxima fueron relativamente bajos. La resistencia a quinolonas (ciprofloxacino y ácido nalidíxico) es en general más alta en aislamientos de S.Enteritidis que en aislamientos de S.Typhimurium. Para la cefalosporina cefotaxima, los valores de resistencias son más altos en el serovar S.Typhimurium, aunque la diferencia no es tan grande. Los datos de 2009 a 2011 de resistencias a antibióticos por parte de S.Enteritidis y S.Typhimurium encontrados en humanos y que proporcionó la EFSA para Europa en porcentajes sobre el total de cada país, son los siguientes (Tab.1-6):

Tabla 1: Resistencias de aislamientos de *S.Enteritidis* en personas en Europa 2011^[6].

	2011 <i>S.Enteritidis</i>					
	Cefotaxima	Ciprofloxacino	Ac. Nalidíxico	Ampicilina	Trimetoprim	Tetraciclina
Alemania	0	0	3,7	1	0	
Dinamarca	0,7	23,6	22,2	7,6	1,7	4,4
España	0,2	0,2	56,4	9,3	0	5,3
Irlanda	0	0	25,9	5,2	1,7	2,9
Italia	1,7	15,5	5,3	8,8	4,4	6,2
Reino Unido	0,3	33,7	34,4	3,2	0,8	4,7
TOTAL EU	0,3	12,7	23,2	5,9	2,1	3,6

Tabla 2: Resistencias de aislamientos de *S.Typhimurium* en personas en Europa 2011^[6].

	2011 <i>S.Typhimurium</i>					
	Cefotaxima	Ciprofloxacino	Ac. Nalidíxico	Ampicilina	Trimetoprim	Tetraciclina
Alemania	1,1	0,4	4,8	79	7,3	
Dinamarca	0,4	4,9	3,3	32,4	4,9	5,2
España	0,7	0	10,6	82,5	0	2,6
Irlanda	0	0	8	56,8	12,6	13,8
Italia	2,7	13	8,2	76,7	7,3	9,3
Reino Unido	1,2	6,6	6,2	56,7	12,8	3
TOTAL EU	1	4,8	6,2	61,5	10,7	2,7

Tabla 3: Resistencias de aislamientos de S.Enteritidis en personas en Europa 2010^[5].

	2010 <i>S.Enteritidis</i>					
	Cefotaxima	Ciprofloxacino	Ac. Nalidíxico	Ampicilina	Trimetoprim	Tetraciclina
Alemania	0,5	0,5	5,2	5,7	1	
Dinamarca	0	19	18,1	6	1,9	4,4
España	0,3	0	57,6	15,2	1,3	5,3
Irlanda	1,4	0	40	5,7	1,4	2,9
Italia	2,3	1,4	6,6	7,9	2	6,2
Reino Unido	0,2	19	23,2	4,4	2,9	4,7
TOTAL EU	0,4	9,3	18,7	7,2	3,2	3,6

Tabla 4: Resistencias de aislamientos de S.Typhimurium en personas en Europa 2010^[5].

	2010 <i>S.Typhimurium</i>					
	Cefotaxima	Ciprofloxacino	Ac. Nalidíxico	Ampicilina	Trimetoprim	Tetraciclina
Alemania	1,3	0,4	13	77,6	7,1	
Dinamarca	0,2	7	6	53,8	4,3	25,5
España	1,1	0	11,2	81,7	9,8	13,5
Irlanda	1,8	0	5,3	54	11,5	54,9
Italia	3,1	0,8	8,3	81,1	12,4	78,9
Reino Unido	0,9	7,4	6,9	53	15,1	60,9
TOTAL EU	1,1	4,7	8,9	64	11,8	58,5

Tabla 5: Resistencias de aislamientos de *S.Enteritidis* en personas en Europa 2009^[4].

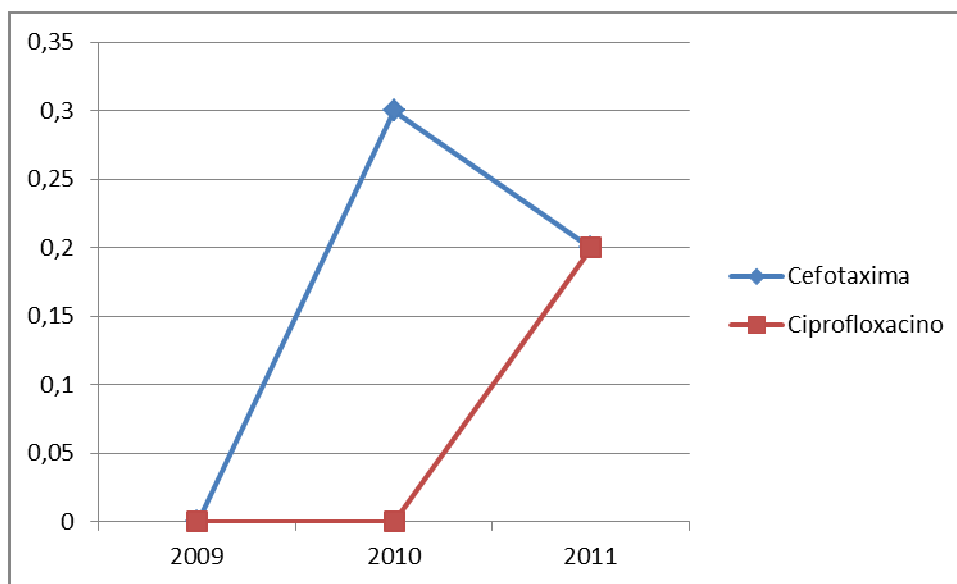
	2009 <i>S.Enteritidis</i>					
	Cefotaxima	Ciprofloxacino	Ac. Nalidíxico	Ampicilina	Trimetoprim	Tetraciclina
Alemania	0,2	0	1,1	7,5	0,2	
Dinamarca	0,3	11	11	9,9	1,4	3,7
España	0	0	50,6	8,8	1,3	2,8
Irlanda	0	0	28,7	10,3	0	1,1
Italia	1,4	0,7	22,8	7,5	3,4	4,3
Reino Unido	0,2	30,5	32,3	3,4	0,8	2,1
TOTAL EU	0,3	13,1	21,1	7	3,2	2,1

Tabla 6: Resistencias de aislamientos de *S.Typhimurium* en personas en Europa 2009^[4].

	2009 <i>S.Typhimurium</i>					
	Cefotaxima	Ciprofloxacino	Ac. Nalidíxico	Ampicilina	Trimetoprim	Tetraciclina
Alemania	0,5	0	3,8	75,1	9,5	
Dinamarca	0,1	3,4	2,6	17,1	6,3	16,2
España	0,9	0,3	10,4	80,3	12,8	86,3
Irlanda	1,7	0	0,9	67,5	4,3	76,9
Italia	1,2	0,5	7,1	77,1	11,3	69,5
Reino Unido	0,5	5,3	6,9	46,2	14,2	57,2
TOTAL EU	0,6	2,3	5,4	55,9	10,6	52

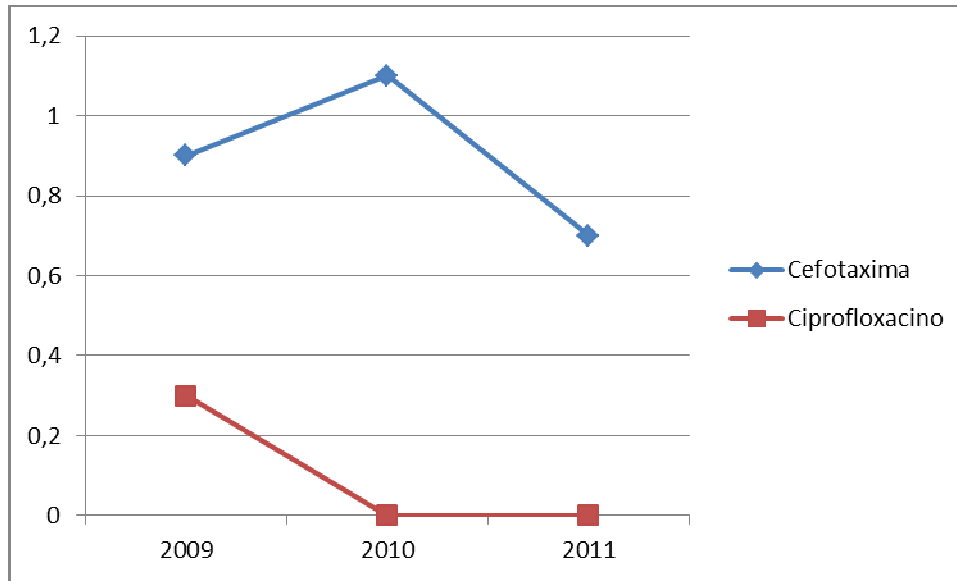
Para poder estudiar mejor los datos de las tablas anteriores y poder sacar conclusiones de las tendencias, se presentan a continuación una serie de gráficas (Fig. 4-11) dónde se muestran los datos descritos en las tablas 1 a 6. Mediante dichas gráficas se puede observar mejor la situación en España y luego compararla con la situación en Dinamarca y en la Unión Europea en el período de los tres años para el que se tienen datos (2009-2011):

Figura 4: Porcentaje de resistencias de aislamientos de *S. Enteritidis* en personas en España 2009-2011^{[4],[5],[6]}.



En esta gráfica podemos observar que, para los aislamientos de *S. Enteritidis* encontrados en España, se necesitan más datos para tener una mejor perspectiva de la tendencia. De los antibióticos de los que han recogido datos, los más interesantes para la salmonelosis son las flouoroquinolonas (ciprofloxacino) y las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima). Podemos apuntar que en general las resistencias aumentaron de 2009 a 2010 y disminuyeron ligeramente de 2010 a 2011 para cefotaxima, lo que puede ser debido a muchas razones. En cambio las resistencias a ciprofloxacino aumentan desde 2009 a 2011. (Esto puede ser debido al énfasis que se está haciendo en el consumo responsable de antibióticos, cómo por ejemplo la campaña de la ECDC para el día de la concienciación del antibiótico^[20], dónde se explican los peligros del mal uso o abuso de antibióticos y cómo podría llegarse una era pre-antibiótica si no se tiene cuidado y se siguen las recomendaciones del médico).

Figura 5: Porcentaje de resistencias de aislamientos de S.Typhimurium en personas en España 2009-2011^{[4],[5],[6]}.



Para S.Typhimurium parece que la tendencia de los antibióticos de interés se mantiene con ligeras variaciones. De hecho los datos de ciprofloxacin indican una disminuci3n, ya que en 2009 el 0,3 % de los aislamientos presentaron resistencia. Pero en 2010 y 2011 no se encontraron resistencias de este serovar en los aislamientos estudiados para ciprofloxacin. Para cefotaxima, se puede comentar que los valores de resistencia son m3s altos que para ciprofloxacin y adem3s, m3s altos para S.Typhimurium que para S.Enteritidis.

A continuaci3n se presentan 6 gr3ficas (Fig. 6-11) en las que se compara la situaci3n de resistencias a antibi3ticos espec3ficos para salmonelosis, como son las quinolonas (ciprofloxacin y 3cido nalid3xico) y las cefalosporinas de tercera generaci3n (cefotaxima), de Espa3a con el resto de la Uni3n Europea. Primero en S.Enteritidis y despu3s en S.Typhimurium.

Figura 6: Porcentaje de resistencia a Ciprofloxacino en S. Enteritidis aislada en personas en España vs. UE 2009-2011^{[4],[5],[6]}.

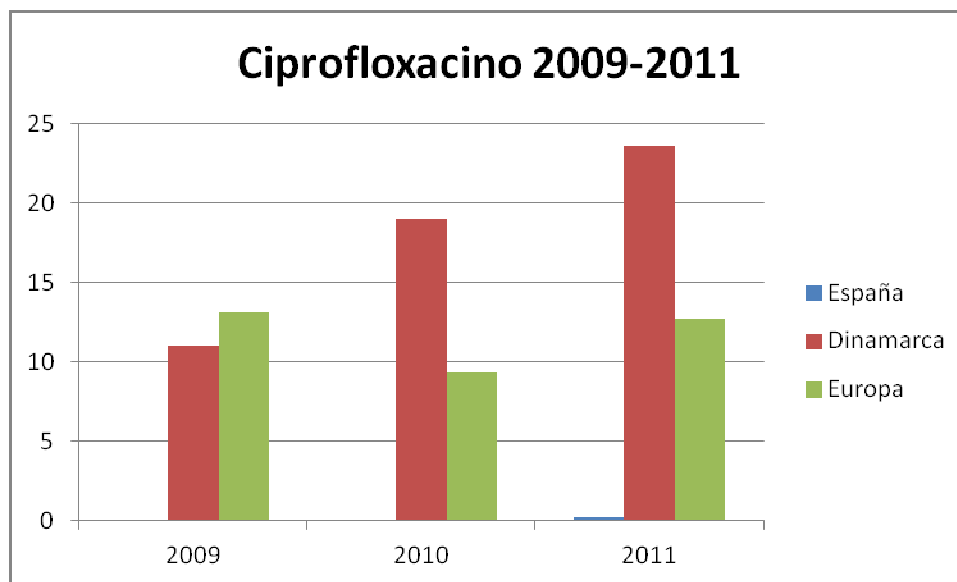


Figura 7: Porcentaje de resistencia en Ac. Nalidíxico por S. Enteritidis aislada en personas en España vs. UE 2009-2011^{[4],[5],[6]}.

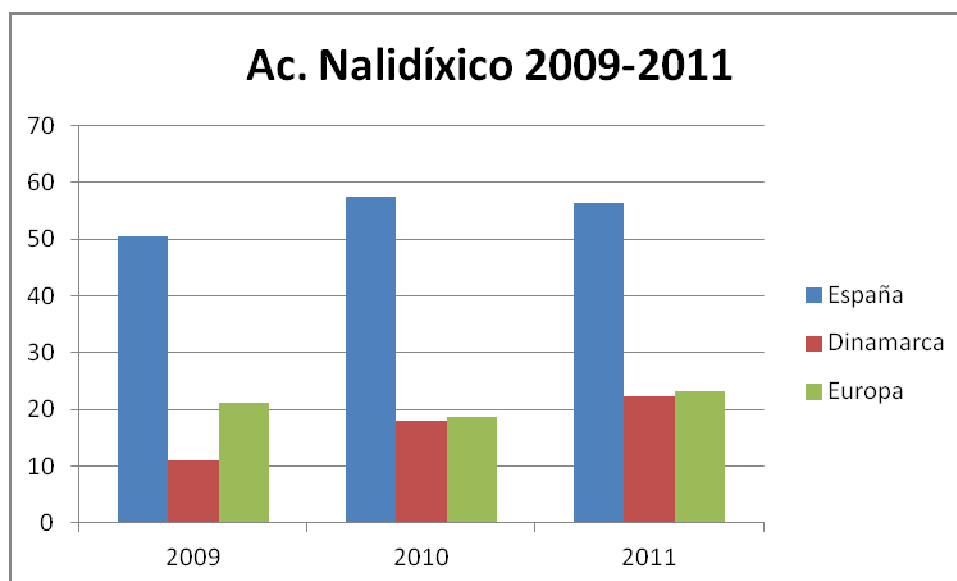
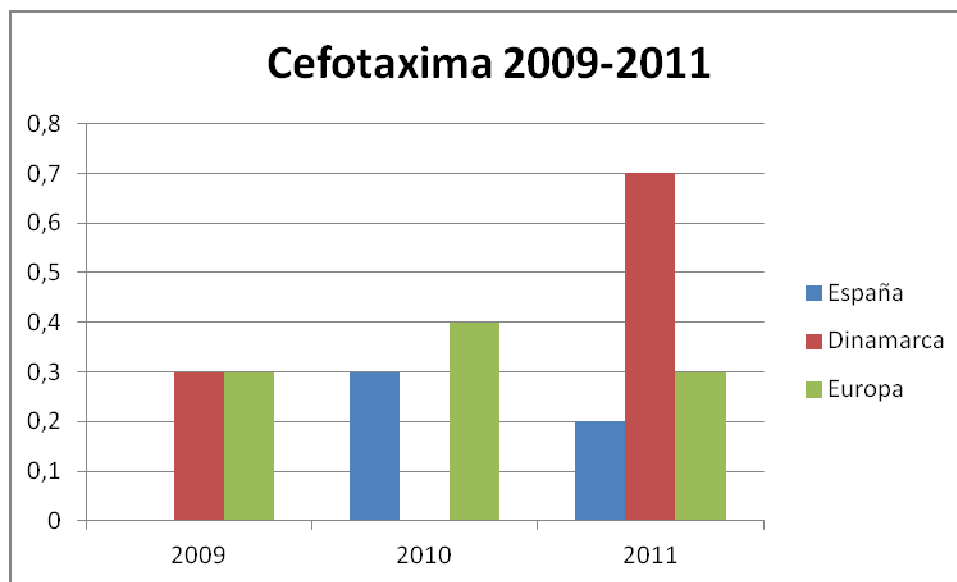


Figura 8: Porcentaje de resistencia a Cefotaxima en S. Enteritidis aislada en personas en España vs UE 2009-2011^{[4],[5],[6]}.



En las gráficas 6, 7 y 8 se observa que los datos de resistencia a antibióticos en humanos por parte de S. Enteritidis son inferiores en España que en el resto Unión Europea, salvo para el ácido nalidíxico, dónde los datos de resistencias en España son bastante superiores a los del resto de Europa. Se ha añadido Dinamarca a la gráfica, por incluir un país nórdico con políticas de consumo de antibióticos más restringidas, y cómo puede observarse sigue más o menos la tendencia europea. Presenta resistencias altas a ciprofloxacino, aunque a ácido nalidíxico son más bajas que en España e iguales o inferiores que las europeas. En cuanto a cefotaxima, parece que la tendencia es a aumentar, al contrario que en España y Europa dónde la resistencia a cefotaxima aumenta para luego disminuir. Aun así todos los porcentajes son bajos en comparación con los otros dos antibióticos. (Hay que tener en cuenta que los datos de los que se disponen son solamente de tres años, así que los resultados pueden no resultar esclarecedores. Más adelante se compararan con datos de consumo).

Figura 9: Porcentaje de resistencia a Ciprofloxacino en *S.Typhimurium* aislado en personas en España vs. EU 2009-2011^{[4],[5],[6]}.

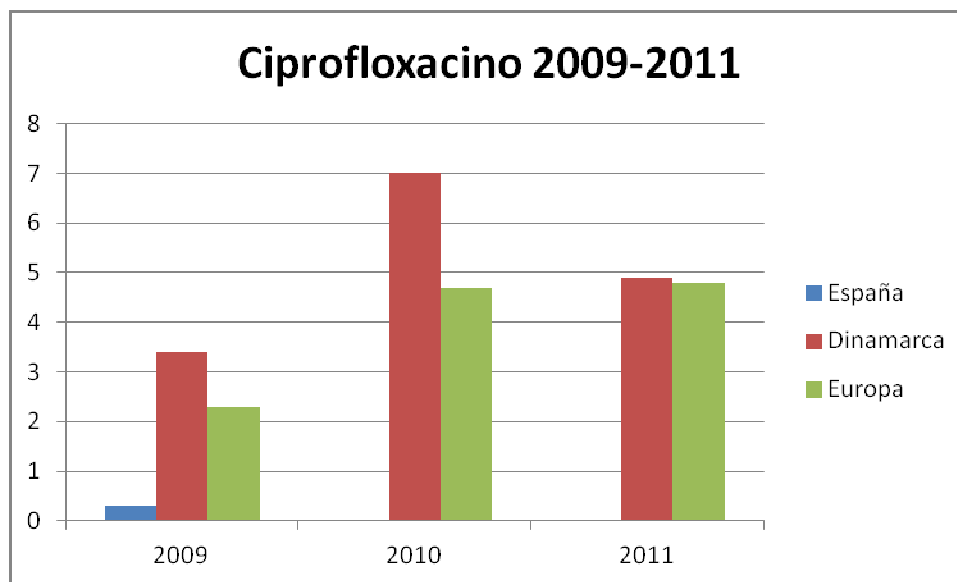


Figura 10: Porcentaje de resistencia a Ac. Nalidíxico en *S.Typhimurium* aislado en personas en España vs. EU 2009-2011^{[4],[5],[6]}.

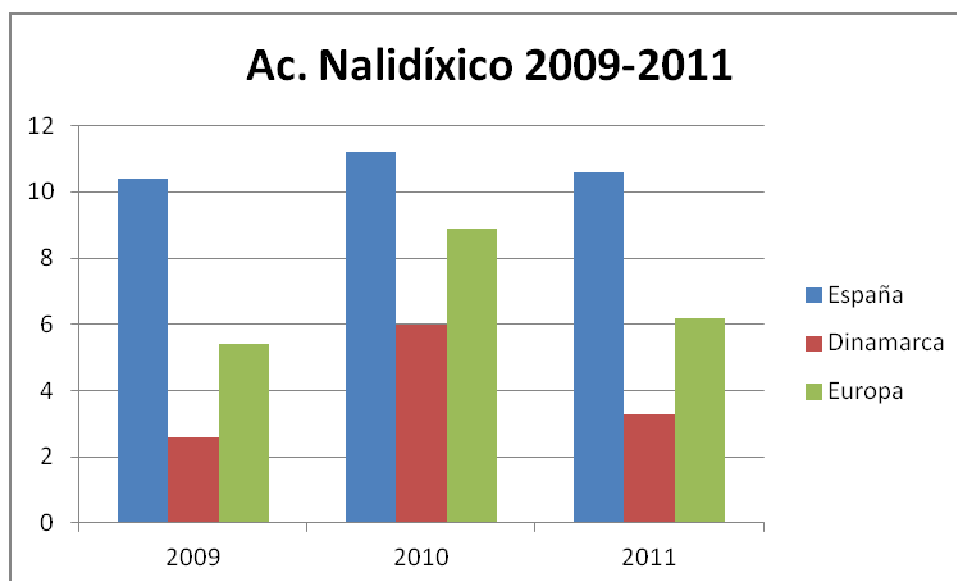
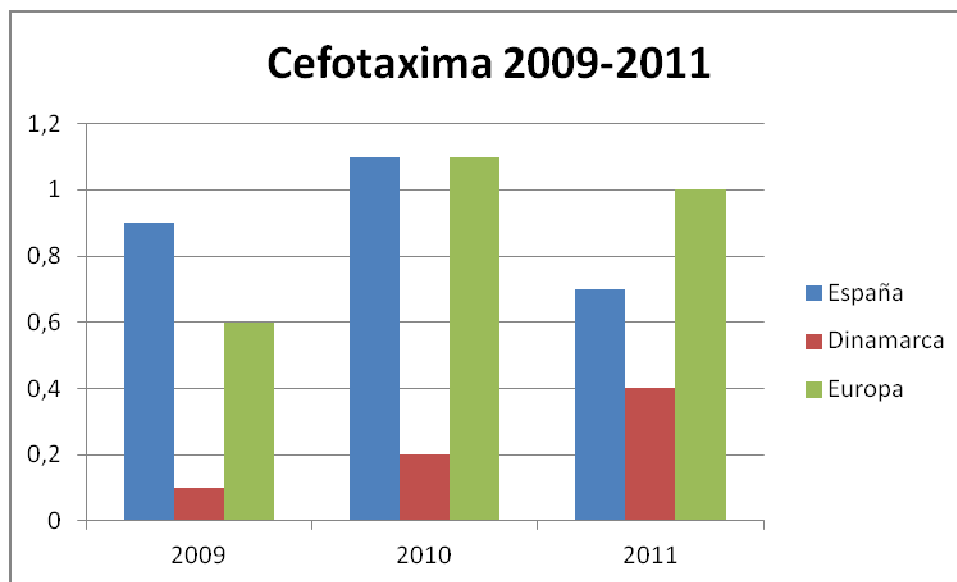


Figura 11: Porcentaje de resistencia a Cefotaxima en S.Typhimurium aislado en personas en España vs. EU 2009-2011^{[4],[5],[6]}.



Como se observa en las gráficas 9, 10 y 11 la resistencia de S.Typhimurium a ácido nalidíxico es claramente superior en España que en el resto de Europa y que en Dinamarca pero las resistencias de ciprofloxacino no. El ciprofloxacino presenta resistencias bastante más bajas en España que en el resto de Europa tanto para S.Enteritidis como para S.Typhimurium. Mientras que las resistencias de este serovar a cefotaxima en España suben de 2009 a 2010 y luego disminuyen de 2010 a 2011, cómo en el resto de Europa, siendo los valores más altos para España que para Europa y Dinamarca (que tiene los valores más bajos en la gráfica 11).

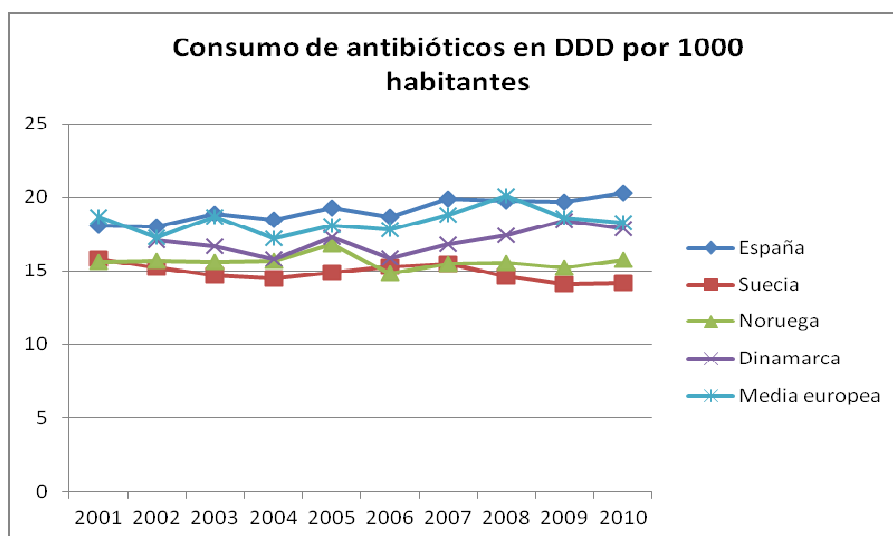
5.- Discusión

El hecho de que microorganismos como *Salmonella spp.* puedan desarrollar resistencias a antibióticos de uso terapéutico es tan natural, como que intenten sobrevivir en condiciones no favorables^[21]. Incluso podría ser que tuvieran otros efectos o funciones en los microorganismos aparte de la antibiosis^[24]. Si consideramos al antibiótico como un tóxico (para el microorganismo así lo es), lo lógico es que el microorganismo cree mecanismos de defensa para garantizar su supervivencia, que es el único fin de cualquier especie o microorganismo.

Por ello el conocer las posibles fuentes de salmonelosis se convierte en prioridad, ya que es una medida para evitar contagio. Si se reduce la fuente, el número de infecciones se verá reducido. Esta es la razón por la que estados miembros de la Unión Europea comenzaron a tomar medidas de control en granjas ya en 1993 orquestados por la EFSA, medidas que parece que han surgido efecto ya que como hemos observado en la figura 3, la salmonelosis ha disminuido constantemente a lo largo de los últimos años.

Por otro lado, la campaña a nivel europeo de concienciación de uso de antibióticos (European Antibiotic Awareness Day, ECDC ^[20]), antes nombrada, con el objetivo de mejorar la efectividad de dichos medicamentos o, más bien, evitar que su efectividad disminuya; implica de alguna forma que esto ya está sucediendo. La aparición de resistencias a antibióticos sugiere que el mal uso o abuso de antibióticos, tanto en humanos como en las prácticas veterinarias, podría tener una influencia en este hecho. Si comparamos el uso de antibióticos en España, Suecia, Noruega, Dinamarca y la media europea, obtenemos la siguiente gráfica (Fig. 12):

Figura 12: Consumo de antibióticos en DDD por 1000 habitantes en España, Suecia, Noruega, Dinamarca y la media europea, para el periodo 2001-2010^[23].



En la figura 12 se observa que, como se sospechaba, en España se consumen más antibióticos por habitante que en países nórdicos como Suecia, Noruega o Dinamarca. Es interesante tener en cuenta que a lo largo de 9 años la tendencia en estos países no cambia demasiado, de hecho, se aprecia un ligero aumento del consumo de antibióticos en humanos en todos los países de la gráfica en los últimos 3 años. También cabe destacar que mientras Suecia, Noruega y Dinamarca se mantiene por debajo de la media europea, España está por encima. Si comparamos los datos de la figura 12 con los datos de resistencias a antibióticos de las figuras 6 a 11, podría concluirse que un menor uso de antibióticos, como es el caso de Dinamarca, lleva a la aparición de menos resistencias. Por desgracia, la falta de datos respecto a resistencias, no deja sacar conclusiones relevantes.

Teniendo en cuenta que la resistencia a antibióticos de interés terapéutico en humanos en España en el período 2009-2010 (figuras 6 a 11) aumenta para una quinolona (ácido nalidíxico) y para la cefalosporina de tercera generación (cefotaxima); podría decirse que efectivamente el mayor consumo de antibióticos en España puede estar relacionado con el aumento de resistencias a antibióticos en nuestro país. Por desgracia no se han encontrado datos de resistencias a antibióticos en Suecia y Noruega para poder comparar con estos países que tienen políticas de uso de antibióticos más restringidas que España. Por ejemplo en Suecia no se usan antibióticos para mejorar el crecimiento de los animales^[24]. Pero la comparación con Dinamarca confirma, en principio, esta teoría.

Varios escritos encontrados en el curso de esta investigación demuestran que la disminución del número de animales portadores, y por ende de la contaminación de los productos alimenticios derivados como huevos o la carne de pollo/pavo, reduce el número de infecciones en humanos^{[25],[26]}. Otros estudios^[27] concluyen que la principal causa de infección por salmonelosis son los viajes internacionales; suceso que está incluido entre los principales motivos en estudios anteriormente citados^[26]. Dichos viajes internacionales podrían contribuir a la aparición de cepas más resistentes, debido a las transferencias horizontales de genes que podrían tener lugar entre cepas de diferentes orígenes^[28]. Esto implica que la importación de productos alimentarios desde España a Dinamarca por ejemplo, puede verse dañada. Ya que hay estudios que demuestran^[28] que la carne importada a Dinamarca contiene aislamientos de *Salmonella spp.* con mayores resistencias que las resistencias de los aislamientos en los propios daneses, lo que podría generar en este país cepas más resistentes a las que ya tienen. Esto podría generar un grave problema de libre mercado.

Por otro lado, para lograr el objetivo de este estudio es importante diferenciar entre fuente y causa. Las fuentes de salmonelosis que se comunican en estudios realizados han sido principalmente huevos crudos, pollos y viajes internacionales (no necesariamente en ese orden). Pero estos no son *per se* la causa de las resistencias, aunque sí lo que ocurre en el ambiente donde se producen. Una

probable causa de antibioresistencia sería el mal uso y abuso de antibióticos. Ya no sólo usar grandes concentraciones, sino también la presencia en piensos o agua de consumo para animales de concentraciones subinhibitorias podrían disparar cambios en la transcripciones de las células bacterianas^[22]. Un ejemplo es el tratamientos de animales sanos para mejorar su crecimiento suministrándoles antibióticos a concentraciones subclínica^[29]. A menudo el antibiótico es administrado en el agua de bebida, por lo que no todos los animales reciben la misma dosis, y además puede que la reciban durante más tiempo del necesario. Así pues, ¿qué es primordial para controlar en beneficio de la salud pública?, ¿la fuente, la causa o ambos?

Resumiendo todo lo anterior para tratar el tema de la aparición de resistencias en antibióticos, en concreto en aislamientos de *Salmonella spp.*, se han tomado una serie de medidas que parece que están surgiendo efecto. Desde la aparición de *The Swann report*^[29] en 1969, dónde se confirmaba que los granjeros y animales en granjas dónde se utilizaban tratamientos promotores de crecimiento con antibióticos presentaban mayores resistencias a dichos medicamentos al ser tratados posteriormente por infecciones. A partir de este punto se dejaron de utilizar antibióticos de uso terapéutico en humanos para tratar animales^[29]. A pesar de ello, el problema continua presente y el hecho de que, desde la introducción de las nuevas medidas de control por la EFSA en 1993 los casos de salmonelosis haya disminuido de forma constante, lleva a pensar que este enfoque es correcto. No sólo hay que evitar que las infecciones se extiendan al consumidor, sino que las resistencias se incrementen por el mal uso o abuso de antibióticos en producción animal. Ya que, aunque no son antibióticos de uso terapéutico en humanos, son de la misma familia y el resultado es que las resistencias creadas se transfieren al consumidor de todas formas^{[22],[29],[21],[30]}.

Medidas como no recetar antibióticos para infecciones de origen vírico (como el resfriado común) o seguir escrupulosamente las dosis e indicaciones prescritas por el médico, pueden ayudar a evitar el incremento de resistencias que podría, en el peor de los casos, desencadenar la vuelta a una era pre-antibiótica.

6.- Conclusiones

Teniendo en cuenta los datos estudiados se ha llegado a las siguientes conclusiones:

Situación en Europa

- Los casos de salmonelosis han descendido continuamente desde la aplicación de medidas de control en granjas avícolas de gallinas ponedoras.
- En cuanto a tipos de serovares causantes de salmonelosis, S.Enteritidis es el más serotipado en los aislamientos, seguido de S.Typhimurium. Se observa una disminución de casos por S.Enteritidis, comportamiento no observado en los casos por S.Typhimurium. Esto puede deberse a que las medidas de control de salmonelosis han tenido mayor énfasis en granjas avícolas.
- S.Enteritidis es el serovar más encontrado en gallinas y pollo para consumo y S.Typhimurium el más encontrado en cerdo.
- Las quinolonas presentan porcentajes de resistencias más altos en aislamientos del serovar S.Enteritidis. En cambio la cefalosporina de tercera generación estudiada, cefotaxima, presenta porcentajes de resistencia más altos en aislamientos del serovar S.Typhimurium.
- En general el ácido nalidíxico es el que presenta valores más altos de resistencias.
- Es necesario seguir recogiendo datos a nivel europeo para conseguir una mejor perspectiva sobre la situación actual y poder plantear una tendencia temporal, pero con un método común estandarizado, problema que la EFSA ya comenta. De esta forma la comparabilidad entre los datos aumentaría.

Situación en España

- En España también se observa una disminución de los casos de salmonelosis.
- Igualmente el serotipo más encontrado en aislamientos es S.Enteritidis seguido de S.Typhimurium. Se ha encontrado que la presencia de S.Enteritidis disminuye en los aislamientos, descenso que no se observa tan claramente en S.Typhimurium. Esto puede ser debido a que este último serovar no está tan vinculado a granjas avícolas que es dónde más énfasis se ha hecho en las medidas de control, como ya se ha comentado para la situación en Europa.
- El ciprofloxacino muestra porcentajes muy bajos de resistencia en aislamientos de los dos serovares, S.Enteritidis y S.Typhimurium, en comparación con los otros dos antibióticos.
- En resultados para ácido nalidíxico se encuentran porcentajes más elevados de resistencia para aislamientos de los dos serovares que en el resto de Europa y Dinamarca.

- En cefotaxima encontramos mayores porcentajes de resistencia en aislamientos de S.Typhimurium que en aislamientos de S.Enteritidis.
- En cuanto al consumo de antibióticos en humanos, España se encuentra por encima de la media Europea. Dado que el mal uso o abuso de antibióticos en humanos contribuye al aumento de resistencias a antibióticos, es importante seguir la dirección de otros países europeos, intentando disminuir estas cifras.

7.- Bibliografía

- [1] AESAN (2007). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad. *Revista del Comité Científico de la Aesan*, 2007;7: 31-44.
- [2] EFSA (2011). European Food Safety Authority. EFSA explains zoonotic diseases: Salmonella. *EFSA Factsheets*. [Publicado: 27 de Octubre 2011; Consultado: 16 de Junio 2013].
- [3] EFSA (2011). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2009. *The EFSA Journal*, 2011;9(3) [citado: 16 de Junio 2013].
- [4] EFSA (2011). European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. *The EFSA Journal*, 2011; 9(7) [citado: 16 de Junio 2013].
Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/2154.pdf>
- [5] EFSA (2012). European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2010. *The EFSA Journal*, 2012; 10(3) [citado: 16 de Junio 2013].
Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/2598.pdf>
- [6] EFSA (2013). European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2011. *The EFSA Journal*, 2013; 11(5) [citado: 16 de Junio 2013].
Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3196.htm>
- [7] A. Ternhag, A. Tegnell, B. Lesko, K. Skaerlund, P. Penttinen (2004). Basic Surveillance Network, a European Database for Surveillance Data on Infectious Diseases. *Eurosurveillance*, 2004; 9(7) [citado: 16 de Junio 2013].
- [8] S.L. Foley y A.M. Lynne (2007). Food animal-associated *Salmonella* challenges: Pathogenicity and antimicrobial resistance. *Journal of Animal Science*, 2008; 86: E173-E187.
- [9] Lin-Hui Su, Cheng-Hsun Chiu, Chishih Chu y Jonathan T. Ou. (2004). Antimicrobial Resistance in Nontyphoid Salmonella. *Clinical Infectious Diseases*, 2004; 39:546–51.
Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/corporate/pub/factsheetsalmonella.htm>
- [10] Luisa Velasco, Lucía Sobrino, Martina García, Pilar Soler, Elena Martínez (2009). Infecciones por Salmonella no tifoidea de origen humano en España. Sistema de Información Microbiológica. Años 2000-2008. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 2009; 17(17): 193-204.
- [11] EFSA (2010). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2008. *The EFSA Journal*, 2010; 8(1) [citado: 16 de Junio 2013].

Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1496.htm>

[12] BOE (1991) Real Decreto 1254/1991, de 2 de agosto de 1991, por el que se dictan normas para la preparación y conservación de la mayonesa de elaboración propia y otros alimentos de consumo inmediato en los que figure el huevo como ingrediente. (B.O.E. 03.08.1991).

Disponible en: <http://www.boe.es/boe/dias/1991/08/03/pdfs/A25741-25742.pdf>

[13] María Aurora Echeita *et al.* (2005). Distribución de los serotipos y fagotipos de *Salmonella* de origen humano aislados en España en 1997-2001. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 2005; 23(3): 127-134.

[14] EFSA (2009). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *The EFSA Journal*, 2009; 7(1) [citado: 16 de Junio 2013].

Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/223r.htm>

[15] EFSA (2012). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2010. *The EFSA Journal*, 2012; 10(3) [citado: 16 de Junio 2013].

Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2597.htm>

[16] UE (1992). COUNCIL DIRECTIVE 92/117/EEC of 17 December 1992 concerning measures for protection against specified zoonoses and specified zoonotic agents in animals and products of animal origin in order to prevent outbreaks of food-borne infections and intoxications. OJ L62, 15 March 1993, pp.38-48.

Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/mr/mr07_en.pdf

[17] EFSA (2005). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2004. *The EFSA Journal*, 2005; 3(12) [citado: 16 de Junio 2013].

Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/310ar.htm>

[18] EFSA (2006). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2005. *The EFSA Journal*, 2006; 4(12) [citado: 16 de Junio 2013].

Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/94r.htm>

[19] EFSA (2007). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2006. *The EFSA Journal*, 2007; 5(12) [citado: 16 de Junio 2013].

Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/130r.htm>

- [20] ECDC (2005-2013). ECDC: ECDC/2007/EN/FINAL - ECDC Strategic Multiannual Programme 2007—2013. European Center for Disease Prevention and Control. European Antibiotic Awareness Day. <http://ecdc.europa.eu/en/EAAD/Pages/Home.aspx/>
- [21] Alexandro Rodríguez-Rojas, Jerónimo Rodríguez-Beltrán, Alejandro Couce y Jesús Blázquez (2013). Antibiotics and antibiotic resistance: A bitter fight against evolution. *International Journal of Medical Microbiology*, 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.004>.
- [22] Grace Yim, Helena Huimi Wang y Julian Davies (2006). The truth about antibiotics. *International Journal of Medical Microbiology*, 2006; 296: 163-170.
- [23] ECDC: ECDC/2007/EN/FINAL - ECDC Strategic Multiannual Programme 2007—2013. European Center for Disease Prevention and Control. Country overview of antimicrobial consumption [actualizado: 16 de Junio de 2013; citado 16 de Junio de 2013]. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/ESAC-Net/database/Pages/overview-country-consumption.aspx>
- [24] Peter Hughes y John Heritage (2004). Antibiotic growth-promoters in food animals[Internet]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004 [citado: 16 de Junio de 2013]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/y5159e/y5159e00.htm#Contents>
- [25] Wayne Anderson *et al.* (2005). Evaluación de riesgos de *Salmonella* en huevos y pollos para asar. Resumen interpretativo. *Serie de evaluación de riesgos microbiológicos*, 2005;1. [citado: 16 de Junio de 2013]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/008/y4393s/y4393s00.htm>
- [26] Sara Monteiro Pires, Hakan Vigre, Pia Makela y Tine Hald (2010). Using Outbreak Data for Source Attribution of Human Salmonellosis and Campylobacteriosis in Europe. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2010; 7 (11): 1351-1361.
- [27] A.R. Domingues, S.M. Pires, T.Halasa y T. Hald (2011). Source Attribution of human salmonellosis using a meta-analysis of case-control studies of sporadic infections. *Epidemiology & Infection*, 2012; 140: 959-969.
- [28] Marianne N. Skov *et.al* (2007). Antimicrobial Drug Resistance of *Salmonella* Isolates from Meat and Humans, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*, 2007; 13(4): 638-641
- [29] Bonnie M. Marshall and Stuart B. Levy (2011). Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clinical Microbiology Reviews*, 2011; 24(4): 718-733.
- [30] Frank M. Aarestrup (2004). Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2005; 96: 271-281.