

## ORIGINAL BREVE

RESISTENCIA A NITROFURANOS EN *Salmonella enterica* AISLADAS DE CARNE PARA CONSUMO HUMANOSandra Martínez-Puchol <sup>1,a</sup>, María J. Pons <sup>2,b</sup>, Lidia Ruiz-Roldán <sup>1,b</sup>, Laura Laureano-Adame <sup>3,b</sup>, Alfredo Corujo <sup>3,b</sup>, Theresa J. Ochoa <sup>4,5,c</sup>, Joaquim Ruiz <sup>1,6,b</sup><sup>1</sup> Instituto de Salud Global, Hospital Clinic - Universitat de Barcelona, Barcelona, España.<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología Molecular y Genómica Bacteriana, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.<sup>3</sup> Nutreco, Toledo, España.<sup>4</sup> Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.<sup>5</sup> Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Texas Health Science Center at Houston, Estados Unidos.<sup>6</sup> Universidad Continental, Lima, Perú.<sup>a</sup> Magíster en Biología; <sup>b</sup> PhD en Biología; <sup>c</sup> medico infectólogo, magíster en Medicina.

## RESUMEN

En el presente estudio, se analizaron los mecanismos de resistencia a nitrofuranos en 18 muestras cárnicas con *Salmonella enterica* (15 de pollo, 2 de ternera y 1 de cerdo) de mercados de Lima (Perú). Determinaron los serotipos de los aislamientos y la sensibilidad a furazolidona y nitrofurantoina (con y sin el inhibidor de bombas de expulsión Phenyl-Arginine- $\beta$ -Naphthylamide [PA $\beta$ N]), las mutaciones en los genes *snrA* y *cnr* por PCR y la transferabilidad de la resistencia por conjugación. Se identificaron 15 muestras con *S. infantis* (13 muestras de pollo), 2 con *S. enteritidis* y 1 con *S. anatum*. Todos los aislamientos, excepto *S. anatum*, fueron resistentes a ambos nitrofuranos (concentración mínima inhibidora [CMI] a furazolidona: 32-64  $\mu$ g/mL, CMI a nitrofurantoina: 128-256  $\mu$ g/mL), sin diferencias al adicionarse PA $\beta$ N. Todos los aislamientos resistentes a nitrofuranos presentaron sustituciones en *snrA* y *cnr* (*S. infantis*: *snrA* STOP-151; *cnr* STOP-137; *S. enteritidis*: *snrA* STOP-180; *cnr* STOP-179). No se detectaron mecanismos transferibles de resistencia a nitrofuranos.

**Palabras clave:** Resistencia a Antibióticos; Furazolidona; Salmonella (fuente: DeCS BIREME).NITROFURAN RESISTANCE IN *Salmonella enterica* ISOLATED FROM MEAT FOR HUMAN CONSUMPTION

## ABSTRACT

The mechanisms of resistance to nitrofurans from 18 meat samples with *Salmonella enterica* (chicken: 15; beef: 2; pork: 1) collected in Lima (Peru) were analyzed. The isolates were serotyped and the susceptibility levels to furazolidone and nitrofurantoin [with and without the efflux pump inhibitor Phenyl-Arginine- $\beta$ -naphthylamide (PA $\beta$ N)], the presence of mutations in the *snrA* and *cnr* genes and the transferability of resistance by conjugation were established. Fifteen samples with *S. infantis* (13 from chicken samples), 2 with *S. enteritidis* and 1 with *S. anatum* were identified. All isolates except the *S. anatum* were resistant to both nitrofurans showing MICs (minimum inhibitory concentration) of furazolidone and nitrofurantoin of 32-64  $\mu$ g/mL and 128-256  $\mu$ g/mL, respectively. The addition of PA $\beta$ N had no effect on the MIC levels. All nitrofuran-resistant isolates showed amino acid codon alterations at both *snrA* and *cnr* (*S. infantis*: *snrA* STOP-151; *cnr* STOP-137; *S. enteritidis*: *snrA* STOP-180; *cnr* STOP-179). No transferable mechanisms of nitrofuran resistance were detected.

**Keywords:** Drug resistance; Furazolidone; Salmonella (source: MeSH NLM).

**Citar como:** Martínez-Puchol S, Pons MJ, Ruiz-Roldán L, Laureano-Adame L, Corujo A, Ochoa TJ, et al. Resistencia a nitrofuranos mediada por mutaciones en los genes *cnr* y *snrA* en *Salmonella enterica* procedentes de muestras cárnicas para consumo humano. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2020;37(1):99-103. Doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.371.4745>

**Correspondencia:** Joaquim Ruiz; Apartado 16, 08214-Badia del Valles, Barcelona, España; [jorui.trabajo@gmail.com](mailto:jorui.trabajo@gmail.com)

**Recibido:** 14/08/2019  
**Aprobado:** 22/01/2020  
**En línea:** 23/03/2020

## INTRODUCCIÓN

Los nitrofuranos son un grupo de antimicrobianos de origen sintético activos frente a parásitos y bacterias Gram-negativas y Gram-positivas <sup>(1)</sup>. Estos compuestos han sido ampliamente utilizados tanto en medicina humana como veterinaria, así como en promotores de crecimiento de animales destinados al consumo humano <sup>(1)</sup>. Actualmente, su uso en veterinaria

para animales de consumo humano está prohibido en numerosos países debido al riesgo a que estos antimicrobianos o sus metabolitos permanezcan en el alimento <sup>(1)</sup>. Su uso veterinario está prohibido en Perú desde 2013 <sup>(2)</sup>.

En líneas generales, los niveles de resistencia a nitrofurano en *Enterobacteriaceae* causantes de diarrea, como por ejemplo *Shigella* spp., son bajos <sup>(3)</sup>, habiéndose reportado los mayores niveles de resistencia a estos antimicrobianos en *Salmonella* spp. <sup>(4,5)</sup>. En la actualidad, los mecanismos de acción de los nitrofuranos están poco estudiados, habiéndose descrito principalmente en mutantes obtenidos *in vitro*.

Se ha descrito que los nitrofuranos precisan ser activados por nitroreductasas para ejercer su acción; la reacción de reducción constaría de varios pasos secuenciales, considerando que algunos de los productos generados en estos pasos intermedios podrían poseer actividad antimicrobiana <sup>(6,7)</sup>. Las nitroreductasas implicadas en estos procesos de activación son NfsA y NfsB <sup>(6)</sup>. Así, en *Escherichia coli*, la presencia de alteraciones capaces de reducir o eliminar la funcionalidad de estas enzimas se ha asociado con el desarrollo de resistencia a nitrofuranos, tanto en estudios con mutantes obtenidos *in vitro* como en estudios desarrollados con aislamientos clínicos <sup>(8-10)</sup>. También se ha descrito el rol de bombas de expulsión en la resistencia a nitrofuranos. Además, se ha constatado que la bomba de expulsión OqxAB, perteneciente a la familia RND (del inglés Resistance-Nodulation-Division), es capaz de conferir resistencia a nitrofurantoina <sup>(11)</sup>.

Pese a los antecitados mayores niveles de resistencia presentes en *Salmonella* spp., el número de estudios realizados enfocados al estudio de los mecanismos de resistencia a nitrofuranos es escaso <sup>(5,12)</sup>. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar los niveles y mecanismos de resistencia a nitrofuranos en aislamientos de *Salmonella enterica* procedentes de muestras cárnicas adquiridas en mercados tradicionales de Lima.

## EL ESTUDIO

Se utilizaron 18 muestras con *Salmonella enterica* aisladas en 2012 de un estudio previo, que tuvo como objetivo determinar la presencia de *Enterobacteriaceae* y los niveles de resistencia a antimicrobianos de *E. coli* en muestras cárnicas (cerdo, pollo o ternera), adquiridas en mercados tradicionales del norte (Comas, San Martín), centro (La Victoria, Cercado de Lima) y sur (Villa El Salvador) de Lima <sup>(13)</sup>. El estudio se realizó en el ISGlobal, Hospital Clinic - Universitat de Barcelona (España), Nutreco (España) y el Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt (Perú). En todos los casos los aislamientos fueron identificados previamente por métodos bioquímicos y confirmados mediante amplificación del gen *invA* <sup>(13)</sup>. Los aislamientos de *S. enterica* se recuperaron de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  y de manera previa a su uso se reconfirmaron mediante la amplificación y secuenciación del gen *16S rRNA* <sup>(14)</sup>.

Se determinó los serotipos de los aislamientos mediante microarrays (Check & Trace *Salmonella* kit, Check-Points

## MENSAJES CLAVE

**Motivación para realizar el estudio:** Los crecientes niveles de resistencia a antimicrobianos en Perú constituyen una seria preocupación. No obstante, hay una escasez de datos respecto a la resistencia a nitrofuranos en *Salmonella* spp.

**Principales hallazgos:** Existen altos niveles de resistencia a nitrofuranos en *Salmonella* spp. correlacionados con la presencia de mutaciones cromosomales en los genes *cnr* y *snrA*.

**Implicancias:** Los resultados del estudio muestran la necesidad de investigaciones sistemáticas de los niveles de resistencia a nitrofuranos en *Salmonella* spp. dirigidas no solo a niveles y mecanismos, sino también a las causas de la selección natural de aislamientos resistentes.

B.V, Wageningen, Holanda) siguiendo las instrucciones del fabricante. Tras ello se procedió a determinar la sensibilidad a furazolidona (100  $\mu\text{g}$ ) y nitrofurantoina (300  $\mu\text{g}$ ) mediante el método de difusión en disco (BD, San Agustín del Guadalix, España), así como los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución en agar, siguiendo las directrices de la guía CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) y utilizando la cepa *E. coli* ATCC 25922 como control de calidad <sup>(15)</sup>. En la guía CLSI no existe un punto de corte específico para furazolidona, por lo que en este caso se reportan los datos de CMI y/o diámetro de halo.

Tanto para nitrofurantoina como para furazolidona, los valores de CMI se determinaron en presencia de Phenyl-Arginine- $\beta$ -Naphthylamide (PABN, por sus siglas en inglés), un inhibidor de bombas de expulsión de tipo RND <sup>(8)</sup>. Para su uso, el PABN se disolvió en dimetil sulfoxido (DMSO), motivo por lo que determinó el efecto de este solvente en el crecimiento bacteriano.

En todos los aislamientos, se amplificaron los genes *nfsA* y *nfsB* mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) (ciclo inicial de 94  $^{\circ}\text{C}$  por cinco minutos, seguido por 35 ciclos de 94  $^{\circ}\text{C}$  por 40 segundos cada uno, 60  $^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos, 68  $^{\circ}\text{C}$  por 40 segundos, y una extensión final de 72  $^{\circ}\text{C}$  por cinco minutos). La PCR se realizó con los cebadores descritos por Salamanca-Pinzón *et al.* <sup>(16)</sup>, visualizándose en geles de agarosa al 2% teñidos con SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, EE. UU.). Las bandas obtenidas fueron recuperadas del gel y se purificaron utilizando el kit Wizard SV Gel and PCR Clean Up System (Promega, Madison, EE. UU.). Los productos purificados fueron enviados a Macrogen (Seul, Corea del Sur) para su secuenciación.

Por último, la presencia de mecanismos transferibles de resistencia a nitrofuranos se determinó por conjugación siguiendo el protocolo previamente descrito <sup>(17)</sup>. Para este fin

se utilizó como cepa receptora a *E. coli* J53 (resistente a azida sódica) y agar Mueller-Hinton suplementado con azida sódica (150 µg/ml) y furazolidona (16 µg/ml) como medio para seleccionar los transconjugantes.

## HALLAZGOS

Los 18 aislamientos que se incluyeron en el presente estudio provenían de cuatro mercados diferentes de las tres áreas del estudio original (cono norte, centro y sur) (Tabla 1), lo que demostró, por tanto, una amplia diseminación por toda el área de Lima.

Los resultados del serotipado mostraron que la mayoría de los aislamientos pertenecían al serotipo *infantis* (15 aislamientos, 83,3%). Las tres cepas restantes se clasificaron como *enteritidis* (dos cepas, 11,1%) y *anatum* (una cepa, 5,6%). Los aislamientos del serotipo *infantis* se recuperaron de los tres tipos de muestras cárnicas, en especial de las muestras de pollo. Así 13 de los 15 aislamientos recuperados procedían de muestras de pollo, mientras que se aisló una de *S. infantis* en muestras de ternera, y otra en muestras de cerdo. Por su parte, los dos aislamientos de *S. enteritidis* provinieron de muestras de pollo y el de *S. anatum* de ternera (Tabla 1).

Todos los aislamientos, a excepción de la cepa de *S. anatum*, presentaron niveles de CMI de 32-64 µg/ml para furazolidona, siendo resistentes a nitrofurantoina con CMI de 128-256 µg/ml. El aislamiento de *S. anatum* presentó CMI de 8 µg/ml para furazolidona y de 32 µg/ml para nitrofurantoina (Tabla 2).

Asimismo, se observó correlación entre los valores de CMI y los halos observados en los estudios con discos de antibiótico. Así, en el caso de los aislamientos resistentes a nitrofurantoina se observaron halos de 8- 11 mm de diámetro para este antibiótico y de 8-13 mm para furazolidona, mientras que el aislamiento sensible presentó halos de 20 mm a nitrofurantoina y 24 mm a furazolidona.

La adición de PAβN no afectó los valores de CMI, que en

todos los casos permanecieron inalterados, lo cual mostró la no implicación de bombas de expulsión tipo RND en el desarrollo de resistencia a nitrofuranos en los aislamientos estudiados. Ni PAβN ni DMSO interfirieron con el crecimiento normal de las bacterias.

Todos los aislamientos resistentes a nitrofuranos presentaron mutaciones en *snrA* y *cnr*. Los 15 aislamientos de *S. infantis* presentaron sendos codones STOP en la posición 151 de *snrA* y 137 de *cnr*, mientras que las dos *S. enteritidis* los presentaron en las posiciones 180 de *snrA* y 179 de *cnr* (Tabla 2). Por último, no se obtuvieron transconjugantes resistentes a nitrofuranos en los estudios de conjugación.

## DISCUSIÓN

A pesar de que el uso de nitrofuranos en animales de consumo está prohibido en numerosos países, la resistencia a estos mismos se ha descrito en enteropatógenos, como es el caso de *Salmonella* spp., aisladas de muestras alimentarias<sup>(4,5)</sup>; incluso, en algunos casos se han detectado restos de nitrofuranos en productos cárnicos<sup>(18)</sup>. Hay varias explicaciones posibles a estos hechos, las cuales incluyen la estabilidad de la resistencia a nitrofuranos, el uso de estos antimicrobianos, pese a tratarse de productos prohibidos, o la existencia de contaminación ambiental<sup>(4,8,18)</sup>.

El hecho que los enteropatógenos aislados tuviesen como origen muestras de los tres tipos de carnes (pollo, ternera y cerdo), incluidos en el estudio y su presencia en las diferentes zonas de Lima, sugiere la amplia diseminación geográfica en el país de *S. enterica* resistentes a nitrofuranos. No obstante, se ha de considerar que las muestras procesadas se colectaron en 2012, un año antes de la prohibición en Perú del uso de nitrofuranos en la cría de animales de consumo<sup>(2)</sup>.

Se ha observado que la adquisición de resistencia a nitrofuranos es un hecho secuencial, en el que las nitrorreductasas NfsA y NfsB acumulan alteraciones que afectan su funcionalidad y que poseen un efecto aditivo en los niveles finales de resistencia a nitrofuranos<sup>(9)</sup>. Los resultados del presente estudio fueron concordantes, detectándose la presencia de mutaciones conducentes a la presencia de codones STOP en los genes equivalentes (*snrA* y *cnr*) y a la subsiguiente falta de nitroreductasas funcionales. Hasta la fecha muy pocos estudios han analizado los mecanismos de resistencia a nitrofuranos en *S. enterica*; en ellos se han encontrado escenarios similares, con presencia de codones STOP u otras alteraciones en los genes *snrA* o *cnr*<sup>(5,12)</sup>.

Si bien en el presente estudio no se obtuvieron transconjugantes resistentes a nitrofuranos, se han descrito mecanismos transferibles de resistencia a nitrofuranos. Entre estos, merece una especial atención la bomba de expulsión OqxAB, la cual ha sido recientemente implicada en el desarrollo de resistencia a nitrofurantoina<sup>(11)</sup>. OqxAB es una bomba de expulsión de tipo RND, indígena de *Klebsiella* spp., la cual fue detectada y codificada por primera vez en plásmido en aislamientos de

**Tabla 1.** Origen de las muestras de carne

Especies	N	Muestra	Distrito	Área
<i>S. anatum</i>	1	Ternera	Villa el Salvador	Sur
<i>S. enteritidis</i>	1	Pollo	La Victoria	Centro
<i>S. enteritidis</i>	1	Pollo	Villa el Salvador	Sur
<i>S. infantis</i>	6	Pollo	La Victoria	Centro
<i>S. infantis</i>	1	Ternera	La Victoria	Centro
<i>S. infantis</i>	3	Pollo	Comas	Norte
<i>S. infantis</i>	2	Pollo	San Martín de Porres	Norte
<i>S. infantis</i>	2	Pollo	Villa el Salvador	Sur
<i>S. infantis</i>	1	Cerdo	Villa el Salvador	Sur

N: Número de aislamientos de *S. enterica*. Solo se consideró un aislamiento de *Salmonella* por muestra

**Tabla 2.** Niveles y mecanismos de resistencia a nitrofuranos en *Salmonella* spp.

Serotipo	n	Nitrofurantoina			Furazolidona			Sustituciones	
		Rango (n)	CMI <sub>50</sub> <sup>a</sup>	CMI <sub>90</sub> <sup>a</sup>	Rango (n)	CMI <sub>50</sub> <sup>a</sup>	CMI <sub>90</sub> <sup>a</sup>	<i>snrA</i>	<i>cnr</i>
<i>S. infantis</i>	15	128 (14) - 256 (1)	128	128	32 (8) - 64 (7)	32	64	STOP-151	STOP-137
<i>S. enteritidis</i>	2	128	-	-	32-64	-	-	STOP-180	STOP-179
<i>S. anatum</i>	1	32	-	-	8	-	-	wt	wt
Total	18	32-256	128	128	8-64	32	32	-	-

n: número de aislamientos; CMI: concentración mínima inhibitoria; wt: ausencia de mutaciones.

<sup>a</sup>Calculado solo para *S. infantis*.

*E. coli* de origen veterinario en un estudio sobre la resistencia a olaquinox (19). En Perú, el uso de olaquinox en animales de consumo se prohibió a la par que el de nitrofuranos (2). En la actualidad, se conocen al menos 14 alelos de *oqxA* y 28 de *oqxB* codificados en plásmidos, sin que la actividad específica de cada uno de ellos haya sido establecida (19).

La presencia de mutaciones en *acrB*, *emrD*, *yajR* o *macB*, genes codificantes de bombas de expulsión cromosomales, ha sido implicada en el desarrollo de resistencia a nitrofuranos (20). La más estudiada de estas bombas es AcrAB que, al igual que OqxAB, es una bomba de expulsión de tipo RND. La bomba AcrAB, al igual que otras bombas de tipo RND incluyendo a OqxAB, puede ser inhibida usando sustancias como PAβN (19,20). En el presente estudio no se observó efecto de PAβN, por lo que se descartó que la sobreexpresión de bombas tipo AcrAB estuviese implicada en el desarrollo de resistencia a nitrofuranos en estos aislamientos, aportando además una evidencia complementaria sobre la ausencia de bombas plasmídicas OqxAB. En un estudio previo en el que se desarrollaron mutantes de *E. coli* resistentes a furazolidona, tampoco se detectó implicancia de bombas de expulsión inhibibles por PAβN (8).

Debido a la metodología utilizada la presencia de mecanismos de resistencia transferibles que solo confiriesen modestos incrementos en los niveles de resistencia, podría haber pasado desapercibida, lo que constituye una limitación del presente estudio. Asimismo, los aislamientos incluidos en el estudio son del 2012, lo que resalta la necesidad de

efectuar nuevos estudios que permitan valorar la situación actual.

El presente estudio describe la presencia de niveles altos de resistencia a nitrofuranos en aislamientos de *Salmonella enterica* procedentes de muestras de alimentos cárnicos comercializados en el área de Lima. Estos niveles de resistencia se relacionaron de manera directa con la presencia de mutaciones cromosomales en los genes *snrA* y *cnr*. Es preciso mantener un seguimiento de los niveles de resistencia a nitrofuranos en *S. enterica*.

**Contribuciones de autoría:** SMP, MJP y JR participaron en la concepción y diseño del artículo. SMP, MJP, LRR, LLA y AC participaron en la recolección de resultados. SMP, MJP y JR participaron en el análisis e interpretación de datos. MJP, JR y TJO participaron en la redacción del artículo. Todos los autores realizaron la revisión crítica del artículo, aprobaron la versión final y asumen responsabilidad de los contenidos del manuscrito.

**Fuentes de financiamiento:** Este trabajo fue apoyado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2012 (búsqueda de antibióticos y microorganismos resistentes en animales de consumo humano y piensos animales); JR fue apoyado por el programa I3 del Ministerio de Economía y Competitividad, España (número de concesión: CES11/012). "ISGlobal is a member of the CERCA Programme, Generalitat de Catalunya".

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflicto de interés.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Vass M, Hruska K, Franek M. Nitrofurantoin antibiotics: a review on the application, prohibition and residual analysis. *Vet Med (Praha)*. 2008;53(9):469-500. doi: 10.17221/1979-VETMED
- Carrasco Valiente JA. Prohiben importación y comercialización de diversos principios activos, así como el uso de los mismos en la fabricación de productos veterinarios o alimentos para animales destinados al consumo humano y establecen otras disposiciones. Resolución Directoral N° 0072-2013-MINAGRI-SENASA-DIAIA [Internet]. Diario Oficial El Peruano; 2013 (citado el 10 de agosto de 2019): 503464-5. Disponible en: <https://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/marcolegal/normaslegales/resolucionesdirectorales/2013/setiembre/rd72-2013-minagri-senasa-diaia.pdf>
- Pons MJ, Gomes C, Martínez-Puchol S, Ruiz L, Mensa L, Vila J, et al. Antimicrobial resistance in *Shigella* spp. causing traveller's diarrhoea (1995-2010): a retrospective analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2013;11(5):315-9. doi: 10.1016/j.tmaid.2013.06.010
- Antunes P, Machado J, Peixe L. Illegal use of nitrofurans in food animals: contribution to human salmonellosis?. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(11):1047-9. doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01539.x
- García V, Montero I, Bances M, Rodicio R, Rodicio MR. Incidence and genetic bases of nitrofurantoin resistance in clinical isolates of two successful multidrug-resistant clones of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: pandemic "DT 104" and pUO-StVR2. *Microb Drug Resist*. 2017;23(4):405-12. doi: 10.1089/mdr.2016.0227

6. McCalla DR, Kaiser C, Green MHL. Genetics of nitrofurazone resistance in *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 1978;133(1):10-6.
7. Peterson FJ, Mason RP, Hovsepian J, Holtzman JL. Oxygen-sensitive and -insensitive nitroreduction by *Escherichia coli* and rat hepatic microsomes. *J Biol Chem.* 1979;254:4009-14.
8. Martínez-Puchol S, Gomes C, Pons MJ, Ruiz-Roldán L, Torrents de la Peña A, Ochoa TJ, *et al.* Development and analysis of furazolidone-resistant *Escherichia coli* mutants. *APMIS.* 2015;123(8):676-81. doi: 10.1111/apm.12401
9. Whiteway J, Koziarz P, Veall J, Sandhu N, Kumar P, Hoecher B, *et al.* Oxygen-insensitive nitroreductases: analysis of the roles of *nfsA* and *nfsB* in development of resistance to 5-nitrofurans in *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 1998;180(21):5529-39.
10. Shanmugam D, Esak SB, Narayanaswamy A. Molecular characterization of *nfsA* gene in nitrofurantoin resistant uropathogens. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(6):DC05-09. doi: 10.7860/JCDR/2016/17280.7957
11. Ho PL, Ng KY, Lo WU, Law PY, Lai EL, Wang Y, *et al.* Plasmid-mediated OqxAB is an important mechanism for nitrofurantoin resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(1):537-43. doi: 10.1128/AAC.02156-15
12. Aviv G, Tsyba K, Steck N, Salmon-Divon M, Cornelius A, Rahav G, *et al.* A unique megaplasmid contributes to stress tolerance and pathogenicity of an emergent *Salmonella enterica* serovar Infantis strain. *Environ Microbiol.* 2014;16(4):977-94. doi: 10.1111/1462-2920.12351
13. Ruiz-Roldán L, Martínez-Puchol S, Gomes C, Palma N, Riveros M, Ocampo K, *et al.* Presencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2018;35(3):425-32. doi: 10.17843/rpmesp.2018.353.3737
14. Salazar de Vegas EZ, Nieves B, Araque M, Velasco E, Ruiz J, Vila J. Outbreak of infection with *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27(4):397-403. doi: 10.1086/503177
15. Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-eight informational supplement [Internet] CLSI document M100-S28. Wayne: CLSI; 2018 [citado el 11 de agosto de 2019]. Disponible en: [https://clsi.org/media/2663/m100ed29\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf)
16. Salamanca-Pinzón SG, Camacho-Carranza R, Hernández-Ojeda SL, Frontana-Urbe BA, Espitia-Pinzón CI, Espinosa-Aguirre JJ. Correlation of the genotoxic activation and kinetic properties of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium nitroreductases *SnrA* and *cnr* with the redox potentials of nitroaromatic compounds and quinones. *Mutagenesis.* 2010;25(3):249-55. doi: 10.1093/mutage/geq001
17. Pérez-Moreno MO, Pico-Plana E, de Toro M, Grande-Armas J, Quiles-Fortuny V, Pons MJ, *et al.*  $\beta$ -Lactamases, transferable quinolone resistance determinants, and class 1 integron-mediated antimicrobial resistance in human clinical *Salmonella enterica* isolates of non-Typhimurium serotypes. *Int J Med Microbiol.* 2013;303(1):25-31. doi: 10.1016/j.ijmm.2012.11.003
18. McCracken RJ, Kennedy DG. Furazolidone in chicken: case study of an incident of widespread contamination. *Br Poult Sci.* 2013;54(6):704-12. doi: 10.1080/00071668.2013.850152
19. Ruiz J. Transferable Mechanisms of quinolone resistance from 1998 onward. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(4):e00007-19. doi: 10.1128/CMR.00007-19
20. Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):337-418. doi: 10.1128/CMR.00117-14