

## *Escherichia coli* CON RESISTENCIA A MÚLTIPLES ANTIMICROBIANOS EN GRANJAS DE PRODUCCIÓN PORCINA DE LA REPÚBLICA ARGENTINA

Moredo FA<sup>1</sup>, Colello R<sup>2</sup>, Sanz M<sup>2</sup>, Cappuccio JA<sup>3</sup>, Carriquiriborde M<sup>4</sup>,  
Etcheverría A<sup>2</sup>, Perfumo CJ<sup>3</sup>, Padola NL<sup>2</sup>, Leotta GA<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Microbiología I y II, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

<sup>2</sup>Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, CIVETAN-CONICET-CIC-FCV-UNCPBA.

<sup>3</sup>Cátedra de Patología Especial, FCV-UNLP. <sup>4</sup>Bioterio, FCV-UNLP. <sup>5</sup>IGEVET CCT-La Plata Conicet.

**Resumen:** Los objetivos del presente trabajo fueron: i) monitorear la resistencia de *E. coli* frente a diversos antimicrobianos frecuentemente utilizados con fines terapéuticos y profilácticos en explotaciones porcinas; ii) aislar y caracterizar fenotípica y genotípicamente *E. coli* toxigénicos provenientes de cerdos con diarrea pre y posdestete; iii) determinar la presencia de integrones clase 1 y 2 como posible mecanismo de diseminación de resistencia. Se procesaron 216 hisopados rectales de cerdos clínicamente sanos y con diarrea, de 15 granjas de producción porcina. El 46,6 % de los aislamientos presentó resistencia a múltiples antimicrobianos. El 93 % fueron resistentes a tetraciclina, el 59 % a ciprofloxacina, el 52 % a florfenicol, 8 % a amoxicilina/ác. clavulánico y 0,6 % a gentamicina. No se observó resistencia a colistina. De 56 *E. coli*, 34 portaron al menos uno de los genes *int1* o *int2*. Se aisló *E. coli* toxigénico a partir del 53 % de los cerdos con diarrea. El uso inadecuado de antimicrobianos con fines profilácticos o terapéuticos en medicina veterinaria, implica un riesgo para la salud pública.

Palabras clave: *Escherichia coli*, resistencia antimicrobiana, integrones, cerdos

## MULTIDRUG RESISTANCE *Escherichia coli* IN PIG'S FARM FROM ARGENTINA

**Abstract:** The objectives of this study were: i) to control the resistance of *E. coli* against various commonly used antimicrobials for therapeutic and prophylactic in pig farms ii) to isolate and characterize phenotypic and genotypic *E. coli* toxigenic diarrhea from pigs pre and post weaning, iii) to determinate the presence of class 1 and 2 integrons as possible resistance mechanism of spread of *E. coli* from porcine. Rectal swabs were processed from 216 clinically healthy and diarrheic pigs, from 15 pig farms. 46.6% of the isolates were resistant to multiple antimicrobials, 93% were resistant to tetracycline, 59% to ciprofloxacin, 52% to florfenicol, 8% to amoxicillin/clavulanic acid and 0.6% to gentamicin. No resistance to colistina was observed. Out of 56 *E. coli*, 34 carried at least one gene *int2* or *int1*. Toxigenic *E. coli* was isolated from 53% of pigs with diarrhea. The inappropriate use of antimicrobial to prophylactic or therapeutic purposes in veterinary medicine, involves a risk to public health.

**Key words:** *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, integrons, pigs

Fecha de recepción: 10/10/13

Fecha de aprobación: 10/11/13

**Dirección para correspondencia:** Fabiana Moredo, Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** [fmored@fcv.unlp.edu.ar](mailto:fmored@fcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

El incremento en la utilización de antimicrobianos llevó a la emergencia de cepas bacterianas resistentes, transformándose en un problema de índole mundial. Dada la importancia de este, y considerando que se utilizan las mismas drogas en medicina veterinaria y en medicina humana, la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1) considera que la resistencia a los antimicrobianos es un serio y complejo problema mundial que requiere la creación de un sistema global de monitoreo. Estados Unidos, Canadá, Australia, Noruega y algunos países de la Unión Europea, implementaron estos programas de monitoreo permanente, los cuales están principalmente orientados al estudio de patógenos humanos, microorganismos zoonóticos y bacterias indicadoras de la flora intestinal normal de los animales como *Escherichia coli* (OIE).

En los establecimientos de producción porcina, la utilización de antimicrobianos con fines profilácticos es una práctica habitual, y en general, son los mismos que se utilizan con fines terapéuticos. Las empresas de nutrición, incluyen como aditivo a los alimentos que se utilizan en las diferentes etapas productivas, drogas como amoxicilina, colistina, ciprofloxacina, norfloxacina, neomicina, oxitetraciclina, tiamulina y tilosina. Según el manejo sanitario de cada granja, se suministran también cefalexina, ceftiofur, florfenicol, gentamicina, doxiciclina y sulfatrimetoprima.

Entre las diversas clases de antimicrobianos utilizados, los  $\beta$ -lactámicos representan una de las más significativas, debido a sus beneficios terapéuticos para el tratamiento de infecciones bacterianas. Actualmente, una variedad de  $\beta$ -lactámicos tiene licencia para su uso en medicina veterinaria y así proporcionan oportunidades para la presión de selección en el desarrollo de resistencia, incluyendo a los  $\beta$ -lactámicos de espectro extendido (2).

Los integrones son elementos que contienen los determinantes genéticos de los componentes de un sistema de recombinación específica de sitio, que reconoce y captura los genes móviles de resistencia a los antimicrobianos. Incluyen un gen para una integrasa (*int*), un sitio de recombinación adyacente (*attI*), y un promotor/s fuerte que asegura la expresión de los casetes integrados (3).

La diarrea posdestete (DPD) es una entidad de distribución mundial en granjas de cerdos en confinamiento. Sumado a factores ambientales, sociales y nutricionales (4), el agente desencadenante es *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), aunque también puede estar involucrado *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC) (5).

Para el desarrollo del presente trabajo se plantearon tres objetivos i) monitorear la resis-

tencia de *E. coli* frente a diversos antimicrobianos frecuentemente utilizados con fines terapéuticos y profilácticos en explotaciones porcinas; ii) aislar y caracterizar fenotípica y genotípicamente *E. coli* toxigénicos provenientes de cerdos con diarrea pre y posdestete; iii) determinar la presencia de integrones clase 1 y 2 como posible mecanismo de diseminación de resistencia entre *E. coli* de origen porcino.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el año 2010, se monitorearon 15 granjas ubicadas en Buenos Aires, Santa Fé, Córdoba y Entre Ríos, se enumeraron del 1 al 15. Se muestrearon 15 animales por granja, divididos en tres estratos en función a la semana de destetados: 1° semana (21-28 días), 2° semana (29-35 días) y 3° semana (36-42 días), con o sin diarrea, mediante hisopados rectales (cinco por de cada estrato) (DELTALAB, Buenos Aires, Argentina). Se procesaron en total 216 muestras, de las cuales 32 correspondieron a cerdos con diarrea provenientes de 11 granjas diferentes.

Luego del muestreo, el trabajo de organizó en etapas: a) aislamiento de *E. coli* a partir de muestras provenientes de cerdos sin manifestación clínica de diarrea; b) aislamiento y tipificación fenotípica y genotípica de *E. coli* toxigénicos a partir de cerdos con diarrea; c) determinación de resistencia frente seis antimicrobianos de los aislamientos obtenidos en las etapas a y b; d) determinación del comportamiento frente a diversos  $\beta$ -lactámicos, de *E. coli* con fenotipo resistente o intermedio a amoxicilina/ác. clavulánico (aislados de animales sin manifestación clínica de diarrea) y *E. coli* toxigénicos (aislado de cerdos con diarrea); e) determinación de la presencia de *intI1* o *intI2* en *E. coli* con fenotipo resistente o intermedio a amoxicilina/ác. clavulánico (aislados de animales sin manifestación clínica de diarrea) y *E. coli* toxigénicos (aislado de cerdos con diarrea).

Los hisopos se sembraron en agar Mac Conkey (Britania, Buenos Aires, Argentina) y se incubaron durante 24 horas a 42°C.

a) En el caso de los cultivos provenientes de animales sin manifestación clínica de diarrea se procedió según las técnicas convencionales de aislamiento y tipificación de *E. coli* (6).

b) En el caso de los cultivos provenientes de animales con diarrea, se procedió a la detección de los genes que codifican la producción de las toxinas LT, STa y STX2e según el procedimiento descrito en un trabajo previo (7), realizándose el aislamiento de *E. coli* toxigénico. Se serotipificaron en el Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Departamento SAMP FCV-UNCPBA, y se caracterizaron genotípicamente demostrando la presencia de los genes *eltA*, *estI*, *estII*, *ast1*, *stx<sub>1</sub>*, *stx<sub>2</sub>*, *stx<sub>2e</sub>*, que codifican las toxinas LT, STa, STb, EAST, STX1, STX2, STX2e respectivamente y los

genes *faeG*, *fanC*, *fasA*, *fedA*, *F41*, *aidA*, *ea*e y *Paa* que codifican las adhesinas fimbriales y no fimbriales F4, F5, F6, F18, F41, AIDA, intimina y Paa, mediante la técnica de PCR en tiempo final (7).

c) La determinación de la sensibilidad antimicrobiana se realizó siguiendo las recomendaciones del CLSI 2008, seleccionándose el método de difusión en agar. Se utilizaron los siguientes antimicrobianos: amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg (AMC) (Britania), gentamicina 10 µg (GEN) (Britania), tetraciclina 30 µg (TET) (Britania), ciprofloxacina 5 µg (CIP) (Britania), florfenicol 30 µg (FLOR) (Cevasa) y sulfato de colistina 10 µg (COL) (Oxoid). La interpretación de los resultados se realizó en base a los documentos M31-A3 (8) y M100-S19 (9) del CLSI utilizando como cepa control *E. coli* ATCC 25922. Se definió como multirresistente aquel aislamiento que presentó resistencia a tres o más grupos de antimicrobianos.

d) Con la intención de analizar el comportamiento de los aislamientos frente a diversos β-lactámicos, se seleccionaron 56 *E. coli* que presentaron patrón fenotípico de resistente o intermedio frente a amoxicilina/ácido clavulánico y se probaron cefalotina 30 µg (CEF) (Britania), cefotaxima 30 µg (CTX) (Britania), ceftazidima 30 µg (CAZ) (Britania), cefoxitina 30 µg (FOX) (Britania). La interpretación de los resultados se realizó, según los documentos M31-A3 y M100-S19 del CLSI.

e) La determinación de la presencia de integrones clase 1 y 2 como posible mecanismo de diseminación de resistencia de *E. coli* de origen porcino se realizó en los 17 aislamientos de *E. coli* toxigénicos provenientes de animales con diarrea y en 39 *E. coli* con comportamiento resistente o intermedio a amoxicilina/ácido clavulánico, aislados de cerdos sin manifestación clínica de diarrea. Se utilizó la técnica de PCR en tiempo final descrita por Rosser y col. y Oman y col., respectivamente.

## RESULTADOS

De las 216 muestras procesadas, se aisló *E. coli* en 178 (82,4 %). En la tabla 1 se describen los resultados obtenidos a partir de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de los 178 *E. coli*, frente a AMC, GEN, TET, CIP y FLOR.

Dentro de éstos se encuentran incluidos los aislamientos toxigénicos provenientes a partir de los animales con diarrea. No se incluyó la colistina ya que el total de los aislamientos mostró poseer comportamiento sensible. Se observó multirresistencia en 76 (46,6 %) aislamientos. En la tabla 2 se detalla la cantidad de muestras procesadas por granja, el porcentaje de aislamientos resistentes y multirresistentes frente a los antimicrobianos ensayados en cada una de ellas.

**Tabla 1.** Comportamiento de *Escherichia coli* frente a seis antimicrobianos frecuentemente utilizados en explotaciones porcinas con fines terapéuticos o profilácticos

Antimicrobiano	Sensible n (%)	Intermedio n (%)	Resistente n (%)
COL	178 (100)	0	0
GEN	176 (98,9)	1 (0,6)	1 (0,6)
AMC	122 (68,5)	42 (23,6)	14 (7,9)
FLOR	75 (42,1)	9 (5)	94 (52,2)
CIP	67 (37,2)	5 (2,8)	106 (59,5)
TET	8 (4,5)	5 (2,8)	165 (92,7)

n: cantidad de aislamientos. AMC: amoxicilina/ácido clavulánico. TET: tetraciclina. GEN: gentamicina. CIP: ciprofloxacina. FLOR: florfenicol. COL: colistina

De los 32 hisopados rectales procesados a partir de cerdos con diarrea, se aisló 17 *E. coli* toxigénicos, a partir de la misma cantidad de animales (53 %). La tabla 3 muestra los resultados de serotipificación y caracterización genotípica de estos aislamientos.

Se seleccionaron 56 *E. coli*, 17 toxigénicos aislados a partir de cerdos con diarrea y 39 provenientes de animales sin diarrea, con fenotipo resistente o intermedio a amoxicilina/ác. clavulánico. El 62,5 % (35/56) tuvieron comportamiento resistente frente a cefalotina, el 7,1 % (4/56) y 8,9 % (5/56) fueron resistentes a cefotaxima y cefoxitina, respectivamente. No se observaron aislamientos resistentes a ceftazidima.

Con respecto a la presencia de *int11* o *int12*, se obtuvieron los siguientes resultados: de los 56 *E. coli* (17 toxigénicos aislados a partir de cerdos con diarrea y 39 provenientes de animales sin diarrea, con fenotipo resistente o intermedio a amoxicilina/ác. clavulánico) 34 (60,7 %) fueron portadores de al menos uno de los dos genes; de *int11* 24 aislamientos, de *int12* 4 y de ambos genes 6. La presencia de estos genes en *E. coli* toxigénicos está asociada a las diferentes granjas. En los siete aislamientos de la granja 1 se observó *int1*, en uno de la granja 13 (*int1*) y en el único de la granja 15 ambos genes (Tabla 3).

## DISCUSIÓN

A diferencia de los resultados obtenidos en estudios previos, se observó aumento del porcentaje de aislamientos resistentes a AMC y CIP. El porcentaje de resistencia frente a TET y fenicoles se mantuvo igual; y disminuyó con respecto a GEN (10, 11).

Li y col. (2007) informaron la correlación entre la resistencia observada frente a ceftiofur con respecto a amoxicilina/ác. clavulánico y cefoxitina, sugiriendo un posible mecanismo de resistencia común. Esta sería la posible explicación a nuestros hallazgos, ya que de los tres

**Tabla 2.** Porcentaje de *Escherichia coli* resistentes y multirresistentes discriminado por granja.

Granja	n/M	AMC	GEN	TET	CIP	FLOR	Multirresistencia
1	14/15	7,1	0	100	100	78,5	78,5 (11/14)
2	11/15	0	0	90,9	90,9	63,3	54,5 (6/11)
3	14/15	0	85,7	85,7	85,7	85,7	71,4 (10/14)
4	12/15	0	0	83,3	0	0	0 (0/12)
5	12/15	8,3	0	100	41,7	58,3	16,7 (2/12)
6	9/11	0	0	100	77,8	66,7	44,4 (4/9)
7	8/15	50	0	100	62,5	0	37,5 (3/8)
8	13/15	15,4	0	76,9	92,3	61,5	46,1 (6/13)
9	14/15	0	0	100	0	42,8	0 (0/14)
10	15/15	6,7	0	100	53,3	73,3	53,3 (8/15)
11	11/15	0	0	90,9	9	18,2	14,3 (1/11)
12	10/15	20	0	90	10	0	8,33 (1/12)
13	14/16	14,3	0	85,7	64,3	42,8	46,1 (6/13)
14	10/10	10	0	90	100	80	70 (7/10)
15	11/14	0	0	100	100	100	91,7 (11/12)

n: cantidad de aislamientos. M: muestras procesadas. AMC: amoxicilina/ácido clavulánico. GEN: gentamicina. TET: tetraciclina. CIP: ciprofloxacina. FLOR: florfenicol.

**Tabla 3.** Caracterización genotípica de *Escherichia coli* toxigénicos aislados de cerdos con diarrea posdestete

Granja	Localización	Aislamiento	Serotipo	Patrón de resistencia	Genotipo
1	Buenos Aires	G1/2°S/1	ONT:H27	CIP-TET-FLOR-AMP- CEF	<i>estI/ estII/ aidA/ fedA/int1</i>
1		G1/2°S/2	ONT:H23	CIP-TET-FLOR-AMP- CEF	<i>estI/ estIII/ fedA/int1</i>
1		G1/2°S/3	ONT:H23	CIP-TET-FLOR-AMP- CEF	<i>estI/ estIII/ fedA/int1</i>
1		G1/2°S/4	ONT:H23	CIP-TET-FLOR-AMP- CEF	<i>estI/ estIII/ fedA/int1</i>
1		G1/3°S/1	O2:H32	CIP-TET-FLOR-AMP- CEF	<i>stx<sub>2e</sub>/int1</i>
1		G1/3°S/2	ONT:H23	CIP-TET-AMP-CEF	<i>estI/ estII/ fedA/int1</i>
1		G1/3°S/3	ONT:H23	CIP-TET-FLOR-AMP- CEF	<i>estI/ estII/ fedA/int1</i>
6	Santa Fé	G6/1°S/1	O138:H14	CIP-TET-FLOR-AMP	<i>estI/ estIII/ aidA</i>
6		G6/1°S/2	ONT:H19	CIP-TET-FLOR-AMP	<i>estI/ estII</i>
7	Santa Fé	G7/1°S/3	O149:HNT	CIP-TET-AMP	<i>eltA/ estII/ ast1/ aidA/ faeG</i>
8	Santa Fé	G8/2°S/3	O149:HNT	AMC-CIP-FLOR-AMP- CEF	<i>eltA/ estI/ estIII/ ast1</i>
8		G8/2°S/5	O149:HNT	CIP-FLOR-AMP-CEF	<i>eltA/ estII/ ast1</i>
13	Córdoba	G13/1°S/1	ONT:H30	TET-FLOR-AMP	<i>ast1/ aidA/int1</i>
13		G13/1°S/2	O138:H30	TET	<i>ast1</i>
13		G13/1°S/4	O8:H9	TET-AMP	<i>ast1</i>
13		G13/Mat	O126:H27	CIP-TET-FLOR-AMP	<i>ast1/ aidA</i>
15	Córdoba	G15/2°S/1	O138:HNM	CIP-TET-FLOR-AMP	<i>estI/ estII/ fedA/int1/ int2</i>

NT: no tipificable. NM: inmóvil. CIP: ciprofloxacina. TET: tetraciclina. FLOR: florfenicol. AMP: ampicilina. CEF: cefalotina. AMC: amoxicilina/ácido clavulánico.

β-lactámicos, el único que se emplea en las explotaciones porcinas es el ceftiofur.

*E. coli* enterotoxigénico fue el predominante en la mayoría de los animales con diarrea, con genotipo coincidente con los publicados previamente (7, 12). El 82,3 % (14/17) de los aislamientos toxigénicos presentaron al menos uno de los dos (AIDA-I y STb) marcadores de *E. coli* diarregénicos porcino, indicados por Ngeleka y

col. De los 17 aislamientos, 9 (53 %) pudieron ser serogrupados, perteneciendo la mayoría de ellos a los serogrupos asociados con diarrea posdestete (O149, O138 y O8) (13). Un aislamiento de la granja 13 obtenido a partir de un animal de maternidad, fue categorizado con *E. coli* enteroagregativo O126:H27. Este serotipo no está asociado con diarrea en cerdos, aunque sí lo está con niños hospitalizados con gastroenteritis (14).

A diferencia de lo observado por Colello y col., el 53 % (9/17) de los *E. coli* toxigénicos portaron *int1*.

Este trabajo demuestra que la resistencia observada es coincidente con los antimicrobianos de uso frecuente para la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas en cerdos. Dadas las diferencias obtenidas en los valores de sensibilidad entre las diferentes granjas, no es posible la prescripción de un antimicrobiano, sin tener en cuenta el efecto granja y sin la realización de estudios de sensibilidad antimicrobiana en forma periódica.

El uso inadecuado de antimicrobianos con fines profilácticos o terapéuticos en medicina veterinaria, implica un riesgo para la salud pública, debido a la adquisición de integrones con la subsecuente diseminación de genes de resistencia entre las diferentes poblaciones bacterianas.

Futuros estudios serán necesarios para determinar la presencia de *genes cassettes* en *E. coli* de origen animal, así como también el mecanismo de resistencia frente a  $\beta$ -lactámicos.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por un subsidio otorgado por la Agencia Nacional de Promoción Ciencia y Tecnología – FONCYT. PICT-2010-0961 y FONCYT PICT 2010 N° 1655, SECAT UNCPBA, CIC-PBA.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Franklin A, Acar J, Anthony F, Gupta R, Nicholls T, Tamura Y. Antimicrobial resistance: harmonization of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and in animal-derived food. Scientific and Technical Review, Office International des Épizooties (O.I.E.) 2000; 20:589-70.
2. Li XZ, Mehrotra M, Ghimire S, Adewoye L.  $\beta$ -Lactam resistance and  $\beta$ -lactamases in bacteria of animal origin. Vet Microbiol 2007; 121:197-214.
3. Peters EDJ, Leverstein-van Hall MA, Box ATA, Verhoef J, Fluit AC. Novel gene cassettes and integrones. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45:2961-4.
4. Fairbrother J, Nadeau E, Gyles C. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. Anim Health Res Rev 2005; 6:17-39.
5. Ngeleka M, Pritchard J, Appleyard G, Middleton D, Fairbrother J. Isolation and association of *Escherichia coli* AIDA-I/STb, rather than EAST1 pathotype, with diarrhea in piglets and antibiotic sensitivity of isolates. J Vet Diagn Invest 2003; 15:242-52.
6. Moredo F, Vigo G, Sanz M, Aguirre J, Armocida A, Perfumo C. Caracterización enterotoxigénica y estudio de sensibilidad antimicrobiana *In Vitro* de cepas de *Escherichia coli* aisladas de cerdos con cuadros clínicos de diarrea pre y posdestete. Analecta Vet 1998; 18:29-34.

7. Moredo F, Cappuccio J, Insarralde L, Perfumo CJ, Quiroga MA, Leotta GA. Caracterización genotípica de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos con diarrea posdestete y enfermedad de los edemas. Rev Arg Microbiol 2012; 44:85-9.

8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard- Third Edition. CLSI document M31-A3. 2008. Pennsylvania, USA.

9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Edition. CLSI document M100-S19. 2009. Pennsylvania, USA.

10. Moredo FA, Vigo GB, Cappuccio JA, Piñeyro P, Perfumo CJ, Giacoboni GI. Resistencia a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos de la República Argentina. Rev Arg Microbiol 2007; 39:227-9.

11. Pantozzi FL, Moredo FA, Vigo GB, Giacoboni GI. Resistencia a los antimicrobianos en bacterias indicadoras y Zoonóticas aisladas de animales domésticos en Argentina. Rev Arg Microbiol 2010; 42:49-52.

12. Parma AE, Sanz ME, Viñas MR, Cicuta ME, Blanco JE, Boehringer SI, Vena MM, Roibon WR, Benitez MC, Blanco J, Blanco M. Toxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs in Argentina. Vet Microbiol 2000; 72:269-276.

13. Frydendahl K. Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. Vet Microbiol 2002; 85:169-82.

14. Shazberg G, Wolk M, Schmidt G, Miron D. Enterogregative *Escherichia coli* serotype O126:H27, Israel. Emerg Infect Dis 2003; 9:1170-3.

15. Rosser SJ, Young HK. Identification and characterization of class 1 integrons in bacteria from an aquatic environment. J Antimicrob Chemother 1999; 44:11-8

16. Orman BE, Piñeyro SA, Arduino S, Galas M, Melano R, Caffer MI, Sordelli EO, Centrón D. Evolution of multiresistance in nontyphoid *Salmonella* serovars from 1984 to 1998 in Argentina. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46:3963-70.

17. Colello R, Moredo F, Etcheverría A, Leotta G, Parma A, Padola NL. Detection of integrons class 1 and class 2 in VTEC strains isolated from pigs. 8<sup>th</sup> International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections, 2012, Resumen P-096, p. 147, Amsterdam, Holanda.