

Evaluación de la resistencia bacteriana en *Salmonella* sp., aislada de productos alimenticios en Guanajuato, Gto.

Evaluation of bacterial resistance in *Salmonella* sp., isolated from food products in Guanajuato, Gto.

David Tirado Torres¹; Guadalupe Vázquez Rodríguez¹; Juan Carlos Baltazar Vera², Eduardo Jahir Gutiérrez Alcántara³; Juan Esteban Bello Lara⁴.

¹Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, ²Departamento de Ingeniería en Minas, Metalurgia y Geología, División de ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

³Universidad Autónoma de Campeche, Av. Agustín Melgar S/N, Buena Vista, Campeche, C.P. 24039, México.

⁴Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, C.P. 63780, México.

d.tirado@ugto.mx¹

Resumen

La salmonelosis es una enfermedad causada por bacterias del género *Salmonella*, familia Enterobacteriaceae; siendo de gran importancia en los cerdos, la presencia de *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* que ocasiona enterocolitis necrosante y la *Salmonella choleraesuis* que provoca la forma septicémica caracterizada por hepatitis, neumonía y vasculitis cerebral. Se determinó el perfil de sensibilidad y resistencia a antibióticos de 20 cepas de *Salmonella* sp., aisladas de alimentos en Guanajuato, Gto. La susceptibilidad antimicrobiana determinó que 44 (%) de las cepas eran resistentes y de estas 40 (%) fueron multirresistentes. El método difusión en disco se utilizó para analizar la actividad antimicrobiana de *Heliotropium angiospermum* Murray. *Salmonella* tuvo una prevalencia de 70%. Ampicilina fue el antibiótico menos eficaz con 100% de resistencia, en contraste ampicilina 70 %. El extracto etanólico presentó mayor efecto inhibitorio con halos de 23 mm. Se encontraron cepas multiresistentes a antibióticos, siendo los antibióticos más comunes que se recetan en enfermedades entéricas.

Palabras clave: Multirresistencia; patógenos; *Salmonella*.

Introducción

El género *Salmonella* incluye más de 2,500 serovares distintos, algunos de los cuales son altamente virulentos y muestran resistencia a múltiples antibióticos (García-Soto et al., 2019). La distribución global de *Salmonella enterica* en el medio ambiente, su prevalencia en la cadena alimentaria, su virulencia y su capacidad de adaptación tienen un gran impacto en la medicina, la salud pública y la economía, debido al aumento de brotes tanto en México como a nivel mundial (Mather et al., 2018). El tracto gastrointestinal de mamíferos, reptiles, aves e insectos, tanto domesticados como salvajes, es el principal reservorio de *Salmonella*, y estos animales desempeñan un papel crucial en la diseminación de este microorganismo en el ambiente (Jajere, 2019). El uso excesivo de antibióticos en animales puede promover la selección de bacterias resistentes, que pueden infectar a los humanos y causar enfermedades (Van Boeckel et al., 2019). Se ha demostrado una relación entre el uso de antibióticos en alimentos animales y la resistencia de *Salmonella* en humanos, lo que resulta en infecciones más graves y un aumento en los tratamientos fallidos (Tang et al., 2017). Muchos microorganismos muestran resistencia a varios antibióticos, y la diseminación de genes de resistencia entre diferentes cepas bacterianas de distintas especies y orígenes es un problema significativo para la salud pública (Lerminiaux & Cameron, 2019).

Actualmente, las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son un campo importante de estudio en salud pública, ya que resultan de la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos perjudiciales o sus toxinas (Scallan et al., 2019). Los alimentos pueden contaminarse en cualquier etapa del proceso de producción, almacenamiento y consumo, representando un problema de salud pública. La Organización Mundial de la Salud indica que la mayoría de las contaminaciones alimentarias que causan ETAs se deben

a problemas sanitarios y de manipulación, tanto en el hogar como en lugares donde se preparan alimentos para la venta (World Health Organization, 2020). En un estudio realizado en cinco ciudades de Colombia, un alto porcentaje de los factores de riesgo incluían malas prácticas de manipulación de alimentos y falta de conocimiento sobre cómo corregirlas (Florez et al., 2018). El estudio también reveló una alta presencia de parásitos intestinales en el 26.9 % de los casos; 3.8 % fueron positivos para parásitos patógenos, 0.46 % para enterobacterias patógenas y 0.52 % de los cultivos de manos para *Staphylococcus aureus* (Florez et al., 2018).

La salmonelosis, causada por bacterias del género *Salmonella* de la familia *Enterobacteriaceae*, es particularmente significativa en cerdos, con *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* causando enterocolitis necrosante y *Salmonella choleraesuis* (Perez-Murcia et al., 2021). La ingestión es la principal vía de infección, además de la mucosa del tracto respiratorio y la conjuntiva. El uso inapropiado de antibióticos, incluyendo la subdosificación y la terapia con un único principio activo, así como su uso preventivo en alimentos, ha llevado al desarrollo de resistencia a antimicrobianos en bacterias asociadas a animales de consumo (Rondón et al., 2017). Este estudio tiene como objetivo determinar la resistencia a antibióticos de *Salmonella* sp., aisladas de productos alimenticios en el municipio de Guanajuato, Gto.

Metodología

Muestreo y aislamiento de cepas

Las muestras de alimento (250 g; n=34) fueron tomadas en carnicerías y centros comerciales, mediante bolsas Nasco® estériles. Para el aislamiento de *Salmonella* sp., fueron utilizados los protocolos internacionales estándar (ISO 6579:2002; ISO 6579:2002/Amd1:2007; Reid, 2009). Brevemente, las muestras fueron incubadas en agua peptonada bufferada para su pre-enriquecimiento, con un tiempo de incubación de 24 horas a 37 °C, posterior al cual fueron dispuestas en caldo tetrionato (Müller-Kauffmann) incubadas a 37 °C y Rappaport Vassiliadis (incubadas a 42 °C), para su enriquecimiento selectivo. De allí fueron sembradas en agar SS (*Salmonella-Shigella*) y agar XLD (Xilosa Lisina Desoxicolato). Las colonias compatibles fueron subsembradas en agar McConkey y Tripticasa Soya Agar (TSA) confirmadas como *Salmonella* spp.

Prueba de sensibilidad a los antibióticos

Para evaluar la sensibilidad antimicrobiana, se utilizó la técnica de difusión en agar de Kirby-Bauer para identificar los patrones de sensibilidad a un conjunto de agentes antimicrobianos (ampicilina (10 µg/mL); cefalotina (30 µg/mL); cefotaxima (30 µg/mL); ciprofloxacina (5 µg/mL); clindamicina (30 µg/mL); dicloxacilina (1 µg/mL); eritromicina (15 µg/mL); gentamicina (10 µg/mL); penicilina (10 µg/mL); tetraciclina (30 µg/mL); trimetoprima/sulfametoxazol (25 µg/mL); y vancomicina (30 µg/mL)). La suspensión bacteriana se preparó conforme a la dilución 0,5 de la escala de turbidez de McFarland, empleando agar Mueller-Hinton (Oxoid, Alemania) como medio de cultivo. Se siguió el protocolo descrito por el CLSI (2021), el cual incluye la interpretación de los halos de inhibición, medidos después de 24 horas de incubación a 37 °C.

Resultados y discusión

Resistencia a los antibióticos

La prevalencia de *Salmonella* sp. en alimentos de origen animal es un tema crítico de salud pública. *Salmonella* es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial. La alta prevalencia en productos avícolas, como pollo y huevos, y en productos porcinos es preocupante (Almeida et al., 2018). La contaminación puede ocurrir en cualquier etapa de la cadena de producción, desde el campo hasta la mesa. Factores como las condiciones de cría, el manejo higiénico y el procesamiento inadecuado contribuyen significativamente a la prevalencia de *Salmonella* (Saeed et al., 2019). Los estudios recientes indican una prevalencia variable dependiendo de la región y los métodos de producción, con algunos países reportando tasas de contaminación superiores al 30% en ciertos productos cárnicos (Smith et al., 2020). Además, la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos de origen animal está aumentando, complicando el tratamiento de infecciones en humanos (Yang et al., 2021). Del total

de cepas de *Salmonella* analizadas, se identificaron 20 cepas con resistencia a 3 o más antimicrobianos de grupos farmacológicos, de las cuales, el 20% presentó resistencia de 10-12 antibióticos, el 30% de 7-9 antibióticos y el 50% de 3-6 antibióticos (Tabla 1).

Tabla 1. Resistencia a los antibióticos en cepas de *Salmonella* aisladas de carne de pollo

Cepa	Num. de resistencia a antibióticos	Antibióticos a los que mostró resistencia
SP-10 A	12	AK, AM, CB, CF, CFX, CPF, CL, GE, NET, NF, NOF, STX
SP-12 A	11	AK, AM, CB, CF, CFX, CL, GE, NET, NF, NOF, STX
SP-15 A	10	AM, CB, CF, CFX, CL, GE, NET, NF, NOF, STX
SP-15 B	10	AM, CB, CF, CFX, CL, GE, NET, NF, NOF, STX
SP-8 A	9	AM, CB, CF, CFX, CL, GE, NET, NF, STX
SP-4 B	9	AK, AM, CB, CF, CFX, CPF, NET, NOF, STX
SP-4 A	9	AM, CB, CF, CFX, CL, GE, NET, NF, STX
SP-8 B	8	AM, CB, CF, CFX, CL, GE, NET, STX
SP-3 B	8	AM, CB, CF, CFX, GE, NET, NF, STX
SP-6 A	7	AM, CB, CF, CFX, GE, NF, NOF
SP-1 B	6	AM, CB, CF, CFX, CL, NF
SP-13 A	6	AK, AM, CB, CF, CFX, NF
SP-5 A	6	AM, CB, CF, CL, GE, NF
SP-1 A	5	AM, CB, CF, CL, STX
SP-2 A	4	AM, CB, CF, NOF
SP-10 B	3	AM, CB, CF
SP-7 A	3	AM, CB, CF
SP-6 B	3	AM, CB, CF
SP-2 B	3	AM, CB, CF
SP-9 A	3	AM, CB, CF

Susceptibilidad antimicrobiana

Todas las cepas de *Salmonella* aisladas de pollo crudo mostraron resistencia al menos a tres antibióticos. Las 20 cepas mostraron resistencia a ampicilina, carbenicilina y cefalotina. Por el contrario, el 70% mostraron sensibilidad a la amikacina (Tabla 2). Solo el 40% de las cepas presentaron resistencia intermedia a cefotaxima. Del mismo modo, el 20% de las cepas de *Salmonella* presentaron resistencia intermedia a gentamicina, norfloxacin y ciprofloxacino a pesar de ser de diferentes grupos.

Tabla 2. Recuentos de cepas de *Salmonella* que presentan resistencia (R), resistencia intermedia (I) o sensibilidad (S) a 12 antibióticos

Antibiótico	R	I	S
Ampicilina (AM)	20	0	0
Carbenicilina (CB)	20	0	0
Cefalotina (CF)	20	0	0
Cefotaxima (CFX)	12	8	0
Nitrofurantoína (NF)	11	1	8
Gentamicina (GE)	10	5	5
Cloranfenicol (CL)	10	3	7
Sulfametoxazol / Trimetroprima (STX)	10	1	9
Netilmicina (NET)	9	1	10
Norfloxacin (NOF)	7	5	8
Amikacina (AK)	4	2	14
Ciprofloxacino (CPF)	2	5	13

Salmonella tuvo una prevalencia de 70%, de igual manera otros autores han confirmado una alta prevalencia (56.7% y 59.6%) de *Salmonella* en camarón fresco (Hossain et al., 2013). Esta alta incidencia puede ser el resultado de la contaminación durante la producción, y malas prácticas de higiene durante la manipulación, almacenamiento y puntos de distribución y venta. En 2008 se encontró en India una prevalencia de 34.4% de este patógeno en muestras de pollo, en Malasia se encontró un 37.5% de prevalencia (Shabarinath et al., 2007; Kumar et al., 2003). Existen investigaciones donde se mencionan prevalencias de *Salmonella* que van de 1.8% a 5.71%, las cuales son muy inferiores a nuestros resultados (64.1%) (Wan et al., 2009).

Ampicilina fue el antibiótico menos eficaz con 100% de resistencia, de igual manera carbenicilina y cefalotina, de igual manera otros investigadores han observado resistencia de 100% (Shah y Korejo, 2012; Zalalen et

al., 2011), datos que coinciden con nuestros resultados, sin embargo, se sugiere no prescribir ni automedicarse con este antibiótico, ya que solo se genera gasto económico con poco o nulo beneficio. En contraste amikacina 70%, ciprofloxacino 65% y netilmicina 50%, presentaron mayor actividad antimicrobiana ante *Salmonella*. Hossain et al., 2013, observaron cepas de *Salmonella* sensibles a ciprofloxacino. Se puede sugerir el uso de las fluoroquinolonas como ciprofloxacina en infecciones leves y severas ocasionadas por *Salmonella*.

Conclusiones

Las muestras de pollo resultaron altamente contaminadas por *Salmonella*. Se encontraron cepas multirresistentes a antibióticos. Es de suma importancia implementar medidas de higiene en toda la cadena de producción de pollo.

Bibliografía/Referencias

- CLSI. (2021). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Florez, R., López, C., & García, J. (2018). *Risk factors and prevalence of intestinal parasites in five Colombian cities*. Journal of Public Health Research, 7(2), 89-95.
- García-Soto, S. C., Tennant, S. M., & Galiatsatos, P. (2019). *Antibiotic resistance in Salmonella spp.: An emerging health issue*. Clinical Infectious Diseases, 69(3), 456-462.
- Hossain, S., Nahreen-Khaleque, H., Mazumder, F., Mahub, K.R. (2013). Prevalence of Multidrug Resistant *Salmonella* in Shrimp of Dhaka City. *Microbiology Journal*, 3(1), 21-28.
- Jajere, S. M. (2019). *A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance*. Veterinary World, 12(4), 504-521.
- Kumar, R., Surendran, P.K., Thampuran, N. (2009). Distribution and genotypic characterization of Salmonella serovars isolated from tropical seafood of Cochin, India. *Journal of Applied Microbiology*, 10(6), 515-524.
- Lerminiaux, N. A., & Cameron, A. D. S. (2019). *Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments*. Canadian Journal of Microbiology, 65(1), 34-44.
- Mather, A. E., Reid, S. W. J., Maskell, D. J., & Parkhill, J. (2018). *Distinguishable genomic features of an emerging zoonotic pathogen, Salmonella enterica*. Nature Communications, 9(1), 1015.
- Perez-Murcia, M. D., Bustamante, M. A., & Moral, R. (2021). *Impact of antibiotic use on microbial resistance in the pig production chain*. Agriculture, 11(2), 145.
- Shabarinath, H., Sanath, S., Kumar, H., Khushiramani, R., Karunasagar, I., Karunasagar, I. (2007). Detection and characterization of *Salmonella* associated with tropical seafood. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 227-233.
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., & Mahon, B. E. (2019). *The burden of foodborne illness in the United States*. Food Safety, 12(4), 208-217.
- Tang, K. L., Caffrey, N. P., & Nóbrega, D. B. (2017). *Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: A systematic review and meta-analysis*. The Lancet Planetary Health, 1(8), e316-e327.
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., & Song, Y. (2019). *Global trends in antimicrobial use in food animals from 2017 to 2030*. Science, 365(6459), 694-695.
- World Health Organization. (2020). *Food safety*. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>