



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE
Salmonella spp Y *Shigella spp* AISLADAS DE MATERIA FECAL
DE CERDOS Y HUMANOS EN UNA REGIÓN DE MORELOS.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A:

JACKELINE CERÓN LÓPEZ

DIRECTORA:

DRA. CELIA M. ALPUCHE ARANDA

ASESORA:

DRA. ELSA MARÍA TAMAYO LEGORRETA

CUERNAVACA, MORELOS

FEBRERO, 2021

*“Puede que no controles los hechos que ocurren,
pero si puedes decidir ni dejarte derrotar por ellos”·*

Maya Angelou

Cuernavaca, Morelos a 19 de enero de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **JACKELINE CERÓN LÓPEZ**, con el título del trabajo: **EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Salmonella spp.* Y *Shigella spp.* AISLADAS DE MATERIA FECAL DE CERDOS Y HUMANOS EN UNA REGIÓN DE MORELOS.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación de **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DRA. LILIA MONTOYA LORENZANA _____
SECRETARIO: M. EN B. LUIS ENRIQUE CRUZ TRUJILLO _____
VOCAL: DRA. CELIA MERCEDES ALPUCHE ARANDA _____
SUPLENTE: M. EN C. MARÍA LUISA BARROSO GARCÍA _____
SUPLENTE: DR. ALEXIS JOAVANY RODRÍGUEZ SOLÍS _____



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) 27 de abril de 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

CELIA MERCEDES ALPUCHE ARANDA | Fecha: 2021-01-20 13:28:58 | Firmante

FSH0QehjBYx8gPYBdlSLfeNjyG8SSA+z76RFvudMOW8O1TvNZ9kv33wLqZ6J45qPP1MAFeWxLTx9ow3C0bFvPaHGRW/K1OpaAgBybg/qyzvmOK0UM+7pxvOGlr4BibfMdK0kxj8fzs1iZ9ARPze+JxqwotFroHkQs2YZ8qwNR2zpsniD/D2Y2Y54TuD6ballmnB7M/yoi3x9Nde48C09DevqqYPhebWi2hMpxzppdd0GkCNfU6yCOW1jQP96A663lpYiOfPWmANGQmJzfiloOZpkycAFF9p//7G+EN0CYIDUw8pdUdBP+qCOM83jieuC+j5H5NISbZJldi7J6FoBw==

MARIA LUISA BARROSO GARCIA | Fecha: 2021-01-20 17:23:04 | Firmante

V46Mnn5vYu+OKpCYSZ/9xPrTcT5gOqdV4/G09jFrp2ZUUqTkr+rgxipfmk3+zK8xeAwykWJ4Rw02Q3bXUaTiFO28/POoqS+HEG3SfcSTvmtvEspWnOHdlBuENo2mCFqXxJNLpXS31FmBxNe9JvwfGGXxI+CQ2P9dp2hmZJbYfAP2peVrB/WE8C0L0OMCzKGABkfxqrmfEfwVxSZ4P/un9aLThiSfIAqE0PI6PJyFNI0Mc9BRByZROEFKOSwZEcje3vla/h/XlqCkq5uxpv/szO09Ps3QP/YltyuxfLX3+7RW5OI8Q2stoL5xw+E4ZDLjWJOEsEz/GGjCcsaVc6DQ==

ALEXIS JOAVANY RODRIGUEZ SOLIS | Fecha: 2021-01-20 20:39:01 | Firmante

Ss+9OGuz+sAObsz8D7a0icBnv83jAxvbkFrryMczNILFj2+2FvAPGipbk3ZVMynNkq/FV5zAOe5K+fbx6RFbyen7Q/doAx0kHASos1Mtwrdkwz0NCfb1DoQfg0hmYT+IV8JYzrHDjHG GVsU13pkypqrqbiiz7kFQSwHFw8mCi5YCVkUjjsQRroOz/EG76LNkFPzIDA5vfSz1y/1YU4PxbzwmOFW7nUOucB+ciBeUT+v2qD7zMoND387itUf/hszBY+DLaDwk43zI8vv8rKJqgZ1ZYXib0uaTKxXHZ3AIA9KTUUh2g5wtXzuPVKdv2zuabThc42ZL00R6p6urCULta==

LUIS ENRIQUE CRUZ TRUJILLO | Fecha: 2021-01-21 11:39:58 | Firmante

Mz5/1YKnoVzOboFPMN0ys9/xd1TXPs/3F5IX+5kQkfXzidbCixHJMNo7G2ve11LwvviNjTnyb5gojqnDSBU1uaC0mQzstNUdN3AKbQuCqIxFj7HSmHdmbHO1Imr6UMWUKtfFyKKb4kHJ2n/VplaKsUWRhMh58fjsN3RCKrO2xmBIaknsNzpSpSGR3Gx0c0mNfk3dXreEtePm/hFKayom8vCEin++Z2bnURLTIWvCCeeW6WCyh+cayO5V8JsjDBxR+9hj+5S0gkVb uASKseD8kFwOdoetAsduyD7EpZ0vY3bY/M+Ys2uue6vYt8jOUKLTptovpULq2hxuH22hg==

LILIA MONTOYA LORENZANA | Fecha: 2021-01-21 23:37:44 | Firmante

OHZ9xVPuxi/6SGnh9AMISKOq3E52hml01Eq5OTmJC1ag25zuNj1PNF5ekuyhC8VsukBGY64W67rHZCSGOCgV7Clal1rNV2FOh6EEVfybDIKklq/stvID1Pc1VEHkhjkBJmR15n1Xbw6GtmPOAFpPpTHJ3xm0zQK293FA+b9FmUW2UyWK3jxiFs5W2OKZOGz5yDxV4D3f7c4PdxUQJN3OxhuSUKM0JLsU7sSuF1n4TXegYpLLyJ+roVCWf6IAi6Yf0I2Jwb1hJ7hpymhF7f9hGuYycuaW8umnlxs9tJLkKQWjfsJkZN0VN5xejJKCF9bKEAmcL72aVn6CoUchwJ9A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



hGDezo

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/uJm46Zzmt40ftG1qTWBXMpJsMybD8qy>



I) DEDICATORIAS

A mis padres:

María E. López Jiménez y Julio Cerón Ángel

A ustedes por formar parte de este nuevo logro que he concluido, porque este logro no sólo es mío sino también de ustedes, gracias por motivarme cada día en ser mejor, personal y académicamente los amo.

A maya: A usted por las facilidades que me ha brindado durante mis estudios. La quiero mucho.

A mis hermanos:

Lizbeth Cerón López

Le doy gracias a Dios y a la vida por regalarme no solo a una hermana sino también a una amiga en una misma persona. A ti lizzy por estar conmigo siempre, por alentarme durante la elaboración de este trabajo que, aunque no puedo decir que fue fácil, al fin puedo decir que lo he logrado.

Erick Geovani Cerón López

A ti hermano por ser parte de este gran logro para mí, aunque tal vez aún no entiendas el significado y lo importante que es para mí el poder dedicarte también esta tesis.

Los amo hermanos.

A mis amigos:

A mis amigos de la facultad: Alexis y Aldair a ustedes por hacer más amenas las horas libres y las clases en la Facultad, gracias. A mis compañeros y amigos del laboratorio: Gio, Alicia, Karla, Mario, Dany y Ale por hacer la estancia en el laboratorio menos pesada, en especial a ti ale por ayudarme cuando lo necesite. A ti Miguel por tus aportes a mi presentación y escrito, gracias.

A ti por el apoyo incondicional, los consejos, por creer y confiar en mí, sin duda un gran amigo, gracias C·R·G.

¡Los quiero mucho!

II) AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI) del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) por proporcionar la infraestructura necesaria para el desarrollo de este proyecto de tesis, al personal del mismo que mantiene en funcionamiento los laboratorios y específicamente al laboratorio de Epidemiología en Enfermedades Infecciosas dirigido por la Dra. Celia M. Alpuche y la Dra. Elsa Tamayo, por brindarme la oportunidad de estar en su laboratorio y hacer posible la culminación del presente trabajo.

A mi directora de tesis la Dra. Celia M. Alpuche, reitero mi agradecimiento por la oportunidad, la ayuda, el tiempo invertido, los conocimientos transmitidos a partir de la elaboración y presentación de este proyecto de tesis.

A mi asesora la Dra. Elsa Tamayo L. por sus consejos, las horas invertidas en la elaboración y presentación de este trabajo, por el aprendizaje generado en el laboratorio, pero sobre todo gracias por el apoyo en cada uno de mis seminarios de investigación.

A mi comité sinodal, el M en B. L. Enrique Trujillo, la Dra. Lilia Montoya, la M. en C. María Luisa Barroso y el Dr. Alexis Joavany Rodríguez. Por su tiempo para revisar y evaluar el presente trabajo, gracias.

También agradezco el apoyo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su apoyo económico al proyecto *Enterobacterias resistentes a antibióticos de uso común en la interface salud humana-animal y ecosistemas*, No. 215146, a través de la convocatoria “*Proyectos de desarrollo científico para la atención a problemas nacionales*” (PDCAPN-2013) se realizó el presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

I)	DEDICATORIAS	1
II)	AGRADECIMIENTOS.....	2
III)	LISTA DE FIGURAS.....	5
IV)	LISTA DE TABLAS.....	6
1	INTRODUCCIÓN	7
2	MARCO TEÓRICO	8
2.1	Epidemiología de Salmonella spp	8
2.2	Epidemiología de Shigella spp	8
2.3	<i>Generalidades de enterobacterias</i>	9
2.4	Generalidades de Shigella spp.....	9
2.4.1	Shigelosis	9
2.5	Generalidades de Salmonella spp.....	10
2.5.1	Salmonelosis	10
2.6	Factores de virulencia de Salmonella spp y Shigella spp.....	11
2.7	Mecanismo de patogenicidad de Salmonella spp	11
2.8	Mecanismo de patogenicidad de Shigella spp	13
2.1	Antibióticos.....	13
2.1.1	Clasificación de acuerdo a su espectro de acción	14
2.1.2	Clasificación de acuerdo a su composición química.....	14
2.1.3	Clasificación de acuerdo a su mecanismo de acción	14
2.2	Resistencia Bacteriana.....	16
2.2.1	Mecanismos de Resistencia Bacteriana	17
2.3	Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana.....	18
2.3.1	Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana en Salmonella spp	18
2.3.2	Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana en Shigella spp.....	20
3	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
4	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
5	JUSTIFICACIÓN.....	21
6	HIPÓTESIS.....	22
7	OBJETIVOS.....	22
7.1	Objetivo General	22
7.2	Objetivos Específicos	22

8	METODOLOGÍA	22
8.1	Toma de Muestras	22
8.1.1	Diseño experimental	22
8.1.2	Selección de aislamientos bacterianos	23
8.2	Aislamientos de Salmonella y Shigella	24
8.3	Pruebas de susceptibilidad antimicrobianas	25
8.3.1	Difusión en disco (Kirby Bauer)	25
8.3.1	Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)	26
8.4	Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE).....	28
9	RESULTADOS	29
9.1	Identificación de Enterobacterias	29
9.2	Pruebas de susceptibilidad en Salmonella spp y Shigella spp.....	30
9.2.1	Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)	34
9.3	Análisis molecular por Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE).....	35
10	DISCUSIÓN.....	37
11	CONCLUSIÓN.....	41
12	PERSPECTIVAS	41
13	REFERENCIAS	42
13.1	Fuente Electrónica	46

III) LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de invasión de <i>Salmonella</i> spp. _____	12
Figura 2. Mecanismo de invasión de <i>Shigella</i> spp. _____	13
Figura 3. Mecanismos de acción de distintos antibióticos. _____	16
Figura 4. Mecanismos de resistencia bacteriana. _____	18
Figura 5. Toma de muestra de heces de cerdo en una granja semitecnificada en Jiutepec, Morelos. _____	23
Figura 6. Medio de transporte Cary Blair. _____	24
Figura 7. <i>Salmonella</i> spp en medio agar <i>Salmonella-Shigella</i> . _____	25
Figura 8. <i>Shigella</i> spp en medio agar <i>Salmonella-Shigella</i> . _____	25
Figura 9. Galería de API 20E positiva para <i>Salmonella</i> spp aislada de cerdos y humanos. _____	29
Figura 10. Galería de API 20E positiva para <i>Shigella</i> spp aislada de humanos. _____	29
Figura 11. Gel de Electroforesis por PFGE en <i>Salmonella</i> spp y <i>Shigella</i> spp. _____	36

IV)LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los antibióticos de acuerdo a su composición química	15
Tabla 2. Tabla de puntos de corte de los diferentes antibióticos utilizados en el método de difusión en disco (Kirby Bauer)	26
Tabla 3. Tabla de puntos de corte de los diferentes antibióticos usados en el método de microdilución en caldo por Concentración Mínima Inhibitoria (CIM).	27
Tabla 4. Tabla de resistencia antimicrobiana por el método de difusión en disco (Kirby Bauer) en cepas de Salmonella spp aislada de cerdos.	31
Tabla 5. Tabla de resistencia antimicrobiana por el método de difusión en disco (Kirby Bauer) en cepas de Salmonella spp y Shigella spp aislada de humanos.	32
Tabla 6. Tabla de resistencia en Salmonella spp aislada de humanos y cerdos a 1 o más antibióticos por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).	33
Tabla 7. Tabla de resistencia en Shigella spp aislada de humanos a 1 o más antibióticos por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).	33
Tabla 8. Tabla de resistencia antimicrobiana por el método de Concentración Mínima Inhibitoria	34

1 INTRODUCCIÓN

Entre los organismos bacterianos de importancia para la producción de diarrea, se encuentran diversas Enterobacterias como *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* y *Shigella*. La shigelosis y la salmonelosis son infecciones bacterianas producidas por *Shigella spp* y *Salmonella spp* transmitidas por agua, alimentos y otras bebidas, los cuales pueden estar contaminados desde su origen o durante su proceso de preparación. Los principales síntomas que se presentan son diarrea y vómito, pero de igual manera pueden manifestarse otros síntomas como fiebre, dolor de cabeza, visión doble, dolor abdominal, inflamación abdominal entre otros. No todas las diarreas requieren tratamiento con antibiótico ya que la mayoría son de origen viral y la mayoría de las infecciones bacterianas son de espectro clínico leve y también se autolimitan. En el caso de la infección por *Salmonella* y *Shigella* en algunas clínicas se recomienda el tratamiento con antibióticos para disminuir los días de fiebre y diarrea, y así evitar contaminaciones, o la diseminación por medio de brotes [González y Rojas, 2005; Quesada *et al.*, 2016]. Tanto *Salmonella* como *Shigella* han demostrado incremento de resistencia bacteriana a varios de los antibióticos de importancia clínica, lo cual se ha convertido en un problema de salud pública [Lavelle, 2015; Patterson y Read, 2018].

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos (RAM), es la capacidad que tiene una bacteria para resistir a la acción de un antibiótico a la cual era susceptible previamente por especie. Esta representa un problema a nivel mundial, de gran impacto e importancia sobre la salud humana y animal, ya que agregan carga de morbilidad y mortalidad a infecciones por la falta de respuesta a los tratamientos de antimicrobianos convencionales. La RAM puede presentarse de forma natural (intrínseca) o adquirida ya que el origen de la misma reside en la información genética de la bacteria que se traduce en alterar alguna proteína o proteínas de la vía o mecanismo que usan los antibióticos para ejercer su acción. Una vez presente la información genética que media la RAM en una bacteria esta puede evidenciarse en la presencia de presión selectiva frente a un antibiótico [Rivera *et al.*, 2012].

En este trabajo se evaluará la susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella* aisladas de materia fecal de humanos y cerdos y de *Shigella* aisladas de humanos en una región del Estado de Morelos, y de esta manera contribuir al monitoreo de fármaco-resistencias en bacterias de importancia clínica.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Epidemiología de *Salmonella* spp

La resistencia los antimicrobianos es un problema de salud pública mundial, entre las cuales las bacterias del género *Salmonella* spp es uno de los microorganismos entre los que han aparecido algunos serotipos resistentes a los antimicrobianos que perjudican a la población. La gravedad de la salmonelosis depende de factores propios del huésped y del serotipo de *Salmonella* [OMS, 2018].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que al año aproximadamente una de cada 10 personas contrae la enfermedad de salmonelosis [OMS, 2018].

El Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) estima 12 millones de casos al año y 450 muertes en Estados Unidos (EEUU) a causa de salmonelosis [CDC, 2018].

En México, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE-SSA) reportó 79,659 casos de salmonelosis durante el 2018 en el país, así mismo en el estado de Morelos se registraron 202 casos de salmonelosis en el mismo año [SINAVE-SSA, 2018].

2.2 Epidemiología de *Shigella* spp

En México, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE-SSA) reporta 3,138 casos de shigelosis durante el 2018 en el país. También reporta para el estado de Morelos se registraron 17 casos de shigelosis durante el mismo año [SINAVE-SSA, 2018].

Así mismo en el Ciudad de México se realizó un estudio en el cual reportan la prevalencia de *Salmonella* y *Shigella* en casos de infecciones gastrointestinales, en donde se tomaron 300 muestras de heces de niños pacientes con diarrea de diferentes hospitales en la Ciudad de México de las cuales 161 muestras dieron positivas para *Salmonella* y para *Shigella* 8 muestras [Paniagua *et al.*, 2007].

2.3 Generalidades de enterobacterias

Las enterobacterias son un grupo de microorganismos, Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, pueden ser móviles o inmóviles, no formadores de esporas, dentro del cual se encuentran bacterias del género *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* entre otras, caracterizados por provocar infecciones gastrointestinales [Parra *et al.* 2002; Puerta y Mateos, 2010].

2.4 Generalidades de *Shigella* spp

El género *Shigella* pertenece a la familia de enterobacterias, este género de microorganismos se caracteriza por ser Gram-negativos, oxidasa negativos, fermentadores de glucosa, no encapsulados, no formador de esporas, inmóvil ya que carece de flagelos, aerobios o anaerobios facultativos, crecen a 37°C no producen ácido sulfhídrico, tienen forma de bacilos y son responsables de causar enfermedades gastrointestinales siendo el hombre el principal huésped de *Shigella* [León, 2002; Ayala *et al.* 2006]

Dentro del género *Shigella* se clasifican cuatro especies de las cuales *Shigella dysenteriae* (Serogrupo A) y *S. flexneri* (Serogrupo B) se asocian frecuentemente a patologías en países en desarrollo [León, 2002; Molina y Uribarren, 2015].

2.4.1 Shigelosis

La shigelosis es una infección bacteriana la cual también es conocida como disentería bacilar, se transmite de persona a persona, no es zoonótica, y por la ingestión de alimentos y/o bebidas contaminadas con materia fecal. La severidad de esta enfermedad puede depender del tipo de bacteria, o bien el

serotipo que se presente, además de la edad del portador y su estado a nivel inmunológico, es decir si no está inmunocomprometido [León, 2002].

Algunos síntomas que se presentan son disentería (heces con sangre y/o moco), diarrea acuosa, fiebre, dolor de cabeza, vomito, cólicos [León, 2002; Mejia, 2007]. Dentro de las complicaciones de la shigelosis se pueden encontrar alteraciones metabólicas, ulceraciones y/o perforación intestinal, prolapso rectal, megacolon tóxico, sepsis [Mejia, 2007].

2.5 Generalidades de *Salmonella* spp

Las bacterias del género *Salmonella* se caracterizan por ser bacilos, Gram negativos, anaerobios facultativos, móvil, y su movimiento es por medio de flagelos peritricos, es catalasa-positiva, oxidasa-negativa y fermenta glucosa, utilizan citrato como única fuente de carbono y producen ácido sulfhídrico. Puede encontrarse en el aparato gastrointestinal de aves, reptiles, así como también del cerdo y del hombre. *Salmonella* resiste a la deshidratación por años, en las heces, el polvo y otros materiales secos como algunos alimentos para consumo humano y animal. [Parra *et al.* 2002; Méndez *et al.* 2010].

Actualmente dentro del género de *Salmonella* se encuentran dos especies, *Salmonella entérica* y *S. bongori*, de las cuales *S. entérica* se considera una de las más importantes en salud pública debido a su alta patogenicidad y a su prevalencia, ya que cuenta con más de 2,000 serotipos, cada serotipo tiene un diferente nivel de toxicidad para humanos y animales [Sánchez *et al.* 2004; Delgado, 2015].

2.5.1 Salmonelosis

La salmonelosis es una enfermedad transmitida por el consumo de alimentos y bebidas contaminadas (ETA) de mayor incidencia e importancia en el mundo ya que representa una de las principales causas de enfermedades gastrointestinales y de mortalidad en humanos y animales [Bermúdez *et al.*, 2014]. Los síntomas más comunes son diarrea, vómito, fiebre, dolor abdominal, inflamación y dolor de cabeza [González y Rojas, 2005; Rivera *et al.*, 2012].

2.6 Factores de virulencia de *Salmonella spp* y *Shigella spp*

Las bacterias han desarrollado diversos mecanismos para causar daño a su hospedero, en *Salmonella spp* y *Shigella spp* se han encontrado los siguientes:

Genes de patogenicidad son proteínas expresadas por las bacterias patógenas para causar infección, algunos de estos genes producidos por bacterias del género de *Salmonella* y *Shigella* son: *hil*, *inv*, *spa*, *ipf*, *mgtC*, *pagC*, *sip* y *sop* [Saldarriaga y Rugeles 2001].

Biopelículas son agregación de microorganismos rodeadas por una matriz que está compuesta por una mezcla de sustancias extracelulares poliméricas (SEP) estas protegen a los microorganismos contra agentes antimicrobianos, evitan la deshidratación, refuerzan la resistencia de la biopelícula al estrés ambiental y permiten a los microorganismos capturar los nutrientes, siendo muy difíciles de eliminar. La formación de biopelículas le permitiría a *Salmonella* y *Shigella* vivir a largo plazo, sobre la superficie de alimentos [Figuroa y Verdugo, 2005; Barrantes y Achí, 2009].

La cápsula es una red de polisacáridos que cubre la bacteria, para protegerla de la respuesta inflamatoria del hospedero, es decir la activación del complemento y muerte mediada por fagocitosis [Barrantes y Achí, 2009; Cárdenas *et al.* 2014].

Liberación de toxinas como las bacterias del género *Shigella spp* que puede producir toxinas como la toxina shiga que se libera durante la lisis celular y su función es bloquear la síntesis proteica en células eucariotas e induce apoptosis en células epiteliales [Barreto *et al.*, 2016].

2.7 Mecanismo de patogenicidad de *Salmonella spp*

En cuanto a su mecanismo de patogenicidad, *Salmonella* entra por vía oral, en el ácido gástrico resiste, para después colonizar el intestino delgado, se adhiere en la capa mucosa de la zona apical de las células epiteliales del íleon, en donde su internalización dependerá del "Sistema inyector tipo III" (SSTT)

codificado por dos islas de patogenicidad (*SPI-1* y *SPI-2*, por sus siglas en inglés *Salmonella pathogenicity island*), la cual introduce proteínas como *inv* y *spa* al citoplasma produciendo ondulaciones en la superficie del epitelio intestinal, esto provocara rearrreglos en el citoesqueleto para la internalización de *Salmonella spp* por endocitosis, manteniéndola dentro de una vacuola fagocítica evitando los mecanismos bactericidas para asegurar su replicación. Posteriormente, ocurre fusión de los lisosomas, acidificando el contenido vacuolar, esta fusión es llamada SCV por sus siglas en inglés “*Salmonella containing vacuole*”. Más tarde las bacterias contenidas en la vacuola, inducen varios mecanismos reguladores codificados por el SSTT y SPI2 que permiten modificar el contenido de proteínas para resistir las condiciones ambientales intracelulares. Una vez en la lámina puede propagarse a las células adyacentes y activar la apoptosis, lo que conduce a un aumento de la patología (Figura1) [Sánchez y Cardona, 2003; Figueroa y Verdugo, 2005; Haraga *et al.* 2008; Betancor y Yim, 2012].

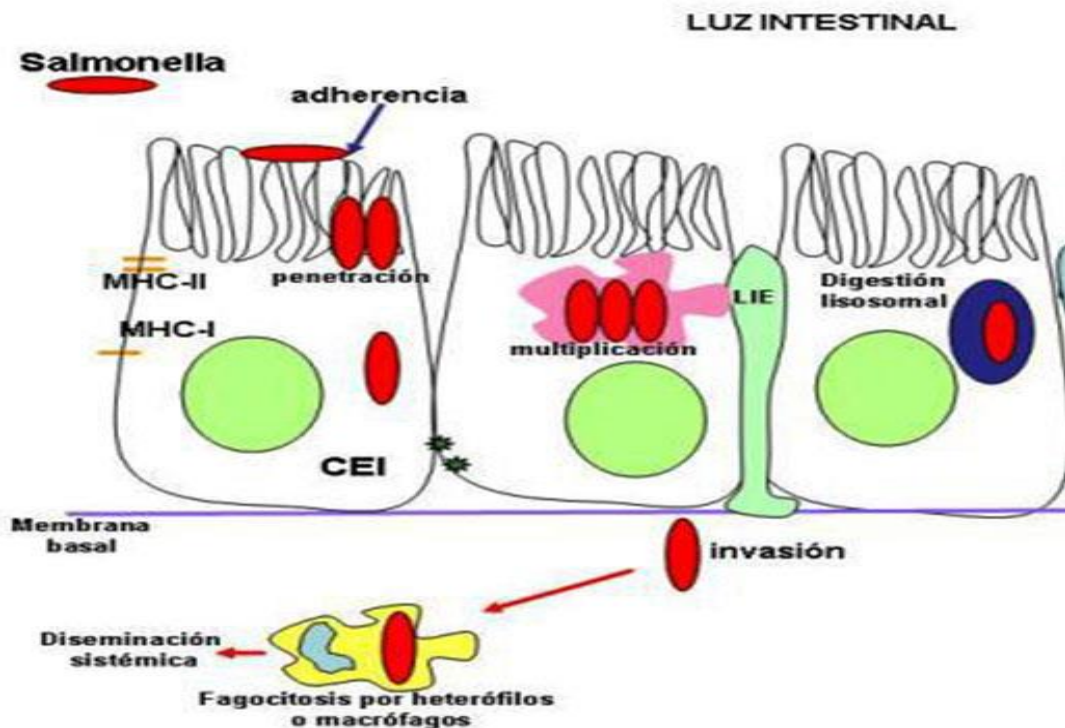


Figura 1. Mecanismo de invasión de *Salmonella spp.* [Haraga *et al.* 2008].

2.8 Mecanismo de patogenicidad de *Shigella* spp

Shigella spp una vez que es ingerida pasa por la mucosa gástrica, coloniza en el epitelio del intestino delgado en la parte del íleon o yeyuno, en donde se adhieren a los enterocitos o células M, se internaliza a la célula a través de adhesinas e invasinas secretadas por un complejo de proteínas conocidas como Ipa (*Invasion Plasmid antígeno*) posteriormente es fagocitada por macrófagos en los cuales *Shigella* produce apoptosis, e invade por lado basolateral por medio del Sistema de Secreción tipo 3 (SST3) el cual produce rearrreglos en el citoesqueleto del enterocito, una vez dentro de la célula se disemina por polimerización vectorial de actina finalmente se multiplica en el citoplasma y se propaga a las células cercanas, provocando lesiones en el epitelio (fig.2) [León, 2002; Barrantes y Achí, 2009; Molina y Uribarren, 2015].

Shigella tiene la capacidad de producir una toxina llamada “Shiga” la cual produce apoptosis en células del intestino delgado [Barrantes y Achí, 2009].



Figura 2. Mecanismo de invasión de *Shigella* spp.
[Kasper et al. 2017].

2.1 Antibióticos

Los antibióticos son compuestos o sustancias químicas que tienen la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de microorganismos, estas pueden ser

producidas de forma natural por algunos microorganismos o sintéticas [Cordiés, *et al.* 1998].

2.1.1 Clasificación de acuerdo a su espectro de acción

Los antibióticos pueden clasificarse mediante su espectro de acción en antibióticos de:

Amplio espectro: Aquellos antibióticos que actúan sobre microorganismo Gram positivos y Gram negativos como Meropenem, Ciprofloxacino, Cloranfenicol.

Espectro reducido: Aquellos antibióticos que tienen acción frente a un determinado grupo de microorganismos y frente a Gram positivos, como vancomicina, Amikacina [Quintana, 2013].

2.1.2 Clasificación de acuerdo a su composición química

Los antibióticos también pueden clasificarse en familias según su estructura química en: β -lactámicos, Aminoglucósidos, Tetraciclinas, Quinolonas, Sulfamidas, Lincosamidas, Glucopeptidos, Cefalosporinas, Fenicoles. (Tabla 1) [Maguiña *et al.* 2006; Esparza, 2008; Molina, 2015].

2.1.3 Clasificación de acuerdo a su mecanismo de acción

En base al mecanismo de acción se pueden clasificar en los siguientes grupos (figura 3):

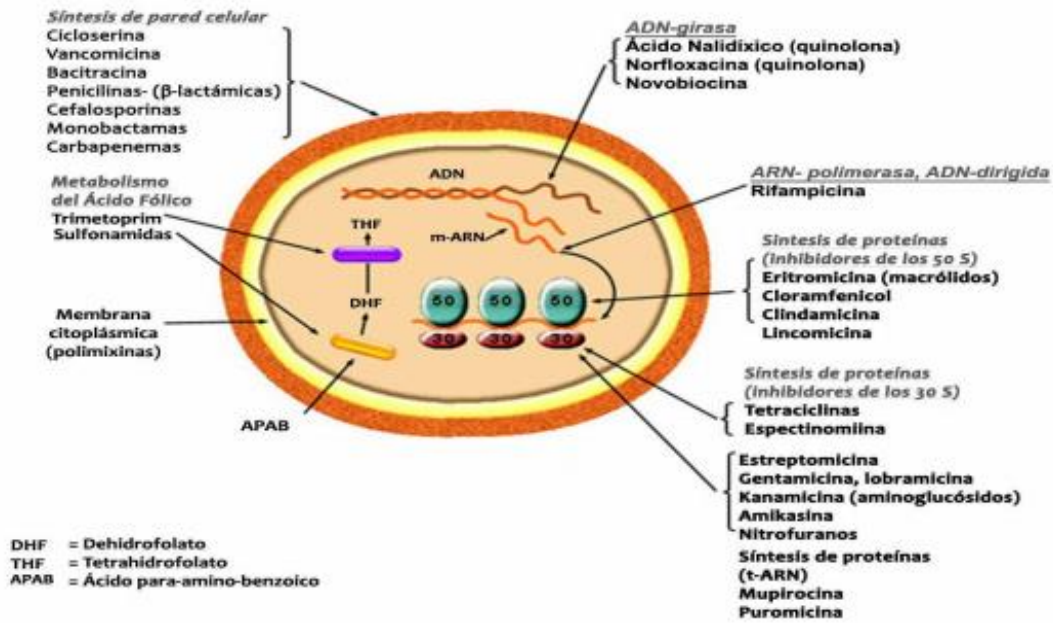
- i. Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana: bloquea la síntesis del peptidoglicano.
- ii. Alteración en la membrana plasmática: produce cambios en la permeabilidad de la membrana.
- iii. Inhibición de la síntesis proteica: En los ribosomas bloquea la síntesis de proteínas.
- iv. Alteración o Inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos: Altera el proceso de replicación e impide la transcripción.
- v. Inhibición de la síntesis de factores metabólicos: Bloquea la ruta de síntesis de metabolitos esenciales como la inhibición de la incorporación

de PABA para la formación del ácido fólico [Paredes y Roca, 2004; Calvo y Martínez, 2009].

Tabla 1. Clasificación de los antibióticos de acuerdo a su composición química

ESTRUCTURA QUÍMICA	ANTIBIÓTICO	MECANISMO DE ACCIÓN
B-LACTÁMICOS	Ampicilina, Cefotaxima, Ceftazidima, Imipenem.	Inhiben síntesis de peptidoglicano.
AMINOGLUCÓSIDOS	Amikacina, Gentamicina.	Inhiben la síntesis de proteínas.
MACRÓLIDOS	Eritromicina, Claritromicina, Azitromicina	Inhiben la síntesis proteica.
TETRACICLINAS	Tetraciclina, Doxiciclina Minociclina.	Inhiben la síntesis de proteínas.
QUINOLONAS	Ácido Nalidixico, Norfloxacino, Ciprofloxacino, Levofloxacino, Moxifloxacino.	Inhiben la síntesis de ácidos nucleicos.
SULFAMIDAS	Cotrimoxazol, Trimetoprim.	Inhibe la síntesis de factores metabólicos.
LINCOSAMIDAS	Clindamicina, Lincomicina.	Inhiben la síntesis de proteínas.
GLUCOPEPTIDOS	Vancomicina, Teicoplanina.	Inhiben síntesis de peptidoglicano.
FENICOLES	Cloranfenicol.	Inhiben la síntesis de proteínas.

Figura 3. Mecanismos de acción de distintos antibióticos.



Clasificados en 5 grupos: A) Inhibidores de la síntesis de la pared bacteriana B) Alteraciones en la membrana plasmática C) Inhibidores de la síntesis proteica D) Inhibidores de la síntesis de los ácidos nucleicos E) Inhibidores de la síntesis de factores metabólicos [Canale et al., 2012].

2.2 Resistencia Bacteriana

La resistencia bacteriana se define como la capacidad que tiene una bacteria para resistir y sobrevivir a la acción de un fármaco, este mecanismo de resistencia se produce de forma natural, también puede ser inducido o desarrollado por la bacteria en presencia de presión selectiva frente a un antibiótico, para su supervivencia. Esta presión de selección es generalmente causada por el uso inapropiado de los antibióticos, la dosis y duración inadecuada del tratamiento en humanos y el abuso de antibióticos como factor de crecimiento en producciones animales [Rivera et al., 2012].

Actualmente el uso irracional e indiscriminado y la presión de evolución ejercida por el uso de fármacos han propiciado un aumento de cepas resistentes, convirtiéndolo en un problema de salud a nivel mundial (Pérez y Robles, 2013). Ya que las infecciones causadas por bacterias resistentes representan una de las principales causas de morbilidad, mortalidad y el incremento de costo de estancias intrahospitalarias [Alós, 2015].

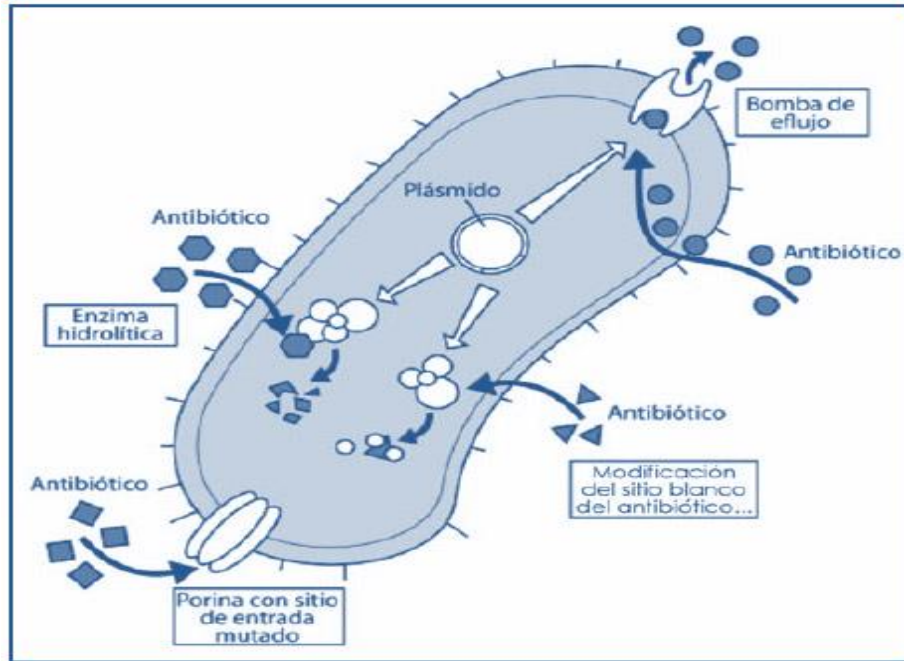
La resistencia puede presentarse de forma natural o intrínseca y adquirida. La resistencia natural o intrínseca es específica de cada especie o grupo de bacterias, es determinado genéticamente, es decir no tiene relación con la dosis de exposición del antibiótico. La resistencia adquirida se produce a través de mutaciones o por la adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones), este tipo de resistencia está asociada al uso inadecuado o abuso de los antibióticos [Fernández *et al.*, 2003; Pérez y Robles, 2013; Calderón y Aguilar, 2016]. La resistencia adquirida representa un gran problema a nivel mundial debido a que las bacterias pueden obtener resistencia de uno o varios antibióticos sin estar expuestos a estos [Fernández *et al.*, 2003].

2.2.1 Mecanismos de Resistencia Bacteriana

Los mecanismos que han desarrollado las bacterias para resistir a la acción de los antibióticos se pueden clasificar de la siguiente manera (figura 4):

- 1. Alteración en la permeabilidad de la membrana externa:** Cambios estructurales principalmente en las porinas que bloquean la entrada del antibiótico a la célula.
- 2. Modificación enzimática del antibiótico:** Mediado por la producción de enzimas que inactivan la acción del antibiótico, como en el grupo de los Betalactámicos, las betalactamasas hidrolizan al anillo betalactámico.
- 3. Modificación del sitio de acción:** Producido por mutaciones en los sitios donde ejercen su acción los antibióticos, como las proteínas de unión a penicilinas (PBP's) que son el sitio blanco de los Betalactámicos
- 4. Bombas de expulsión:** Se encuentran en la membrana celular externa, actúa internalizando y expulsando el antibiótico evitando que este llegue a su sitio de acción [Fernández *et al.*, 2003; Tafur *et al.*, 2008; Calderón y Aguilar, 2016].

Figura 4. Mecanismos de resistencia bacteriana.



Principalmente son cuatro 1) Modificación enzimática del antibiótico, 2) Bombas de eflujo, 3) Modificación del sitio de acción y 4) Alteración en la permeabilidad de la membrana [Moreno et al., 2009].

2.3 Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana

2.3.1 Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana en *Salmonella* spp

La salmonelosis, causada por *Salmonella*, es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más común y ampliamente extendida. Se estima que afecta anualmente a decenas de millones de personas en todo el mundo y provoca más de cien mil defunciones [OMS 2019]. La epidemiología de *Salmonella* en cerdos depende de varios factores que determinen la presencia de la bacteria en el medio ambiente, facilitando la interacción directa o indirecta de los eslabones de la cadena alimenticia [Rodríguez *et al.* 2006]. Además, la epidemiología de esta enfermedad es compleja ya que depende del área geográfica, clima, métodos de exportación, etc. [Diego *et al.* 2006].

En México, se realizó un estudio para evaluar la frecuencia de *Salmonella* enterica y determinar la susceptibilidad antimicrobiana en carne de cerdos. Del total de muestras analizadas el 22.5% (115/511) se aislaron de cerdos. El

100% de las cepas aisladas de carne de cerdo fueron resistentes a carbenicilina 100 µg, ampicilina 10 µg, cloranfenicol 30 µg, cefotaxima 30 µg y perfloxacin 5 µg [Villalpando *et al.* 2017]

Un estudio descriptivo en una granja porcina en Bogotá, Colombia en el periodo comprendido entre marzo y agosto de 2011, se realizó para establecer patrones de resistencia antimicrobiana de 155 cepas de *Salmonella* spp, aisladas de cerdos frente a nueve antibióticos. El mayor porcentaje de resistencia fue para tetraciclina (147/155, 94.85%), seguido de florfenicol (74/155, 47.74%), ampicilina (65/155, 41.94%) y cloranfenicol (60/155, 38.71%). Además, los resultados mostraron la presencia de cepas multiresistentes de *Salmonella* spp con 30 patrones diferentes de multiresistencia siendo el más común ampicilina-amoxicilina-cloranfenicol-florfenicol-tetraciclina con un 16.77% (26/155) de las cepas. La presencia de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella* spp de origen porcino aumenta la probabilidad del fracaso terapéutico cuando la infección sea grave confiriendo una mayor virulencia a la bacteria [Bermúdez *et al.* 2014].

En un estudio transversal entre 260 niños con diarrea aguda desde noviembre de 2011 hasta marzo de 2012 en Mekelle, Etiopía, se aislaron un total de 120 enteropatógenos con una frecuencia de aislamiento de 19/260 (7.3%) para *Salmonella* spp y 18/260 (6.9%) para *Shigella* spp. La mayoría de los aislamientos de *Shigella* fueron resistentes a ampicilina (16/18, 88.9%), a tetraciclina (14/18, 77.8%), a cotrimoxazol (10/18, 55.6%) y a cloranfenicol (10/18, 55.6%). Entre los aislamientos de *Salmonella*, la resistencia fue mayor a ampicilina y tetraciclina (17/19, 89.5%) seguida de cloranfenicol (15/19, 78.9%) y cotrimoxazol (11/19, 57.9%). La multidrogo resistencia se observó en todas las cepas de *Salmonella* (100%) y en *Shigella* solo en 16/18 (88.9%). Estos resultados mostraron la presencia de una alta resistencia a ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol y cotrimoxazol de *Salmonella* y *Shigella* en niños menores de 5 años por lo que estas dos especies siguen siendo patógenos desafiantes [Gebreegziabher *et al.* 2018].

2.3.2 Epidemiología de Resistencia Antimicrobiana en *Shigella* spp

Son pocos los estudios que han reportado datos sobre la morbilidad y la mortalidad mundiales originadas por especies de *Shigella*, sin embargo, tales estimaciones se requieren para el diseño de estrategias de prevención y tratamiento. En total, el 69% de todos los episodios y el 61% de todas las defunciones atribuidas a shigelosis afectan a menores de cinco años. Esta infección tiene una importante repercusión a nivel mundial, ya que no es controlable con las medidas preventivas y terapéuticas existentes [Kotloff *et al.*, 1999].

En un estudio realizado en Manipal, al sur de la India, se determinó la resistencia a antimicrobianos en niños con gastroenteritis aguda que acudieron al servicio ambulatorio de pediatría durante el periodo de abril de 2001 a mayo de 2006. Se recolectaron un total de 1200 muestras de heces humanas confirmandose la presencia de *Shigella* en 68/1200 (5.6%). En este estudio se observó resistencia a cotrimoxazol (50/68, 73.5%), tetraciclina (48/68, 70.5%), ácido nalidíxico (47/68, 69.1%) y ampicilina (43/68, 63.2%). Todas las 68 cepas de *Shigella* identificadas fueron sensibles a cefotaxima y ceftriaxona [Mamatha *et al.* 2007].

Otro estudio realizado en la India, donde determinaron el patrón de resistencia frente a 10 antibióticos de 160 muestras recolectadas de agua de granja, leche, pollo y pescado, aislaron solo 17/160 (10.63%) *Shigella* spp, las cuales mostraron una resistencia a ampicilina 14/17 (82.3%), tetraciclina 12/17 (70.6%), eritromicina 8/17 (47.1%), ofloxacina 8/17 (47.1%), ciprofloxacina 7/17 (41.2%), azitromicina 7/17 (41.2%) y Cloranfenicol 6/17 (35.3%). Estos patrones de resistencia antimicrobiana en los aislamientos de *Shigella*, nos muestran la dificultad para seleccionar un antibiótico apropiado para el tratamiento de la shigelosis [Sekhar *et al.* 2018].

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Salmonella y *shigella* representan un problema para la población humana y animal, puesto que provocan infecciones intestinales severas. Estas infecciones son de las pocas que requieren tratamiento con antibiótico en casos de diarrea. Tanto *Salmonella* como *Shigella* son enterobacterias que han demostrado incremento creciente de resistencia antimicrobiana a antibióticos de uso común. Los animales como los cerdos pueden ser reservorios de cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos, no en es el caso de *Shigella* ya que no se considera zoonótica. Sin embargo, es posible que *Salmonella* y *Shigella* compartan mecanismos de resistencia bacteriana.

Es necesario contar con más información sobre enterobacterias como *Salmonella* y *Shigella* portadoras de RAM y su interacción en un ambiente cerrado entre una población de humanos y cerdos.

4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el perfil de susceptibilidad en cepas de *Salmonella spp* identificadas en humanos y cerdos, así como en cepas de *Shigella spp* identificadas en humanos en el municipio de Jiutepec, Morelos?

5 JUSTIFICACIÓN

Actualmente la resistencia antibacteriana representa un problema a nivel mundial alarmante a causa de su constante incremento y a su rápida propagación, debido al abuso y al uso inadecuado de los antibióticos como tratamiento y en industrias pecuarias como promotores de crecimiento.

Con base en lo anterior resulta importante conocer el perfil de susceptibilidad antimicrobiano que presentan las cepas de *Salmonella spp* aisladas de humanos y cerdos y de *Shigella spp* aisladas de humanos en un modelo cerrado (cercano) en Jiutepec, Morelos.

6 HIPÓTESIS

Las cepas de *Salmonella spp* aisladas de materia fecal de humanos y cerdos, así como en *Shigella spp* aislada de humanos en el municipio de Jiutepec, Morelos presentarán resistencia antimicrobiana a más de dos familias de antibióticos.

7 OBJETIVOS

7.1 Objetivo General

Determinar el patrón de susceptibilidad antimicrobiana de las especies de *Salmonella spp* aisladas de heces de humanos y cerdos y en *Shigella spp* de humanos en el municipio de Jiutepec, Morelos.

7.2 Objetivos Específicos

- Identificar fenotípicamente las cepas de *Salmonella spp* recolectadas de humanos y cerdos, y de *Shigella spp* recolectadas de humanos.
- Determinar el perfil de susceptibilidad a diferentes antibióticos en cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp*.
- Comparar por perfiles de RAM entre las cepas identificadas en humanos y cerdos de *Salmonella spp* y en humanos de *Shigella spp*.

8 METODOLOGÍA

8.1 Toma de Muestras

8.1.1 Diseño experimental

Se realizó un estudio descriptivo longitudinal a partir de un modelo de interfase salud humana-animal en Jiutepec, Morelos, México que incluyó una granja porcícola y tres centros de salud cercanos a la granja: Jiutepec, Huizachera y Calera Chica. Además, se incluyeron los pacientes referenciados al Hospital

General de Cuernavaca “Dr. José G. Parres” quienes presentaban síntomas de enfermedad diarreica.

8.1.2 Selección de aislamientos bacterianos

En este estudio, se utilizaron 35 aislamientos presuntivos de *Salmonella* y *Shigella* aislados de heces de cerdos y humanos que forman parte del cepario del laboratorio de Epidemiología de Enfermedades Infecciosas del Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública, el cual se elaboró dentro del proyecto “Enterobacterias resistentes a antibióticos de su uso común en la interface salud-humana, animal y ecosistemas”. Los aislamientos de cerdos provienen de un muestreo en una granja porcícola semitecnificada, localizada en el municipio de Jiutepec, Morelos, durante el periodo marzo-septiembre 2015 donde se les tomo una muestra de materia fecal a 280 cerdos (Figura 5), y los aislamientos de humanos (425) se obtuvieron después de un seguimiento por un año de casos con diarrea en la población que acudió a los tres centros de salud colindantes con la granja y los referenciados al Hospital General de Cuernavaca. Todas las muestras de cerdos y humanos se tomaron con un hisopo estéril y este se depositó en un medio de transporte Cary Blair (Figura 6).



Figura 5. Toma de muestra de heces de cerdo en una granja semitecnificada en Jiutepec, Morelos.

Figura 6. Medio de transporte Cary Blair.



Es un medio con bajos nutrientes y pH alto lo que evita que las bacterias mueran por la acidificación.

8.2 Aislamientos de Salmonella y Shigella

Las muestras de hisopado rectal de cerdos y humanos se inocularon en agar *Salmonella-Shigella* a 37°C durante 24 hrs. Se eligió el medio agar *Salmonella-Shigella* (SS) debido a que es un medio selectivo que permite el crecimiento de microorganismos bacilos entéricos patógenos principalmente bacterias pertenecientes a estos géneros. Tiempo después se seleccionó una colonia de bacterias que tuvieran las siguientes características: Colonia circular, borde entero, y transparentes (inoloro) para bacterias del género *Shigella* (figura 8). Para el género *Salmonella*: Colonias circulares, bordes enteros y transparentes (inoloro) con fondo negro debido a la producción de ácido sulfhídrico (figura 7). Cada colonia identificada se resembró nuevamente en medio agar *Salmonella-Shigella* (SS) para la identificación de colonias aisladas como se observa en las figuras 7 y 8 [Bracho *et al.* 2012].



Figura 7. *Salmonella* spp en medio agar *Salmonella-Shigella*.

Colonias incoloras con fondo negro, por la producción de H₂S.

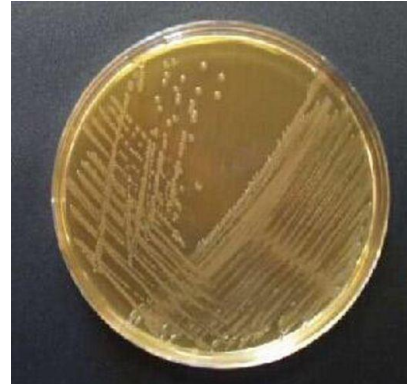


Figura 8. *Shigella* spp en medio agar *Salmonella-Shigella*.

Colonias incoloras.

8.3 Pruebas de susceptibilidad antimicrobianas

8.3.1 Difusión en disco (Kirby Bauer)

Esta técnica nos permite evaluar la susceptibilidad de las bacterias. El antibiograma consiste en depositar discos impregnados de antibiótico sobre la superficie de una caja Petri con medio agar previamente inoculada con bacteria. Una vez impregnado el disco con la humedad del agar el antibiótico se difunde radialmente a través del agar, por lo que su concentración irá disminuyendo a medida que se aleja del disco, habrá un punto determinado, en donde la concentración del antibiótico en el medio agar será incapaz de inhibir la bacteria, transcurrido el tiempo de incubación (18-24 hrs) se formaran los halos de inhibición alrededor de los discos con antibiótico [Bauer *et al.* 1966].

Se utilizará medio agar Mueller Hinton (MH) y suspensión bacteriana al 0.5 escala de Mac Farland de cultivos frescos y puros, se inoculará la bacteria mediante un hisopo estéril por la superficie del medio de cultivo y finalmente se colocaron los discos con antibiótico sobre el medio de cultivo con pinzas estériles. Se utilizaron los siguientes discos marca Oxoid® con antibiótico: Ampicilina (10 mg), Ceftazidima (30 mg), Imipenem (10 mg), Amikacina (30 mg), Ácido Nalidixico (30 mg), Ciprofloxacino (5 mg), Sulfametoxazol/Trimetoprim (23.75/1.25 = 25mg), Gentamicina (10 mg), Tetraciclina (30mg), Cefotaxima (30mg) y Cloranfenicol (30mg).

Se incubaron las placas durante 18 horas a 35°C. Y se tomará la lectura y se interpretará de acuerdo a los criterios de puntos de cortes por diámetro de difusión en disco (Kirby Bauer) del CLSI 2018 (Tabla 2) en las categorías de sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) para identificar la susceptibilidad de *Salmonella spp* y *Shigella spp*.

Las cepas control utilizadas para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana fueron las recomendadas por el CLSI (CLSI, 2018): *Escherichia coli* ATCC 25922 como control de susceptibilidad y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 como control de resistencia.

8.3.1 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

La técnica de concentración mínima inhibitoria (CIM) nos permite saber la concentración más baja del antibiótico que impide el crecimiento visible del microorganismo, para un mejor tratamiento antimicrobiano [Miller *et al.* 2005].

Tabla 2. Tabla de puntos de corte de los diferentes antibióticos utilizados en el método de difusión en disco (Kirby Bauer)

Puntos de corte emitidos por el CLSI 2018

ABT ([])	Sensible	Intermedio	Resistente
AK (30 mg)	≥ 17	15-16	≤14
AMP (10 mg)	≥ 17	14-16	≤13
NAL (30 mg)	≥ 19	14-18	≤13
CAZ (30mg)	≥ 21	18-20	≤17
CIP (5 mg)	≥ 21	16-20	≤15
IPM (10 mg)	≥ 23	20-22	≤19
SXT (25 mg)	≥ 16	11-15	≤10
CHL (30 mg)	≥18	13-17	≤12
CTX (30 mg)	≥26	23-25	≤22
TE (30 mg)	≥15	12-14	≤11
GEN (10 mg)	≥15	13-14	≤12

AK (amikacina), AMP (ampicilina), NAL (ácido nalidíxico), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacino), IPM (imipenem), SXT (Trimetoprim/sulfametoxazol), CHL (cloranfenicol), CTX (cefotaxima), TE (tetracina), GEN (gentamicina).

Para este método se ajustará la concentración bacteriana en solución salina al 0.5 de la escala de Mac Farland (1×10^8 UFC/ml) a 625 nm de absorbancia, medio Mueller Hinton Broth (MHB). En 9 ml de medio en caldo MH, se adicionaron 100 μ L de suspensión bacteriana al 0.5 Mc Farland (1×10^6 UFC), posteriormente se prepararon una serie de tubos con medio en caldo MH a diferentes concentraciones de 11 antibióticos a probar, los cuales se muestran en la Tabla 3. Se tomaron 50 μ L de dilución ajustada al 1×10^6 UFC y 50 μ L de los antibióticos a probar y se colocaron en las placas de ELISA de 96 pocillos con fondo redondeado y se incubaron a 35°C de 18 a 24 horas. Posteriormente, se tomó la lectura y se interpretó de acuerdo a los criterios de puntos de cortes de la CIM del CLSI 2018 en las categorías de sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) para determinar la susceptibilidad y la CIM de *Salmonella spp* y *Shigella spp* (CLSI 2018).

Tabla 3. Tabla de puntos de corte de los diferentes antibióticos usados en el método de microdilución en caldo por Concentración Mínima Inhibitoria (CIM).

Puntos de corte emitidos por el CLSI 2018

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente	¶ del antibiótico mg/ml
AK	≤ 16	32	≥ 64	0.125 a 128
AMP	≤ 8	16	≥ 32	1 a 512
NAL	≤ 16	-	≥ 32	1 a 512
CAZ	≤ 1	2	≥ 4	0.25 a 128
CIP	≤ 1	2	≥ 4	0.03 a 16
CTX	≤ 1	2	≥ 4	0.25 a 128
TE	≤ 4	8	≥ 16	0.5 a 256
CHL	≤ 8	16	≥ 32	1 a 512
GEN	≤ 4	8	≥ 16	0.25 a 128
IPM	≤ 1	2	≥ 4	1 a 512

AK (amikacina), AMP (ampicilina), NAL (ácido nalidíxico), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacino), IPM (imipenem), SXT (Trimetoprim/sulfametoxazol), CHL (cloranfenicol), CTX (cefotaxima), TE (tetracina), GEN (gentamicina).

Las cepas fueron consideradas multirresistentes cuando fueron resistentes a tres grupos de antibióticos o más. Se utilizaron las herramientas de análisis de datos de Microsoft Excel para elaborar la estadística descriptiva. Para el análisis de la relación entre la frecuencia de RAM y los distintos antibióticos, se utilizó la prueba de ji cuadrada (χ^2), con un nivel de significancia de 95%.

8.4 Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE)

La electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) es una técnica que permite la separación de moléculas de ADN en gel de agarosa mediante el uso de dos campos eléctricos alternos, con vectores dirigidos el uno al otro en ángulo obtuso [Smith *et al.*, 1990]. PFGE fracciona moléculas de ADN grandes en el intervalo de tamaño de 10 kb a 10 Mb [Cooney, 1992].

Se realizó la tipificación molecular por medio de la técnica de PFGE donde se partió tomando 5 mL de cultivo puro en caldo Luria Bertani (LB), se cosecharon las cepas por centrifugación a 13,000 rpm por 10 minutos a 4°C, se llevaron a cabo dos lavados con solución PIV (NaCl 1M, Tris 0.01M y Agua), resuspendiéndose en 440 μ L de la misma solución.

Después se mezcló con un volumen conocido de agarosa D5 LOW EEO con punto de fusión de 45°C en solución PIV. Con la mezcla que se obtuvo, se fabricaron discos de 20 μ L y se mantuvieron a 20°C por 5 minutos, posteriormente se trataron con solución de lisis EC (Tris 1M pH8, NaCl 1M, EDTA 0.5 M pH8, desoxicolato de sodio 0.1%, Brij 58 0.5%, 50 μ g/ml de RNAsa A, 10 μ g/mL de lisozima) y se incubaron a 37°C por tres horas, después se decantó y se adicionó 1 ml de solución ES (EDTA 0.5 M pH 9, sarcosyl 1%) adicionando 1.0 mg/mL de proteinasa K a una temperatura de 50°C durante 17 horas.

La solución ES se decantó y se lavaron los discos con solución amortiguadora de TE 1X (Tris 1M, pH 7.5, EDTA 0.5M pH 8.0), en agitación suave durante 1 hora a temperatura ambiente, por cinco veces, después se realizó la digestión del DNA con 25 Unidades (U) de enzima Xba I durante 17 horas. Después se separaron los fragmentos de DNA por electroforesis en gel por campos

pulsados, en un sistema de electroforesis (Laboratorios BioRad CHEF-DR II) en geles de agarosa al 1% en amortiguador de TBE 0.5X (Tris base 45Mm, ácido bórico 45Mm, EDTA 1mM pH 8.0) a un voltaje de 6 v/cm, con pulsos de linealidad de 1 a 100 segundos por 23 horas. El marcador lambda #340 (New England Biolabs, Ontario, Canadá) se usó como marcador estándar de peso molecular.

Después se tiñó el gel con bromuro de etidio a una concentración de 0.5 µg/mL y se observó con luz ultravioleta (UV). Para determinar los tipos clonales se analizaron los perfiles de restricción visual, usando los criterios de Tenover [CDC, 2017; Tenover *et al.*, 1995].

9 RESULTADOS

9.1 Identificación de Enterobacterias

Del total de muestras analizadas de humanos y cerdos por el sistema Api 20E (bioMérieux), *Shigella spp* y *Salmonella spp* se identificaron en 8/20 (40%) muestras de heces humanas respectivamente, procedentes de diferentes servicios de salud (Figura 10 y 11). Mientras que el análisis de todas las muestras de heces de cerdo nos arroja solo la presencia de *Salmonella spp* (15/15, 100%) (Figura 10).



Figura 9. Galería de API 20E positiva para *Salmonella spp* aislada de cerdos y humanos.



Figura 10. Galería de API 20E positiva para *Shigella spp* aislada de humanos.

9.2 Pruebas de susceptibilidad en *Salmonella spp* y *Shigella spp*.

El perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Salmonella spp* aisladas de humanos reveló una mayor tasa de resistencia hacia ácido nalidíxico y tetraciclina con un 75% (6/8), seguido de cloranfenicol con un 25% (2/8) (Tabla 5). En cerdos, las cepas de *Salmonella spp* aisladas presentaron una mayor resistencia a tetraciclina 100% (15/15), y a ácido nalidíxico y ampicilina un 93.3% (14/15). Es de llamar la atención la presencia de la resistencia a ceftazidima y cefotaxima en un 20% (3/15) (Tabla 4)

Por otra parte, el análisis de susceptibilidad en las cepas de *Shigella spp* aisladas de humanos nos revela una mayor resistencia a tetraciclina con un 87.5% (7/8), seguido de un 62.5% (5/8) para Trimetoprim/Sulfametoxazol, y una resistencia del 50% para Ampicilina y ácido nalidíxico (Tabla 5).

Todas las cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* aisladas de heces de humano fueron sensibles a cefotaxima, ceftazidima, imipenem, ciprofloxacino, amikacina y gentamicina. Mientras que las cepas de *Salmonella spp*, procedentes de heces de cerdos, son susceptibles a imipenem, ciprofloxacino, amikacina y trimetoprim/sulfametoxazol.

Del total de las cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* aisladas de humanos, el 12.5% (2/16) resultaron resistentes a un antibiótico, el 43.7% (7/16) frente a dos antimicrobianos, y el 18.7% (3/16) exhibieron una resistencia a tres y cuatro antibióticos. Los patrones de resistencia más frecuentemente observados fueron trimetoprim/sulfametoxazol más tetraciclina y ácido nalidíxico más tetraciclina en el 18.7% (3/16) de las cepas (Tabla 6 y 7). Las cepas de *Salmonella spp* de cerdos, mostraron una multiresistencia de 13.3% (2/15) frente a siete antibióticos, de 6.6% (1/15) a seis antibióticos, de 73.3% (11/15) a tres antibióticos y una de 6.6% frente a un antibiótico (Tabla 6).

Tabla 4. Tabla de resistencia antimicrobiana por el método de difusión en disco (Kirby Bauer) en cepas de *Salmonella spp* aislada de cerdos.

Etapa	Edad (Días)	Total cepas n (%)	Antibióticos n (%)						
			AMP	CAZ	CTX	GEN	NAL	TE	CHL
Lechón	14-21*	2(13.3%)	2(13.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2(13.3%)	2(13.3%)	0 (0.0)
	>21**	9(60%)	7(46.6%)	2(13.3%)	2(13.3%)	2(13.3%)	9(60%)	9(60%)	2(13%)
Ventre	1 año	4(26.6%)	1(6.6%)	1(6.6%)	1(6.6%)	0 (0.0%)	3(20%)	4(26.6%)	1(7%)
Total		15(100%)	14(93.3%)	3(20%)	3(20%)	2 (13.3%)	14 (93.3%)	15(100%)	3(20%)

*= Lechón neonatal **=Lechón destetado

AMP (ampicilina), CAZ (ceftazidima), CTX (cefotaxima), GEN (gentamicina), NAL (ácido nalidíxico), TE (tetraciclina), CHL (cloranfenicol)

Tabla 5. Tabla de resistencia antimicrobiana por el método de difusión en disco (Kirby Bauer) en cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* aislada de humanos.

Genero	Etapa	Total cepas n (%)	Antibióticos n (%)				
			AMP	NAL	TE	SXT	CHL
<i>Salmonella spp</i>	Niño	5 (71%)	1 (12.5%)	5(62.5%)	4 (50%)	1 (12.5%)	1 (12.5%)
	Adulto	3 (37.5%)	0 (0.0%)	1 (12.5%)	2 (25%)	0 (0.0%)	1 (12.5%)
Total		8(100%)	1(12.5%)	6(75%)	6(75%)	1(12.5%)	2(25%)
<i>Shigella spp</i>	Niño	5 (71%)	3(37.5%)	2 (25%)	5 (62.5%)	4 (50%)	0(0.0%)
	Adulto	3 (37.5%)	1(12.5%)	2 (25%)	2 (25%)	1 (12.5%)	1 (12.5%)
Total		8(100%)	4(50%)	4 (50%)	7(100%)	5(71%)	1(12.5%)

AMP (ampicilina), NAL (ácido nalidíxico), TE (tetraciclina), SXT (trimetoprim/sulfametoxazol), CHL (cloranfenicol).

Tabla 6. *Tabla de resistencia en Salmonella spp aislada de humanos y cerdos a 1 o más antibióticos por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).*

N° de antibióticos	Perfil de Resistencia	Humanos	Cerdos	Total
1	TE		1	1
	NAL	1		1
2	CHL-TE	1		
	AMP-NAL	1		1
	NAL-TE	1		1
3	AMP-NAL-TE	1	11	12
4	AMP-CTX-NAL-TE			1
	NAL-SXT-CHL-TE	1		1
7	AMP-CTX-CAZ-NAL-CHL- GEN-TE		2	2
			Total	24

AMP (ampicilina), NAL (ácido nalidíxico), CAZ (ceftazidima), SXT (Trimetoprim/sulfametoxazol), CHL (cloranfenicol), CTX (cefotaxima), TE (tetraciclina), GEN (gentamicina).

Tabla 7. *Tabla de resistencia en Shigella spp aislada de humanos a 1 o más antibióticos por el método de difusión en disco (Kirby Bauer).*

N° de antibióticos	Perfil de Resistencia	Humanos	Total
1	TE	1	1
2	SXT-TE	1	1
	CAZ-SXT	1	1
3	AMP-NAL-TE	1	1
	CAZ-SXT-TE	2	2
	AMP-CHL-TE	1	1
		Total	7

AMP (ampicilina), NAL (ácido nalidíxico), CAZ (ceftazidima), SXT (Trimetoprim/sulfametoxazol), TE (tetraciclina).

9.2.1 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

9.2.1.1 Determinación de MIC50 y MIC90

Con las pruebas realizadas de Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) por el método de microdilución en caldo, se determinaron los puntos de corte de CIM 50 y CIM90 para las cepas de *Salmonella spp* aisladas de humanos y cerdos, así como de las cepas de *Shigella spp* de humanos (Tabla 8).

Tabla 8. Tabla de resistencia antimicrobiana por el método de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) en cepas de *Salmonella spp* aisladas de humanos y cerdos y *Shigella spp* aislada de Humanos.

Antibióticos	<i>Salmonella spp</i>		<i>Salmonella spp</i>		<i>Shigella spp</i>	
	CERDOS n=15	CERDOS n=15	HUMANOS n=8	HUMANOS n=8	HUMANOS n=8	HUMANOS n=8
	MIC 50	MIC 90	MIC50	MIC90	MIC50	MIC90
AMP	>128	>128	2	>128	8	>128
CAZ	1	>32	0.5	1	0.5	1
CTX	0.125	8	<0.06	0.25	<0.06	0.125
IMP	1	1	1	2	1	2
AK	2	4	0.5	8	0.5	1
GEN	1	>64	0.25	1	0.5	1
CIP	0.25	0.5	0.125	0.25	0.125	0.25
NAL	64	>256	32	256	16	>256
TE	>128	>128	128	>128	>128	>128
CHL	4	256	4	256	4	64

AMP (ampicilina), CAZ (ceftazidima), CTX (cefotaxima), IMP (imipenem), AK (amikacina), GEN (gentamicina), CIP (ciprofloxacino), NAL (ácido nalidíxico), TE (tetracina), CHL (cloranfenicol).

9.3 Análisis molecular por Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE)

En el presente trabajo se analizaron por PFGE un total de 31 cepas entre *Salmonella spp* y *Shigella spp*, de las cuales 8/31 (25.8%) corresponden a *Salmonella spp* y 8/31 (25.8%) a *Shigella spp* ambas aisladas de heces de humano. En cerdos, se analizaron 15/31(%) cepas de *Salmonella spp* El análisis de PFGE nos muestra un total de 22 pulsotipos, 4/22 (44.4%) fueron *Salmonella spp* MDR y 5/22 (55.5%) *Shigella spp*, de las cuales 3/5 (60%) fueron MDR y 2/5 (40%) no MDR, todas aisladas de heces de humanos. En cuanto a cerdos, se obtuvieron 12 pulsotipos de *Salmonella spp* MDR.

Del total de los pulsotipos encontrados, destacan dos clonas mayoritarias designadas como clona A, la cual incluye dos clonas idénticas correspondientes a *Salmonella spp* y la clona B, agrupa cuatro subtipos correspondientes a *Shigella spp*, todas las cepas aisladas de humanos. Mientras que en cerdos se observó una clona mayoritaria de *Salmonella spp* (Clona K), que comprende 8 cepas idénticas de *Salmonella spp*. El resto de las clonas de humanos y cerdos muestran una clara heterogeneidad entre ellas.

CEPA	GENERO	FUNCIÓN ZOOTECNICA	PERFIL	SUCEPTIBILIDAD
1	Marcador λ			
2	BRANDERUP	Salmonella spp	Humano	
3	HD-013	Salmonella spp	Humano	MDR AMP-NAL-TE
4	HD-014	Salmonella spp	Humano	MDR AMP-NAL-TE
5	HC-036	Shigella spp	Humano	MDR AMP-SXT-TE
6	HA-015B	Shigella spp	Humano	MDR AMP-SXT-TE
7	HC-032	Shigella spp	Humano	MDR AMP-NAL-TE
8	HD-067	Shigella spp	Humano	NO MDR SXT-TE
9	HC-065	Salmonella spp	Humano	MD AMP-NAL-TE
6	HD-038	Salmonella spp	Humano	MDR NA-SXT-CGL-TE
9	HC-034	Shigella spp	Humano	NO MDR SXT-TE
14	C-155	Salmonella spp	Cerdo (V)	MDR AMP-CTX-CAZ-NAL-CHL-GEN-TE
16	C-236	Salmonella spp	Cerdo(LD)	MDR AMP-NAL-TE
18	C2-024	Salmonella spp	Cerdo(LD)	MDR AMP-NAL-TE
13	C-137	Salmonella spp	Cerdo (V)	MDR AMP-NAL-TE
15	C-190	Salmonella spp	Cerdo (V)	MDR AMP-NAL-TE
17	C2-007	Salmonella spp	Cerdo (LD)	MDR AMP-NAL-TE
18	C2-024	Salmonella spp	Cerdo (LD)	MDR AMP-NAL-TE
20	C2-030	Salmonella spp	Cerdo(LD)	MDR AMP-NAL-TE
21	C2-031A	Salmonella spp	Cerdo(LD)	MDR AMP-NAL-TE
22	C2-031B	Salmonella spp	Cerdo(LD)	MDR AMP-NAL-TE
23	C2-033	Salmonella spp	Cerdo(LD)	MDR AMP-NAL-TE
25	C2-072	Salmonella spp	Cerdo(LN)	MDR AMP-NAL-TE
26	Marcador λ			

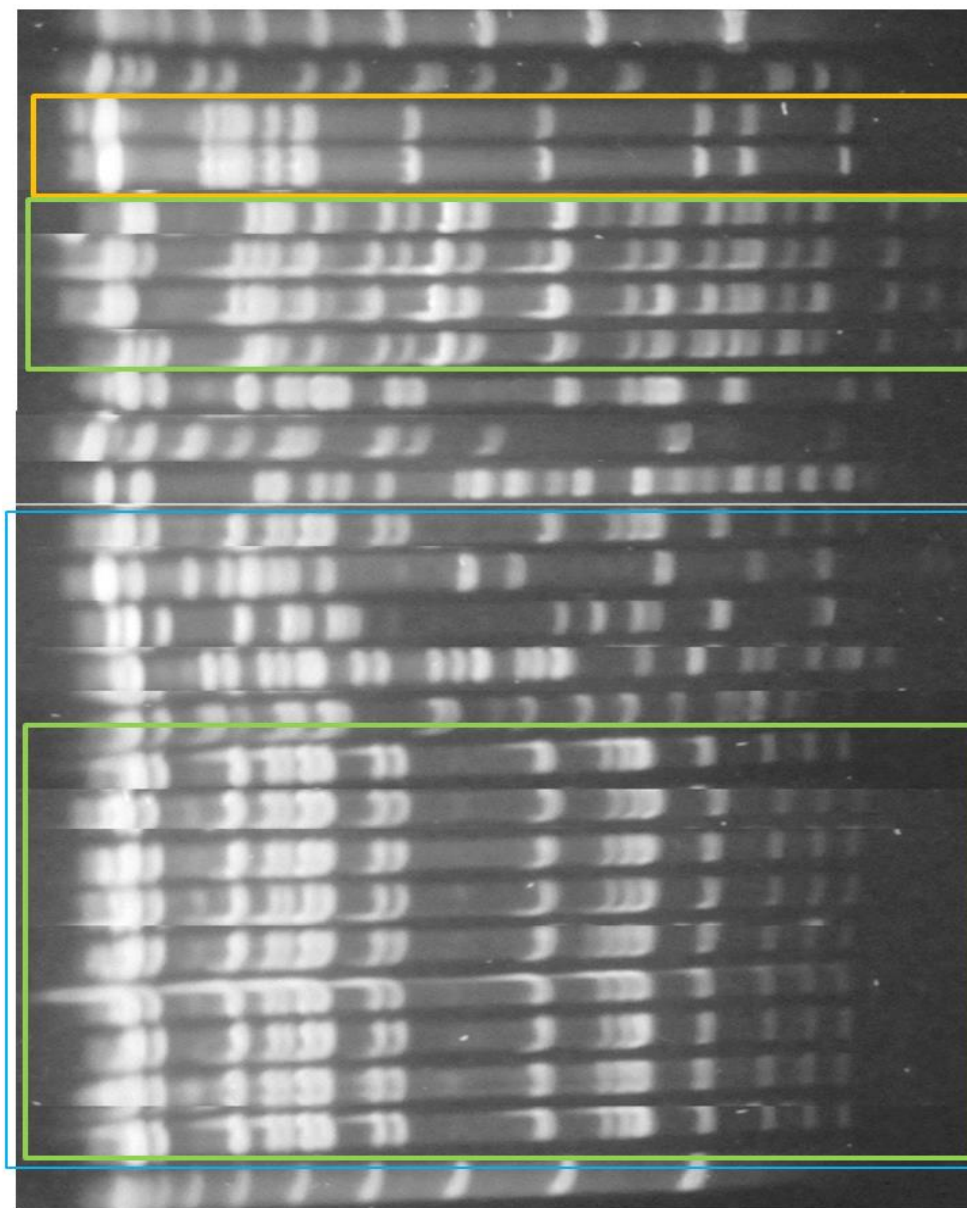


Figura 11. Gel de Electroforesis por PFGE en *Salmonella* spp y *Shigella* spp.

10 DISCUSIÓN

La presencia de resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* puede ser de gran impacto para la salud pública, debido a un aumento en la probabilidad del fracaso terapéutico cuando la infección

por estas bacterias es grave y, al parecer, ocasiona una mayor virulencia a la bacteria [Bermúdez et al. 2014]. De aquí la importancia de la transmisión de la resistencia antimicrobiana de estas enterobacterias a través del consumo de alimentos de origen animal.

Los resultados mostraron que el 70.96% (22/31) de las cepas de *Salmonella spp* evaluadas fueron resistentes a uno o más antibióticos, representando un alto porcentaje de resistencia, contrastado con un informe del programa NARMS (The National Antimicrobial Resistance Monitoring System) de Estados Unidos en 2010, el cual reporta que en el año 2007 el 43.1% de los aislamientos de *Salmonella spp* eran resistentes al menos a un antibiótico [Hurt et al. 2012]; mientras que los datos reportados en un estudio de resistencia en Colombia fueron muy semejantes a nuestros resultados [Bermúdez et al 2014].

De igual forma, en un estudio realizado en Perú, todos los aislamientos de *Salmonella spp* fueron resistentes a tetraciclina, y el 41% fue resistente a ácido nalidíxico [Ríos et al. 2019]. Hao Van y otros, 2007, en un estudio realizado en Vietnam encontraron que el 40.7% de los aislamientos de *Salmonella spp*, fueron resistentes a tetraciclina, seguido del 28.7% de resistencia para ácido nalidíxico [Hao van et al. 2007]. En Argentina, se reportó que el 25.8% de los aislamientos de *Salmonella spp* presento resistencia a tetraciclina.

La posibilidad de transmisión de cepas resistentes que podría darse a lo largo de la cadena productiva hasta el consumo de alimentos de origen animal se ha evidenciado por la asociación entre las serovariedades de *Salmonella spp* causantes de infección para los humanos y cerdos [Foley and Lynne 2008]. La propagación de cepas de *Salmonella spp*. multiresistentes puede atribuirse a la continua transmisión de elementos genéticos móviles entre poblaciones

microbianas de granjas porcinas y aislamientos nuevos provenientes de la producción primaria, constituyéndose en un riesgo para la inocuidad de los alimentos y para el consumidor.

Aunque la resistencia a tetraciclina se ha reportado en previas investigaciones, la proporción encontrada en este estudio fue más alta de lo esperada, 100% en cerdos y 75% en humanos, reflejando quizás el uso excesivo en la producción primaria porcícola en Morelos. Es factible que el uso frecuente de tetraciclina como profiláctico y factor de crecimiento a través del alimento o agua en los porcinos esté relacionada con las altas tasas de resistencia reportadas. Este hallazgo es relevante respecto a la presión de selección en otras poblaciones bacterianas, ya que el mecanismo de resistencia asociado a este antimicrobiano suele ser por bombas de flujo a través de plásmidos. Éstos usualmente median resistencias a múltiples antibióticos y pueden transferirse rápidamente entre diferentes especies o géneros bacterianos.

En humanos las quinolonas son antibióticos de primera línea para el tratamiento de sepsis por gram-negativos [Bermúdez et al. 2015]. Las quinolonas, como el ácido nalidíxico y las cefalosporinas de tercera generación han sido los antimicrobianos de elección para el tratamiento de salmonelosis en humanos. Sin embargo, el uso de estas familias de antibióticos en veterinaria se extiende para un amplio espectro de bacterias. Los resultados de este estudio muestran que el 93.3% (14/15) y 20% (3/15) cepas de *Salmonella spp* aisladas de heces de cerdos fueron resistentes a ácido nalidíxico y ceftazidima/cefotaxima. En humanos, la resistencia hacia el ácido nalidíxico de los aislamientos de *Salmonella spp* fue de 75%, no reportándose resistencia para ceftazidima/cefotaxima. En Colombia, en 2018, se encontró una resistencia en cerdos de 2.7% a cefotaxima, que en comparación con la resistencia encontrada en este estudio es baja [Ayala et al. 2018]. El monitoreo continuo de multiresistencias, en especial para las cefalosporinas de tercera generación clasificados por la OMS como antimicrobianos de importancia crítica prioritaria, es necesario dentro del marco de estrategias que disminuyan el impacto de la extensión de la resistencia antimicrobiana, no olvidando que la resistencia no es un fenómeno nuevo y se ha reportado en varios países.

La resistencia presentada con frecuencia en ácido nalidíxico puede relacionarse al uso y consumo de enrofloxacino como promotor de crecimiento y profiláctico en cerdos. El enrofloxacino pertenece a la familia de las quinolonas y es precursor del ácido nalidíxico [Moredo *et al.* 2007; Rivera *et al.* 2012].

Por otra parte, en este estudio, las cepas de *Shigella spp* aislada de humanos reportan una resistencia frente a tetraciclina del 87.5% (7/8), trimetoprim/sulfametoxazol de 62.5% (5/8) y de 50% (4/8) para ampicilina y ácido nalidíxico. Estos resultados son similares a lo obtenido en un estudio realizado con cepas aisladas de alimentos contaminados en Asia donde se encontró una resistencia a tetraciclina de 70.6% y para ampicilina de 82.3% [Goud *et al.* 2018]. Otro estudio en Ecuador reporta unas resistencias frente a tetraciclina de 96.20%, a ampicilina de 94.94% y a trimetoprim/sulfametoxazol de 86.08% [Villacrés y Alcocer, 2015]. En Perú, la resistencia a tetraciclina fue del 90.6%, a ampicilina del 88.2% y para trimetoprim/sulfametoxazol del 87.1% [Baca *et al.* 2014]. En Etiopia, la resistencia fue de 77.8% para tetraciclina, de 88.9% para ampicilina y de 55.6% para trimetoprim/sulfametoxazol [Gebremichael *et al.* 2018].

Los resultados obtenidos de este estudio resaltan la necesidad de implementar estrategias donde se establezca que el uso de antimicrobianos en la terapia humana o veterinaria no debe indicarse como promotores de crecimiento ni de manera profiláctica. Lo cierto es que, ante un problema emergente como lo es la resistencia antimicrobiana y sus repercusiones en salud pública, se hacen necesarios nuevos estudios que establezcan el uso prudente de antibióticos en nuestro país, a la par que se hagan estudios epidemiológicos sobre la multiresistencia de *Salmonella spp* y *Shigella spp* circulantes en nuestro medio partiendo de la creación de sistemas de vigilancia, control y prevención de la resistencia antimicrobiana.

Para evaluar la clonalidad de las cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp*, en este estudio, se analizaron por PFGE 31 cepas. De las cuales, 16 provenían de humanos (8 *Salmonella spp* y 8 *Shigella spp*), donde se observaron dos clonas mayoritarias, la clona A con dos cepas con un coeficiente de similitud de 100%, ambas cepas son MDR y presentaron el perfil de susceptibilidad AMP-NAL-TE, y la clona B con cuatro subtipos, tres MDR cuyo perfil de susceptibilidad fue AMP-SXT-TE y AMP-NAL-TE, y una no MDR con el perfil de susceptibilidad SXT-TE.

El estudio de los perfiles genéticos o pulsotipos por PFGE-*Xba*I permitió identificar una gran diversidad de subtipos genéticos entre las cepas analizadas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* aisladas de cerdos y humanos. En total se obtuvieron 11 pulsotipos de 22 cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* analizadas entre cerdos y humanos. En cerdos, los pulsotipos de *Salmonella spp* difirieron de los pulsotipos obtenidos de la misma bacteria aislada de humanos, coincidiendo con otros autores que encontraron en estas mismas categorías variabilidad entre los pulsotipos, en su caso, de otra serovariedad de *Salmonella*, sugiriendo diferentes fuentes de infección [Parada et al., 2014].

En general, se reporta en muchos casos, las cepas de *Salmonella* con idéntico patrón de resistencia a los antimicrobianos aislada de animales de granja, presentan diferentes perfiles genéticos. Por tanto, la resistencia antimicrobiana no se puede correlacionar con el perfil genético que se obtuvo por PGFE, coincidiendo con otros autores que observaron que las cepas sensibles o resistentes no se pueden distinguir con PFGE [Le Corre et al., 1999].

11 CONCLUSIÓN

En el presente estudio se observó una alta proporción de resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* provenientes de heces de humanos y cerdos, vislumbrando la necesidad de contener la diseminación de patógenos que podrían tener o adquirir genes de resistencia, mediante programas de monitoreo y a través de un sistema Nacional de Vigilancia de las resistencias.

Las cepas de *Salmonella spp* y *Shigella spp* aisladas humanos muestran una variabilidad genética, a diferencia de las muestras de *Salmonella spp* aisladas de cerdos se encontró una relación clonal en algunas muestras, esto puede asociarse a un brote de salmonelosis entre lechones. Así como una gran capacidad para adquirir resistencia a los antibióticos y varios pulsotipos circulando tanto en cerdos como asociados a infecciones en humanos.

12 PERSPECTIVAS

Serotificación de las cepas de *Salmonella spp* para determinar si se trata de la misma cepa y correlacionarlo con la relación genética entre estas.

Realizar más muestreos en la granja de estudio y en otras granjas del estado de Morelos para determinar si la diseminación de *Salmonella* es la misma o es diferente.

En humanos hacer una vigilancia epidemiológica de los pacientes que acuden a los centros de salud para determinar si la frecuencia de *Shigella spp* es mayor a la obtenida.

13 REFERENCIAS

- Alós J.I. (2015) Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*; Vol. 33(10): 692-699.
- Ayala S., Moreno P., Araguas L., Caprotta G. y Pena M. (2006) Shock séptico por *Shigella flexneri*. *Arch Argent Pediatr*; Vol. 104(4):351-353.
- Ayala-Romero C., Ballen-Parada C., Rico-Gaitán M., Chamorro-Tobar I., Zambrano-Moreno D., Poutou-Piñales R. y Carrascal-Camacho A. (2018) Prevalence of *Salmonella* spp., in mesenteric pig's ganglia at colombian benefit plants. *Rev.MVZ Córdoba*; Vol.23 (1):6474-6486. DOI: 10.21897/rmvz.1242.
- Baca C., Yupanqui L., Canales J., Zamudio M., Quispe M. y Tamariz J. (2014) Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* aisladas en un instituto de salud pediátrico de Lima, Perú entre enero y julio 2013. *Rev Med Hered*; Vol. 25: 73-79.
- Barrete J.K. y Achí A.R. (2009) Interacciones celulares en el proceso de invasión de *Shigella* sp. *Rev Panam Infectol*; Vol. 11(2):56-61.
- Barreto M., Castillo-Ruiz M. y Retamal P. (2016) *Salmonella enterica*: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Rev Chilena Infectol*; Vol. 33(5): 547-557.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493.
- Bermúdez P.M., Rincón S.M. y Suárez M.C. (2014). Evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. Aisladas del beneficio porcino en Colombia. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*; Vol. 32(1): 88-94.
- Bermúdez, P. M., Rincón, S. M., & Suárez, M. C. (2014). Evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. aisladas del beneficio porcino en Colombia. *Rev Fac Nac Salud Pública*, 32(1), 88-94.
- Calderon R.G. y Aguilar U.L (2016) Resistencia antimicrobacteriana: Microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Rev Med de Costa Rica y Centroamerica*; Vol. 623:757-763.
- Calvo J. y Martínez M.L. (2009) Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*; Vol. 27(1): 44-52.

- Canale G.A., Chombo M.P., Soto V.C., Sigüenza L.R. y Feria V.A.I (2012) Biosíntesis de tetraciclinas. e-Gnosis [online]; Vol. 10(2).
- Cárdenas-Perea M. E., et al. (2014) Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. Elementos 94. 35-43.
- Delgado R. (2015) Peculiaridad de la clasificación taxonómica y nomenclatura del género *Salmonella*. Acta Médica del Centro; Vol. 9(4):73-75.
- Diego, J. V., García, M. N., Martín, A. B., & Benito, V. F. (2006). Salmonelosis Porcina: casos clínicos. Anaporc: Rev de la Asociación de Porcinocultura Científica, 3(33), 54-64.
- Fernandez R.F., López H.J., Ponce M.L.M y Machado B.C. (2003) Resistencia Bacteriana. Rev cubana Med Milit; Vol. 32(1): 44-48.
- Figuroa O.I.M. y Verdugo R.A. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella sp.* Rev Latinoam Microbiol; Vol. 47 (1-2): 25-42.
- Gebreegziabher, G., Asrat, D., W/Amanuel, Y., & Hagos, T. (2018). Isolation and Antimicrobial Susceptibility Profile of *Shigella* and *Salmonella* Species from Children with Acute Diarrhoea in Mekelle Hospital and Semen Health Center, Ethiopia. Ethiopian journal of health sciences, 28(2), 197–206. doi:10.4314/ejhs.v28i2.11
- González, T., Y Rojas, R.A. (Septiembre-Octubre 2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública de México*, Vol. 47, 387-390.
- Goud S., Raghavendra SV., Shylaja M. y Babu A. (2018) The detection and antimicrobial susceptibility profile of *Shigella* isolates in and around Hyderabad, Telangana. Rev. The Pharma Innovation Journal; Vol. 7(2): 84-88.
- Hao T, Moutafis G, Istivar T, Thuoc L, Coloe P. (2007) Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance. Applied and Environmental Microbiology. 73(21): 6885-6890.
- Haraga A., Ohlson M.B. y Miller S.I. (2008) *Salmonellae* interplay with host cells. Rev. Nature Publishing Group. Vol.6: 53-66.
- Kasper D., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J.L. y Loscalzo J. (2017) Principios de Medicina Interna. Harrison.
- Kotloff, K. L., Winickoff, J. P., Ivanoff, B., Clemens, J. D., Swerdlow, D. L., Sansonetti, P. J., & Levine, M. M. (1999). Global burden of *Shigella*

infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(8), 651-666.

Lavelle C. (2015) *Frontiers in Life Science*. Vol 8(3): 284-293.

Le Corre- Heurtin, C., Donnio, P. Y., Perrin, M., Travert, M. F., & Avril, J. L. (1999). Increasing Incidence and Comparison of Nalidixic Acid-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype Typhimurium Isolates from Humans and Animals. *Journal of clinical microbiology*, 37(1), 266-269.

León S.L.P., Otero M.D.W. Y Gómez M.D.M (2015) Fever, Jaundice and Hepatitis: It is not always a Viral Infection. *Rev Col Gastroenterol*; Vol. 30(3): 287-292.

León-Ramírez S. (2002) Shigelosis (disentería bacilar). *Salud en Tabasco*; Vol. 8(1):22-25.

Maguiña-Vargas C., Ugarte-Gil C.A y Montiel M. (2006) Rational and appropriate use of antibiotics. *Acta Med Per*; Vol. 23(1): 15-20.

Mamatha B., Pusapati B. y Rituparna C. (2007) Changing patterns of antimicrobial susceptibility of *Shigella* serotypes isolated from children with acute diarrhea in Manipal, South India, a 5 year study. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*; Vol. 38(5):863-866.

Mejia H. (2007) Opciones de tratamiento en Shigelosis. *Rev Soc Bol Ped*; Vol. 46(1):80-84.

Moredo FA., Vigo GB., Cappuccio JA., Piñeyro P., Perfumo CJ. Y Giacoboni GI. (2007) Resistencia a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos de la República de Argentina. *Rev Argentina de Microbiología*; Vol.39:227-229.

Moreno M.C., Gonzalez E.R. y Beltran C. (2009) Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*; Vol. 69:185-192.

Organización Mundial de la Salud (ONU). 2019. Salmonelosis. Revisada en: who.int/topics/salmonella/es/ (Consultado: 23 de noviembre de 2019).

Paniagua G.L., Monroy E., García-González O., Alonso J., Negrete E. y Vaca S. (2007) Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*; Vol. 6(17).

- Parada J. Detección y caracterización de Salmonella en cerdos y su comparación con aislamientos en humanos en Argentina. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rio Cuarto. 2014.
- Paredes F. y Roca J.J. (2004) Acción de los antibióticos. *Perspectiva de la medicación antimicrobiana*. Offarm; Vol. 23(3): 116-124.
- Parra M., Durango J. y Máttar S. (2002). Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *mvz-cordova*. Vol. 7(2): 187-200.
- Pérez C.H.J y Robles C.A. (2013) Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Rev. Med. MD*; Vol. 4(3): 186-191.
- Puerta-García A. y Mateos-Rodríguez F (2010) Enterobacterias. *Medicine*. Vol. 10(51): 3426-3431.
- Quesada A., Reginatto G.A., Ruiz A., Colantonio L.D., Y Soledad M. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp* aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 32-44.
- Rios A., Morales-Cauti S., Vilca M., Carhuallanqui A. y Ramos D. (2019) Determinación del perfil de resistencia antibiótica de Salmonella entérica aislada de cerdos faenados en un matadero de Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú*. Vol. 30(1): 438-445
- Rivera L.G., Motta P.A., Cerón M.F. y Chimonja F.A. (2012) Resistencia de la Salmonella a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento. *Rev. CES Med. Vet. Zootec.*; Vol. 7(1):115-129.
- Rodríguez, L. D., Porrero, M. C., & Téllez, S. (2006). Salmonelosis porcina: situación epidemiológica actual. *Anaporc: Rev de la Asociación de Porcinocultura Científica*, 3(33), 28-32.
- Sánchez J.M.M. y Cardona C.N.M. (2003) Mecanismos de interacción de Salmonella con la mucosa intestinal. *Rev. Asociación Colombiana de Infectología*; Vol. 7(1): 22-29.
- Sánchez M.M., Caraballo A.J., Cardona N.M., Bernal C., Tulia C. y Durango H.E. (2004). Determinación del perfil de sensibilidad y resistencia a antibióticos seleccionados, en cepas de *Salmonella spp*. Aisladas en Antioquia durante los años 2002 y 2003. *Rev. CES Med.*; Vol. 1(18):35-42.
- Sekhar G.S.S, Raghavendra S.V., Shylaja M. y Jagadeesh B.A. (2018) The detection and antimicrobial susceptibility profile of *Shigella* isolates in and

around Hyderabad, Telangana. *The Pharma Innovation Journal*; 7(2): 84-88.

Villacrés GI. y Alcocer I. (2015) Sensibilidad antimicrobiana de los serogrupos de *Shigellae* aislados en la ciudad de Quinto-Ecuador. *Rev. Avances en Ciencias e Ingenierías*; Vol. 7(2): B30-B36.

Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2017). Frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo, res y cerdo de la Ciudad de México. *Rev chil infec*, 34(5), 458-466

13.1 Fuente Electrónica

Betancor L. y Yim L. (2012). *Salmonella y salmonelosis*. Recuperado de: http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Salmonella_y_salmonelosis

CDC (2018) National Enteric Disease Surveillance: *Shigella* Annual Report, 2018. Recuperado de: <http://www.cdc.gov/ncezid/dfwed/PDFs/Shigella-Overview-508.pdf>

Esparza Olcina M.J. (2008) Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. antibióticos. *Guía-ABE*; Vol. 2 Recuperado de: <http://www.guia-abe.es/generalidades-descripcion-general-de-los-principales-grupos-de-farmacos-antimicrobianos-antibioticos.html>

Molina L.J. y Uribarren B.T. (2015) Infecciones por *Shigella* spp. Recuperado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/shigella.html>

- Molina L.J. (2015) Drogas antibacterianas. Recuperado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/terapeutica.html>
- OMS (2018) Salmonella (no tifoidea) Recuperado de: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).
- Patterson T. y Read R.C. (2018) Current Opinion in Infectious diseases. Vol. 31(5) Recuperado de: <https://www.co-infectiousdiseases.com>
- Quintana, Á. (2013). Bases microbiológicas del uso de antimicrobianos. Journal of Chemical Information and Modeling; Vol. 53(9): 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- SINAVE-SSA (2018) Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. Recuperado de: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-generalde-epidemiologia-boletin-epidemiologico>.