



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Programa Regional de Posgrado en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología

**Determinación de Factores de Virulencia y
Resistencia a Antibióticos en Cepas de *Salmonella*
Aisladas de Alimentos del Estado de Sinaloa**

T E S I S

Presentado por:

Biol. Daniel Omar Rivera Castro

Como requisito para
obtener en grado de

**Maestro en Ciencias con Orientación
en
Biotecnología de la Salud**

Director de Tesis:

Dr. Vicente Adrián Cenizales Román
Dr. Héctor Manuel Flores Villaseñor

PRESENTACIÓN

La presente investigación, titulada *Determinación de los factores de virulencia y resistencia a antibióticos de Salmonella aislada de alimentos del Estado de Sinaloa*, se llevó a cabo como parte del Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, en los laboratorios de la Facultad de Medicina, en el Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública (CIASaP) y en colaboración con el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Sinaloa. Como Asesores Académicos participaron: Dra. Saraid Mora Rochín, Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez, Dr. Héctor Manuel Flores Villaseñor (Director de Tesis) y Dr. Vicente Adrián Canizalez Román. Para la realización de este proyecto se recibió financiamiento de la Universidad Autónoma de Sinaloa a través de su Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación con el proyecto PROFAPI 2015/101. También apoyó económicamente el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, este apoyando a través de Beca de Tesis para estudios de Maestría 2017-2019.

DEDICATORIA

Primero que nada, le agradezco a mi amada esposa Diana Ramírez, por su apoyo, por estar conmigo, incluso en los momentos más difíciles. Este proyecto no fue fácil, pero siempre estuvo ahí motivándome y ayudándome.

También, quiero agradecer a mi Madre Carmen Castro, por su apoyo incondicional a lo largo de todos estos años, el cual ha sido de suma importancia para mí.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos al Dr. Héctor Manuel Flores Villaseñor y al Dr. Adrián Canizalez Román, por permitirme formar parte de este proyecto de investigación y formarme profesionalmente en el ámbito científico.

Agradezco a mi asesora Dra. Edith Olivia Cuevas Rodríguez por tenerme mucha paciencia durante el transcurso de la maestría, así como por brindarme su amistad y confianza.

A mi asesora Dra. Saraid Mora Rochín, por sus sugerencias y correcciones.

También quisiera agradecer al Laboratorio de Biotecnología y al de Biología Molecular del CIASaP-Facultad de Medicina y a mis compañeros de Maestría, por su amistad y por su apoyo en todo momento.

Al Laboratorio Estatal de Salud Pública, especialmente al Departamento de Microbiología de Alimentos y de Epidemiología, donde se llevó a cabo el aislamiento y la identificación de las cepas de *Salmonella* spp.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, y en particular al Programa Regional de Posgrado en Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, por permitirme ser parte de su programa de Maestría. Asimismo, a la UAS por financiar este proyecto mediante su Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI).

A CONACyT, por financiar mis estudios y darme la oportunidad de obtener el grado de maestría.

Finalmente, quiero agradecer a mi Esposa, a mi Madre, a mi familia y amigos en general por su apoyo incondicional.

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	.iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
I RESUMEN	1
ABSTRACT	2
II INTRODUCCIÓN	3
III REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
A ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR LOS ALIMENTOS	5
1 Transmisión de infecciones por <i>Salmonella</i> spp	6
2 Prevención de contaminación de alimentos por <i>Salmonella</i> spp	7
B <i>Salmonella</i> spp	11
1 Características biológicas	11
2 Serotipos de <i>Salmonella</i>	13
3 Factores de virulencia de <i>Salmonella</i> spp	16
4 Cuadro clínico de la salmonelosis	21
a Diagnóstico clínico de <i>Salmonella</i> spp	25
b Métodos para el aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i> spp	26
5 Resistencia de <i>Salmonella</i> spp. a los antibióticos	27
a Modificación enzimática del antibiótico	28
b Bombas de salida de antibiótico	30
c Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antibiótico	30
d Modificación del sitio activo	31
6 Epidemiología de <i>Salmonella</i> en el mundo	31

7	Epidemiología de <i>Salmonella</i> en México	35
8	Epidemiología en el Estado Sinaloa, México	38
IV	PLANTAMINETO DEL PROBLEMA	39
V	JUSTIFICACIÓN	40
VI	HIPOTESIS	41
VII	OBJETIVOS	42
A	OBJETIVO GENERAL	42
B	OBJETIVOS ESPECIFICOS	42
VIII	MATERIALES Y MÉTODOS	43
A	MATERIALES	43
1	Equipo	43
2	Material	43
B	MÉTODOS	44
1	Área de estudio	44
2	Toma de muestras de alimentos	45
3	Análisis bacteriológico	46
4	Extracción de ADN mediante choque térmico	46
5	Identificación de genes de factores de virulencia mediante PCR punto final	47
6	Susceptibilidad a antibióticos mediante el método de Kirby-Bauer	47
7	Diseño de oligonucleótidos para los genes OmpC e InvA	50
IX	RESULTADOS	52
A	UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LAS CEPAS DE <i>Salmonella</i> AISLADAS DE ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA	52

B PREVALENCIA DE <i>Salmonella</i> spp. EN ALIMENTOS RECOLECTADOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013 2017	54
C PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA EN CEPAS DE <i>Salmonella</i> spp. AISLADAS DE ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017	56
D UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LAS CEPAS DE <i>Salmonella</i> SPP. AISLADAS DE ALIMENTO EN EL ESTADO DE SINALOA DE ACUERDO SU PERFIL DE FACTORES DE VIRULENCIA	58
E SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE <i>Salmonella</i> AISLADAS DE ALIMENTOS DEL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017	60
F MULTIFÁRMACORESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN LAS CEPAS DE <i>Salmonella</i> EN LOS ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017	62
G PERFIL DE CO-RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE <i>Salmonella</i> AISLADAS DE ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017	64
X DISCUSIÓN	66
XI CONCLUSIONES	71
XII REFERENCIAS	72

INDICE DE FIGURAS

Fig.	Descripción	Pág.
1	Medidas de control para evitar la contaminación por <i>Salmonella</i>	9
2	Clasificación de serogrupos de <i>Salmonella</i>	14
3	Factores de Virulencia de <i>Salmonella</i>	18
4	Sistema de Secreción tipo III (T3SS) de <i>Salmonella</i>	20
5	Mecanismo de infección por <i>Salmonella</i>	23
6	Mecanismos resistencia a antibióticos	29
7	Ubicación geográfica de las muestras de alimento colectadas y muestras contaminadas con <i>Salmonella</i> spp . en el periodo 2013-2017	53
8	Distribución geográfica de las cepas de <i>Salmonella</i> spp. aisladas de alimento en el Estado de Sinaloa de acuerdo a sus perfiles de virulencia	59

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Pág.
1	Fuentes de infección de <i>Salmonella</i> spp	12
2	Brotos de <i>Salmonella</i> en el mundo	33
3	Brotos por <i>Salmonella</i> en alimentos en México	36
4	Oligonucleotidos que se utilizaron en la PCR para la amplificación de los diferentes genes que codifican para factores de virulencia de <i>Salmonella</i> spp	49
5	Prevalencia de <i>Salmonella</i> spp. en los diferentes grupos de alimentos recolectados en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017	55
6	Perfil de factores de virulencia identificados en cepas de <i>Salmonella</i> spp. aisladas de alimentos en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017	57
7	Resistencia a antibióticos de las cepas de <i>Salmonella</i> aisladas de alimentos del Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017	61
8	Distribución geográfica de multi-fármaco-resistencia de las cepas de <i>Salmonella</i> en los alimentos en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017	63
9	Co-resistencia a los antibióticos en cepas de <i>Salmonella</i> aisladas de alimentos en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017	65

I RESUMEN

Salmonella es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos. Esta se ha aislado de diversos alimentos contaminados, presentando en su mayoría alta patogenicidad y una creciente resistencia a los antibióticos, lo cual se refleja en una considerable morbilidad, mortalidad y costos económicos. En este trabajo se propuso determinar los factores de virulencia y la resistencia a antibióticos de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en el periodo 2013-2017. Para esto, se recolectaron un total de 3,463 muestras de alimentos en el norte, centro y sur del Estado de Sinaloa, durante el periodo 2013-2017, de las cuales se logró aislar e identificar *Salmonella* spp. en 229 diferentes tipos de alimentos. Estas se analizaron con la finalidad de buscar diez genes que codifican para diferentes factores de virulencia. Además, se determinó el perfil de resistencia a los principales antibióticos utilizados para su control y tratamiento. Al analizar los resultados obtenidos, pudimos determinar que en la zona sur se encontró la mayor prevalencia de *Salmonella*, y que el grupo de alimentos en el que se aisló esta bacteria en mayor proporción fue en productos lácteos y derivados. Por otra parte, del total de las cepas de *Salmonella* identificadas, encontramos que el 66.3% presentaron un perfil de genes que codifican para factores de virulencia con un alto grado de patogenicidad (*SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC*). Finalmente, al evaluar los perfiles de resistencia antimicrobiana de las cepas aisladas encontramos que el 40.6% son resistentes a tetraciclina una mayor proporción que el resto de los antibióticos evaluados, por otra parte, es importante señalar que el 72.4% de las cepas fue resistente a al menos a uno de los antibióticos evaluados, y el 44.1 % fue multi-fármaco-resistente. En conclusión, este trabajo muestra la distribución de las cepas de *Salmonella* en el Estado de Sinaloa, así como el grado de patogenicidad y resistencia a antibióticos, lo cual brinda un panorama epidemiológico aportando al sector salud y a la producción animal.

ABSTRACT

Salmonella is one of the main causes of foodborne illness. This has been isolated from various contaminated foods, presenting mostly high pathogenicity and increasing resistance to antibiotics, which is reflected in considerable morbidity, mortality and economic costs. In this work, it was proposed to determine the virulence factors and antibiotic resistance of food isolates *Salmonella* spp. in the 2013-2017 period. For this, a total of 3,463 food samples were collected in the north, center and south of the State of Sinaloa, during the 2013-2017 period, from which it was possible to isolate and identify *Salmonella* spp. in 229 different types of food. These were analyzed in order to search for ten genes that code for different virulence factors. In addition, the profile of resistance to the main antibiotics used for its control and treatment was determined. By analyzing the results obtained, we were able to determine that in the southern zone was found the highest prevalence of *Salmonella* and that the food group in which this bacterium was isolated in the highest proportion was in dairy products and derivatives. On the other hand, of the total *Salmonella* strains identified, we found that 66.3% presented a profile of genes that code for virulence factors with a high degree of pathogenicity (SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC). Finally, when we evaluated the antimicrobial resistance profiles of the isolated strains, we found that 40.6% are resistant to tetracycline, a greater proportion than the rest of the antibiotics evaluated. On the other hand, it is important to note that 72.4% of the strains were resistant to at least one of the antibiotics evaluated, and 44.1% was multi-drug resistant. In conclusion, this work shows the distribution of *Salmonella* strains in the State of Sinaloa, as well as the degree of pathogenicity and antibiotic resistance, which provides an epidemiological picture contributing to the health sector and animal production.

II INTRODUCCIÓN

Los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos han tenido efectos adversos en el comercio y la seguridad alimentaria. La insalubridad de los alimentos ha representado un problema de salud para el ser humano desde principios de la historia. Por lo que las enfermedades transmitidas por los alimentos son de gran importancia a nivel mundial, ya que resultan en una considerable morbilidad y mortalidad (Kirk, Pires et al. 2015). El desafío más importante de la seguridad alimentaria a nivel mundial se relaciona con las enfermedades transmitidas por los alimentos, estas son causadas por virus, parásitos, productos químicos, priones y bacterias. Dentro de las principales bacterias asociadas a ETA encontramos a *Campilobacter* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp (Chinnappan, AlAmer et al. 2017; Blanco Crivelli, Bonino et al. 2018; Gray, Chandry et al. 2018). En el género *Salmonella* existen diferentes serotipos los cuales difieren ampliamente en su capacidad para infectar, clínicamente pueden clasificarse en grupos como: fiebre entérica, gastroenteritis, bacteriemia o infección focal extraintestinal (Singh, Sharma et al. 2015). Los principales factores de riesgo son las malas prácticas en la producción primaria, la falta de limpieza, la aglomeración de animales, la ausencia de medidas de bioseguridad entre otras (OMS 2017). Durante el proceso de infección, *Salmonella* invade las células epiteliales o es absorbido por las células M, presentando un cuadro diarreico provocando rehidratación, acompañado de otras síntomas como dolor en el abdomen, náuseas y vomito (Silva, Calva et al. 2014). Los brotes internacionales y nacionales de salmonelosis relacionados con el consumo de alimentos contaminados en las últimas décadas han tenido un gran impacto en el mundo. El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica en el 2018 reportó un total 124,277 casos, en los diferentes Estados de la República Mexicana, solo en Sinaloa se reportaron 12,485 casos en el mismo año, ocupando el quinto lugar a nivel nacional (SNVE, 2019). Actualmente uno de los principales problemas de salud pública, es la presencia de microorganismos sumamente virulentos y resistentes a una amplia gama de antibióticos. Se ha

demostrado que cepas de *Salmonella* aislada de diferentes fuentes, como animales, carne cruda, vegetales y mariscos, tiene un alto grado de virulencia y es resistente a antibióticos (Roer, Hendriksen et al. 2016; Patel, Bharti et al. 2017; Britto, John et al. 2019; Cheng, Eade et al. 2019; Jajere 2019) . El caracterizar los genes que codifican factores de virulencia e identificar los perfiles de resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos del Estado de Sinaloa nos permitirá avanzar mejor en el entendimiento de estas bacterias como agentes etiológicos de diarrea en Sinaloa. Además, nos muestra un panorama epidemiológico actual de los factores de virulencia y los perfiles resistencia a antibióticos en las cepas de *Salmonella*, finalmente con esto se obtendrá un reflejo de su prevalencia en el noroeste del país. Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyaran al sector salud, producción animal, así como al sector productor de alimentos en general, y esto impactara de manera positiva en el estado de Sinaloa al ser uno de los estados más importantes en la producción de alimentos a nivel nacional, por ultimo ayudara a los diferentes sectores a promover acciones preventivas para reducir la morbilidad en la población por este patógeno.

III REVISIÓN DE LA LITERATURA

A ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR LOS ALIMENTOS

Los brotes por enfermedades transmitidas por los alimentos han tenido efectos adversos en el comercio y la seguridad alimentaria. La insalubridad de los alimentos ha representado un problema de salud para el ser humano desde principios de la historia y muchos de los problemas actuales en esta materia no son nuevos. Estas enfermedades transmitidas por los alimentos son de importancia mundial, ya que resultan en una considerable morbilidad, mortalidad y costos económicos. En respuesta a las enfermedades transmitidas por los alimentos, los gobiernos nacionales y los organismos internacionales han establecido sistemas elaborados para controlar y mejorar la inocuidad de los alimentos (Kirk, Pires et al. 2015). Debido que los alimentos contaminados son una causa importante de enfermedades humanas, se han buscado estimaciones de la carga de morbilidad de las distintas enfermedades transmitidas por los alimentos para promover la seguridad alimentaria y ayudar a los gobiernos a priorizar los esfuerzos para mejorar la inocuidad de los alimentos. Sin embargo, en las últimas décadas, la globalización del suministro de alimentos también ha significado que los patógenos que causan enfermedades transmitidas por los alimentos sean transportados rápidamente a través de las fronteras internacionales (Mbayed, Mozgovej et al. ; Vasek y Falcione 2016). Aunque los gobiernos de todo el mundo se están esforzando al máximo por aumentar la salubridad del suministro de alimentos, la existencia de enfermedades de transmisión alimentaria sigue siendo un problema de salud pública significativo tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. Se ha calculado que cada año mueren 1,8 millones de personas como consecuencia de enfermedades diarreicas asimismo, son una causa importante de discapacidades y muertes en todo el mundo(Chaabna y Alali 2017; OMS 2017).

El desafío más importante de la seguridad alimentaria a nivel mundial se relaciona con las enfermedades transmitidas por los alimentos, estas son causadas por, virus, parásitos, productos químicos, priones y bacterias, los cuales pueden transmitirse a los humanos por alimentos contaminados con ellos (Vasek and Falcione 2016). Los brotes y los casos esporádicos de enfermedades transmitidas por los alimentos son frecuentes en todos los países del mundo (Kirk, Pires et al. 2015). Estos patógenos al ser transmitidos por los alimentos que pueden entrar en el cuerpo humano a través de los mismos, promoviendo así diferentes complicaciones a la salud. Las bacterias juegan un papel importante en la enfermedad entérica y son

el foco de la mayoría de los programas de vigilancia de patógenos entéricos (Arias-Echandi y Antillón 2000). La mayoría de las bacterias asociadas con la enfermedad entérica humana son zoonóticas y pueden transmitirse directamente a personas de animales o indirectamente a través de alimentos y agua. Muchas posibles vías de exposición y fuentes de infección hacen que la determinación de la epidemiología de estos agentes infecciosos sea compleja (Parmley, Pintar et al. 2013). Actualmente un gran número de enfermedades transmitidas por los alimentos son causadas principalmente por bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, la cual genera infección en piel o tejidos blandos, provocando muerte, neumonía con una morbilidad grave, absceso cerebral y septicemia (Haysom, Cross et al. 2018). *Listeria monocytogenes*, causa listeriosis, aproximadamente el 30% de los casos de listeriosis invasiva conducen a morbilidades que requieren hospitalización (Gray, Chandry et al. 2018). *Campylobacter jejuni*, es responsable de alrededor del 90% de los casos de campilobacteriosis siendo una enfermedad gastrointestinal con gran morbilidad (Bolinger and Kathariou 2017). De la misma, manera *Bacillus cereus* puede secretar en los alimentos un péptido cíclico no ribosómico altamente tóxico y estable al calor que puede resistir las temperaturas de cocción e inducir, cuando se ingiere, síntomas de vómito y diarrea (Majed, Faille et al. 2016), mientras que, *Escherichia coli* que sintetiza la *toxina shiga*, produciendo diferentes complicaciones como enfermedad diarreica, infecciones del tracto urinario y septicemia (OMS 2017; Blanco Crivelli, Bonino et al. 2018). Sin embargo, *Salmonella spp.* ha tenido gran impacto en la contaminación de alimentos a nivel mundial, esta pertenece al género de la familia *Enterobacteriaceae* y comprende una población grande y estrechamente relacionada de patógenos médicamente importantes. Durante mucho tiempo se ha asociado a un amplio espectro de enfermedades infecciosas, como la fiebre tifoidea y la salmonelosis no tifoidea, que causan problemas de salud pública en todo el mundo (Singh, Sharma et al. 2015). Los serovares de *Salmonella* más comunes detrás de los alimentos son *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi C.*, que normalmente

causan septicemia producen fiebre paratifoidea o tifoidea en humanos. (Singh, Sharma et al. 2015; Chinnappan, AlAmer et al. 2017).

1 Transmisión de infecciones por *Salmonella* spp.

Cabe destacar que aproximadamente el 95% de los casos de salmonelosis humana son transmitidos por alimentos, a menudo derivados indirectamente de la contaminación fecal animal o humana. Pero es importante mencionar que, las infecciones también se adquieren a través del contacto directo o indirecto de los animales en hogares, clínicas veterinarias, jardines zoológicos, entornos agrícolas u otros entornos públicos y privados (Jung, Park et al. 2018). Desde la década de los ochenta, la incidencia de salmonelosis de origen alimentario ha aumentado en el mundo industrializado y ha alcanzado proporciones epidémicas en varios países. Este aumento es el resultado de una combinación de factores relacionados con el desarrollo en la industrialización en todas las fases de producción de alimentos, cambios en la práctica del manejo de los alimentos, así como el almacenamiento, distribución y preparación de los mismos. Estos cambios han tenido como consecuencia nuevos problemas en la higiene de los alimentos, provocando una fácil diseminación de *Salmonella* (Gutema, Agga et al. 2019). La salmonelosis es una infección de suma importancia en salud pública debido al impacto socioeconómico, esta enfermedad es transmitida por los alimentos contaminados con esta bacteria que causan la mayor parte de los brotes que afectan a centenares de personas y puede ser causada por cualquiera de los casi 2579 serotipos que existen hasta hoy (Chinnappan, AlAmer et al. 2017; Jung, Park et al. 2018). La salmonelosis es una enfermedad aguda de distribución mundial, con variaciones en la frecuencia de los productos de un país a otro, con mayor impacto en áreas que no tienen las condiciones de higiene adecuada y no cuentan con medidas de salud pública óptimas. Afectando principalmente en menores de cinco años y mayores de 60 años de edad (Mukherjee, Nolan et al. 2019)

2 Prevención de contaminación de alimentos por *Salmonella* spp.

La prevención exige medidas de control en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción agrícola hasta la elaboración, fabricación y preparación de alimentos (Figura 1), tanto en establecimientos comerciales como en los hogares (OMS 2017). Los principales factores de riesgo son las malas prácticas en la producción primaria, la falta de limpieza, la aglomeración de animales, la ausencia de medidas de bioseguridad, así como también la ausencia de detección de los casos positivos para su posterior aislamiento de la granja, asimismo el estrés generado durante el transporte hasta el matadero, son factores que contribuyen a mantener reservorios de *Salmonella* spp. y a difundirlos a otros lugares (Máttar 2004). Por otra parte, en los mataderos la falta de separación de animales infectados de los sanos, junto a las malas prácticas de frenado de la enfermedad, son las causas principales que contribuyen a la contaminación de las carnes incluso de aquellos animales sanos que son portadores de la bacteria. Durante el procesamiento de los alimentos es importante realizar adecuados tratamientos térmicos y de envasado, que impidan la multiplicación y el crecimiento de la bacteria. Existen diferentes situaciones incorrectas o tratamientos tecnológicos insuficientes que en ocasiones podrían producir un mantenimiento de los niveles de *Salmonella* iniciales y favorecer su multiplicación, tales como las situaciones de pérdida de frío, los calentamientos insuficientes, las manipulaciones incorrectas, las formulaciones indebidas que no alcancen los niveles suficientes de acidificación, las deshidrataciones incompletas, así como los envasados permeables (Blanco-Ríos, Casadiego-Ardila et al. 2011).

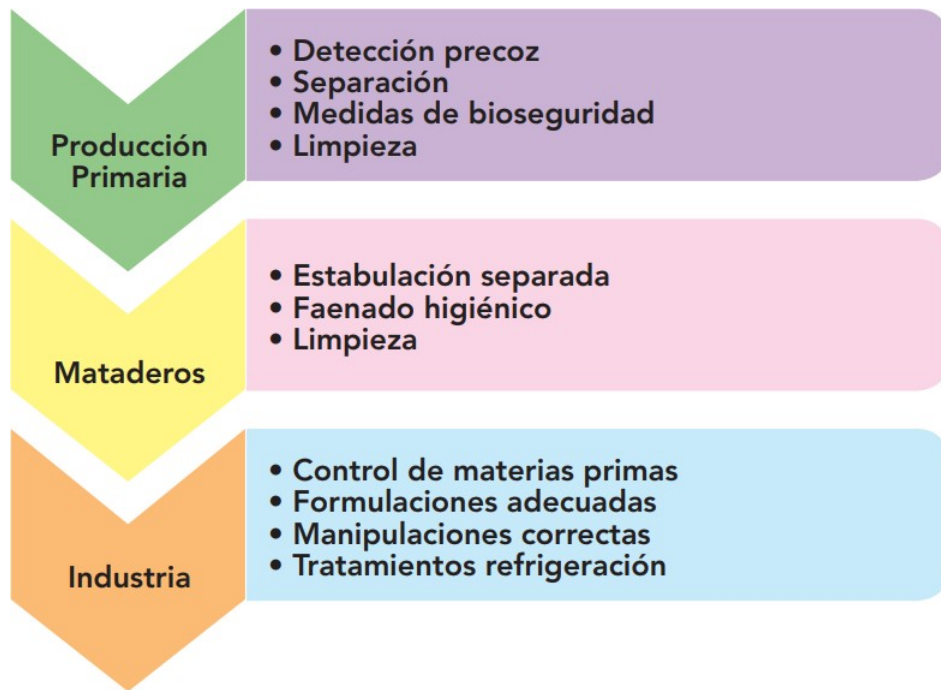


Figura 1. Medidas de control para evitar la contaminación por *Salmonella*. En todas las etapas de la cadena alimentaria se siguen diferentes medidas de control, con la finalidad de mejorar la calidad de los alimentos, desde la producción agrícola hasta la elaboración, fabricación y preparación de alimentos (Jiménez, 2016).

Las medidas de prevención en relación con *Salmonella* spp. en el hogar son similares a las medidas contra otras enfermedades bacterianas transmitidas, como mantener el contacto entre las lactantes, niños pequeños y las mascotas, que pueden transmitir *Salmonella* (OMS 2017) Debido a la gran cantidad de serotipos diferentes de *Salmonella* transmitida por los alimentos, cada uno con sus propias fuentes de alimentos, el control es difícil. La higiene adecuada en la cocina (por ejemplo, lavarse las manos, calentar y hornear la carne) puede prevenir una infección por *Salmonella*. Sin embargo, los estudios entre el público en general en Italia, Turquía y Nueva Zelanda mostraron que el cumplimiento de los consejos de higiene preventiva es de bajo a muy bajo (Quiroz, Correa et al. 2010). Una posible explicación es que la mayoría de la gente cree que una infección transmitida por los alimentos es "algo que les sucede a otros". Por lo que es de suma importancia promover la educación sanitaria a la población teniendo en cuenta que la mayor proporción de productos de infecciones alimentarias se produce en el hogar y que la manipulación de los alimentos en este se hace por algún miembro de la familia, es necesario extender los conocimientos de higiene de los alimentos a la población en general, llamando la atención sobre los errores más frecuentes en la manipulación de alimentos, lo que ayudara a prevenir las infecciones por *Salmonella* spp. (van Velsen, Beaujean et al. 2014).

B *Salmonella* spp.

1 Características biológicas

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, está integrada por bacilos Gram negativos anaerobios facultativos, no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos que utilizan citrato como única fuente de carbono, poseen metabolismo de tipo oxidativo y fermentativo. La mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura que va desde 5°C a 47°C, con temperatura óptima de 35°-37°C, algunas pueden llegar a crecer de 2°C, 4°C y hasta 54°C. El pH del crecimiento oscila entre 4-9 con un óptimo entre 6.5 y 7.5. Actualmente ha reportado que el agua potable contaminada es un vehículo común para serotipos tifoideos mientras que los serotipos no tifoideos son

patógenos comúnmente transmitidos por los alimentos (Soria, 2012).

La mayor parte de los brotes de salmonelosis son a consecuencia del consumo de alimentos contaminados de origen animal, como la carne, los huevos y las aves de corral (Herrera and Javib, 2015). En el mismo sentido las plantas pueden experimentar altas concentraciones de *Salmonella*, debido a animales infectados los cuales defecan en las tierras de cultivo o como resultado de la fertilización de tierras de cultivo con estiércol animal (Johnny, Germán et al. 2004). Por lo tanto, inicialmente se pensó que la transmisión de *Salmonella* de las plantas era simplemente debida a la contaminación de la superficie (Arcos-Ávila, Mora-Cardona et al. 2013). Sin embargo, ahora está claro que los patógenos entéricos han adquirido mecanismos para ingresar a las plantas y reproducirse dentro de ellas, un descubrimiento que explica la falla de los desinfectantes para erradicar de manera eficiente los patógenos transmitidos por los alimentos en los productos, provocando una importante vía de entrada para enterobacterias patógenas en la cadena alimentaria como *Salmonella* (Silva, Calva et al. 2014). De la misma manera se ha informado sobre la presencia de *Salmonella* en numerosos alimentos con bajo contenido de humedad, como huevo entero en polvo, hierbas secas, semillas, harina de soja, tahini, cebolla blanca deshidratada picada, mantequilla de maní, pimienta negra, hongos secos, avena cereales, salchicha baja agua, chocolate y harina (CAP, CAP et al. 2005). *Salmonella* se encuentran entre los patógenos bacterianos transmitidos por los alimentos más prevalentes en el mundo desarrollado y pueden ingresar a la cadena alimentaria en cualquier punto de la granja a la mesa. Las fuentes ambientales del organismo incluyen desde superficies de fábrica, suelos hasta carne cruda entre otros productos (Cuadro 1) (Silva, Calva et al. 2014; Singh, Sharma et al. 2015).

Cuadro 1: Fuentes de infección de *Salmonella* spp.

Tipos de fuentes de infección de <i>Salmonella</i>		
Productos provenientes de animales	Mascotas	Productos provenientes de plantas
Aves de corral	Tortugas	Alfalfa
Carne de vaca	Iguanas	Frijol
Pescado	Perros	Melón
Leche	Gatos	Mariguana
Cerdo	Aves (patos)	Lechuga
Queso	Erizo	Tomate
Chocolate	Alimento para Mascotas	Cilantro
Huevos	Golosinas para mascotas	Pimientos
Helado de crema		Espinaca
		Pepino
		Cereal
		Flores
		Almendras, Mantequilla de maní, Pistachos, Avellanas.
		Espicias

Nota: La mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura que va desde 5°C a 47°C, cabe destacar que algunas pueden llegar a crecer a 2°C o 4°C y hasta 54°C. En el mismo sentido su pH de crecimiento oscila entre 4-9 con un óptimo entre 6.5 y 7.5, lo que le permite sobrevivir casi en cualquier superficie (Soria 2012; Silva, Calva et al. 2014).

2 Serotipos de *Salmonella*

Este género está compuesto de alrededor de 2579 serotipos diferentes. Desde que *Salmonella* fue descubierta por Daniel Elmer Salmon y Theobald Smith en 1885, en un intestino porcino, se ha convertido junto con *E. coli*, en los microorganismos más estudiados a nivel mundial (Roer, Hendriksen et al. 2016; Lamas, Miranda et al. 2018).

Desde la identificación de *Salmonella* en 1885 hasta el día de hoy, han existido diferentes formas de clasificar sus serotipos debido a la dificultad que presenta esta por su gran similitud entre sus diversos serotipos, diferentes comités internacionales tanto europeos, como americanos llegando a la clasificación del día de hoy (Roer, Hendriksen et al. 2016; OMS 2017; Gutema, Agga et al. 2019).

En el año 2002, la Comisión Judicial discutió cuidadosamente la solicitud de Jacques Euzéby y emitió un dictamen (Opinión Judicial 80) que finalmente aprobó que, a partir de enero de 2005, "*Salmonella enterica*" reemplazaría a "*Salmonella choleraesuis*" para convertirse en el tipo especie del género *Salmonella*. Finalmente, el género *Salmonella* se ha dividido en dos especies diferentes, *S. bongori* y *S. enterica*. Este último se divide luego en seis subespecies diferentes, cada una designada con un número romano: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) e *indica* (VI). La otra especie, *S. bongori* (V) se compone de 22 serotipos que han sido poco estudiados ya que están asociados principalmente con animales de sangre fría y se han centrado principalmente en *S. entérica* (Figura 1). Esta subespecie está compuesta por 1531 serotipos, entre los que se destacan *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, ya que son los principales responsables de las infecciones humanas, como la salmonelosis y diferentes tipos de fiebre (Yang, Domesle et al. 2016; Lamas, Miranda et al. 2018).

a subespecie I está conformada por serotipos patógenos, en su mayoría se han aislado del contenido intestinal de animales de sangre caliente (Figura 1). A la subespecie II y III pertenecen aquellas que provienen del

aislamiento de animales de sangre fría, tales como *S. salamae*, *S. arizonae* y *S. diarizonae*. En las últimas subespecies, IV y V, forman parte *S. houtenae* y *S. indica*, que se encuentran, en su mayoría, en el medio ambiente y que en rara ocasión se han identificado como patógenas para el hombre (Yang, Domesle et al. 2016; Wang, Yan et al. 2018).

Los serotipos restringidos al huésped están asociados exclusivamente con una especie hospedadora particular. Por ejemplo, los serotipos de *S. enterica Typhi*, *Paratyphi A*, *Paratyphi C* y *Sendai* causan enfermedades solo en humanos; *Abortusovis* está restringido a cabras y ovejas; *Gallinarum* y *Pullorum* están restringidos a las aves de corral, *Typhisus* está restringido a los cerdos y *Abortusequi* está restringido a los caballos. Asimismo otros serotipos se adaptan a un huésped en particular, pero retienen la capacidad de causar enfermedades en anfitriones alternativos (Parra, Durango et al. 2002). Por ejemplo, *S. xcholeraesuis* y *S. dublin* son serotipos adaptados al hospedador asociado con enfermedad sistémica grave en bovinos y cerdos, respectivamente, pero rara vez causan enfermedad en otros mamíferos hospedadores, incluidos los humanos. Los serotipos adaptados a un solo hospedero producen infección sistémica en sus huéspedes naturales, pero hay evidencia limitada o nula de gastroenteritis (Pérez-Miravete 2014).

Estos serotipos migran rápidamente del intestino al sistema reticuloendotelial, donde residen en nichos intracelulares (por ejemplo, macrófagos) y a menudo persisten en el hospedero para producir un estado de portador. El establecimiento de una infección crónica en el portador permite el vertimiento de una carga bacteriana relativamente baja durante un período de tiempo prolongado. Por el contrario, los serotipos de amplio rango de hospedadores, como *S. typhimurium* y *S. enteritidis*, pueden infectar una amplia gama de animales, desde insectos hasta reptiles, aves y mamíferos (Parra, Durango et al. 2002; Cabello and Cabello 2008).

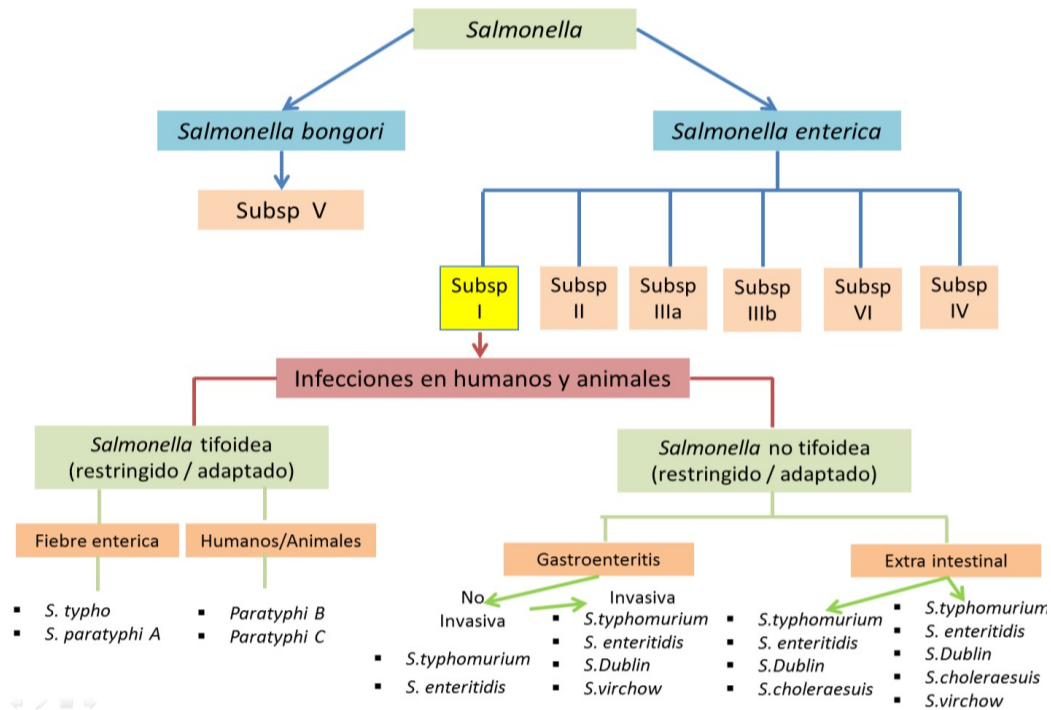


Figura 2. Clasificación de serogrupos de *Salmonella*. La especie de *Salmonella* con mayor variedad de serotipos es entérica, a su vez el 99% de los serotipos que conforman el subgrupo I dentro de la especie entérica están relacionados con infecciones en humanos y animales (Langridge et al., 2012).

Sin embargo, algunas bacterias del género *Salmonella* se encuentran de forma natural en el tracto gastrointestinal de muchos reptiles como parte de su microbiota intestinal normal y comúnmente se excretan en sus heces (Uribe and Suárez 2006). Aunque los reptiles a menudo portan *Salmonella* subespecie II, III y IV, otros serotipos de subespecies que comúnmente asocio con la salmonelosis humana, especialmente *S. typhimurium* y *S. enteritidis*, también ocurren en reptiles (Barreda, Antúnez et al. 1999; Silva, Calva et al. 2014). La abrumadora mayoría de los reptiles que portan *Salmonella* son asintomáticos. La salmonelosis humana atribuible a la exposición a reptiles se documentó por primera vez en la década de 1940 y un gran número de informes de casos han descrito la transmisión zoonótica de *Salmonella* a partir de reptiles. Una gran cantidad de casos de salmonelosis humana se han relacionado con el contacto con tortugas, tortugas acuáticas, serpientes y lagartos (Barreda, Antúnez et al. 1999; Ruiz, Calle et al. 2010; Silva, Calva et al. 2014) .

Como se mencionó anteriormente existen diferentes serotipos de *Salmonella* las cuales difieren ampliamente en su capacidad para infectar a diferentes mamíferos y aves, estas se pueden dividir en cuatro grupos, que clínicamente pueden clasificarse en cuatro grupos: fiebre entérica, gastroenteritis, bacteriemia o infección focal extraintestinal, denominaciones invasivas, infecciones que traspasan la barrera intestinal, el curso de la enfermedad y la evolución clínica dependen de una gran variedad de factores, entre los que se incluyen la dosis recibida, el estado inmune del hospedador, la composición de la microbiota intestinal y el linaje genético tanto del hospedador, así como la carga de genes de factores de virulencia del organismo infeccioso (Silva, Calva et al. 2014; Cheng, Eade et al. 2019).

3 Factores de virulencia de *Salmonella* spp.

La adaptación de *Salmonella* a cada huésped es diferente de acuerdo a la colección de factores de Virulencia que esta posea. Estos incluyen flagelos, fimbrias, toxinas, islas de patogenicidad y plásmidos asociados con virulencia (Figura 3). Estas características no aparecen en todos los

serotipos de *Salmonella* y, por lo tanto, su presencia o ausencia influye en la virulencia y el rango de huéspedes de un aislado en particular (Cheng, Eade et al. 2019; Jajere 2019).

Los factores de virulencia se encuentran principalmente codificados en islas de patogenicidad de *Salmonella* (SPI). Estos factores, solos o en combinación con otros, permiten que la *Salmonella* colonice a su huésped mediante la fijación, invasión, supervivencia y evitando los mecanismos de defensa del huésped, como la acidez gástrica, las proteasas gastrointestinales y las defensinas, así como las agresiones del microbioma intestinal (Yue and Schifferli 2014). Las islas de patogenicidad de *Salmonella* (SPI) son grupos de genes ubicados en ciertas áreas de los cromosomas en las células bacterianas que son responsables de codificar los diversos factores de virulencia (adhesión, invasión, genes de toxinas, etc.)(Foley, Lynne et al. 2008). Estos grupos de genes o SPI pueden ubicarse en el plásmido o en los cromosomas; en comparación con la región circundante, tienden a tener una composición variable de G / C y están flanqueadas por secuencias repetidas. Los SPI se caracterizan por estar a menudo asociados con el ARN de transferencia (ARNt) y elementos genéticos móviles como los transposones o los genes del fago, y tienden a tener una composición base completamente diferente de los genomas centrales (Jajere 2019). A la fecha se han identificado 24 islas de patogenicidad de *Salmonella*, para diferentes serotipos. Sin embargo, las SPI más comúnmente observadas en los serotipos de *Salmonella* van de SPI -1 a SPI -5 (Cheng, Eade et al. 2019). Las SPI juegan diferentes papeles en la patogénesis y virulencia de *Salmonella*, SPI-1 se requiere principalmente para la invasión de las células huésped y la inducción de la apoptosis de los macrófagos, el SPI-2 para las infecciones sistémicas y la replicación dentro de los macrófagos, el SPI-3 para la supervivencia en los macrófagos y también se requiere para el crecimiento de *Salmonella* en ambientes con bajo contenido de magnesio., SPI-4 para albergar genes responsables de la secreción de toxinas y la apoptosis, así como la supervivencia intramacrófaga, SPI-5 para agrupar genes que

codifican múltiples proteínas efectoras T3SS, y SPI-6 se ha encontrado en respuesta a estímulos externos para transportar proteínas a la célula medio ambiente o células huésped (Foley, Lynne et al. 2008; Cheng, Eade et al. 2019; Jajere 2019).

Dentro de las SPI se pueden encontrar encierran diversos genes con un alto potencial de virulencia, uno de los genes de mayor importancia relacionado con la virulencia de *Salmonella* en el gen *InvA*, que codifica esencial del sistema de secreción tipo III (T3SS) de *Salmonella* (Figura 4), por este sistema son secretadas las proteínas efectoras en la célula huésped, donde ejercen una serie de efectos que ayudan al patógeno a sobrevivir y escapar de una respuesta inmune (Marin, Suárez et al. 2006). Del mismo modo, otro grupo de genes de virulencia de gran importancia son los pertenecientes a la familia de la familia *sop*, los cuales codifican para proteínas que promueven la inflamación en el hospedero, como es el caso de los genes *sopB* y *sopE* que codifican para proteínas del mismo nombre que son secretadas por el T3SS a la célula huésped modificando su membrana celular y promoviendo la internalización de *Salmonella* dentro de ella (Osman, Hassan et al. 2014).

Asimismo, estas proteínas han sido identificados como efectores involucrados en provocar inflamación intestinal (Matsuda, Haneda et al. 2019). A su vez *Salmonella* puede albergar genes de virulencia que tienen la capacidad de bloquear diferentes procesos en la célula eucariota (huésped), el gen *avrA* el cual codifica para una proteína del mismo nombre, esta proteína promueve que *Salmonella* inhiba el sistema inmune, y la vía NF- κ B, provocando que la célula huésped no sea capaz de inducir apoptosis (Ye, Petrof et al. 2007; Osman, Hassan et al. 2014), además en otros estudios se han reportado las propiedades de la deubiquitinasa y la acetiltransferasa de *AvrA* que conducen a la regulación positiva de la vía de señalización de beta-catenina y a la modificación de las actividades de p53 (Lu, Wu et al. 2014), que son críticas en el inicio y la progresión del cáncer colorrectal (Ye, Petrof et al. 2007).

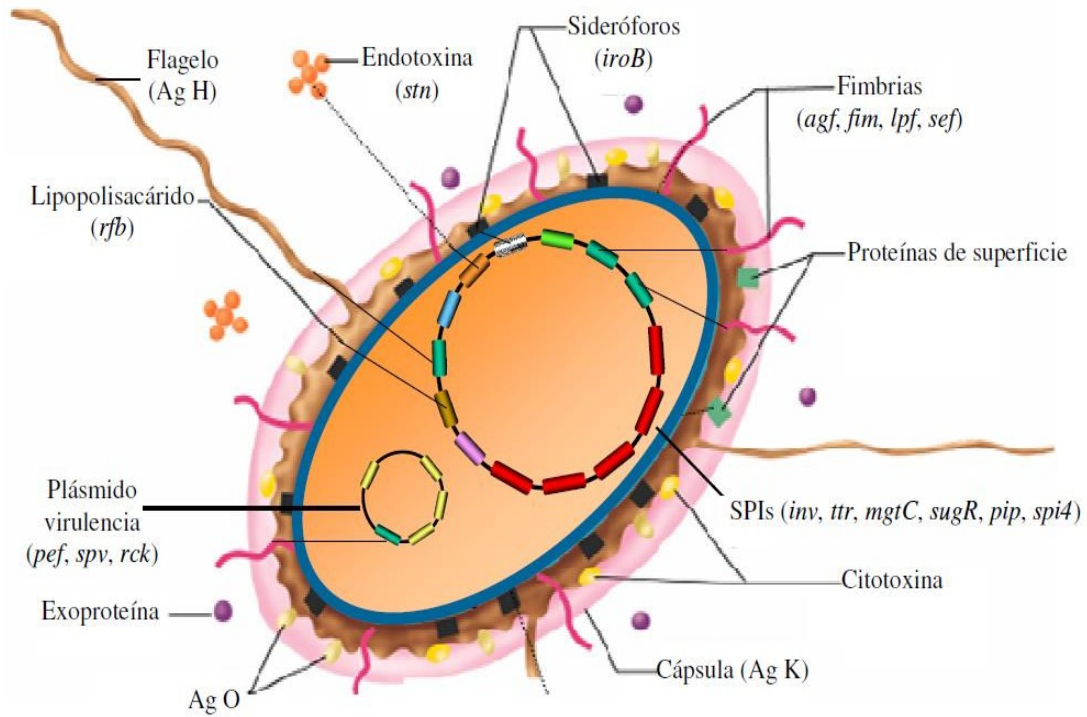


Figura 3. Factores de Virulencia de *Salmonella*. En figura se muestra la localización de factores de virulencia representativos de *Salmonella enterica* algunos de ellos muestran genes implicados en virulencia (Jajere 2019).

En el mismo sentido el gen *HilA* codifica para una proteína que promueve la expresión de genes invasivos. A su vez, se ha reportado que las cepas de *Salmonella* que poseen el gen *HilA* logran evadir el sistema inmune (Barilli, Bacci et al. 2018). Por otra parte las SPI también albergan genes que codifican para enterotoxinas como el gen *stn* el cual codifica para una proteína que promueve la apoptosis en las células del intestino, siendo uno de los principales agentes causantes de diarreas por *Salmonella* (Nakano, Yamasaki et al. 2012; Fardsanei, Soltan Dallal et al. 2017). Por otra parte, *Salmonella* cuenta con diversos genes que le ayudan a formar biopelículas lo cual puede aumentar la resistencia de las bacterias frente a los antibióticos, a los desinfectantes y a la respuesta inmunológica del hospedador, uno de los genes más importantes asociados a la formación de biopelículas por parte de *Salmonella* es *CsgD*, este codifica para una proteína la cual regula de manera positiva en la formación de biopelículas.

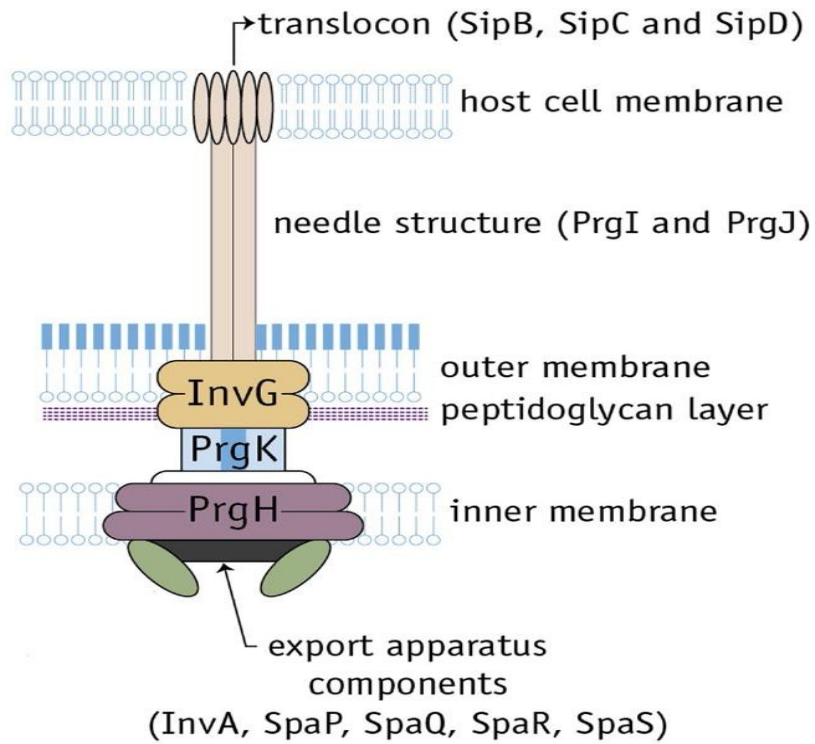


Figura 4: Sistema de Secreción tipo III (T3SS) de *Salmonella*. Es un sistema dependiente de contacto el cual se activa por contacto con la célula de hospedador, para posteriormente inyectar proteínas tóxicas a la célula del hospedador (Marin, Suárez et al. 2006)

Otro gen de suma importancia en la formación de biopelículas es *OmpR*, se ha reportado que este gen actúa sobre el promotor del gen *CsgD* promoviendo que su expresión sea aún mayor, dando como resultado que la formación de las biopelículas sea más efectiva y rápida (Gonzalez, Tucker et al. 2019; MacKenzie, Wang et al. 2019).

En el mismo sentido se ha informado de que *Salmonella* puede poseer plásmidos de virulencia específicos de serotipo. Estos plásmidos se caracterizadas por un bajo número de copias (generalmente de una a dos copias por célula), y dependiendo del el serotipo, su tamaño varía de 50 a 100 kb (van Asten and van Dijk 2005). Se ha sugerido que los genes *spv* son importantes para la patogénesis en humanos ya que las cepas portadoras de *spv* dominan entre los aislados clínicos de pacientes con bacteriemia no tifoidea. Los genes *spv* también son necesarios para la virulencia completa de *S. typhimurium* en modelos de infección sistémica en ratones, pero sus funciones son poco conocidas. El operón consta de cinco genes, llamados *spvR*, *A*, *B*, *C* y *D* (Mazurkiewicz, Thomas et al. 2008). La expresión del operón depende de *spvR*, que codifica un regulador transcripcional positivo *spvA* parece ser prescindible para la virulencia y su función es desconocida, *spvB* codifica una actina-ribosiltransferasa, que tras la entrega a las células huésped modifica la actina y bloquea su polimerización en filamentos de actina F (Otto, Tezcan-Merdol et al. 2000). Durante las infecciones de macrófagos *in vitro*, la pérdida del citoesqueleto de actina resulta en una forma de citotoxicidad retardada, que se manifiesta por desprendimiento celular y apoptosis de las células infectadas. La función de *spvD* es desconocida, pero contribuye a la virulencia de *S. typhimurium* en ratones (Mazurkiewicz, Thomas et al. 2008; Cheng, Eade et al. 2019; Jajere 2019). Sin embargo, el gen *spvC* es uno de los importantes dentro de la familia *spv*, *spvC* codifica para fosfotreonina liasa la cual bloquea la función proinflamatoria de la vía MAPK, la cual regula la transcripción de diferentes genes en la célula eucariota (huésped) facilitando la propagación de bacterias de célula a célula. (Neumann, Fraiture et al. 2014; Cheng, Eade et al. 2019).

Por lo que, de acuerdo a la carga de genes de factores de virulencia que contenga *Salmonella* al momento de generar una infección, aumentará o disminuirá la intensidad del cuadro clínico presentado por el paciente (Haraga, Ohlson et al. 2008).

4 Cuadro clínico de la Salmonelosis

Salmonella spp al ser ingerida por vía oral sobrevive al bajo pH del estómago y evade las múltiples defensas del intestino delgado para poder acceder al epitelio. *Salmonella* entra preferentemente en las células M, que las transportan a las células linfoides (T y B) en las placas de Peyer subyacentes (Figura 2). Una vez que atraviesan el epitelio, los serotipos de *Salmonella* que están asociados con enfermedades sistémicas entran en los macrófagos intestinales y se diseminan a través del sistema retículo endotelial. Por el contrario, las cepas de *Salmonella* no tifoideas inducen una respuesta inflamatoria local temprana, que da como resultado la infiltración de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) en la luz intestinal y la diarrea. (Haraga, Ohlson et al. 2008).

Los principales mecanismos de virulencia de *Salmonella* tifoidea incluyen la invasión de las células epiteliales, la supervivencia dentro de ellas asimismo, de macrófagos (Figura 5). Las cepas de *Salmonella* que resisten el entorno de pH bajo del estómago llegan al intestino, atraviesan la capa de moco intestinal y se adhieren al epitelio intestinal mediante adhesinas como las codificadas en SP-3 y SP4. Una vez unido, *Salmonella* expresa el Sistema de secreción tipo 3 (SST3) localizado en SPI-1 y el microorganismo se engulle en la célula epitelial. La mucosa cecal convierte el ácido sulfúrico producido por la microbiota en tiosulfato como respuesta protectora. Durante la invasión de *Salmonella*, los neutrófilos se liberan a la luz intestinal y convierten el tiosulfato en tetracionato, que puede usarse como aceptor de electrones respiratorio por *Salmonella* y les confiere la capacidad de crecer más que los competidores comensales de fermentación. Dentro del citoplasma, *Salmonella* se encuentra en vacuolas y expresa un segundo T3SS ubicado en SPI-2, de importancia clave para sobrevivir y replicarse dentro de las células

hospedadoras (células epiteliales y macrófagos), las vacuolas maduras migran cerca del aparato de Golgi y las células de *Salmonella* se replican, cuando la *Salmonella* cruza el epitelio es tragado por los fagocitos como macrófagos sobreviviendo y posteriormente se replica en vacuolas con una respuesta similar a la de las células epiteliales. La migración de los fagocitos facilita la diseminación en el huésped por el hígado y el bazo, causando una infección sistémica. (Roer, Hendriksen et al. 2016; Yang, Domesle et al. 2016; Wang, Yan et al. 2018)

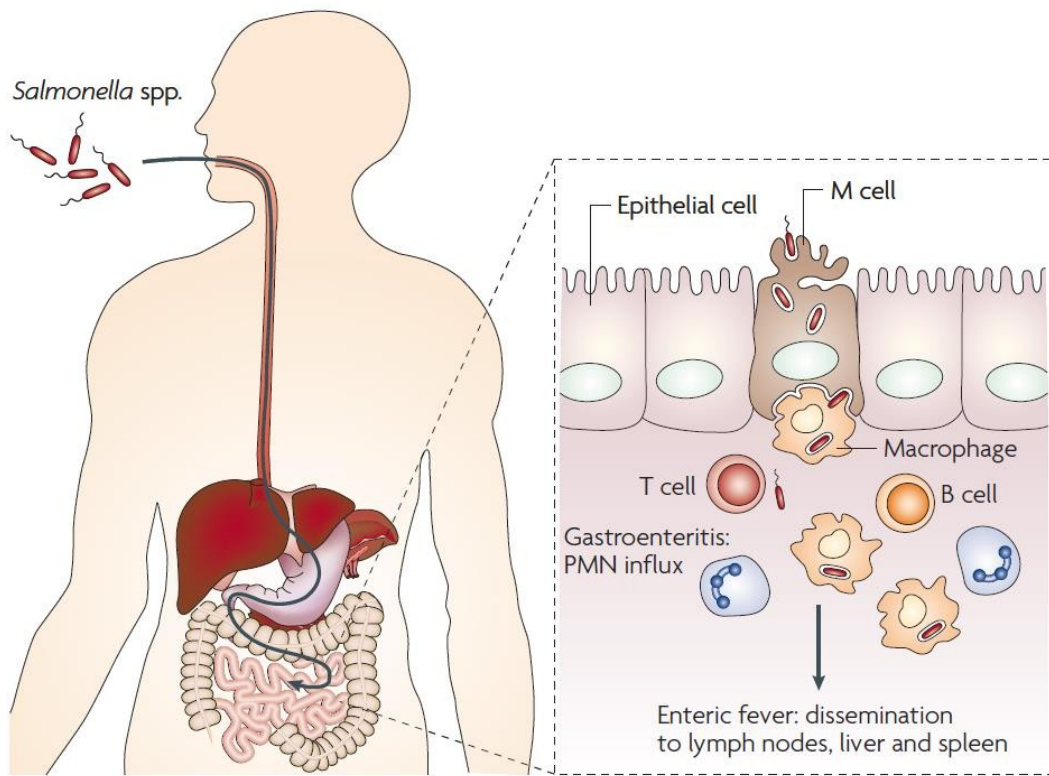


Figura 5. Mecanismo de infección por *Salmonella*. Al ser ingerida por vía oral *Salmonella* se adaptan a bajo pH del estómago y evade las defensas del intestino delgado para finalmente acceder al epitelio, donde se internaliza en macrófagos, células M, entre otras, iniciando una infección sistémica y provocando la lisis de estas células (Haraga, Ohlson et al. 2008)

La salmonelosis puede presentar cuadros clínicos diferentes como la gastroenteritis no tifoidea, la cual es una causa importante de enfermedad diarreica en todo el mundo. La incidencia de la enfermedad causada por especies de *Salmonella* no tifoideas es más alta en países en desarrollo, pero también es de gran importancia en los países desarrollados, cada año ocurren alrededor 93.8 millones de casos globales de gastroenteritis por *Salmonella*, de los cuales más del 85% son transmitidos por los alimentos (Gal-Mor 2019; Mukherjee, Nolan et al. 2019).

La enfermedad en humanos inicia generalmente por la ingestión de más de 50 000 bacterias en alimentos o agua contaminados los síntomas ocurren entre 6 y 72 horas después del consumo. El inicio de los síntomas está marcado por inicio agudo, calambres, dolor abdominal, diarrea con o sin sangre náuseas y los vómitos también son comunes. Asimismo, provoca inflamación en el intestino grueso, con infecciones raras en el yeyuno, el duodeno y el estómago. La infección enterocolítica en los niños se caracteriza por una mayor gravedad inflamatoria, diarrea sanguinolenta y una mayor duración de la infección y el riesgo de complicaciones (Luzina and Lareva 2013). En ausencia de tratamiento para infecciones limitadas en el intestino, los síntomas generalmente duran entre 5-7 días y se resuelven espontáneamente. El tratamiento de los desequilibrios de líquidos y electrolitos mediante rehidratación oral o intravenosa es necesario en los casos en que la pérdida de líquidos es sustancial. En adultos, la terapia antimicrobiana específica está indicada solo en presencia de signos positivos de enfermedad invasiva y no disminuye la duración de la enfermedad ni la gravedad de los síntomas. La infección intestinal neonatal también requiere tratamiento para prevenir la invasión (Coburn, Grassl et al. 2007), La enfermedad suele ser autolimitada, pero puede ser necesaria la hospitalización en casos de diarrea grave. Además, las infecciones entéricas por *Salmonella* no tifoidea pueden provocar complicaciones graves, como bacteriemia, especialmente en los muy jóvenes, los ancianos y los pacientes inmunocomprometidos. Además, la resistencia a los antimicrobianos en las especies de *Salmonella* no

tifoideas se ha convertido en un problema serio en todo el mundo (Hung, Lay et al. 2017).

Así mismo algunas subespecies *Salmonella* como, *Typhi* y *Paratyphi* son serotipos que pueden invadir el torrente sanguíneo, causar fiebre tifoidea y paratifoidea respectivamente, también conocida conjuntamente como "fiebre entérica". Están confinados al huésped humano y se transmiten a través de la ruta fecal-oral. La fiebre entérica representa una grave carga de morbilidad en entornos de escasos recursos, donde la infección está relacionada con un saneamiento deficiente y un acceso limitado al agua potable. Aunque la fiebre entérica se ha vuelto rara en los países occidentales, sigue afectando a los viajeros internacionales que regresan de países endémicos (Coburn, Grassl et al. 2007). En humanos, la enfermedad tifoidea se manifiesta 7 o 15 días después de la inoculación bacteriana, generando un malestar general, con fiebre, dolor abdominal con o sin otros síntomas, incluyendo dolor de cabeza, mialgias, náuseas, anorexia y estreñimiento. La diarrea ocurre ocasionalmente, pero es típica solo de infección en el inmunocomprometido. La hepatoesplenomegalia es común, pero no está presente en todos los casos, y la sensibilidad abdominal difusa es habitual. La fiebre suele ser leve al principio. Sin embargo, esta empeora a medida que progresa la enfermedad, estos síntomas desaparecen después de varios períodos de infección, aunque el transporte de la bacteria puede continuar en pacientes post-sintomáticos durante meses o años. Durante mucho tiempo, se pensó que *Salmonella paratyphi* causaba una enfermedad más leve que la *Salmonella Typhi*, pero varios estudios han contradicho esto. Para ambos serotipos, la resistencia a los antibióticos se informa cada vez más y ahora existe una presencia generalizada de co-resistencia frente a las opciones de tratamiento de primera línea de ampicilina, cotrimoxazol y cloranfenicol (conocida como "resistencia a múltiples fármacos") y una menor susceptibilidad a la ciprofloxacina, Son preocupantes los informes recientes sobre la resistencia emergente contra las cefalosporinas de tercera generación y la azitromicina, las opciones de tratamiento alternativas actuales (Gal-Mor 2019)

a Diagnóstico clínico de *Salmonella* spp.

Actualmente existen diferentes métodos diagnósticos que utilizan para la identificación de *Salmonella* spp., sin embargo, según la mayor parte de estudios realizados, el cultivo microbiológico es la prueba más comúnmente empleada para el aislamiento de la bacteria a partir de heces y tejidos. El método ideal debe tener una alta sensibilidad, así como especificidad y ser al mismo tiempo simple, rápido y económico. Ningún método cumple con todos los criterios y ninguno es óptimo para todas las condiciones, dado que pueden presentarse alteraciones en los medios de cultivo y algunas pruebas bioquímicas, por lo tanto, se utilizan métodos de diagnóstico que están innovando para el aislamiento de *Salmonella* spp. mediante el uso de pruebas serológicas y moleculares, como ELISA y PCR respectivamente, esta última tiene la capacidad de detectar un pequeño número de organismos del género *Salmonella* spp (Dickel, Rodrigues et al. 2005). Estos métodos arrojan resultados favorables y confiables en menos tiempo, pero tienen la desventaja de ser costosos (Ward, Alinovi et al. 2005). También se puede aislar el microorganismo en la médula ósea (permite el aislamiento del germen al comienzo de la enfermedad, incluso en aquellos que han recibido antibióticos) y en lesiones de la piel (roséola). El diagnóstico serológico cada vez se usa menos por su baja sensibilidad y especificidad. Puede ser útil en aquellos pacientes en los que se sospecha la enfermedad y que han tomado antibióticos antes de la toma de hemocultivos siendo éstos negativos. (Cox, Berrang et al. 2019). Ante la sospecha de salmonelosis, el material que debe remitirse al laboratorio es variado: se enviará en caso de infección intestinal, muestra de heces; en enfermedad sistémica, se recoge una muestra de sangre para realizar un cultivo estándar (Hemocultivo). Además, es posible determinar la contaminación de alimentos y agua con esta enterobacteria, para lo cual se requiere la remisión de una muestra al laboratorio para ser analizada convenientemente, el diagnóstico incluye aislamiento, identificación bioquímica y serotipificación de las cepas aisladas (Pachón, Pulido et al. 2011).

b Métodos para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.

Los métodos microbiológicos para la detección de *Salmonella*, no van encaminados al conteo de esta bacteria, se considera una técnica cuyo resultado se reporta como la presencia o ausencia de este microorganismo en diferentes matrices. La detección está basada en el empleo de medios de cultivo selectivos y posterior caracterización de las colonias mediante pruebas bioquímicas y serológicas (González Pedraza, Pereira Sanandres et al. 2014).

El método estándar para la parte clínica es el coprocultivo también denominado como estándar de oro, el cual tiene gran valor en estudios epidemiológicos, pero, por su carga de trabajo, costo y volumen, suele ser de bajo rendimiento y bajo costo-efectividad, siendo la positividad de 1.8 al 4.4 %, además, el porcentaje de recuperación de los medios de cultivos como Mac Conkey-Hektöen es de 4 al 10%, esta baja sensibilidad es debido al número de microorganismos presentes en las heces, la competencia presente con otros microorganismos y a los cambios físico-químicos del medio de cultivo (Urrutia, Reyes et al. 2006; González Pedraza, Pereira Sanandres et al. 2014). Sin embargo, recientemente las evaluaciones de riesgos microbiológicos requieren de datos cuantitativos para estimar el riesgo de que una población contraiga salmonelosis por consumo de un determinado alimento contaminado (Soto-Varela, Gutiérrez et al. 2018). La asociación oficial de químicos analíticos (por sus siglas en ingles Association of Official Analytical Chemist), describe los pasos a seguir para obtener buenos resultados, los cuales pueden demorar entre 4 a 5 días (Feldsine, Lienau et al. 2003). El aislamiento e identificación de *Salmonella* en una muestra requiere de cuatro etapas, la primera etapa consiste en un pre-enriquecimiento el objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células de *Salmonella* spp. que se encuentren en determinada matriz para su perfecto desarrollo y todos los microorganismos compiten por los nutrientes (Pedraza, Varela et al. 2014). Se realiza a partir de medios de cultivo no selectivos como agua peptonada caldo nutritivo, caldo lactosado (Gelli, Jakabi et al. 2002) o agua destilada estéril adicionada con solución de verde brillante al 0,1% en el caso de

leche en polvo (Palomino-Camargo and González-Muñoz 2014). Es necesario una incubación a 37°C durante 18 a 24 horas. La segunda etapa es la del enriquecimiento selectivo, esta etapa estimula, el crecimiento de *Salmonella* spp. inhibiendo el crecimiento de la flora acompañante; los medios de cultivo utilizados son, Caldo Tetrionato-Bilis-Verde Brillante según Mueller-Kauffmann, Caldo Rappaport-Vasiliadis y Selenito Cistina (Pérez, Rivera et al. 2004).

En la tercera etapa se realiza el aislamiento en medios selectivos, esta etapa permite la diferenciación de colonias de *Salmonella* de otras bacterias, esta diferenciación radica en la composición de los distintos medios que permiten el crecimiento de las colonias con aspectos característicos. Para aislar y diferenciar las colonias de *Salmonella*, los medios de cultivo contienen sustancias inhibitorias tales como: antibióticos, sales biliares, desoxicolato, verde brillante, sulfito de bismuto, los medios más empleados son: agar Entérico Hektöen, agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD) y agar sulfito de Bismuto (Gelli, Jakabi et al. 2002). Por ultimo para la cuarta etapa se lleva a cabo un conjunto de pruebas bioquímicas diferenciales en esta etapa se diferencian las bacterias por su actividad metabólica. La identificación o confirmación de las colonias presuntivas de *Salmonella*, se lleva a cabo en dos medios diferenciales usados simultáneamente como el agar triple azúcar hierro (TSI) y el agar Lisina hierro (LIA), también se realizan pruebas bioquímicas complementarias como urea, fermentación del dulcitol, crecimiento en caldo KCN, utilización del malonato de sodio y producción del indol (Pérez, Rivera et al. 2004; Gonzalez Pedraza, Pereira Sanandres et al. 2014).

La mayoría de los serotipos aisladas en el hombre y los animales, pertenecen a *Salmonella enterica* subespecie *enterica*, poseen características bioquímicas semejantes, lo cual contribuye a su identificación. Sin embargo, un serotipo denominado *S. typhi*, presenta características bioquímicas únicas que lo diferencian de otros serotipos, destacándose un metabolismo muy lento en comparación con los demás, una baja producción de H₂S, y reacciones negativas para el Citrato de Simmons, ornitina descarboxilasa; gas de glucosa; fermentación del dulcitol, arabinosa, rhamnosa y acetato (González Pedraza, Pereira Sanandres et al. 2014; Ricke, Kim et al. 2018).

5 Resistencia de *Salmonella* spp. a los antibióticos

Hoy en día, uno de los principales problemas de salud pública asociados con *Salmonella*, además del cuadro diarreico que esta provoca, es la resistencia a antibióticos que esta presenta. Se entiende por resistencia a antibioticos, el mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los antibióticos, lo que aumenta considerablemente la mortalidad por *Salmonella* debido al fracaso del tratamiento (Patel, Bharti et al. 2017; Britto, John et al. 2019).

La principal causa del aumento de la resistencia antibióticos se debe a la implementación de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana y el desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los antibióticos, sumado a esto el uso irracional de los antibióticos en la producción animal. Se ha demostrado que *Salmonella* spp. aislada de diferentes fuentes, como animales de granja, carne cruda y mariscos, tiene resistencia a diferentes clases de antimicrobianos, como penicilina, sulfonamidas, tetraciclinas, fluoroquinolonas, aminoglucósidos y cefalosporinas. Además, en los últimos años se ha informado sobre una amplia gama de brotes causados por *Salmonella* spp multi-fármaco-resistente (resistente 2 o más antibióticos) en todo el mundo (Ghoddusi, Nayeri Fasaee et al. 2019). Además la resistencia puede tener un sustrato genético adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos, los cuales se basan en varias actividades que protegen a la bacteria de los antibióticos como: Impermeabilidad, inactivación, expulsión, desviación y alteración del objetivo (Figura 6) (Calderón, Delgado et al. 2012).

a Modificación enzimática del antibiótico

Uno de los mecanismos de defensa a antibióticos que puede adquirir *Salmonella* es la modificación enzimática del antibiótico, esto se debe a la expresión de enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico provocando que este pierda su funcionalidad, algunas de estas proteínas se denominan B-lactamasas y son capaces de hidrolizar el anillo B-lactámico que poseen los antibióticos de

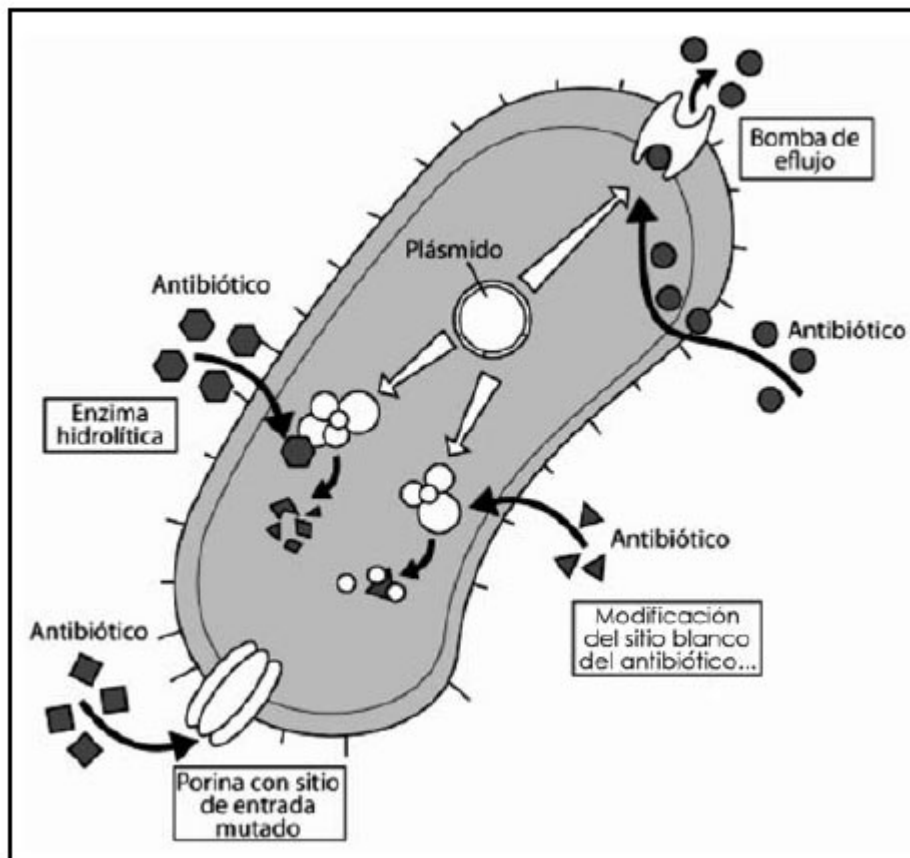


Figura 6. Mecanismos resistencia a antibióticos. Estos se basan en varias actividades que protegen a la bacteria de los antibióticos como: Impermeabilidad, inactivación, expulsión, desviación y alteración del objetivo (Calderón, Delgado et al. 2012)

esta familia. A su vez existe otro grupo de enzimas que son capaces de modificar los aminoglucósidos mediante reacciones de acetilación, acetilación y fosforilación. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos, lo cual permite su fácil transferencia entre diferentes bacterias, lo que representa un gran reto para el control de las infecciones (Tafur, Torres et al. 2011).

Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas (como las cefalosporinas de tercera generación), el aztreonam, las penicilinas y las cefalosporinas de espectro reducido, estas no pueden hidrolizar cefamicinas (cefoxitina y cefotetán) y carbapenem (Rojas and Del Valle 2009). Se han descrito varias familias de BLEE, y las más prevalentes son las TEM, SHV y CTX-M. La mayoría de BLEE se ha originado por medio de mutaciones espontáneas de β -lactamasas de espectro reducido, por cambios en los aminoácidos en su sitio activo, lo que permite ampliar su capacidad hidrolítica. En la práctica, la presencia de cualquier tipo de infección moderada a seria por una bacteria productora de BLEE debe llevar al clínico a considerarla como resistente a las cefalosporinas de amplio espectro y a los monobactámicos (Tafur, Torres et al. 2011).

b Bombas de salida de antibiótico.

Las bombas de salida han sido reconocidas por muchos años y están presentes en cada célula. Su popularidad ha venido en aumento concomitantemente con la creciente evidencia que las implica como responsables de resistencia contra antimicrobianos (Moreno, González et al. 2009). Se encuentran en la membrana externa de la célula y expulsan hacia el exterior de la bacteria gran cantidad de moléculas, entre ellas, metabolitos, detergentes, solventes orgánicos y antibióticos. Para ello, utilizan la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato energético. El principal papel de este mecanismo es mantener bajas las concentraciones de sustancias tóxicas dentro de la célula (Sharma, Kumari et al. 2019).

Las bombas de salida pueden ser específicas para un fármaco (generalmente, codificadas en plásmido) o inespecíficas (codificadas por el cromosoma bacteriano). Si se aumenta la expresión de una bomba inespecífica, puede generarse resistencia cruzada a múltiples clases de fármacos empleándose un solo mecanismo (Depardieu, Podglajen et al. 2007).

c Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antibiótico

Las porinas son canales embebidos en la membrana externa de las bacterias Gram negativos como *Salmonella*, estos trabajan como filtros en una membrana permeable. Además de otras funciones vitales, estas moléculas tienen la capacidad de retardar el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria. Algunos antibióticos como los β -lactámicos logran entrar al interior de la bacteria por medio de una porina. Sin embargo, al ocurrir cambios en su conformación provocan que la membrana externa no permita el paso a estos agentes al espacio periplásmico, lo que se ve reflejado en la resistencia a antibióticos. Las porinas pueden ser específicas o inespecíficas dependiendo de su selectividad para las moléculas que dejan pasar (Vila, Martí et al. 2007; Tafur, Torres et al. 2011).

d Modificación del sitio activo

El cambio en la estructura terciaria del sitio donde los antibióticos ejercen su acción es el otro mecanismo de resistencia. Los sitios de acción se pueden encontrar en diferentes componentes bacterianos que involucran actividades celulares vitales. En el caso de la síntesis de la pared celular, las proteínas unidoras de penicilinas son las responsables de la transpeptidación, proceso fundamental para la estabilidad de la pared celular. Todos los β -lactámicos tienen como blanco las proteínas unidoras de penicilinas, que llevan a la lisis de la pared celular. Las alteraciones estructurales secundarias a mutaciones pueden disminuir la afinidad de los β -lactámicos por las proteínas unidoras de penicilinas al permitir que la bacteria continúe con su pared indemne y sobreviva (Depardieu, Podglajen et al. 2007).

Sin embargo, el uso indiscriminado de los antibióticos, en medicina humana, uso veterinario y

producción animal. A impactado de manera negativa el control de *Salmonella* en todo el mundo (Tafur, Torres et al. 2011).

6 Epidemiología de *Salmonella* spp. en el mundo

La salmonelosis tiene una gran importancia epidemiológica. Cabe destacar que *Salmonella* es una de las cuatro principales causas de enfermedades diarreicas en el mundo (OMS 2017). En los últimos años ha habido un aumento progresivo de aislamientos de *Salmonella* de origen humano, animal y ambiental. (García-Huidobro, Carreño et al. 2012). Los brotes internacionales de *Salmonella* (Cuadro 2) relacionados con el consumo de alimentos contaminados en las últimas décadas han tenido un gran impacto en la insalubridad de los alimentos, la razón principal de esta atención es que *Salmonella* spp. es transmitido por alimentos en todo el mundo (Cuadro 2), debido a la facilidad fe *Salmonella* spp para desarrollarse en gran número de alimentos uno de los principales agentes responsables de infecciones gastrointestinales en el mundo (Hung, Lay et al. 2017).

Según las cifras publicadas por los centros para el control y la prevención de enfermedades, anualmente se han producido un millón de enfermedades transmitidas por los alimentos causadas por *Salmonella* tan solo en los Estados Unidos, con un total de 19,000 hospitalizaciones y 380 muertes (<https://www.cdc.gov/salmonella/>). Las infecciones por *Salmonella* tienen un impacto considerable global en la salud humana, con un estimado de 150 millones de casos como resultado de la transmisión alimentaria en 2010 (Chinnappan, AlAmer et al. 2017). Además, la infección por *Salmonella* representa un gasto aproximado de \$ 365 millones de dólares en costos médicos cada año. (Chinnappan, AlAmer et al. 2017; Jung, Park et al. 2018; Wang, Yan et al. 2018). Por otra parte, los patógenos entéricos representan una carga significativa de la enfermedad en Canadá, causando un estimado de 11 millones de enfermedades y un costo de \$ 3.7 billones de dólares anuales (Parmley, Pintar et al. 2013; Chaabna and Alali 2017). Por lo que, no solo los países en bajo desarrollo se ven afectados, de acuerdo con el

Cuadro 2. Brotes de *Salmonella* en el mundo

Año	Número de Casos	Tipo de alimento	País	Autor
2019	358	Pavo	EUA	Centers for Disease and Prevention (CDC)
2018	43	Huevo	EUA	Centers for Disease and Prevention (CDC)
2017	218	Pollo	Canadá	Centers for Disease and Prevention (CDC)
2009	714	Mantequilla de Maní	EUA	Centers for Disease and Prevention (CDC)
2006	400	Pollo	Honduras	Avila y col. 2007
2005	523	Carne de Cerdo	Alemania	Omer y col. 2011

anuario estadístico de alimentos y medicamentos publicado por el Ministerio de Seguridad Alimentaria y Medicamentos (MFDS), en Corea genero *Salmonella* afectó a más de 1400 pacientes en 2014 (Sandt, Fedorka-Cray et al. 2013; Jung, Park et al. 2018). En 2011, la certificación en Auditoría de Servicios Financieros (CFSA) lanzó un sistema de vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos basado en laboratorio a nivel mundial, donde *Salmonella enterica*, el agente etiológico de la salmonelosis, se ha detectado en todas las provincias, excepto en el Tíbet (para el que no existen datos de vigilancia), con tasas positivas que oscilan entre el 0,3% y aproximadamente el 9,7% (Parmley, Pintar et al. 2013). Las 10 tasas positivas más altas se informaron principalmente en las regiones del interior y las grandes ciudades. De estos, los dos serotipos más comunes son Typhimurium (33.3%) y Enteritidis (23.9%) (Parmley, Pintar et al. 2013). En los últimos años, la *Salmonella* no tifoidea ha sido reconocida como el patógeno dominante en las enfermedades transmitidas por los alimentos en China, además, en algunas regiones, su prevalencia ha aumentado a 12.1% (Bu, Jia et al. 2019). De una vigilancia nacional de *Salmonella* en 2008, *Salmonella* se detectó comúnmente entre abril y octubre, durante los cuales *S. entérica* (31.4%) y *S. enterica* serotipo Typhimurium (27.3%) fueron los serotipos más comunes en Shangai, *S. enterica* serovar Enteritidis y *S. enterica* serovar typhimurium también fueron los serotipos más comúnmente detectados, que representan 27.6% y 25.5%, respectivamente(Li, Lai et al. 2013).

Sin embargo, la distribución de otro serotipo de *S. entérica* varió entre las regiones, muchas de ellas con patrones de distribución notables. El serotipo más común de Henan fue *S. enterica* serovar Typhimurium (26.9%), *S. enterica* serovar Enteritidis (16.8%) y *S. enterica* serovar Derby (9.6%). Del mismo modo, en la provincia de Guangdong, *S. entérica* serovar Typhi (30%), *S. enterica* serovar Enteritidis (13%) fueron comunes (Li, Lai et al. 2013; Viazis, Beal et al. 2015). La proporción de infecciones por *Salmonella paratyphi A* ha aumentado constantemente desde el cambio de siglo, en particular en el continente asiático. En 2013, también se observó un aumento significativo de las

infecciones por *Salmonella paratyphi A* en Camboya, un país en el que la fiebre entérica sigue siendo una de las enfermedades confirmadas por el hemocultivo más comunes. El aumento se describió tanto en residentes locales como en viajeros que regresaban de Camboya a Europa, Nueva Zelanda, Japón, Estados Unidos y México (Kuijpers et al., 2017).

7 Epidemiología de *Salmonella* spp. en México

Uno de los principales problemas en México lo constituyen las enfermedades entéricas, como la salmonelosis, la cual ocupa uno de los principales lugares dentro de las causas de la gastroenteritis. La Secretaría de Salud de México, reportó en 2014 un acumulado de 72,203 casos confirmados de salmonelosis en todo el país, siendo el mayor número de casos en los meses de mayo y julio (Aguilar-Montes de Oca, Talavera-Rojas et al. 2018), en 1999 las notificaciones de casos por salmonelosis registran un incremento de 100,342 casos, un 215 155, (tasa de 111.21 y 223.53 por 100 000 habitantes, respectivamente) con una mayor incidencia en los grupos de 15 a 24 años, de 25 a 44 años y de 45 a 64 años, siendo el segundo el grupo más afectado (Paniagua-Contreras, Monroy-Pérez et al. 2008).

Asimismo, en el Sistema Nacional de vigilancia epidemiológica (SNVE) en el 2017 se reportó un total 147,529 y 126,277 casos para el año 2018, en la República Mexicana (SNVE, 2019). En cuanto a la frecuencia con la relación con los meses del año, esta se intensifica a partir de los meses de abril y mayo alcanzando un pico en julio, con una disminución en septiembre y octubre. Por otra parte, se ha reportado un aumento de brotes en la exportación de alimentos originarios de México, además, de brotes identificados en diversos estados de la República Mexicana (Cuadro 3). En el año 2014 en el estado de México, se identificó dentro de grupo alimentos de cárnicos la carne más contaminada por *Salmonella* es la carne de Cerdo, mientras que el serotipo que se encontró con mayor frecuencia fue *Salmonella Derby* (Delgado-González, González-Álvarez et al. 2016). Mientras que en Tamaulipas en el año 2005 se encontró una prevalencia de alimentos contaminados por *Salmonella* del 3.9% donde el grupo de

Cuadro 3. Brotes por *Salmonella* en alimentos en México.

Año	Número de casos	Tipo de alimento	Origen	Lugar de brote	Autor
2017	240	Papaya	Jalisco, Colima, Campeche	EUA	Administración de Alimentos y Medicamentos(FDA)
2016	50	Queso	California	EUA	Administración de Alimentos y Medicamentos(FDA)
2015	311	Pepino	Sinaloa	EUA	Administración de Alimentos y Medicamentos(FDA)
2008	381	Tomate	Sinaloa	EUA	Centers for Disease and Prevention (CDC)
2005	209	Carne de Cerdo	Guerrero	Guerrero	Hernández y col. 2006

alimentos más afectados fue cárnicos específicamente la carne de cerdo, el serotipo que se identificó con mayor frecuencia fue *Salmonella entérica* (Charles-Hernández, Medina-Solís et al. 2005) .

Por otra parte, en el estado de Durango, se realizó un estudio con la finalidad de identificar la prevalencia de *Salmonella* spp. en carne de pollo en el estado, para el estudio se recolectaron un total de 76 muestras de pollo, al llevar a cabo el análisis obtuvieron como resultado que *Salmonella* se encontró en el 56% de las muestras (Hernández et al., 2016).

En el 2000 Gutiérrez y col. analizaron 24,394 cepas de *Salmonella* aisladas en diferentes laboratorios distribuidos por la republica mexicana en durante el periodo de 1972 a 1999, con la finalidad de identificar los serotipos presentes en México obtenido como resultado, de las 24 394 cepas de *Salmonella*, de las cuales 15 843 (64.9%) fueron de origen humano y 8,551 (35.1%) de origen no humano. Para conocer mejor la distribución de los serotipos se dividieron en varios grupos de la fuente de aislamiento. Del grupo humano, 95.2% fueron de coprocultivo y 4.8% de origen extraintestinal, del grupo no humano, 57.6% se aisló de alimentos, 4.5%, de agua y 37.9%, de muestras ambientales. De las *Salmonella* aisladas de alimentos, el 51% correspondió a alimentos preparados, el 23% a cárnicos (productos derivados de la carne como: jamón, longaniza, chorizo, queso de puerco, etc.), 22% a carne (molida de res, pollo, pescado), 3% a lácteos y 1% a huevo (fresco y en polvo). Durante estos años, se identificaron 199 serotipos diferentes, se encontraron algunos que no se habían visto anteriormente. El serotipo más frecuente de las muestras fue *S. typhimurium*, seguido de *S. enteritidis*. En contraste, en muestras no humanas el serotipo más frecuente fue *S. Derby*, seguido de *S. anatum* (Gutiérrez et al., 2000).

En el año 2018 un grupo de investigadores reportaron la trayectoria de *Salmonella* durante el periodo 1984 a 2017 comprendiendo un total de 50 años, observando un aumento considerable de fiebre tifoidea pasando de 7,629 a 45,280 casos; y para fiebre paratifoidea/otras salmonelosis de 31,943 a 104,471 casos, respectivamente. Estos datos estadísticos muestran a Sinaloa y Tamaulipas como los estados con mayor índice de fiebre tifoidea con 12.9 % y 10.25 %, respectivamente. Para el caso de fiebre

paratifoidea y otras salmonelosis, Chiapas (12.99 %), Veracruz (9.37 %) y Tabasco (8.31 %) son los estados con mayor número de casos (Contreras-Soto, Medrano-Félix et al. 2018).

8 Epidemiología en el Estado Sinaloa, México

En Sinaloa *Salmonella ssp.* ha tenido un gran impacto debido a gran número de industrias relacionadas con los alimentos presentes en este estado, así como la agricultura, pesca y ganadería. El sistema nacional de vigilancia epidemiológica, solo en el 2018 se reportaron 3,813 casos relacionados con *Salmonella* de los cuales, 2,594 se asociaron con fiebre tifoidea, 418 con fiebre paratifoidea el resto de los casos se relacionaron con otros tipos de salmonelosis. Sin embargo, hasta la semana 43 del año 2019 se han reportado 7821 casos, 4008 casos más que el total del 2018, lo que sugiere que en el año 2019 se triplicara la incidencia con respecto al 2018 (SNVE, 2019). Además, en Sinaloa se han reportado diversos brotes de *Salmonella* en alimentos de origen sinaloense, en el año 2008 se reportó un brote de *Salmonella* en tomate proveniente de Sinaloa que dejó 381 casos de infecciones (CDC,2009). Asimismo, en el año 2015 se presentó un brote de *Salmonella* en pepino de proveniente de Sinaloa, e cual dejó 311 casos de personas infectadas por consumo de este alimento (FDA,2016). Por otra parte, en el año 2018 un grupo de investigadores analizo el perfil de resistencia a antibióticos de 111 cepas de *Salmonella* aislada de agua de ríos del valle de Culiacán Sinaloa, obtenido como resultado que el 50.5% de las cepas de *Salmonella* fue resistente a al menos un antibiótico, mientras que el 41.1% presento multi-fármaco-resistencia (MDR). A su vez, el antibiótico al que *Salmonella* presento mayor resistencia fue ampicilina, seguido de neomicina y cloranfenicol (Castañeda-Ruelas and Jiménez-Edeza 2018). Sin embargo, en Sinaloa no existen reportes sobre la resistencia a antibióticos y los principales factores de virulencia de cepas de *Salmonella* aisladas de alimento.

IV PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente se sabe que *Salmonella* puede sobrevivir en casi cualquier tipo de alimento, lo que facilita su diseminación en el mundo por medio de la exportación e importación de estos alimentos. Cada año, aproximadamente una de cada 10 personas contrae una enfermedad a causa de algún alimento contaminado en el mundo. Aunado a esto se reportan gran número de brotes de *Salmonella* en todo el mundo, tanto en países en desarrollo, como en países desarrollados, por lo que cada vez se identifican nuevas cepas con un alto nivel de virulencia y resistente a los principales antibióticos utilizados para el control de este microorganismo.

En México se reportan un gran número de casos de Salmonelosis, solo en el año 2018 se reportaron 124,277 casos. Por su parte el estado de Sinaloa se encuentra dentro de los 5 estados de la República Mexicana con mayor prevalencia de *Salmonelosis* ya que tan solo en el año 2018 se reportaron 12,485 casos de esta enfermedad. Sin embargo, a la fecha no existen reportes que muestren los principales factores de virulencia de las cepas de *Salmonella*, así como sus perfiles de resistencia a antibióticos, su distribución en alimentos y distribución geográfica en Sinaloa.

Es importante mencionar que el estado de Sinaloa es uno de los estados altamente productores de alimento ya que cuenta con una alta producción en agricultura, pesca y ganadería. Además, el estado de Sinaloa exporta diferentes tipos de alimentos a diversos estados de la República Mexicana y a diferentes países en todo el mundo. Por lo cual es de vital importancia mantener una vigilancia activa de la presencia y distribución de esta bacteria en los diferentes tipos de alimentos que se producen en nuestro estado, así como el conocer los genes que codifican para factores de virulencia e identificar el perfil de resistencia a los antibióticos en las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en el estado de Sinaloa, esto nos permitirá avanzar en el mejor entendimiento de estos organismos como agentes

etiología de diarrea en Sinaloa. Asimismo, estos resultados impactarán de manera positiva en el estado de Sinaloa, apoyando al sector salud, a la producción animal, así como al sector productor de alimentos en general.

V JUSTIFICACIÓN

Durante mucho tiempo se ha asociado *Salmonella spp.* a un amplio espectro de enfermedades infecciosas, como la fiebre tifoidea y la salmonelosis no tifoidea, que son un problema de salud pública a nivel mundial. La razón principal de atención a este patógeno, se debe a la rápida diseminación por medio de los alimentos y su capacidad para causar brotes en todo el mundo. Durante los últimos años se han reportado cepas de *Salmonella* altamente virulentas y la capacidad de resistir el tratamiento con los principales antibióticos utilizados para el control de este microorganismo. Anualmente se reportan gran número de brotes por *Salmonella* ocasionados por el consumo de alimentos contaminados en todo el mundo, tanto en países en desarrollo, como en países desarrollados. Cada año enferman 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años. *Salmonella* es una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial.

En México el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica reportó un total 124,277 casos de salmonelosis en el 2018, de los cuales 12,485 pertenecen al estado de Sinaloa lo que representa el 10% del total de casos de nuestro país y nos ubica en el quinto lugar a nivel nacional. Esta alta incidencia de Salmonelosis genera un alto costo económico relacionado con el tratamiento y hospitalización de los casos graves de Salmonelosis. Además, las diferencias en la susceptibilidad del huésped, los factores de virulencia de *Salmonella* y la resistencia a los antibióticos, contribuyen a la gravedad de la salmonelosis.

Por lo tanto, es de gran importancia el caracterizar los genes que codifican para factores de virulencia e identificar el perfil de resistencia a los antibióticos en las cepas de *Salmonella spp.* aisladas de alimentos en el estado de Sinaloa, ya que esto nos permitirá avanzar en el mejor entendimiento de estos organismos como agentes etiológicos de diarrea en Sinaloa. Al obtener estos resultados se mostrará un panorama epidemiológico actual de los diferentes factores de virulencia de *Salmonella* y la

resistencia a antibióticos que este microorganismo muestra en las cepas aisladas de alimentos. Finalmente, con los datos obtenidos se puede apoyar al sector salud, a la producción animal, así como al sector productor de alimentos en general, y esto impactara de manera positiva en el estado de Sinaloa ya que es un estado altamente productor de alimentos, y de igual forma ayudara a promover acciones preventivas para reducir la morbilidad en la población ocasionada por *Salmonella*.

VI HIPOTESIS

Las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en el estado de Sinaloa, presentan genes que codifican para los principales factores de virulencia; asimismo, exhiben resistencia a los principales antibióticos utilizados en el control de este microorganismo.

VII OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Determinar los genes que codifican para factores de virulencia y la resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en el estado de Sinaloa durante el periodo 2013-2017

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 Analizar la distribución geográfica y el tipo de alimento en el cual se realizó el aislamiento de *Salmonella* spp. en el estado de Sinaloa durante el periodo 2013-2017.

2 Identificar los genes que codifican para los principales factores de virulencia en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en Sinaloa en el periodo 2013-2017.

3 Determinar la resistencia a antibióticos de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en Sinaloa en el periodo 2013-2017.

4 Evaluar la tendencia de los factores de virulencia, la resistencia a antibióticos y distribución geográfica de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos en el estado Sinaloa en el periodo 2013-2017.

VIII MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

1 Equipo

- Agitador orbital
- Cámara de electroforesis horizontal con peines de 14 canales
- Campana de flujo laminar con luz Ultra Violeta
- Congelador a -20°C
- Fuente de poder
- Incubadora
- Placa térmica
- Ultracongelador -80°C
- Sistema de foto documentación
- Termociclador
- Transluminador con luz UV marca FOTODYNE.
- Dispensador de discos para antibiograma.

2 Material

- Asas bacteriológicas de acero
- Bata
- Botes de plástico con capacidad de 1L
- Cajas Petri desechables
- Guantes de látex
- Matraces Erlenmeyer de 125, 250, 500, 1000ml
- Micropipetas ajustables para cubrir un rango de volúmenes: 0.5-10 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l

- Papel parafilm
- Pipetas serológicas desechables de 1, 5 y 10 mL
- Probetas de 50, 500 y 1000 mL
- Puntas de micropipeta 0.5-10 μ L, 10-100 μ L y, 100-1000 μ L
- Tubos tipo ependorff de 200, 600 y 1000 μ L
- Tubos de polipropileno tipo Falcon de 15 y 50 mL
- Criotubos de 1000 μ L
- Sensidiscos impregnados de antibiótico marca Becton Dickinson.

B MÉTODOS

1 Área de estudio

Este estudio se desarrolló en el estado de Sinaloa, el cual geográficamente está localizado en el noroeste de la República Mexicana, colindando al norte con los estados de Sonora y Chihuahua, al este con Durango, al sur con Nayarit y al oeste con el Océano Pacífico y Golfo de California. Sinaloa se divide en 18 municipios (citados de Norte a Sur): Choix, El Fuerte, Ahome, Guasave, Sinaloa, Mocorito, Angostura, Salvador Alvarado, Badiraguato, Culiacán, Navolato, Cosalá, Elota, San Ignacio, Mazatlán, Concordia, Rosario y Escuinapa. El estado tiene un área total de 59 mil kilómetros cuadrados que representan el 3% del área total del país. Tiene una población de 2,966,321 habitantes, durante 8 meses del año la temperatura promedio es de 23°C y los 4 meses restantes es de 29°C (INEGI, 2019). La temperatura promedio anual es de 25°C y el promedio de humedad es de 68% (Vega-Aviña, Aguiar-Hernández et al. 2000).

2 Toma de muestras de alimentos

Las muestras de alimento fueron captadas por la Comisión Estatal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COEPRIS) y analizadas por el Laboratorio Estatal de Salud pública de Sinaloa, estas muestras pertenecen a diferentes grupos de alimentos como Cárnicos (Cerdo, Pollo, Res), Lácteos y derivados (queso fresco, requesón, leche, yogurt) Vegetales (pepino, calabaza, papa, tomate, entre otros) y Pescados y mariscos (camarón, tilapia, botete, pulpo, ostiones, entre otros). Las muestras fueron

recolectadas en el estado de Sinaloa durante el periodo de estudio que comprendió de Enero de 2013 a Diciembre de 2017 en tres regiones de muestreo Norte, Centro y Sur: 4 Municipios de la zona norte (Ahome, Guasave, Angostura y Salvador Alvarado) 3 Municipios para la zona centro (Navolato, Culiacán y Elota) y tres municipios para la zona sur (Mazatlán, Rosario y Escuinapa). Es importante mencionar que estos municipios representan más del 85% de la población total del estado de Sinaloa.

3 Análisis bacteriológico

Las muestras de alimentos colectadas se procesaron según lo descrito por el Manual Bacteriológico Analítico de la Administración de Alimentos y Medicamentos (BAM, por sus siglas en inglés) y la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Inicialmente se agregó 25 gramos de la muestra de alimento en 225 mL de agua peptonada amortiguada, y se incubó a 37 °C por 24 horas, posteriormente se transfirió 1 mL del cultivo a un tubo de caldo *Rappaport-Vassiliadis* (RVS) se dejó incubar a 37 °C por 24 h en baño de agua, a su vez se tomó 1 mL del cultivo y se transfirió a un tubo con 10 mL de caldo Tetrionato (TT) y se dejó a 37 °C por 24 h. una vez terminado el tiempo de incubación, se agregó con una asa de platino a placas con agar XLD, Sulfito de Bismuto y Hecktöen, posteriormente se incubó a 37 °C por 24h.

Las colonias presuntivas a *Salmonella* spp. aisladas de cada placa fueron sometidas a la identificación por medios bioquímicos. La identificación bioquímica se realizó a partir de agar nutritivo, con un asa estéril, tocando ligeramente el centro de la colonia seleccionada y se incubó en agar inclinado TSI, LIA y Urea a una temperatura de 37 °C por 24 h. Finalmente se llevó a cabo la interpretación como se describe en el capítulo 5 del BAM.

4 Extracción de ADN mediante choque térmico.

Las cepas de *Salmonella* spp. previamente identificadas y criopreservadas, se cultivaron en 3 ml de caldo Luria Bertani (LB) durante 18-24 h a 37 °C para alcanzar la fase estacionaria. Posteriormente las bacterias se sedimentaron mediante centrifugación a 10.000 x g durante 10 minutos y se descartó el sobrenadante, la pastilla bacteriana se resuspendió en 0,3 ml de agua grado biología molecular libre de DNAsas y RNAsas. El tubo con la mezcla se coloca en un flotador de polipropileno que se incubo en un matraz con agua en ebullición (aproximadamente a 100 °C) durante 10 minutos, al finalizar la incubación el tubo con la mezcla se agito en vortéx durante 10 segundos a velocidad máxima y se centrifugaron nuevamente a 12,000 x g durante 3 minutos. Finalmente, el sobrenadante que contenía el ADN se transfirió a tubos eppendorff de 0.5 mL y se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

5 Identificación de genes que codifican para factores de virulencia

La identificación de cada uno de los genes que codifican para factores de virulencia se realizó por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final. Para esto se seleccionaron los genes que se describen en el cuadro 4 y las reacciones se realizaron siguiendo las condiciones descritas por los autores previamente. Sin embargo, la muestra se ajustó a un volumen de 25 µL, la cual consistió en 1x GoTaq Green Master Mix (Promega) 1 µL de cada primer (concentración de 10 nM) y 2 µL de ADN genómico, finalmente se ajustó el volumen con agua grado biología molecular. La PCR se llevó a cabo en un termociclador C100 (Bio-Rad, Laboratories, Hercules, California). El control negativo se realizó simultáneamente sustituyendo el ADN bacteriano por agua grado biología molecular y como control positivo se utilizó ADN genómico de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Una vez terminado el proceso de PCR se utilizaron 10 µL de cada producto de amplificación, los cuales fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2% y teñidos con el colorante GelRed a una concentración de 1000X,

finalmente para la visualización de fragmentos de ADN amplificados se utilizó un sistema de imagen digital (Model E1 logia 100 Imagen System; Kodak). El tamaño de los fragmentos de PCR fueron comparados con un marcador de tamaño molecular de 100pb (Promega DNA step ladder).

6 Susceptibilidad a antibióticos mediante el método de Kirby-Bauer

Para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en el periodo 2013-2017, se llevó a cabo mediante el método estándar de difusión en disco en agar Mueller-Hinton II. Utilizando los sensi-discos de antibióticos (BD BBL, Sensi-Disc, Becton, Dickinson and Company, USA) que se describen a continuación: ampicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1.25 µg/23.75 µg), cloranfenicol (30 µg), ácido nalidixico (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), ceftazidima (30 µg), gentamicina (10 µg), y cefotaxima (30 µg).

En resumen, las cepas de *Salmonella* spp. fueron descongeladas en caldo infusión cerebro corazón (por sus siglas en ingles BHI) e incubadas durante 24 h a 37 °C. Posteriormente, los cultivos fueron diluidos en solución salina estéril hasta ajustar al 0.5 de la escala de McFarland que representa $1-2 \times 10^8$ UFC/mL. Posteriormente con la ayuda de un hisopo de rayón estéril, la suspensión fue inoculada en agar Mueller-Hinton II, seguido a esto depositamos los sensi-discos con la ayuda de un dispensador de 8 plazas, el noveno antibiótico lo depositamos de manera manual. Este cultivo, se incubo durante 18-24 horas a 37°C, posteriormente con la ayuda de un vernier digital se realizaron las mediciones de los halos de inhibición y de esta manera identificar si la cepa era sensible, intermedio o resistente al antibiótico evaluado, de acuerdo a los criterios del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2015).

7 Diseño de oligonucleótidos para los genes OmpC e InvA

Se realizó una búsqueda de la secuencia nucleotídica en la base de datos GeneBank con la finalidad de identificar la región codificante de los genes *OmpC* (GenBank: JX040479.1) e *InvA* (GenBank: M90846.1) de *Salmonella entérica* subsp entérica serotipo typhi, una vez identificada la secuencia de

cada gen se utilizó el programa oligo 7 para el diseño de los oligonucleótidos que se describen en el cuadro 4. Estos genes fueron seleccionados por su alto grado de conservación en las cepas de *Salmonella* spp. y se utilizaron como marcadores de identificación de las cepas a evaluar. Una vez seleccionadas las secuencias a evaluar por cada uno de los genes se procedió a realizar un análisis comparativo múltiple *in silico* mediante la Herramienta básica de búsqueda de alineamiento local (por sus siglas en inglés BLAST) que se utiliza para encontrar regiones con similitudes entre las secuencias biológicas. El programa compara secuencias de nucleótidos con secuencias de bases de datos y calcula la significancia estadística de similitud entre estas. Al finalizar el análisis *in silico* BLAST encontramos un 100% de identidad en la secuencia de los oligonucleótidos para identificar los genes *ompC* e *invA* con numero de RID TW27BGT014 y TW5YNBA501R respectivamente con respecto a *Salmonella* spp. Posteriormente, se llevó a cabo la identificación de los genes *OmpC* e *InvA* mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final. Para esto se seleccionaron los oligonucleótidos previamente diseñados y sintetizados por la casa comercial IDT como se describen en el cuadro 4. Las reacciones se realizaron ajustando a un volumen de 25 µL y esta consistió en 1x GoTaq Green Master Mix (Promega) 1 µl de cada primer (concentración de 10 nM) y 2 µl de ADN genómico, finalmente se ajustó el volumen con agua grado biología molecular. La PCR se llevó acabo en un termociclador C100 (Bio-Rad, Laboratories, Hercules, California). El control negativo se realizó simultáneamente sustituyendo el ADN por agua grado biología molecular y como control positivo se utilizó ADN genómico de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Una vez terminado el proceso de PCR se utilizaron 10 µL de cada producto de amplificación, fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2% y teñidos con el colorante GelRed a una concentración de 1000X, finalmente para la visualización de fragmentos de ADN amplificados se utilizó un sistema de imagen digital (Model E1 logia 100 Imagen System; Kodak). El tamaño de los fragmentos de PCR fueron comparados con un marcador de tamaño molecular de 100pb (Promega DNA step ladder).

Cuadro 4. Oligonucleótidos que se utilizaron en la PCR, para la amplificación de los diferentes genes que codifican para factores de virulencia de *Salmonella* spp.

Gen	Secuencia Primer (5'- 3')	Tamaño (pb)	Temperatura (°C)	Referencia
spvC	F-ACTCCTTGCACAACCAAATGCGGA	447	56	Fardsanei y col. 2017
	R-TGTCTCTGCATTTGCCACCATCA			
spoB	F: TCAGAAGRCGTCTAACCCTC	517	58	Osman y col. 2014
	R:TACCGTCCTCATGCACACTC			
SpoE	F-CGAGTAAAGACCCCGCATAC	362	58	Fardsanei y col. 2017
	R-GAGTCGGCATAGCACACTCA			
Stn	F-TTGTCTCGCTATCACTGGCAACC	617	59	Fardsanei y col. 2017
	R-ATTCGTAACCCGCTCTCGTCC			
HilA	F-CGTGAAGGGATTATCGCAGT	296	56	Fardsanei y col. 2017
	R-GTCCGGGAATACATCTGAGC			
avrA	F: CCTGTATTGTTGAGCGTCTGG	422	58	Osman y col. 2014
	R: AGAAGAGCTTCGTTGAATGTCC			
CsgD	F-ATGTTTAATGAAGTCCATAGTAGTCATG	651	55	Liu y col. 2014
	R-TTACCGCCTGAGATTATCGTTT			
ompR	F- ATGCAAGAGAATTATAAGATTCTGGTG	720	58	Lu y col. 2012
	R- TCATGCTTTAGAACCGTCCG			
OmpC	F- TACTGCCGATCAGAACAACACC	447	56	Diseñado en este trabajo
	R- ACGCAGACCAAAGTCGAAC			
InvA	F -ATATTACTTGTGCCGAAGAGC	517	55	Diseñado en este trabajo
	R- CTCTTCATGCGTTACCCAG			

Por otra parte, se realizó una prueba de especificidad con el resto de primers de los genes de virulencia de *Salmonella* (*SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-SpoE-SpvC*) utilizando como control diferentes bacterias *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella* Weltevreden, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*.

Posteriormente se llevó a cabo la prueba de especificidad de los genes *SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-SpoE-SpvC* mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final. Para esto se seleccionaron los oligonucleótidos los cuales ya fueron reportados por otros autores y sintetizados por la casa comercial IDT como se describen en el cuadro 4, y en la sección 5 identificación de genes de virulencia. Al finalizar el análisis encontramos las cepas *Salmonella typhimurium*, *Salmonella* Weltevreden amplificaron los fragmentos específicos correspondientes a 447 pb y 517 pb de *ompC* e *invA* respectivamente, así como para el resto de los fragmentos específicos de los genes de virulencia evaluados, sin embargo al evaluar la presencia de estos genes en las cepas de *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*, no amplificaron los fragmentos específicos lo que significa que estas cepas no cuentan con estos genes y por lo tanto estos oligonucleótidos tiene una especificidad 100% para el género *Salmonella*.

IX RESULTADOS

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigación Aplicado a la Salud Pública de la Facultad de Medicina (CIASaP) en colaboración con el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Sinaloa, se analizaron un total de 3,463 muestras de alimento, las cuales se agruparon de acuerdo a su origen en cárnicos (cerdo, pollo, res), lácteos y derivados (queso fresco, requesón, leche, yogurt entre otros), vegetales (pepino, calabaza, papa, entre otros) pescado y mariscos (camarón, tilapia, botete, pulpo, ostiones, entre otros) . Las muestras fueron recolectadas en el estado de Sinaloa durante el periodo de estudio que comprendió de Enero de 2013 a Diciembre de 2017 y el estado se dividió en tres regiones de muestreo norte, centro y sur: cuatro municipios de la zona norte (Ahome, Guasave, Angostura y Salvador Alvarado) tres municipios para la zona centro (Navolato, Culiacán y Elota) y tres municipios para la zona sur (Mazatlán, Rosario y Escuinapa), además es importante mencionar que estos municipios representan más del 85% de la población total del estado de Sinaloa.

A UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LAS CEPAS DE *Salmonella* AISLADAS DE ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA

Se recolectaron un total de 3,463 muestras de alimento pertenecientes a diferentes grupos de alimentos que se clasificaron en productos cárnicos, vegetales, lácteos y derivados, así como pescados y mariscos, de las cuales se logró aislar e identificar *Salmonella* spp. en 229 muestras lo que representa una prevalencia del 6.6 % de las muestras analizadas. Posteriormente, al analizar la distribución geográfica de las muestras contaminadas con *Salmonella* observamos que la región sur (Mazatlán y Escuinapa) del estado de Sinaloa fue donde se encontró una mayor proporción de alimentos contaminados por esta bacteria, cabe destacar que en esta región se tomó una menor cantidad de muestras que en las regiones del centro y norte, ya que en esta solo se recolectaron un

total de 890 muestras de alimento, de las cuales 76 estaban contaminadas con *Salmonella* lo que represente una proporción del 8.5 %, mostrando una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la región centro del estado ($P < 0.05$) seguido de la región norte (Ahome, Guasave, Angostura y Salvador Alvarado) en la que se recolectaron 1,064 muestras de alimento, donde encontramos 73 muestras contaminadas con *Salmonella* y representa una proporción del 6.8 %. Por último, en la región centro se recolecto la mayor cantidad muestras con un total de 1,509 y solo 80 de ellos estaban contaminados con *Salmonella* lo que representa la región con menor proporción de alimentos contaminados con este microorganismo, con una proporción de 5.3 % (Figura 7).

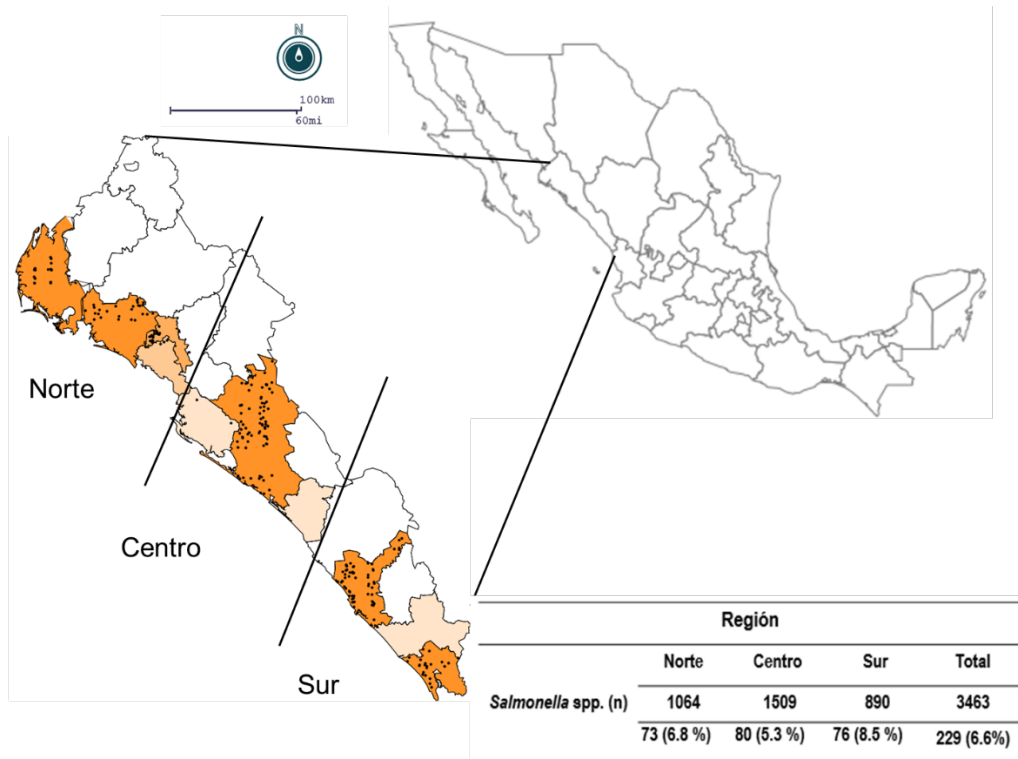


Figura 7. Ubicación geográfica de las muestras de alimento colectadas y muestras contaminadas con *Salmonella* spp. en el periodo 2013-2017. Los municipios de color naranja (Ahome, Guasave, Angostura, Salvador Alvarado, Navolato, Culiacán, Elota, Mazatlán, Rosario y Escuinapa) representan el área de recolección de alimentos, mientras que los puntos de color negro (•) representan la distribución geográfica de las muestras contaminadas con *Salmonella* en el estado de Sinaloa. En el cuadro se describe la proporción de muestras contaminadas por *Salmonella* en las tres regiones del Estado de Sinaloa.

B PREVALENCIA DE *Salmonella* spp. EN ALIMENTOS RECOLECTADOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017

Para determinar cuál es la prevalencia de *Salmonella* en los alimentos del estado de Sinaloa se analizaron un total de 3,463 muestras pertenecientes a diferentes grupos como cárnicos, lácteos y derivados, vegetales, pescados y mariscos durante el periodo de 2013 a 2017. Del total se logró aislar e identificar *Salmonella* spp. en 229 muestras, lo que representa una prevalencia del 6.6 %. Posteriormente se realizó un análisis para determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. por grupo de alimento, encontrando que el grupo de alimento con mayor proporción de muestras contaminadas con *Salmonella* fue lácteos y derivados, ya que de las 478 muestras analizadas, se identificó esta bacteria en 61 muestras lo que representa una proporción del 13 %, esta proporción es mayor estadísticamente significativa que pescados y mariscos así como vegetales ($P < 0.01$) Adicionalmente el grupo de cárnicos fue el segundo grupo de alimentos contaminados con esta bacteria ya que de las 1,030 muestras analizadas se identificó *Salmonella* en 107 de ellas lo que representa una proporción del 10.3 %, así mismo esta proporción fue mayor estadísticamente significativa con respecto a pescados y mariscos así como vegetales ($P < 0.01$). Para mariscos se recolectaron 1,016 muestras de las cuales en 53 se identificó *Salmonella* mostrando una proporción de 5.2 % y por último, el grupo de alimento con menor prevalencia de *Salmonella* fueron los vegetales, ya que de las 949 muestras solo en 8 fue posible aislar e identificar *Salmonella* lo que representa una proporción del 0.8% presentando una diferencia estadísticamente significativa menor ($P < 0.05$) con el respecto al resto de alimentos (Cuadro 5).

C PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA EN CEPAS DE *Salmonella* spp. AISLADAS DE ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017

Una vez identificada la ubicación geográfica y las principales muestras de alimentos contaminadas con *Salmonella* se llevó a cabo la identificación de los principales factores de virulencia en las cepas aisladas. Los

genes que codifican para *ompC* e *InvA* fueron los que se encontraron con mayor prevalencia ya que el 99.5 % de las cepas de *Salmonella* los contienen, seguidos por los genes *Stn* e *HilA* con una prevalencia del 99.1 % y los genes *SpoB*, *csgD* y *OmpR* que se identificaron con una prevalencia mayor al 96 % en las cepas analizadas. Por último, se observó que los genes que codifican para *arvA*, *SpoE* y *SpvC* se presentan con una frecuencia menor (88.6%, 16.5% y 7.4%, respectivamente) en las cepas de *Salmonella* (Cuadro 6).

Cuadro 5. Prevalencia de *Salmonella* spp. en los diferentes grupos de alimentos recolectados en el estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017.

Tipo de alimento	Número de muestras	Alimentos contaminados con <i>Salmonella</i> (%)
Cárnicos	1030	107 (10.3)*
Lácteos y derivados	478	61 (13)*
Pescado y mariscos	1016	53 (5.2)
Vegetales	949	8 (0.8)
Total	3463	229 (6.6)

Nota: Cárnicos (pollo, cerdo y res), Lácteos y derivados (queso fresco, requesón, leche, yogurt entre otros), Pescado y mariscos (camarón, tilapia, botete, pulpo, ostiones, entre otros) y vegetales (pepino, calabaza, papa, entre otros). (%)* Proporción de alimentos contaminados por *Salmonella*. El símbolo (*) indica una proporción estadísticamente significativa ($P < 0.05$) de cepas de *Salmonella*.

Por otra parte, al analizar los diferentes perfiles de virulencia de las 229 cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en el Estado de Sinaloa, encontramos 17 diferentes perfiles de virulencia. Sin embargo, sorprendentemente encontramos que el 66.3% de las cepas aisladas presentan el perfil *SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC*, seguido por el perfil *SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC-SpoE* con un 9.6% y el perfil *SpoB-Stn-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC* con el 8.2% (Cuadro 6). Esto representa que más del 84 % de las cepas aisladas cuenta con estos perfiles de virulencia lo que indica que son altamente virulentas y representan un potencial riesgo para causar la infección por este microorganismo (Cuadro 6). De igual forma se hizo un análisis de la distribución de los diferentes perfiles de genes de virulencia de cepas de *Salmonella* aisladas de diferentes grupos de alimento en el estado de Sinaloa. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la relación de lácteos y derivados, cárnicos, vegetales, pescados y mariscos, lo cual representa que la distribución de los genes de virulencia fue homogénea para todos los grupos de alimentos (Dato no mostrado).

D UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LAS CEPAS DE *Salmonella* spp. AISLADAS DE ALIMENTO EN EL ESTADO DE SINALOA DE ACUERDO SU PERFIL DE FACTORES DE VIRULENCIA

Una vez identificado los perfiles de factores de virulencia de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos, nos planteamos determinar la distribución geográfica que estas cepas presentan en el Estado de Sinaloa (zona norte, centro y sur). El perfil de virulencia número 1 (*SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC*) se encuentra con una mayor proporción en la región norte del Estado de Sinaloa, con una prevalencia del 72.6%, seguido de la región centro y sur con una proporción del 65% y 61.8% respectivamente. Sin embargo, el perfil número 2 (*SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC-SpoE*) se observó con mayor prevalencia en la región sur del Estado de Sinaloa con una prevalencia del 10.5%, seguido de la región centro y la región norte con un con una prevalencia del 10 y 8.2% respectivamente. Por otra parte, para el perfil de virulencia número 3 (*Stn-HilA-csgD-ompR-*

Cuadro 6. Perfil de factores de virulencia identificados en cepas de *Salmonela* spp. aisladas de alimentos en el estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017.

Perfil	No.Genes	Genes de Factores de Virulencia										Prevalencia de perfil (n)
		<i>InvA</i>	<i>OmpC</i>	<i>Stn</i>	<i>SpoB</i>	<i>HilA</i>	<i>csgD</i>	<i>ompR</i>	<i>arvA</i>	<i>SpoE</i>	<i>SpvC</i>	
1	3	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	0.4% (1/229)
2	5	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	0.4% (1/229)
3	6	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	0.8% (2/229)
4	6	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	0.4% (1/229)
5	7	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	1.3 % (3/229)
6	7	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	8.2% (19/229)
7	7	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	0.4% (1/229)
8	7	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	0.4% (1/229)
9	7	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	0.4% (1/229)
10	7	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	0.4% (1/229)
11	8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	66.3% (152/229)
12	8	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	0.8% (2/229)
13	8	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	2.1% (5/229)
14	8	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	0.4% (1/229)
15	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	9.6% (22/229)
16	9	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	4.9% (11/229)
17	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2.1% (5/229)
Gen (%)		99.5%	99.5%	99.1%	98.2%	98.2%	96.9%	96.9%	88.6%	16.5%	7.4%	Total 229
		228/229	228/229	227/229	225/229	225/229	222/229	222/229	203/229	38/229	17/229	

InvA-OmpC) se observó una mayor prevalencia en la región norte del estado con 11.2%, seguido de la región sur y norte con una prevalencia del 9.2 y 4.1% respectivamente. Estos resultados indican que los perfiles de factores de virulencia de *Salmonella* se encuentran distribuidos de manera homogénea en el Estado de Sinaloa. Una vez identificada la distribución geográfica de los perfiles de virulencia, se realizó el análisis para clasificar la virulencia de *Salmonella* como alta, media y baja, según el número de genes de factores de virulencia identificados en cada cepa en este estudio, clasificando como virulencia baja aquellas cepas que poseen de 1 a 5 genes, como virulencia media aquellas que poseen de 6 a 7 genes y como virulencia alta aquellas cepas que poseen más de 8 genes de factores de virulencia. La virulencia alta se encontró con mayor frecuencia con una prevalencia del 86% en cepas de *Salmonella* aisladas de alimento del Estado de Sinaloa, mientras que la virulencia media se encontró en el 12.6% de las cepas de *Salmonella* y virulencia baja se encontró en el 0.8% de las cepas de *Salmonella*. En la Figura 8 se observa la distribución geográfica de la virulencia alta, media y baja.

E SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE *Salmonella* AISLADAS DE ALIMENTOS DEL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017.

Al terminar la caracterización de los genes de virulencia, así como la distribución de las cepas *Salmonella* aislada de alimentos el estado de Sinaloa, se llevó acabo la evaluación de la resistencia a los principales antibióticos utilizados en su control. La proporción de cepas de *Salmonella* resistencia al antibiótico tetraciclina fue mayor estadísticamente significativa que el resto de los antibióticos con una prevalencia 40.6 % ($P < 0.05$), seguido por las cepas resistentes a cloranfenicol, ácido nalidixico y ceftazidima, con una prevalencia 26.2%, 24.8% y 24.4% respectivamente. Por su parte la resistencia

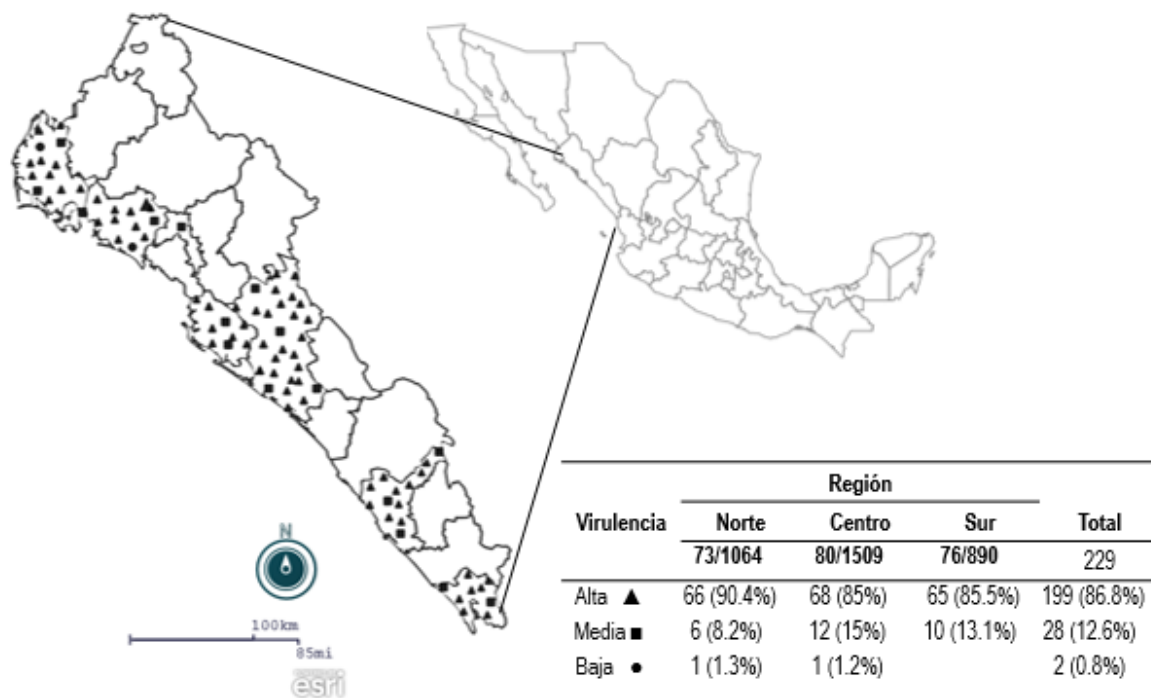


Figura 8. Distribución geográfica de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimento en el Estado de Sinaloa de acuerdo a su nivel de virulencia. En la región norte del Estado se aisló *Salmonella* en los municipios de Ahome y Guasave, mientras que la región centro los municipios de Navolato y Culiacán y por último la región sur en los municipios de Mazatlán y Escuinapa. El triángulo (▲) hace referencia a la distribución al nivel alto de virulencia de las cepas de *Salmonella* en el Estado de Sinaloa, el cuadro (■) hace referencia al nivel medio de virulencia y el círculo (●) al nivel bajo de intermedia a los antibióticos de las cepas de *Salmonella* fue mayor en el ácido nalidixico seguido de ceftazidima y tetraciclina con una prevalencia de 48%, 39% y 37.5% respectivamente (dato no mostrado). Sin embargo, el antibiótico al cual las cepas de *Salmonella* presentaron mayor sensibilidad

fue el ciprofloxacino y Trimetropim-Sulfametoxazol, por lo que se sugiere que estos antibióticos podrían ser de gran utilidad para el control de este microorganismo. Finalmente, las cepas resistentes a la tetraciclina se distribuye principalmente en la región sur del estado con una prevalencia del 51.3 %, presentando una diferencia estadísticamente significativa ($P<0.05$) con respecto a la región centro del Estado, y de igual manera, la región centro presento una mayor proporción estadísticamente significativa ($P<0.05$), con respecto a la región norte del estado, cabe destacar que la proporción de cepas de *Salmonella* resistentes a cloranfenicol en la región sur fue mayor estadísticamente significativa ($P<0.05$), que la región norte y centro del estado (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resistencia a antibióticos de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos del estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017.

Antibióticos	Región			Total 229/3463
	Norte (n) 73/1064	Centro 80/1509	Sur 76/890	
Tetraciclina	32 (43.8%)*	22 (27.5%)	39 (51.3%)*	93 (40.6%)
Cloranfenicol	12 (16.4%)	14 (17.5%)	34(44.7%)*	60 (26.2%)
Ácido Nalidixico	15 (20.5%)	15 (18.7%)	27 (35.5%)	57 (24.8%)
Ceftazidima	13 (17.8%)	11 (13.7%)	14 (17.4%)	56 (24.4%)
Gentamicina	11 (15%)	15 (18.7%)	15 (19.7%)	41 (17.9%)
Cefotaxime	17 (23.2%)	21(26.2%)	18 (23.6%)	38 (16.5%)
Ampicilina	9 (12.3%)	9 (11.2%)	15 (19.7%)	33 (14.4%)
Trimetropim-Sulfametoxazol	7 (9.5%)	7 (8.7%)	13 (17.1%)	27 (11.7%)
Ciprofloxacino	7 (9.5%)	5 (6.25%)	7 (9.2%)	19 (8.2%)

Nota: El símbolo (*) indica una proporción con una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) de cepas de *Salmonella*.

F MULTI-FÁRMACO-RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN LAS CEPAS DE *Salmonella* EN LOS ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017

Una vez identificada la resistencia a antibióticos de *Salmonella*, se llevó a cabo la identificación de las cepas multi-fármaco-resistentes, estas últimas son aquellas cepas que tienen la capacidad de resistir dos o más antibióticos. Se observó que el 27.5 % de las cepas aisladas y evaluadas no presentaron resistencia a los antibióticos evaluados (susceptibles a todos los antibióticos evaluados), mientras que el 72.4 % de las cepas fueron resistentes al menos a un antibiótico, y finalmente el 44.1 % de las cepas fueron multi-fármaco-resistentes. Por otra parte, en la región centro del estado de Sinaloa se encontró la mayor proporción de cepas de *Salmonella* susceptibles a todos los antibióticos evaluados con una proporción de 37.5 %, mientras que en la región sur se encontró una mayor proporción de cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos 82.8 % y fue estadísticamente significativa con respecto a la región centro del estado ($P < 0.05$). Finalmente, en la región sur del estado de Sinaloa se encontró una mayor proporción de cepas multi-fármaco-resistentes (59.2%) y fue estadísticamente significativa con respecto a la región norte y centro ($P < 0.05$, respectivamente) del Estado de Sinaloa (Cuadro 9).

G PERFIL DE CO-RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Salmonella* AISLADAS DE ALIMENTOS EN EL ESTADO DE SINALOA EN EL PERIODO 2013-2017

Al llevar a cabo la identificación de la resistencia, así como de la multi-fármaco-resistencia a antibióticos de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos del Estado de Sinaloa, realizamos un análisis para identificar la co-resistencia a los antibióticos en las cepas de *Salmonella* con mayor prevalencia. Por lo cual al finalizar el análisis observamos que la co-resistencia con mayor prevalencia fue Cloranfenicol + Ácido Nalidíxico con un 58.3 %, seguido de Tetraciclina + Cloranfenicol con un 51.6%, y ambas combinaciones fueron significativamente más prevalentes que el resto de las

Cuadro 8. Distribución geográfica de multi-fármaco-resistencia de las cepas de *Salmonella* en los alimentos en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017.

Categoría	Resistencias a antibióticos	Región			<i>Salmonella</i> n = 229/3464
		Norte n = 73/1064	Centro n = 80/1509	Sur n = 76/890	
Susceptibilidad	0	20 (27.3%)	30(37.5%)	13 (17.1%)	63 (27.51%)
Resistente	1	25 (34.2%)	22 (27.5%)	18 (23.6%)	65 (28.30%)
MDR	2	7 (9.5%)	10 (12.5%)	12 (15.7%)	29 (12.66%)
	3	12(16.4%)	5(6.2%)	9 (12.3%)	26 (11.35%)
	4	3 (4.1%)	8 (10%)	11(14.4%)	22 (9.60%)
	5	3 (4.1%)	3 (3.7%)	9(12.3%)	15 (6.50%)
	6	1 (1.3%)	1 (1.2%)	3 (3.9%)	5 (2.81%)
	7	1 (1.3%)	1 (1.2%)	1 (1.3%)	3 (1.31%)
	8	1 (1.3%)			1 (0.43%)
	Cepas resistentes al menos a un antibiótico		53 (72.6%)	50 (62.5%)	63 (82.8%)*
MDR		28 (38.3%)	28 (35%)	45 (59.2%)*	101 (44.11%)

Nota: El símbolo (*) indica una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre las proporciones de cada región.

Cuadro 9. Co-resistencia a los antibióticos en cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en el estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017.

Antibióticos	Total	CHL	NA	CAZ	GEM	CTX	AMP	STX	CIP
A TET	93 (40.6%)	48 (51.6%)*	43 (46.2%)	21 (22.5%)	18 (19.3%)	14 (15%)	27 (29%)	26 (27.9%)	10 (10.7%)
B CHL	60 (26.2%)		35 (58.3%)*	13 (21.6%)	12 (20%)	7 (11.6%)	24 (40%)	24 (40%)	9 (15%)
C NA	57 (24.8%)			17 (29.8%)	15 (26.3%)	8 (14%)	21 (36.8%)	15 (26.3%)	12 (21%)
D CAZ	55 (24.4%)				21 (38.1%)	9 (16.3%)	9 (16.3%)	4 (7.2%)	9 (16.3%)
E GEM	41 (17.9%)					10 (24.3%)	7 (17%)	5 (12.1%)	9 (21.9%)
F CTX	38 (16.5%)						6 (15.7%)	1 (2.6%)	2 (5.2%)
G AMP	33 (14.4%)							17 (51.5%)	7 (21.2%)
H STX	27 (11.7%)								4 (14.8%)
I CIP	19 (18.2%)								
AB	48		34 (70.8%)*	11 (22.9%)	10 (20.8%)	6 (12.5%)	23 (47.9%)	24 (50%)*	8 (16.6%)
ABC	34			8 (23.5%)	10 (29.4%)	3 (8.8%)	17 (50%)*	13 (38.2%)	8 (23.5%)
ABCD	8				4 (50%)	0	4 (50%)	2 (25%)	4 (50%)
ABCDE	4					0	2 (50%)	1 (25%)	3 (75%)
ABCDEF	0						0	0	0
ABCDEFG	0							0	0
ABCDEFGH	0								0

NOTA: CIP=Ciprofloxacino, CTX=Cefotaxima, AMP=Ampicilina, STX=Trimetropim-Sulfametoxazol, GEM=Gentamicina, CAZ= Ceftazidima, NA=Acido Nalidixico, CHL=Clorafenicol, TET=Tetraciclina. Solo una de las cepas analizadas en este estudio presento el perfil de resistencia ABCDEFGH. El símbolo (*) indica una diferencia estadísticamente significativa (P<0.05).

combinaciones ($P < 0.05$) (Cuadro 9). Por otra parte, al analizar las combinaciones de co-resistencia múltiple a los antibióticos se identificó con mayor prevalencia a tetraciclina + cloranfenicol + ácido nalidíxico con un 70.8%, seguido de tetraciclina + cloranfenicol + Trimetropim-sulfametaxazol y tetraciclina + cloranfenicol + ácido nalidíxico + ampicilina con un prevalencia del 50% cada combinación, lo que representa una proporción mayor estadísticamente significativa ($P < 0.05$) que el resto de las co-resistencias múltiples presentadas por las cepas evaluadas (Cuadro 9).

X DISCUSIÓN

Actualmente *Salmonella* es uno de los principales agentes involucrados en la contaminación de alimentos y por ende una de las principales causas de diarreas en todo el mundo (OMS 2017), aunado a esto se han identificado cepas de *Salmonella* con una alta capacidad de virulencia y resistente a los principales antibióticos utilizados contra el control de este microorganismo. En México existen pocos reportes de la virulencia y la resistencia de *Salmonella*, en este sentido uno de los estados de la republica más afectados por *Salmonella* es Sinaloa el cual a pesar de ser un Estado altamente productor de alimentos ya que cuenta con una alta producción en agricultura, pesca y ganadería, no existen reportes de los factores de virulencia circulantes en las cepas de *Salmonella* del Estado de Sinaloa. Por lo que el objetivo de este trabajo fue identificar los genes de factores de virulencia y la resistencia de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017.

En este estudio se buscó identificar primeramente la ubicación geográfica de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en el Estado de Sinaloa en el periodo 2013-2017, obtuvimos resultados positivos al identificar a *Salmonella* en todo el Estado de Sinaloa en distintos grupos de alimentos. Sin embargo, la región sur de Sinaloa presentó la mayor proporción de alimentos contaminados con *Salmonella*. Por lo que nuestros resultados sugieren que los alimentos del sur podrían estar más contaminados por *Salmonella* que los alimentos en la región norte y centro del Estado. Por su parte en un estudio realizado por Canizalez-Roman et.al (2013) en cepas de *E.coli* aisladas de alimento se sugiere que el incremento de alimentos contaminados en el Estado se podría deber al gran número de comercios pequeños de comida artesanal en esta zona. Además, en esta región del Estado se encuentran rastros clandestinos los cuales no cuentan con las normas de inocuidad requeridas en la producción de un alimento. Sin embargo, no existen estudios previos que

reporten la distribución geográfica de *Salmonella* en el Estado de Sinaloa (Canizalez-Roman et al 2013) . Asimismo, *Salmonella* se identificó en todos los grupos de alimento analizados en este estudio, sin embargo, el grupo de alimentos de lácteos y derivados fue donde se aisló *Salmonella* con mayor frecuencia, seguido de cárnicos, además, de pescados y mariscos. Esto se podría atribuir a una contaminación durante la elaboración y la producción de quesos artesanales en Sinaloa, desde el comienzo del proceso de elaboración hasta el envío del producto final, además, los cuales no se someten a un proceso de pasteurización. Cabe destacar a que la leche ser rica en proteínas, lípidos y azúcares, es un ejemplo de medio de cultivo ideal para diversos microorganismos como *Salmonella* (Dhanashekar, Akkinepalli et al. 2012; Canizalez-Roman, Gonzalez-Nunez et al. 2013). Estos resultados coinciden a los obtenidos por Canizalez-Roman et.al (2013), donde se analizó la distribución de *E.coli* en alimentos en el Estado se Sinaloa y el principal grupo de alimentos contaminados con *E. coli* fueron los Lacteos (Canizalez-Roman, Gonzalez-Nunez et al. 2013).

Por otra parte se identificaron algunos de los genes de factores de virulencia con más relevancia en la patogenicidad de *Salmonella*, como los genes *OmpC* e *InvA* los cuales se encontraron en el 95% de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos del Estado de Sinaloa, lo cual sugiere que estas cepas cuentan en sistema de secreción tipo III, lo que apunta a que tienen la capacidad de inyectar proteínas a la célula blanco, estos resultados coinciden con los obtenidos en un estudios realizados en Irán y Malacia (Fardsanei, Soltan Dallal et al. 2017; Thung, Radu et al. 2018; Unlu, Aktas et al. 2018). Del mismo modo, el gen *Stn* e *HilA* se encontraron en el 99.1% de las cepas de *Salmonella*, lo cual indica que estas cepas pueden tener la capacidad de evadir el sistema inmune del hospedero y, puede llegar a la producción de proteínas que provocan apoptosis en las células intestinales, siendo el principal mecanismo para generar diarrea por *Salmonella* (Nakano, Yamasaki et al. 2012), a su vez estos resultados son similares a los obtenidos en dos trabajos realizados en Irán donde evaluaron a presencia de estos genes en cepas de *Salmonella* aislada de alimentos (Fardsanei, Dallal et al. 2017;

Fardsanei, Dallal *et al.* 2018). Por otra parte también es importante mencionar que los genes *SpoB*, *csgD* y *OmpR* fueron encontrados en las cepas de *Salmonella* con una alta prevalencia, en otros trabajos se ha reportado que el gen *SpoB* está involucrado en la internalización de *Salmonella* en la célula huésped (Osman, Hassan *et al.* 2014), por lo que podemos asumir que las cepas de *Salmonella* aisladas en nuestro estudio cuentan con la capacidad de llevar una internalización rápida en la célula huésped promoviendo la inflamación intestinal (Matsuda, Haneda *et al.* 2019), adicionalmente la prevalencia del gen *SpoB* encontrada en las cepas aisladas el Estado de Sinaloa fue mayor a la reportada en un estudio realizado en Malasia donde identificaron este gen el 60.8% de las cepas de *Salmonella*.

Por otra parte los genes *csgD* y *OmpR* están asociados con la capacidad de *Salmonella* para la formación de biopelículas (Yin, Zhu *et al.* 2018), por lo que se sugiere que las cepas de *Salmonella* del Estado de Sinaloa podían tener la capacidad de formar biopelículas, aumentado así su capacidad para sobrevivir en el ambiente e incluso ser resistente a los antibióticos y procesos de desinfección, estos resultados son similares a los obtenidos por un grupo de investigadores en Shandong China (2018) se analizaron genes que promueven la formación de biopelículas en 77 cepas *Salmonella* aisladas de cárnicos (Yin, Zhu *et al.* 2018). Por su parte el gen *arvA*, se encontró con una prevalencia del 88.6%, en las cepas de *Salmonella* lo cual podría representar un gran riesgo a la población del Estado de Sinaloa, ya que se sabe que este gen confiere la capacidad a *Salmonella* de inhibir el sistema inmune, además bloquea diferentes cascadas de señalización evitando que el macrófago pueda inducir apoptosis, siendo un promotor del cáncer colon rectal (Ye, Petrof *et al.* 2007; Osman, Hassan *et al.* 2014). A su vez estos resultados coinciden con los reportados por Osman *et al.*, 2014 en Egipto, donde obtuvieron 10 cepas de *Salmonella* aisladas de muestras clínicas de diarrea, encontrando una prevalencia del 90%. Por otra parte, encontramos una baja prevalencia del gen *SpoE* un 16.5% de las cepas de *Salmonella* y se ha descrito que este gen promueve la inflamación intestinal.

Sin embargo, la baja prevalencia de este gen en las cepas de *Salmonella* en el Estado de Sinaloa no coincide con los resultados reportados en otros países. Por ejemplo, en Irán se reportó que al menos el 76.5% de las cepas de *Salmonella* analizadas cuentan con la presencia de este gen (Fardsanei, Dallal et al. 2018). Asimismo, en un estudio realizado en China se reportó en el 100% de las cepas de *Salmonella* analizadas (Zhou, Xu et al. 2018). Por último, el gen *SpvC* el cual se encontró con menor prevalencia en nuestro trabajo en un 7.4% de las cepas. Sin embargo, cabe destacar que la prevalencia de este gen en el Estado de Sinaloa es alta con respecto a lo reportado en otros países del mundo. En Túnez un país ubicado al norte de África un grupo de investigadores se plantearon como objetivo identificar la presencia de este gen en cepas de *Salmonella* aislada de alimentos, sin obtener resultados positivos (Oueslati, Rjeibi et al. 2016). Del mismo modo, en cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en Malasia se analizaron la prevalencia de distintos factores de virulencia como *SpvC*, para el cual no obtuvieron resultados positivos (Thung, Radu et al. 2018), en el mismo sentido en Egipto no se encontraron resultados positivos para este gen. Por lo que se seguirá que las cepas de *Salmonella* que circulan en el Estado cuentan con este y otros factores de virulencia que le confieren a este microorganismo aditamentos genéticos adicionales y pueden representar un riesgo para la población, adicionalmente se sabe que este gen promueve la replicación de *Salmonella* una vez que esta entra a la célula huésped, le facilita su rápida propagación por el intestino (Cheng, Eade et al. 2019).

Por otra parte, al analizar el perfil de virulencia de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos del Estado de Sinaloa, se encontró que el 66.3% de las cepas aisladas presentan el perfil *SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC*, seguido del perfil *SpoB-SpoE-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC* con una prevalencia del 9.6% y el perfil *SpoB-Stn-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC* con una prevalencia del 8.2%.

Siendo el perfil *SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC* el más prevalente en las cepas

Salmonella del Estado de Sinaloa, este consta de 8 genes de factores de virulencia, lo cual sugiere que estas cepas podrían llegar a formar biopelículas, asimismo se asume que contienen la maquinaria necesaria para facilitar su internalización en el macrófago, evitando que se desencadene el proceso de muerte celular o apoptosis. Aunado a esto, podrían presentar la capacidad de producir proteínas citotóxicas e inhibir el sistema inmune (Fardsanei, Dallal *et al.* 2018; Unlu, Aktas *et al.* 2018; Zhou, Xu *et al.* 2018). Además, este perfil de genes de factores de virulencia tuvo mayor prevalencia en el grupo de alimentos lácteos con un 72.1%.

Asimismo, se realizó una clasificación de cepas de *Salmonella* de acuerdo a su virulencia, donde se clasifico como virulencia alta (8-10 genes de virulencia), media (6-7 genes de virulencia) y baja (1-5 genes de virulencia), el 0.8% de las cepas de *Salmonella* presento una virulencia baja, mientras que el 12,2% de las cepas presentaron una virulencia media. Sin embargo, el 86.8% de las cepas de *Salmonella* aisladas de alimento presentaron una virulencia alta.

Esto se puede atribuir, a que los animales productores de leche como bovinos están en constante contacto con fármacos, asimismo se les administra de vitaminas y minerales lo que fortalece su sistema inmune, provocando cambios frecuentes en las condiciones de su flora intestinal lo que obliga a patógenos como *Salmonella* a aptarse al medio (Dhanashekar, Akkinipalli *et al.* 2012; Sobur, Sabuj *et al.* 2019).

Además, este perfil de virulencia se identificó con mayor frecuencia en la región norte del Estado de Sinaloa, a la fecha no existen reportes de la distribución geográfica de los factores de virulencia en el Estado de Sinaloa.

Una vez identificados los genes de los factores de virulencia analizados en este estudio, nos dimos a la tarea de identificar las resistencias a antibióticos de las cepas de *Salmonella*, obtuvimos una alta proporción de cepas de *Salmonella* resistencia a la tetraciclina, seguido de cloranfenicol y ácido nalidixico. Esto se puede atribuir a que a pesar de que estos antibióticos no son los del de

primera elección en el ámbito clínico son de las primeras opciones en el ámbito veterinario, por otra parte, son utilizados como promotores de crecimiento en la producción animal (Torres and Zarazaga 2002; Medina, González *et al.* 2008). Por otra parte, es importante señalar que fue en la región sur del Estado de Sinaloa donde se observó con más frecuencia, aunado a esto, el grupo de alimento donde se aisló *Salmonella* resistente a tetraciclina fue el grupo de cárnicos. Esto se podría deber a que en la producción animal como bovinos, se utilizan cantidades irracionales de antibiótico con la finalidad de promover crecimiento y mejorar la talla del animal en el menor tiempo posible (Medina, González *et al.* 2008; Gestal, Villacís *et al.* 2014; Tang, Caffrey *et al.* 2019).

Al llevar a cabo el análisis de resistencia en las 229 cepas de *Salmonella*, se identificó que el 72.4% de las cepas presentaron resistencia al menos a un antibiótico. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Canizalez-Román, *et al.* (2013) en un estudio en *E.coli* aislada de alimentos en el Estado de Sinaloa, donde demostraron que 66% de las cepas de *E.coli* aisladas de alimentos presentaban resistencia al menos a un antibiótico. Sin embargo, la proporción de cepas de *Salmonella* aisladas de alimento resistentes fue más alta en contraste a lo reportado en un estudio realizado en Sinaloa, donde se reportó que el 50.5% de las cepas *Salmonella* aisladas de agua de ríos fue resistente a al menos un antibiótico (Castañeda-Ruelas and Jiménez-Edeza, 2018). Por otra parte, observamos que la proporción de cepas de *Salmonella* resistentes aisladas del grupo de alimentos de lácteos fue mayor que las cepas aisladas del resto de grupos de alimentos, lo cual se puede atribuir a que los bovinos productores de, presentan constantemente infecciones en sus glándulas mamarias las cuales son tratadas con diferentes grupos de antibióticos (Guerrero, Motta *et al.* 2009; Meglia and Mata 2017).

Además, el 44.1% de las cepas presento multi-fármaco-resistencia, esto coincide con los resultados presentados por Castañeda-Ruelas *et al.* 2018 en un estudio de *Salmonella* aislada ríos en Estado de Sinaloa. Cabe destacar que las cepas de *Salmonella* multi-fármaco-resistencia aisladas del

grupo de cárnicos fue mayor que el resto de los grupos de alimentos, esto puede deberse a lo anteriormente mencionado (Guerrero, Motta et al. 2009). La distribución geográfica de la multi-fármaco-resistencia en el Estado de Sinaloa, tuvo mayor prevalencia en la región sur. Por otra parte, no existen reportes sobre la distribución geográfica de la multi-fármaco-resistencia en el Estado de Sinaloa.

Posteriormente se realizó un análisis para identificar la prevalencia de los perfiles de resistencia a antibióticos en *Salmonella*. Obtuvimos como resultado que el perfil con mayor prevalencia fue cloranfenicol + ácido nalidixico con un 58.3%, seguido del perfil tetraciclina + cloranfenicol con un 51.6%. Lo cual sugiere que esto puede ser provocado a la uso excesivo en la producción de alimentos, diversos estudios reportan que el cloranfenicol, tetraciclina, ácido nalidixico, de manera masiva en la agricultura, ganadería y producción agropecuaria (Tapia 2000; Puig Peña, Espino Hernández et al. 2011; Talero-Pérez, Medina et al. 2014; Arenas and Melo 2018).

XI CONCLUSIONES

- La prevalencia de *Salmonella* en los alimentos analizados en Sinaloa en el periodo 2013-2017 fue del 6.6% (229/3,463).
- La región sur del Estado de Sinaloa fue donde se aisló con mayor frecuencia *Salmonella* spp. y el alimento donde se logró aislar con mayor frecuencia fue el grupo de Lácteos y derivados.
- Las cepas de *Salmonella* aisladas de los alimentos en Sinaloa presentan los principales genes de factores de virulencia para la adhesión, internalización y replicación de este microorganismo en el humano.
- El principal perfil de genes de virulencia identificado en las cepas de *Salmonella* fue *SpoB-Stn-arvA-HilA-csgD-ompR-InvA-OmpC*. Y este perfil fue identificado en productos lácteos y en la región norte del Estado de Sinaloa con mayor prevalencia.
- La proporción de cepas de *Salmonella* resistentes a la tetraciclina fue mayor en comparación a las cepas resistentes al resto de antibióticos, fueron más prevalentes en las cepas aisladas de lácteos y en la región sur del Estado de Sinaloa.
- Una alta proporción (72.4%) de las cepas de *Salmonella* presentaron resistencia al menos a un antibiótico (multi-fármaco-resistentes), además en la región sur del Estado de Sinaloa se encontraron con mayor frecuencia y los productos cárnicos fue donde se aislaron con mayor frecuencia
- Una alta proporción de las cepas *Salmonella* son. Estas cepas fueron identificadas con mayor frecuencia en la región sur del Estado de Sinaloa y los productos cárnicos son el principal alimento donde se encontraron estas cepas.

XII REFERENCIAS

- Aguilar-Montes de Oca, S., M. Talavera-Rojas, et al. (2018). "Phenotypic and genotypic profile of clinical and animal multidrug-resistant Salmonella enterica isolates from Mexico." J Appl Microbiol **124**(1): 67-74.
- Arcos-Ávila, E. C., L. Mora-Cardona, et al. (2013). "Prevalencia de Salmonella spp. en carne porcina, plantas de beneficio y expendios del Tolima." Orinoquia **17**(1): 59-68.
- Arenas, N. E. and V. M. Melo (2018). "Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática." Infectio **22**(2): 110-119.
- Arias-Echandi, M. L. and F. Antillón (2000). "Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años." Revista Biomédica **11**(2): 113-122.
- Barilli, E., C. Bacci, et al. (2018). "Antimicrobial resistance, biofilm synthesis and virulence genes in Salmonella isolated from pigs bred on intensive farms." Ital J Food Saf **7**(2): 7223.
- Barreda, C. M., D. C. G. Antúnez, et al. (1999). "Reptiles "mascotas": una fuente potencial de infecciones por Salmonella." Enfermedades Infecciosas y Microbiología **19**(6): 266-269.
- Blanco-Ríos, F. A., G. Casadiego-Ardila, et al. (2011). "Calidad microbiológica de alimentos remitidos a un laboratorio de salud pública en el año 2009." Revista de Salud Pública **13**: 953-965.
- Blanco Crivelli, X., M. P. Bonino, et al. (2018). "Detection and Characterization of Enteropathogenic and Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Strains in Rattus spp. from Buenos Aires." Front Microbiol **9**: 199.
- Bolinger, H. and S. Kathariou (2017). "The Current State of Macrolide Resistance in Campylobacter spp.: Trends and Impacts of Resistance Mechanisms." Appl Environ Microbiol **83**(12).
- Britto, C. D., J. John, et al. (2019). "A systematic review of antimicrobial resistance of typhoidal Salmonella in India." Indian J Med Res **149**(2): 151-163.
- Bu, T., P. Jia, et al. (2019). "Diversely positive-charged gold nanoparticles based biosensor: A label-free and sensitive tool for foodborne pathogen detection." Food Chem X **3**: 100052.
- Cabello, C. and F. Cabello (2008). "Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública ya la economía." Revista médica de Chile **136**(3): 385-393.
- Calderón, L. G. R., P. A. M. Delgado, et al. (2012). "Resistencia de la Salmonella a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento." Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia **7**(1): 116-129.
- Canizalez-Roman, A., E. Gonzalez-Nunez, et al. (2013). "Prevalence and antibiotic resistance profiles of diarrheagenic Escherichia coli strains isolated from food items in northwestern Mexico." Int J Food Microbiol **164**(1): 36-45.
- CAP, F., F. CAP, et al. (2005). "Microbiología de alimentos."
- Castañeda-Ruelas, G. M. and M. Jiménez-Edeza (2018). "Evaluación de ríos del valle de Culiacán, México, como reservorios de serotipos de Salmonella resistentes a antibióticos." Revista internacional de contaminación ambiental **34**(2): 191-201.
- Coburn, B., G. A. Grassl, et al. (2007). "Salmonella, the host and disease: a brief review." Immunol Cell Biol **85**(2): 112-118.
- Contreras-Soto, M., J. Medrano-Félix, et al. (2018). "Los últimos 50 años de Salmonella en México: Fuentes de aislamiento y factores que influyen en su prevalencia y diversidad." Revista Bio Ciencias **6**(2): 26.
- Cox, N. A., M. E. Berrang, et al. (2019). "Population Analyses Reveal Preenrichment Method and Selective Enrichment Media Affect Salmonella Serovars Detected on Broiler Carcasses." J Food Prot **82**(10): 1688-1696.
- Chaabna, K. and W. Alali (2017). "Enteric Salmonella in humans and food in the Middle East and North Africa: protocol of a systematic review." BMJ Open **7**(7): e017399.

- Charles-Hernández, G. L., C. E. Medina-Solís, et al. (2005). "Prevalencia de Salmonella sp en alimentos en el Estado de Tamaulipas durante el año 2005." Rev. Inv. Clin **59**: 437-443.
- Cheng, R. A., C. R. Eade, et al. (2019). "Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal Salmonella as a Foodborne Pathogen." Front Microbiol **10**: 1368.
- Chinnappan, R., S. AlAmer, et al. (2017). "Fluorometric graphene oxide-based detection of Salmonella enteritidis using a truncated DNA aptamer." Mikrochim Acta **185**(1): 61.
- Delgado-González, R. A., V. H. González-Álvarez, et al. (2016). "Prevalencia de Escherichia coli Y Salmonella spp. en becerras holstein con diarrea en la Comarca Lagunera, México." AGROFAZ **16**(1).
- Depardieu, F., I. Podglajen, et al. (2007). "Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression." Clinical Microbiology Reviews **20**(1): 79-114.
- Dhanashekar, R., S. Akkinepalli, et al. (2012). "Milk-borne infections. An analysis of their potential effect on the milk industry." Germes **2**(3): 101-109.
- Dickel, E. L., L. B. Rodrigues, et al. (2005). "Análise comparativa entre microbiologia convencional, ELISA e PCR para detecção de Salmonella enteritidis, S. typhimurium, S. gallinarum e S. pullorum em carne de frango contaminada artificialmente." Revista Brasileira de Ciência Veterinária **12**(1-3).
- Fardsanei, F., M. M. S. Dallal, et al. (2018). "Antimicrobial resistance, virulence genes and genetic relatedness of Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates recovered from human gastroenteritis in Tehran, Iran." Journal of Global Antimicrobial Resistance **12**: 220-226.
- Fardsanei, F., M. M. S. Dallal, et al. (2017). "Genetic diversity and virulence genes of Salmonella enterica subspecies enterica serotype Enteritidis isolated from meats and eggs." Microbial pathogenesis **107**: 451-456.
- Fardsanei, F., M. M. Soltan Dallal, et al. (2017). "Genetic diversity and virulence genes of Salmonella enterica subspecies enterica serotype Enteritidis isolated from meats and eggs." Microb Pathog **107**: 451-456.
- Feldsine, P. T., A. H. Lienau, et al. (2003). "Detection of Salmonella in fresh cheese, poultry products, and dried egg products by the ISO 6579 Salmonella culture procedure and the AOAC official method: collaborative study." J AOAC Int **86**(2): 275-295.
- Foley, S. L., A. M. Lynne, et al. (2008). "Salmonella challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates." J Anim Sci **86**(14 Suppl): E149-162.
- Gal-Mor, O. (2019). "Persistent Infection and Long-Term Carriage of Typhoidal and Nontyphoidal Salmonellae." Clin Microbiol Rev **32**(1).
- García-Huidobro, D., M. Carreño, et al. (2012). "Descripción clínica y epidemiológica de un grave brote de salmonelosis transmitida por alimentos." Revista chilena de infectología **29**(2): 132-137.
- Gelli, D. S., M. Jakabi, et al. (2002). "Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001)." Rev Inst Med Trop Sao Paulo **44**(6): 321-324.
- Gestal, M. C., J. E. Villacís, et al. (2014). "De la granja a la mesa. Implicaciones del uso de antibióticos en la crianza de animales para la resistencia microbiana y la salud." Revista Cubana de Alimentación y Nutrición **24**(1): 11.
- Ghodduzi, A., B. Nayeri Fasaei, et al. (2019). "Prevalence and characterization of multidrug resistance and variant Salmonella genomic island 1 in Salmonella isolates from cattle, poultry and humans in Iran." Zoonoses Public Health **66**(6): 587-596.
- Gonzalez, J. F., L. Tucker, et al. (2019). "Human bile-mediated regulation of Salmonella curli fimbriae." J Bacteriol.

- Gonzalez Pedraza, J., N. Pereira Sanandres, et al. (2014). "Microbiological Isolation of Salmonella spp. And Molecular tools for detection." Revista Salud Uninorte **30**(1): 73-94.
- González Pedraza, J., N. Pereira Sanandres, et al. (2014). "Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección."
- Gray, J. A., P. S. Chandry, et al. (2018). "Novel Biocontrol Methods for Listeria monocytogenes Biofilms in Food Production Facilities." Front Microbiol **9**: 605.
- Guerrero, D. M., R. Motta, et al. (2009). "Detección de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en leche cruda comercializada en el Callao." Ciencia e Investigación **12**(2): 79-82.
- Gutema, F. D., G. E. Agga, et al. (2019). "Prevalence and Serotype Diversity of Salmonella in Apparently Healthy Cattle: Systematic Review and Meta-Analysis of Published Studies, 2000-2017." Front Vet Sci **6**: 102.
- Haraga, A., M. B. Ohlson, et al. (2008). "Salmonellae interplay with host cells." Nat Rev Microbiol **6**(1): 53-66.
- Haysom, L., M. Cross, et al. (2018). "Prevalence and Risk Factors for Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Infections in Custodial Populations: A Systematic Review." J Correct Health Care **24**(2): 197-213.
- HERRERA, B. Y. and R. L. JABIB (2015). "Salmonellosis, zoonosis de las aves y una patogenia muy particular." REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria **16**(1): 1-19.
- Hung, Y. T., C. J. Lay, et al. (2017). "Characteristics of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis in Taiwanese children: A 9-year period retrospective medical record review." J Infect Public Health **10**(5): 518-521.
- 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." Vet World **12**(4): 504-521.
- Johnny, D., A. Germán, et al. (2004). "Presencia de Salmonella spp. en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública." Biomédica **24**(1).
- Jung, S. J., S. Y. Park, et al. (2018). "Synergistic effect of X-ray irradiation and sodium hypochlorite against Salmonella enterica serovar Typhimurium biofilms on quail eggshells." Food Res Int **107**: 496-502.
- Kirk, M. D., S. M. Pires, et al. (2015). "Correction: World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis." PLoS Med **12**(12): e1001940.
- Lamas, A., J. M. Miranda, et al. (2018). "A comprehensive review of non-enterica subspecies of Salmonella enterica." Microbiol Res **206**: 60-73.
- Li, R., J. Lai, et al. (2013). "Prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China." International journal of food microbiology **163**(1): 14-18.
- Lu, R., S. Wu, et al. (2014). "Enteric bacterial protein AvrA promotes colonic tumorigenesis and activates colonic beta-catenin signaling pathway." Oncogenesis **3**: e105.
- Luzina, E. V. and N. V. Lareva (2013). "[Antibiotic-associated diarrhea in clinical practice]." Ter Arkh **85**(2): 85-88.
- MacKenzie, K. D., Y. Wang, et al. (2019). "Parallel evolution leading to impaired biofilm formation in invasive Salmonella strains." PLoS Genet **15**(6): e1008233.
- Majed, R., C. Faille, et al. (2016). "Bacillus cereus Biofilms-Same, Only Different." Front Microbiol **7**: 1054.
- Marin, P. E., E. P. Suárez, et al. (2006). "Presencia del gen de invasividad INV A en cepas de

- Salmonella spp. aisladas de alimentos del caribe colombiano." Revista Cubana de Salud Pública **32**(2): 115-120.
- Matsuda, S., T. Haneda, et al. (2019). "Salmonella effectors SifA, SpvB, SseF, SseJ, and SteA contribute to T3SS-1-independent inflammation in a streptomycin-pretreated mouse model of colitis." Infect Immun.
- Máttar, S. (2004). "Salmonella un patógeno re-emergente." Revista MVZ Córdoba.
- Mazurkiewicz, P., J. Thomas, et al. (2008). "SpvC is a Salmonella effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases." Mol Microbiol **67**(6): 1371-1383.
- Mbayed, V., M. Mozgovej, et al. "Virus transmitidos por alimentos."
- Medina, M. S., D. G. González, et al. (2008). "Detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclina en hueso de cerdo." Revista de Salud Animal **30**(2): 110-115.
- Meglia, G. E. and H. Mata (2017). "Mecanismos específicos e inespecíficos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche." Ciencia Veterinaria **3**(1): 29-40.
- Moreno, C., R. González, et al. (2009). "Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios." Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello **69**(2): 185-192.
- Mukherjee, N., V. G. Nolan, et al. (2019). "Sources of human infection by Salmonella enterica serotype Javiana: A systematic review." PLoS One **14**(9): e0222108.
- Nakano, M., E. Yamasaki, et al. (2012). "Salmonella enterotoxin (Stn) regulates membrane composition and integrity." Dis Model Mech **5**(4): 515-521.
- Neumann, C., M. Fraiture, et al. (2014). "The Salmonella effector protein SpvC, a phosphothreonine lyase is functional in plant cells." Front Microbiol **5**: 548.
- OMS. (2017). "Salmonella ", from [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)).
- Osman, K. M., W. M. Hassan, et al. (2014). "The consequences of a sudden demographic change on the seroprevalence pattern, virulence genes, identification and characterisation of integron-mediated antibiotic resistance in the Salmonella enterica isolated from clinically diarrhoeic humans in Egypt." Eur J Clin Microbiol Infect Dis **33**(8): 1323-1337.
- Otto, H., D. Tezcan-Merdol, et al. (2000). "The spvB gene-product of the Salmonella enterica virulence plasmid is a mono(ADP-ribosyl)transferase." Mol Microbiol **37**(5): 1106-1115.
- Oueslati, W., M. R. Rjeibi, et al. (2016). "Prevalence, virulence and antibiotic susceptibility of Salmonella spp. strains, isolated from beef in Greater Tunis (Tunisia)." Meat Sci **119**: 154-159.
- Pachón, D., A. Pulido, et al. (2011). "Aislamiento y serotipificación de Salmonella sp. en estanques con Crocodylus intermedius y testudines cautivos en Villavicencio-Colombia." Revista MVZ Córdoba: 2564-2575.
- Palomino-Camargo, C. and Y. González-Muñoz (2014). "Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones." Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública **31**: 535-546.
- Paniagua-Contreras, G. L., E. Monroy-Pérez, et al. (2008). "Prevalencia de Salmonella spp en diarrea de niños de una zona urbana del Estado de México." Revista Médica del Hospital General de México **71**(4): 192-198.
- Parmley, E. J., K. Pintar, et al. (2013). "A Canadian application of one health: integration of Salmonella data from various Canadian surveillance programs (2005-2010)." Foodborne Pathog Dis **10**(9): 747-756.
- Parra, M., J. Durango, et al. (2002). "Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por Salmonella." Revista MVZ Córdoba **7**(2): 187-200.
- Patel, S. R., S. Bharti, et al. (2017). "Drug Resistance Pattern in the Recent Isolates of Salmonella Typhi with Special Reference to Cephalosporins and Azithromycin in the Gangetic Plain." J

Clin Diagn Res **11**(6): Dm01-dm03.

- Pedraza, J. B. G., Z. S. Varela, et al. (2014). "Aislamiento de Salmonella spp y herramientas moleculares para su detección." Salud Uninorte **30**(1).
- Pérez, C., S. Rivera, et al. (2004). "Aislamiento de Salmonella en canales de aves y evaluación de la efectividad de diferentes medios de enriquecimiento y selectivos." Revista Científica **14**(2): 0.
- Pérez_Miravete, A. (2014). "Fuentes de infección y transmisión de salmonelosis." Salud pública de México **16**(1): 37-48.
- Puig Peña, Y., M. Espino Hernández, et al. (2011). "Serovariedades y patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de cepas de Salmonella aisladas de alimentos en Cuba." Revista Panamericana de Salud Pública **30**: 561-565.
- Quiroz, R., M. Correa, et al. (2010). "Alimentos: una vía de exposición a contaminantes orgánicos para la población chilena." Revista chilena de nutrición **37**(4): 493-496.
- Ricke, S. C., S. A. Kim, et al. (2018). "Molecular-based identification and detection of Salmonella in food production systems: current perspectives." J Appl Microbiol **125**(2): 313-327.
- Roer, L., R. S. Hendriksen, et al. (2016). "Is the Evolution of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Linked to Restriction-Modification Systems?" mSystems **1**(3): e00009-00016.
- Rojas, M. and D. Del Valle (2009). "Betalactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para detección fenotípica." Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología **29**(2): 78-83.
- Ruiz, M., E. Calle, et al. (2010). "Identificación de Salmonella sp. en tortugas motelo (*Geochelone denticulata*) de un criadero de la ciudad de Iquitos." Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú **21**(1): 140-143.
- Sandt, C. H., P. J. Fedorka-Cray, et al. (2013). "A comparison of non-typhoidal Salmonella from humans and food animals using pulsed-field gel electrophoresis and antimicrobial susceptibility patterns." PLoS One **8**(10): e77836.
- Sharma, P., B. Kumari, et al. (2019). "Azithromycin resistance mechanisms in typhoidal salmonellae in India: A 25 years analysis." Indian J Med Res **149**(3): 404-411.
- Silva, C., E. Calva, et al. (2014). "One Health and Food-Borne Disease: Salmonella Transmission between Humans, Animals, and Plants." Microbiol Spectr **2**(1): Oh-0020-2013.
- Singh, J., S. Sharma, et al. (2015). "Evaluation of gold nanoparticle based lateral flow assays for diagnosis of enterobacteriaceae members in food and water." Food Chem **170**: 470-483.
- Sobur, M. A., A. A. M. Sabuj, et al. (2019). "Antibiotic-resistant Escherichia coli and Salmonella spp. associated with dairy cattle and farm environment having public health significance." Vet World **12**(7): 984-993.
- Soria, M. A. (2012). Presencia de Salmonella y características físicas de huevos destinados a consumo humano.
- Soto-Varela, Z. E., C. G. Gutiérrez, et al. (2018). "Detección molecular de Salmonella spp., Listeria spp. y Brucella spp. en queso artesanal fresco comercializado en Barranquilla: un estudio piloto." Biomédica **38**: 30-36.
- Tafur, J. D., J. A. Torres, et al. (2011). "Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas." Infectio **12**(3).
- Talero-Pérez, Y. V., O. J. Medina, et al. (2014). "Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol." Universitas Scientiarum **19**(1): 11-28.
- Tang, K. L., N. P. Caffrey, et al. (2019). "Comparison of different approaches to antibiotic restriction in food-producing animals: stratified results from a systematic review and meta-analysis." BMJ Glob Health **4**(4): e001710.

- Tapia, R. (2000). Riesgos por el uso de agroquímicos y medicamentos en la producción de alimentos. Anales de la Universidad de Chile.
- Thung, T. Y., S. Radu, et al. (2018). "Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of Salmonella serovars from retail beef in Selangor, Malaysia." Frontiers in microbiology **8**: 2697.
- Torres, C. and M. Zarazaga (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino?, SciELO Public Health.
- Unlu, O., Z. Aktas, et al. (2018). "Analysis of virulence factors and antimicrobial resistance in Salmonella using molecular techniques and identification of clonal relationships among the strains." Microbial Drug Resistance **24**(10): 1475-1482.
- Uribe, C. and M. C. Suárez (2006). "Salmonellosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar." Colombia médica **37**(2): 151-158.
- Urrutia, M., E. Reyes, et al. (2006). "Estandarización de una técnica para la detección de Salmonella spp. útil para manipuladores de alimentos mediante técnica de amplificación molecular." Cienc. Trab **8**(22): 164-166.
- van Asten, A. J. and J. E. van Dijk (2005). "Distribution of "classic" virulence factors among Salmonella spp." FEMS Immunol Med Microbiol **44**(3): 251-259.
- van Velsen, L., D. J. Beaujean, et al. (2014). "Public knowledge and preventive behavior during a large-scale Salmonella outbreak: results from an online survey in the Netherlands." BMC Public Health **14**: 100.
- Vasek, O. M. and L. F. Falcione (2016). "Quesos artesanales de Corrientes. Riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos: Encefalopatía espongiiforme Bovina. Review." FACENA **27**: 13-23.
- Vega-Aviña, R., H. Aguiar-Hernández, et al. (2000). "Endemismo regional presente en la flora del municipio de Culiacán, Sinaloa, México." Acta Botanica Mexicana(53): 1-15.
- Viazis, S., J. K. Beal, et al. (2015). "Laboratory, Environmental, and Epidemiologic Investigation and Regulatory Enforcement Actions in Response to an Outbreak of Salmonella Bredeney Infections Linked to Peanut Butter." Open Forum Infect Dis **2**(3): ofv114.
- Vila, J., S. Martí, et al. (2007). "Porins, efflux pumps and multidrug resistance in Acinetobacter baumannii." Journal of antimicrobial chemotherapy **59**(6): 1210-1215.
- Wang, L., J. Yan, et al. (2018). "Autophagy and Ubiquitination in Salmonella Infection and the Related Inflammatory Responses." Front Cell Infect Microbiol **8**: 78.
- Ward, M. P., C. A. Alinovi, et al. (2005). "Evaluation of a PCR to detect Salmonella in fecal samples of horses admitted to a veterinary teaching hospital." J Vet Diagn Invest **17**(2): 118-123.
- Yang, Q., K. J. Domesle, et al. (2016). "Rapid detection of Salmonella in food and feed by coupling loop-mediated isothermal amplification with bioluminescent assay in real-time." BMC Microbiol **16**(1): 112.
- Ye, Z., E. O. Petrof, et al. (2007). "Salmonella effector AvrA regulation of colonic epithelial cell inflammation by deubiquitination." Am J Pathol **171**(3): 882-892.
- Yin, B., L. Zhu, et al. (2018). "The Characterization of Biofilm Formation and Detection of Biofilm-Related Genes in Salmonella Isolated from Beef Processing Plants." Foodborne pathogens and disease **15**(10): 660-667.
- Yue, M. and D. M. Schifferli (2014). "Allelic variation in Salmonella: an underappreciated driver of adaptation and virulence." Front Microbiol **4**: 419.
- Zhou, X., L. Xu, et al. (2018). "Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of Salmonella enterica Serovar Enteritidis from Retail Chicken Products in Shanghai, China." Foodborne Pathog Dis **15**(6): 346-352.

