

EVALUACIÓN DE RÍOS DEL VALLE DE CULIACÁN, MÉXICO, COMO RESERVORIOS DE SEROTIPOS DE *Salmonella* RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS

Gloria Marisol CASTAÑEDA-RUELAS y Maribel JIMÉNEZ-EDEZA*

Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico, Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México

* Autor para correspondencia: mjimeneze@uas.edu.mx

(Recibido noviembre 2016; aceptado junio 2017)

Palabras clave: bacterias, diseminación, antibiogramas, agua

RESUMEN

Salmonella es una de las principales causas de gastroenteritis bacteriana y se ha reportado su presencia y sobrevivencia en ecosistemas acuáticos. Esto, aunado al uso indiscriminado de antibióticos en actividades humanas y agropecuarias, podría favorecer la aparición y diseminación de cepas resistentes en estos ambientes. Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar la resistencia a antibióticos (RA) en 111 cepas de *Salmonella* clasificados en 28 serotipos no tifoideos, aislados de ríos del noroeste de México. Se utilizó el método de difusión en disco para la evaluación de un panel de 16 antibióticos, según lo recomendado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. El 50.5 % (56/111) de las cepas fueron resistentes al menos a un antibiótico y el 41.1 % (23/56) de las cepas presentaron multiresistencia. La mayoría (87.5 %) de los serotipos presentaron RA, principalmente a ampicilina, neomicina, y cloranfenicol. El antibiograma reveló 26 patrones de RA entre las cepas de *Salmonella*. Los serotipos de *Salmonella* Oranienburg y Saintpaul mostraron gran diversidad de patrones de RA. Estos hallazgos mejoran el conocimiento sobre los serotipos de *Salmonella* RA de origen acuático. Además, sugieren el riesgo potencial de que los ríos del noroeste de México sirvan como reservorios y fuentes de propagación de esta bacteria entre diferentes hospederos o ambientes.

Key words: bacteria, dissemination, antibiograms, water

ABSTRACT

Salmonella is one of the main causes of bacterial gastroenteritis and its presence and survival in aquatic ecosystems has been reported. This, coupled with the indiscriminate use of antibiotics in human and agricultural activities, could favor the emergence and dissemination of resistant strains in these environments. Therefore, the objective of this study was to determine antibiotic resistance (AR) in 111 *Salmonella* strains classified in 28 non-typhoid serotypes, isolated from rivers in northwestern Mexico. The disk diffusion method was used for the evaluation of a panel of 16 antibiotics, as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute. Of the strains analyzed, 50.5 % (56/111) were resistant to at least one antibiotic and 41.1 % (23/56) presented multiresistance. The majority (87.5%) of the serotypes presented AR, mainly to

ampicillin, neomycin, and chloramphenicol. The antibiogram revealed 26 AR patterns among the *Salmonella* strains. The *Salmonella* serotypes Oranienburg and Saintpaul, showed a great diversity of AR patterns. These findings improve knowledge about the AR *Salmonella* serotypes of aquatic origin. In addition, they suggest the potential risk that the rivers in northwestern Mexico serve as reservoirs and sources of propagation of this bacterium between different hosts or environments.

INTRODUCCIÓN

Salmonella es un género bacteriano mayormente asociado con enfermedades en humanos. Se divide en dos especies: *enterica* y *bongori*. A su vez, *Salmonella enterica* se puede dividir en seis subespecies: 1) *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, 2) *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, 3) *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*, 4) *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, 5) *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* y 6) *Salmonella enterica* subsp. *indica*. Alternativamente, las cepas de *Salmonella enterica* pueden clasificarse con base en sus antígenos de superficie O (lipopolisacárido) y H (flagelar). Con base en esta tipificación se han reportado más de 2500 serovariedades o serotipos (Fábrega y Vila 2013).

Dos de los principales síndromes clínicos causados por la infección con *Salmonella* en seres humanos son fiebre entérica o fiebre tifoidea, y gastroenteritis infecciosa. La fiebre entérica o tifoidea es una enfermedad invasiva sistémica causada por *Salmonella enterica* serotipos Typhi y Paratyphi A y B que afecta exclusivamente al ser humano. En contraste, hay muchas cepas de *Salmonella* no tifoidea (SNT) que causan enfermedad diarreaica en el ser humano y puede, además, infectar una amplia gama de animales, siendo los serotipos frecuentemente relacionados con estos casos *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium (Fábrega y Vila 2013). Sin embargo, la prevalencia de los serotipos causantes de SNT podría ser dependiente de su localización geográfica y temporal (Pui et al. 2011).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, se estima que hay 153 097 991 casos de SNT y 56 969 muertes relacionadas al año, y se ha descrito que la mayoría de los casos de SNT se asocian con el consumo de alimentos o agua contaminados con la bacteria, lo que representa un tema importante de salud pública (Kirk et al. 2015). En México, la Dirección General de Epidemiología declara anualmente > 72 000 casos de gastroenteritis por infección de *Salmonella* (DGE 2015). Cabe señalar que los serotipos y la vía de infección vinculados con estos casos de SNT no están claramente definidos.

Los serotipos de SNT se caracterizan por una amplia especificidad de hospederos y condiciones de crecimiento diversas, lo cual favorece su introducción en el ambiente mediante contaminación fecal directa (heces de humanos o animales infectados) o indirecta (descarga agrícola o aguas residuales), pudiendo atravesar la cadena alimentaria para la contaminación del alimento (Chen et al. 2013, Li et al. 2014). Los ecosistemas acuáticos (ríos, lagos, costeras y estuarios) desempeñan un papel crucial en la difusión y retransmisión de bacterias, por lo que se consideran una fuente potencial de infecciones por *Salmonella* (Levantesi et al. 2012). Estudios epidemiológicos han descrito la presencia y capacidad de supervivencia de *Salmonella* en el medio acuático (Levantesi et al. 2012). En México, *Salmonella* es reconocida como un peligro acuático significativo de ríos (Jiménez et al. 2014) y como comensal de animales domésticos (Jiménez et al. 2011).

En consonancia con la contaminación del agua por *Salmonella*, el agua de riego se ha identificado como fuente de contaminación de cultivos hortícolas relacionados con brotes, y en México se ha vinculado con algunos de ellos (CDC 2008, 2013). En Estados Unidos, en 2008 y 2013, se notificaron brotes de SNT vinculados con el consumo de chiles serranos (Behraves et al. 2011) y pepinos (CDC 2013), respectivamente. El serotipo *Salmonella* Saintpaul se identificó como agente causal de ambos brotes, y el agua de irrigación y el ambiente de las granjas de México se establecieron como la fuente común de contaminación (Behraves et al. 2011, CDC 2013). Posteriormente, Jiménez et al. (2014) reportaron alta incidencia (85 %) de *Salmonella* y una gran diversidad de serotipos de SNT distribuidos en los ríos del noroeste de México.

Generalmente, la SNT es una enfermedad autolimitante, y se trata mediante reposición de líquidos y electrolitos. La recomendación del uso de antibióticos es para pacientes con enfermedad grave o alto riesgo de enfermedad invasiva (Pui et al. 2011, Chen et al. 2013). Sin embargo, la aparición de serotipos de SNT con resistencia a antibióticos (RA), especialmente a la primera línea de tratamiento con estos fármacos (ampicilina, amoxicilina, cloranfenicol y

trimetoprim-sulfametoxazol) se ha convertido en un grave peligro para la salud (CENETEC 2012, Chen et al. 2013). Los mecanismos para la adquisición de RA en *Salmonella* involucran el uso inapropiado de antibióticos por parte del hombre (agricultura, medicina y veterinaria) (Su et al. 2004), así como el intercambio de elementos genéticos móviles que llevan genes de RA con el ecosistema colonizado por la bacteria (Paytubi et al. 2014). La detección de resistencia múltiple a antibióticos (RMA) en *Salmonella* aislada de fuentes de agua (Li et al. 2014) es de gran relevancia debido a su participación como vía importante en la transmisión de *Salmonella* RA a los seres humanos.

En México se ha informado sobre el aumento de RA en cepas de *Salmonella* obtenidas de muestras clínicas (Amábile-Cuevas 2010), animales domésticos (Jiménez et al. 2011) y alimentos (Miranda et al. 2009), lo cual se ha vinculado con el uso irracional de antibióticos. Sin embargo, la emergencia de cepas de *Salmonella* RMA obtenidas de recursos hídricos naturales requiere una mejor descripción, ya que éstos participan en la difusión de la bacteria. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar el perfil de RA de diferentes serotipos de SNT aisladas de ríos del valle agrícola de Culiacán y establecer relaciones entre aislamientos, como base para determinar el papel de estos ecosistemas como reservorios y fuentes de propagación de *Salmonella* RA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colección de cepas de *Salmonella*

Se analizaron la prevalencia, la diseminación y el perfil de RA de 111 cepas de *Salmonella* recuperadas previamente de tres ríos (Humaya, Tamazula y Culiacán) situados en el valle de Culiacán, en la región noroeste de México. De estos ríos se seleccionaron seis sitios de muestreo (denominados A, B, C, D, E y F) con una separación de aproximadamente 25 km entre sí, para cubrir un área de estudio en la cual se llevan a cabo tanto prácticas agrícolas como actividades recreacionales. Además, estos sitios debían estar ubicados a menos de 1 km de una población rural donde se practicara la crianza de algún tipo de animal. Las muestras se recogieron con una frecuencia quincenal de julio de 2008 a junio de 2009. Las muestras de agua de río se tomaron aproximadamente 30 cm por debajo de la superficie en botellas de plástico estériles y se mantuvieron a 4 °C por un periodo no mayor de 6 horas hasta su procesamiento. Las cepas de *Salmonella* aisladas de dichas muestras fueron

previamente clasificadas por serología; se reportaron 23 serotipos completamente tipificados de *Salmonella enterica* sub. *enterica* (Agona, Anatum, Bovismorbificans, Braenderup, GIVE, Infantis, Javiana, Kiambu, Luciana, Minnesota, Montevideo, Münster, Newport, Oranienburg, Pomona, Poona, Saintpaul, San Diego, Senftenberg, Soahanina, Sundsvall, Texas, Weltevreden) y tres serogrupos de la misma subespecie (E1, I, L). Además, se reportaron aislamientos de *Salmonella enterica* sub. *houtenae* (grupo IV) y cepas no tipificables (Jiménez et al. 2014).

Preparación del inóculo

Las cepas de *Salmonella* se almacenaron a -80 °C hasta su cultivo en agar Hecktoen (BD Bioxon, México). Posteriormente, de una a tres colonias se transfirieron a caldo de soya triptona (Difco, México) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Después de la incubación se preparó una suspensión bacteriana en agua peptona tamponada al 0.1 % (BD Bioxon, México), y se ajustó a la turbidez de 0.5 en escala de MacFarland.

Prueba de sensibilidad a antibióticos

La sensibilidad a los antibióticos de las cepas de *Salmonella* se determinó utilizando el método de difusión en disco de acuerdo con el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI 2015). Se tomaron alícuotas de 0.1 mL de suspensión bacteriana y se extendieron por duplicado en agar Mueller Hinton (BD Bioxon, México). Posteriormente, los discos de antibióticos (Oxoid, Reino Unido) se colocaron sobre el agar inoculado y se incubaron a 37 °C durante 24 h. El panel evaluado comprendió 16 antibióticos (**Cuadro I**). Para la interpretación de resultados, las cepas se clasificaron como susceptible, intermedia o resistente a antibióticos de acuerdo con el diámetro (mm) del halo de inhibición (**Cuadro I**) (CLSI 2015). Las cepas se consideraron con RMA si presentaban $RA \geq 2$ antibióticos, independientemente de si éstos pertenecían a la misma familia. La cepa de *E. coli* ATCC 25922 se utilizó como referencia para verificar la calidad de la prueba.

Análisis estadístico

Los datos generados en este estudio se analizaron mediante el paquete estadístico para las ciencias sociales IBM SPSS Statistics v. 21. Las pruebas de chi cuadrada (X^2) y Kruskal-Wallis se utilizaron para estimar las tasas de RA entre los serotipos de SNT, así como el origen y la fecha de aislamiento. Los valores de $p \leq 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

CUADRO I. DISTRIBUCIÓN DE LA RESISTENCIA DE LAS CEPAS DE *Salmonella* A LOS ANTIBIÓTICOS DE ACUERDO CON EL SITIO Y PERIODO DE AISLAMIENTO

Antibiótico (µg)	Núm. de cepas* (n = 111)	Núm. de cepas por sitio de aislamiento**						Núm. de cepas por periodo de aislamiento***	
		A (n = 22)	B (n = 16)	C (n = 20)	D (n = 18)	E (n = 21)	F (n = 14)	2008 (n = 61)	2009 (n = 50)
Apramicina (15)	3	1	1	0	1	0	0	3	0
Amikacina (30)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estreptomycin (25)	8	1	2	1	3	1	0	7	1
Gentamicina (10)	1	0	0	1	0	0	0	1	0
Neomicina (10)	16	3	4	1	2	4	2	9	7
Ampicilina (10)	18	4	2	2	4	3	3	8	10
Amoxicilina-ácido clavulánico (30)	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Cefoperazona (30)	4	0	2	2	0	0	0	4	0
Ceftazidima (30)	10	1	2	7	0	0	0	9	1
Cloranfenicol (10)	12	4	2	0	3	2	1	10	2
Furazolidona (15)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Colistin sulfato (25)	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Ácido nalidíxico (30)	8	4	3	1	0	0	0	7	1
Trimetoprim-sulfametoxazol (25)	2	0	0	2	0	0	0	2	0
Sulfonamidas (300)	3	0	0	1	0	1	1	0	3
Tetraciclina (10)	9	1	0	7	0	0	1	8	1
RA	56	12	10	12	8	8	6	36	20
RMA	23	3	5	6	3	2	3	18	5
Susceptible	55	10	6	8	10	13	8	25	30

NA: no aplicable, RA: resistencia a un antibiótico, RMA: resistencia a múltiples antibióticos (≥ 2 antibióticos)

*Kruskal-Wallis: $H = 99.11$, $p = 0.994$; **Kruskal-Wallis: $H = 3.80$, $p = 0.579$; ***Kruskal-Wallis: $H = 24.65$, $p = 0.314$

RESULTADOS

El 50.5 % (56/111) de las cepas de *Salmonella* presentaron RA ≥ 1 de los 16 antibióticos del panel evaluado; 41.1 % (23/56) de las cepas RA se identificaron con RMA (**Cuadro I**). Las cepas de *Salmonella* mostraron como principal fenotipo de RA a ampicilina (16.2 %), seguido de neomicina (14.4 %), cloranfenicol (10.8 %) y ceftazidima (9.0 %). Ninguna de las cepas de *Salmonella* mostró resistencia frente a amikacina y furazolidona. La prueba de Kruskal-Wallis no mostró diferencia significativa en la distribución de la RA entre las cepas, la fecha y el origen de aislamiento (**Cuadro I**). A pesar de la diferencia no significativa en la distribución de cepas RMA entre los periodos de estudio, se observó una reducción evidente de cepas de *Salmonella* con RMA aisladas en 2009 (5) comparadas con 2008 (18). Cabe señalar que las cepas de RA se asocian significativamente al periodo de aislamiento de 2008 ($X^2 = 32.34$, $p = 0.046$).

Respecto a los serotipos de *Salmonella* evaluados en el estudio, el 82.1 % (23/28) y el 46.4 % (13/28) muestran cepas con RA y RMA, respectivamente

(**Cuadro II**). No se observó diferencia significativa de RA entre los serotipos ($H = 37.34$, $p = 0.138$), lo que puede indicar que estos serotipos tienen el mismo potencial para desarrollar RA habitualmente prescritos. Los serotipos identificados como susceptibles al panel antimicrobiano pertenecían a *Salmonella* Bovismorbificans, *Salmonella* Braenderup, *Salmonella* Sundsvall, *Salmonella* Texas, y *Salmonella* I. El **cuadro II** describe la frecuencia de *Salmonella* RA por serotipo y una clasificación de los antibióticos evaluados según los mecanismos fundamentales de resistencia bacteriana (Mendoza 2011). Con base en esto, las cepas de *Salmonella* RA mostraron mayor resistencia a los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular y la síntesis de proteínas. Curiosamente los serotipos predominantes, *Salmonella* Oranienburg y *Salmonella* Saintpaul, exhibieron RMA a 11 y nueve antibióticos, que están representados por cuatro y cinco clases de antimicrobianos diferentes, respectivamente (**Cuadro II**).

El antibiograma de 16 antibióticos evaluados reveló 26 patrones RA (R1-R26) entre los diferentes serotipos de SNT. El **cuadro III** resume la frecuencia de patrones de RA entre las cepas y serotipos, los cuales

CUADRO II. PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS ENTRE LOS SEROTIPOS DE *Salmonella* NO TIFOIDEOS AISLADOS DE LOS RÍOS CONTRA CINCO CLASES DE ANTIBIÓTICOS

Serotipo	n	Núm. de cepas		Panel de resistencia a antimicrobianos													
		RA	RMA	AMP	CFP	CAZ	AC	APR	C	N	S	TE	CN	NA	S300	STX	CT
Agona	2	1	0											■			
Anatum	5	2	0	■													
Bovismorbificans	2	0	0														
Braenderup	1	0	0														
Serogrupo E1	1	1	1	■							■						
Give	5	1	0											■			
Serogrupo I	1	0	0														
Infantis	5	2	1							■	■				□		
Grupo IV	3	3	1	■						■	■						
Javiana	2	1	1							■	■						
Kiambu	1	1	0							■							
Serogrupo L	1	1	0						■								
Luciana	2	1	0							■							
Minnesota	7	3	2			■				■		■	■				
Montevideo	4	2	2	■						■			■				
Muenster	5	2	0	■													
Newport	3	1	1		■	■	■					■					
Oranienburg	28	16	9	■	■	■		■	■	■	■	■	■	■		□	
Pomona	5	1	1					■		■							
Poona	5	2	0	■						■							
Saintpaul	10	7	1	■	■	■	■		■	■			■	□		⊗	
Sandiego	2	1	0	■													
Senftenberg	1	1	1							■	■			■			
Soahanina	1	1	1		■	■				■							
Sundsva	2	0	0														
Texas	1	0	0														
No tipificable	2	1	0							■	■						
Weltevreden	4	4	1	■		■				■			■				
Total	111	56	23														

Panel de antibióticos: ampicilina (AMP), cefoperazona (CFP), ceftazidima (CAZ), amoxicilina-ácido clavulánico (AC), apramicina (APR), cloranfenicol (C), neomicina (N), estreptomina (S), tetraciclina (TE), gentamicina (CN), ácido nalidíxico (NA), sulfonamidas (S300), trimetoprim-sulfametoxazol (STX) y colistín sulfato (CT). Los serotipos de *Salmonella* RA se clasificaron de acuerdo con el mecanismo de acción de resistencia: síntesis de inhibidores de la pared celular (■), síntesis de inhibidores de proteínas (■), inhibidores de síntesis de ácidos nucleicos (■), inhibidores metabólicos (□) y modificadores de la permeabilidad de la membrana celular (⊗). RA: resistencia a un sólo antibiótico, RMA: resistencia ≥ 2 antibióticos

se clasifican principalmente en patrones RA constituidos por un antibiótico (R1-R4). En nuestro estudio, los principales patrones RA difundidos entre serotipos fueron R1 (28.6 %) y R2 (25.0 %) (**Cuadro III**). En particular, *Salmonella* Oranienburg se caracterizó por un mayor porcentaje de cepas de RMA (32 %) (**Cuadro II**) representado por la amplia variedad de patrones RA (13 patrones) (**Cuadro III**). La gran diversidad de patrones de resistencia encontrados en las cepas de estudio impidió establecer supuestos teóricos de relaciones entre serotipos o adquisición de resistencia en sitios de muestreo específicos, lo que podría significar el uso indiscriminado de antibióticos en la región noroeste de México.

DISCUSIÓN

En México hay falta de conocimiento sobre los fenotipos de RA de diferentes serotipos de *Salmonella* recuperados a partir de ecosistemas acuáticos. Por lo tanto, los resultados de este estudio proporcionan una mejor comprensión de la frecuencia y diseminación del comportamiento antimicrobiano de los serotipos de SNT distribuidos a través de los principales ríos de la región noroeste de México. La alta incidencia de cepas *Salmonella* RA (50.5 %) denota una situación preocupante porque esta fuente de agua podría favorecer la aparición y propagación de estas cepas de *Salmonella* en el ambiente de la región (**Fig. 1**),

CUADRO III. PATRONES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE LOS SEROTIPOS DE *Salmonella* AISLADOS DE LOS RÍOS EN EL NOROESTE DE MÉXICO

PR	Antibiótico	Núm. (%) de cepas	Núm. (%) de serotipos	Serotipos de <i>Salmonella</i>																						
				A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
R1	AMP	12 (21.4)	8 (28.6)	*				*				*			*			*			*			*		
R2	N	9 (16.1)	7 (25.0)					*			*			*			*		*		*		*	*		
R3	NA	5 (8.9)	4 (14.3)	*							*			*			*		*		*		*	*		
R4	C	5 (8.9)	4 (14.3)				*				*			*			*		*		*		*	*		
R5	CAZ-TE	3 (5.4)	3 (10.7)								*			*			*		*		*		*	*		
R6	N-S	2 (3.6)	2 (7.1)					*			*			*			*		*		*		*	*		
R7	S	1 (1.8)	1 (3.6)				*				*			*			*		*		*		*	*		
R8	S300	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R9	AMP-S	1 (1.8)	1 (3.6)	*							*			*			*		*		*		*	*		
R10	N-S300	1 (1.8)	1 (3.6)					*			*			*			*		*		*		*	*		
R11	C-S	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R12	C-TE	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R13	C-N	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R14	C-AMP	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R15	APR-N	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R16	AMP-S300	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R17	NA-N	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R18	CFP-CAZ-TE	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R19	CAZ-TE-SXT	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R20	CAZ-TE-NA	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R21	C-CFP-N	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R22	C-CFP-CAZ	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R23	APR-C-AMP-N	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R24	CAZ-TE-CN-S-SXT	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R25	AMP-AC-CFP-CAZ-CT	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		
R26	AMP-APR-C-NA-N-S	1 (1.8)	1 (3.6)								*			*			*		*		*		*	*		

La codificación de antibióticos es igual a la que se presenta en el cuadro II. Los serotipos se codifican como: Agona (A), Anatum (B), E1 (C), Give (D), Infantis (E), IV (F), Javiana (G), Kiambu (H), L (I), Luciana (J), Minnesota (K), Montevideo (L), Münster (M), Newport (N), Oranienburg (O), Pomona (P), Poona (Q), Saintpaul (R), Sandiego (S), Senftenberg (T), Sohanina (U), no tipificable (V), Weltevreden (W)

*Resistencia significativa a antibióticos

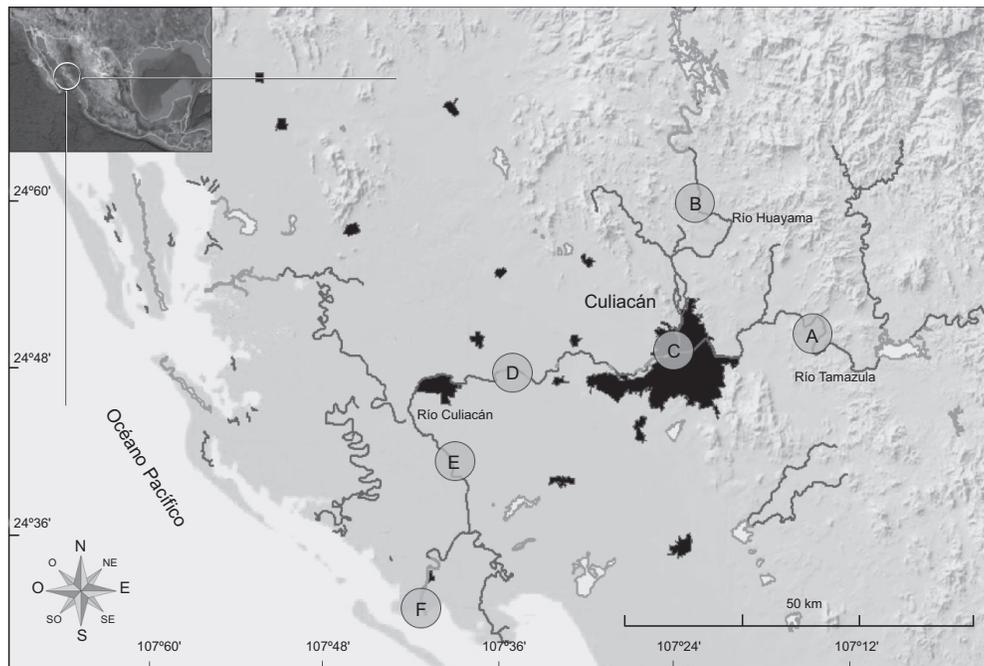


Fig. 1. Mapa de los ríos del valle de Culiacán en el noroeste de México.
Las letras A, B, C, D, E y F representan los sitios de aislamiento de los serotipos de *Salmonella*

lo que representa un aumento del riesgo de casos de SNT y la necesidad de tratamientos clínicos y veterinarios adecuados.

Varios estudios de vigilancia de la RA en *Salmonella* concuerdan con nuestros resultados, lo cual evidencia la marcada aparición de cepas de *Salmonella* RA recuperadas de medios acuáticos como agua de riego (Li et al. 2014), estuarios (Carvalho et al. 2013), canales (López et al. 2009), y aguas subterráneas (Phokela et al. 2011). Se ha documentado que los ríos del valle Culiacán se utilizan para prácticas agrícolas en el cultivo de hortalizas, granos, oleaginosas y frutas, entre otros plantíos (CODESIN 2015, López et al. 2009, Jiménez et al. 2014), lo cual expone los productos de exportación al riesgo de contaminación con cepas de *Salmonella* RA. Anteriormente, la CDC vinculó este hecho con un brote de SNT en Estados Unidos (CDC 2013).

La frecuencia de cepas de *Salmonella* resistentes a varios antibióticos, incluyendo ampicilina, tetraciclina, estreptomycin, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, y sulfonamidas, así como otros fármacos, es una realidad establecida ampliamente en la literatura (Levantesi et al. 2012, Abapka et al. 2014). Particularmente, se han reportado altos niveles de resistencia a estos antibióticos en SNT (Voss-Rech et al. 2016). En México, estudios previos dirigidos a la caracterización de la RA han descrito cepas de

Salmonella de origen clínico (Amábile-Cuevas 2010) o alimentario (Miranda et al. 2009), o bien originadas en aguas de canal (López et al. 2009), resistentes a tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol y ceftriaxona. Estos fenotipos de RA se observaron en las cepas de *Salmonella* incluidas en este estudio. Por lo tanto, se sugiere que estos fenotipos se mantienen entre las cepas de *Salmonella* como resultado de su dispersión o clonalidad, previamente descritas por Jiménez et al. (2014).

La vigilancia de la RA en serotipos aislados a partir del ambiente acuático refleja el entorno en el que crece el organismo (Li et al. 2014), y es un indicador útil de la mala gestión de los antimicrobianos en los entornos de producción de los animales, la actividad agrícola y la farmacoterapia en humanos (Singh et al. 2012, Cabello y Godfrey 2016). En este contexto, nuestros resultados mostraron que la prevalencia de los serotipos con RA (**Cuadro III**) se relaciona con la actividad humana como la principal fuente de antibióticos en los ríos, dado que los patrones de resistencia estuvieron mayormente asociados con ampicilina, cloranfenicol, ceftazidima y ácido nalidixico. Cabe señalar que estos antibióticos se han señalado como los de mayor consumo para el tratamiento médico en México (Benavides-Plascencia et al. 2005). Por ello, grandes cantidades de estos fármacos son liberados en aguas residuales municipales por excreción o

eliminación (Lien et al. 2016), y se han detectado en diferentes ambientes acuáticos como ríos (Zhang et al. 2015), agua para acuicultura (Pham et al. 2015), influentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (Rodríguez-Mozaz et al. 2015) y principalmente en los efluentes de hospitales (Castro-Pastrana et al. 2015). Por otro lado, se encontró una alta incidencia de cepas de *Salmonella* resistentes a tetraciclina, lo que podría estar relacionado con el amplio uso de este antibiótico para tratamiento humano, así como en actividades agrícolas y pecuarias (Borghì y Palma 2014). Además, se ha reportado que más del 70 % de este antibiótico es excretado después de la medicación, y que su alta hidrofobicidad y baja volatilidad, le permiten prevalecer por periodos prolongados en ambientes acuáticos (Daghri y Droguì 2013).

La amplia distribución de fenotipos RA de *Salmonella* Oranienburg y *Salmonella* Saintpaul en la región podría ser reflejo de la recirculación de estos serotipos entre el medio ambiente y animales domésticos (Jiménez et al. 2011, 2014), así como un indicador potencial de la interacción de genes de RA entre poblaciones microbianas que colonizan estos ecosistemas (Carvalho et al. 2013, Abapka et al. 2014). Dado que el agua es el hábitat de las bacterias y una de las rutas más importantes para su diseminación, se ha propuesto que también desempeña un papel crítico como reservorio de genes que confieren resistencia a antimicrobianos (GRA) (Vaz-Moreira et al. 2014). De acuerdo con esto, los resultados de nuestro trabajo demuestran la gran variedad de patrones de resistencia a antibióticos que puede presentar *Salmonella* (**Cuadro III**). Por ello, se sugiere continuar con la caracterización molecular de genes implicados en la RA de al menos un representante de cada familia de antibióticos, principalmente aquellos que mostraron mayor incidencia (ampicilina, tetraciclina, estreptomycin, ceftazidima, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, ácido nalidixico y sulfonamidas).

Este estudio muestra que la mayoría (82.0 %) de los serotipos de SNT presentan RA o RMA (**Cuadro II**), y que manifiestan una gran diversidad de patrones RA (**Cuadro III**), lo que implica la facultad indiscriminada de estos serotipos para adquirir resistencia contra diversas clases de antibióticos y correlacionar con los diversos mecanismos que utiliza *Salmonella* para inhibir el efecto antibiótico, especialmente *Salmonella* Oranienburg y *Salmonella* Saintpaul (**Cuadro II**). Diversos mecanismos de RA han sido descritos para *Salmonella* (Su et al. 2004), lo cual ha reflejado la capacidad de serotipos de SNT de origen ambiental para exhibir patrones de RMA > 4 clases de antibióticos (Carvalho et al. 2013).

Salmonella Typhimurium DT29 fue la primera cepa identificada con RMA (ampicilina, estreptomycin, sulfonamidas, tetraciclina y furazolidona) que fue ampliamente diseminada y responsable de una epidemia grave en el hombre y los animales. Después se sumaron esfuerzos para estudiar y controlar la RA de este serotipo, así como otros serotipos emergentes (Frye y Jackson 2013). En este sentido, se debe prestar especial atención a los serotipos que muestran RMA de origen acuático, incluyendo *Salmonella* Oranienburg, *Salmonella* Saintpaul, *Salmonella* Minnesota y *Salmonella* Muenchen, ya que son los principales serotipos dispersos en la región noroeste de México (López et al. 2009, Jiménez et al. 2011, 2014) y se relacionan con brotes mundiales de SNT (Behraves et al. 2011, Pui et al. 2011, CDC 2013). En México, *Salmonella* Oranienburg fue el agente causal de un brote de origen alimentario que se caracterizó por presentar RMA, lo cual dificultó el tratamiento de la población afectada (Vázquez-Garcidueñas et al. 2014). Además, se ha reportado que este serotipo es altamente resistente al menos a nueve agentes antimicrobianos (Kaneene et al. 2010).

Por último, la aparición de cepas con RMA — exhibida por la mayoría de los serotipos de *Salmonella* — tiene un impacto negativo en la eficacia del tratamiento antimicrobiano; en consecuencia, puede conducir a aumentos en las tasas de morbimortalidad de la salmonelosis (Frye y Jackson 2013). Además, un aumento de la resistencia a la ampicilina entre los serotipos de *Salmonella* incluidos en este estudio se considera un problema de salud en México, ya que este antibiótico es uno de los más recetados. La RA observada en *Salmonella* exhibe la continuidad de un panorama alarmante, ya que muchos de estos antibióticos (ampicilina, sulfonamidas, fluoroquinolonas o cefalosporinas) son la primera línea de terapia antimicrobiana frente a la salmonelosis (CENETEC 2012, Chen et al. 2013). Debido a la presencia de cepas de *Salmonella* susceptibles a la familia de los nitrofuranos (furazolidona), éste podría considerarse como un tratamiento alternativo para la salmonelosis en la región de estudio (Chadfield y Hinton 2003).

CONCLUSIONES

La información descrita contribuye a mejorar el conocimiento sobre la RA en diferentes serotipos de SNT recuperados de ríos del noroeste de México, y puede utilizarse en estudios epidemiológicos sobre este patógeno de transmisión alimentaria. Estos ha-

llazgos sugieren que los ríos ubicados en la región podrían servir como albergue y fuente de transmisión de diferentes serotipos de *Salmonella* con RA entre hospederos y/o ambientes. La RA de *Salmonella* frente a cloranfenicol, ampicilina, amoxicilina y trimetoprim-sulfametoxazol es un problema de salud pública debido a que estos antibióticos son considerados como el tratamiento de elección contra la SNT. La educación y estrategias sobre el control de la propagación de este patógeno, así como el uso adecuado de los antibióticos, son cruciales para limitar la aparición de cepas de *Salmonella* RMA.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento recibido bajo el número de proyecto CB-2014/235989. Al Laboratorio Nacional de Investigación en Microbiología de los Alimentos (LANNIA) del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo en Culiacán, Sinaloa, México, por compartir las cepas y permitir su uso en esta investigación.

REFERENCIAS

- Abakpa G.O., Umoh V.J., Ameh J.B., Yakubu S.E., Kwaga J.K.P. y Kamaruzaman S. (2014). Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolated from fresh produce and environmental samples. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* 3, 38-46. DOI: 10.1016/j.enmm.2014.11.004
- Amábile-Cuevas C.F. (2010). Antibiotic resistance in Mexico: A brief overview of the current status and its causes. *The Journal of Infection in Developing Countries* 4 (3), 126-131. DOI: 10.3855/jidc.427
- Behravesh C.B., Mody R.K., Jungk J., Gaul L., Redd J.T., Chen S., Cosgrove S.A., Hedican E., Sweat D., Chávez-Hauser L., Snow S.L., Hanson H., Nguyen T., Sodha S.V., Boore A.L., Russo E., Mikoleit M., Theobald L., Gerner-Smidt P., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Swerdlow D.L., Tauxe R.V., Griffin P.M. y Williams I.T. (2011). Outbreak of *Salmonella* Saintpaul infections associated with raw produce. *New Engl. J. Med.* 364 (10), 918-927. DOI: 10.1056/NEJMoa1005741
- Benavides-Plascencia L., Aldama-Ojeda A. y Vázquez H. (2005). Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública de México* 47 (3), 219-226. DOI: 10.1590/S0036-36342005000300005
- Borghi A.A. y Palma M.S.A. (2014). Tetracycline: Production, waste treatment and environmental impact assessment. *Braz. J. Pharm. Sci.* 50 (1), 25-40. DOI: 10.1590/S1984-82502011000100003
- Cabello F.C. y Godfrey H. P. (2016). Even therapeutic antimicrobial use in animal husbandry may generate environmental hazards to human health. *Environ. Microbiol.* 18 (2), 311-313. DOI: 10.1111/1462-2920.13247
- Carvalho F.C.T., Sousa O.V., Carvalho E.M.R., Hofer E. y Vieira R.H.S.F. (2013). Antibiotic resistance of *Salmonella* spp. isolated from shrimp farming freshwater environment in Northeast Region of Brazil. *Journal of Pathogens* (2013), 1-5. DOI: 10.1155/2013/685193
- Castro-Pastrana L.I., Baños-Medina M.I., López-Luna M.A. y Torres-García B.L. (2015). Ecofarmacovigilancia en México: perspectivas para su implementación. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 46 (3), 16-40.
- CDC (2008). Multistate outbreak of *Salmonella* Saintpaul infections linked to raw produce. Centers for Disease Control and Prevention. [en línea]. <https://www.cdc.gov/salmonella/2008/raw-produce-8-28-2008.html> 26/06/2017
- CDC (2013). Multistate outbreak of *Salmonella* Saintpaul infections linked to imported cucumbers 2008. Centers for Disease Control and Prevention. [en línea]. <http://www.cdc.gov/Salmonella/saintpaul-04-13/index.html> 26/06/2017
- CENETEC (2012). Prevención, diagnóstico y tratamiento de fiebre paratifoidea y otras salmonelosis en niños y adolescentes en primero y segundo nivel de atención. Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud. [en línea]. <http://dcs.uqroo.mx/paginas/guiasclinicas/gpc/docs/ISSSTE-253-12-ER.pdf> 26/06/2017
- Chadfield M. y Hinton M. (2003). Evaluation of treatment and prophylaxis with nitrofurans and comparison with alternative antimicrobial agents in experimental *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* infection in chicks. *Vet. Res. Commun.* 27 (4), 257-273. DOI: 10.1023/A:1024039506986
- Chen H.M., Wang Y., Su L. H. y Chiu C.H. (2013). Nontyphoid *Salmonella* infection: Microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatr. Neonatol.* 54 (3), 147-152. DOI: 10.1016/j.pedneo.2013.01.010
- CLSI (2015). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA, EUA, 231 pp.
- CODESIN (2015). Reporte sobre la agricultura en Sinaloa al año 2015. Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa. [en línea]. <http://sinaloaennumeros.com/reportesobre-la-agricultura-en-sinaloa-al-ano-2015/> 26/06/2017

- Daghrir R. y Drogui P. (2013). Tetracycline antibiotics in the environment: A review. *Environ. Chem. Lett.* 11 (3), 209-227.
DOI: 10.1007/s10311-013-0404-8
- DGE (2015). Anuarios de morbilidad 1984-2015. Dirección General de Epidemiología. [en línea]. <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html> 26/06/2017
- Fábrega A. y Vila J. (2013). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: Virulence and regulation. *Clin. Microbiol. Rev.* 26 (2), 308-341.
DOI: 10.1128/CMR.00066-12
- Frye J. G. y Jackson C.R. (2013). Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. isolated from U.S. food animals. *Front. Microbiol.* 4 (135) 1-22.
DOI: 10.3389/fmicb.2013.00135
- Jiménez M., Martínez-Urtaza J. y Chaidez C. (2011). Geographical and temporal dissemination of *Salmonellae* isolated from domestic animal hosts in the Culiacan Valley, Mexico. *Microbial Ecol.* 61 (4), 811-820.
DOI: 10.1007/s00248-010-9792-5
- Jiménez M., Martínez-Urtaza J., Rodríguez-Álvarez M.X., León-Félix J. y Chaidez C. (2014). Prevalence and genetic diversity of *Salmonella* spp. in a river in a tropical environment in Mexico. *J. Water Health* 12 (4), 874-884. DOI: 10.2166/wh.2014.051
- Kaneene J.B., Miller R., May K. y Hattey J.A. (2010). An outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Oranienburg in Michigan dairy calves. *Foodborne Pathog. Dis.* 7 (10), 1193-1201.
DOI: 10.1089/fpd.2010.0551
- Kirk M.D., Pires S.M., Black R.E., Caipo M., Crump J.A., Devleeschauwer B., Döpfer D., Fazil A., Fischer-Walker C.L., Hald T., Hall, A.J., Keddy K.H., Lake R.J., Lanata C.F., Torgerson P.R., Havelaar A.H. y Angulo F.J. (2015). World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases. 2010: A data synthesis. *PLOS Medicine* 12 (12), e1001940.
DOI: 10.1371/journal.pmed.1001921
- Levantesi C., Bonadonna L., Briancesco R., Grohmann E., Toze S. y Tandoi V. (2012). *Salmonella* in surface and drinking water: Occurrence and water-mediated transmission. *Food Res. Int.* 45 (2), 587-602.
DOI: 10.1016/j.foodres.2011.06.037
- Li B., Vellidis G., Liu H., Jay-Russell M., Zhao S., Hu Z., Wright A. y Elkins C.A. (2014). Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from surface water in Southeastern United States. *Appl. Environ. Microb.* 80 (20), 6355-6365.
DOI: 10.1128/AEM.02063-14
- Lien L.T.Q., Hoa N.Q., Chuc N.T.K., Thoa N.T.M., Phuc H.D., Diwan V. y Lundborg C.S. (2016). Antibiotics in wastewater of a rural and an urban hospital before and after wastewater treatment, and the relationship with antibiotic use—a one year study from Vietnam. *Int. J. Env. Res. Pub. He.* 13 (6), 588.
DOI: 10.3390/ijerph13060588
- López O., León J., Jiménez M. y Chaidez C. (2009). Detection and antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* in water and agricultural soil. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32 (2), 119-126.
- Mendoza A. (2011). El formidable reto de la resistencia bacteriana a los antibióticos. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM* 54 (1), 18-27.
- Miranda J.M., Mondragón A.C., Martínez B., Guarddon M. y Rodríguez J.A. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* from different raw foods in Mexico. *J. Food Protect.* 72 (5), 966-971.
DOI: 10.4315/0362-028X-72.5.966
- Paytubi S., Aznar S., Madrid C., Balsalobre C., Dillon S.C., Dorman C.J. y Juárez A. (2014). A novel role for antibiotic resistance plasmids in facilitating *Salmonella* adaptation to non-host environments. *Environ. Microbiol.* 16 (4), 950-962. DOI: 10.1111/1462-2920.12244
- Pham D.K., Chu J., Do N.T., Brose F., Degand G., Delahaut P. y Scippo M.L. (2015). Monitoring antibiotic use and residue in freshwater aquaculture for domestic use in Vietnam. *EcoHealth* 12 (3), 480-489.
DOI: 10.1007/s10393-014-1006-z
- Phokela P.T., Ateba C.N. y Kawadza D.T. (2011). Assessing antibiotic resistance profiles in *Escherichia coli* and *Salmonella* species from groundwater in the Mafikeng area, South Africa. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5 (32), 5902-5909. DOI: 10.5897/AJMR11.934
- Pui C.F., Wong W.C., Chai L.C., Tunung R., Jeyaletchumi P., Noor H., Ubong A., Farinazleen M.G., Cheah Y.K. y Son R. (2011). Review article *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal* 18, 465-473.
- Rodríguez-Mozaz S., Chamorro S., Marti E., Huerta B., Gros M., Sánchez-Melsió A. y Balcázar J.L. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Res.* 69, 234-242.
DOI: 10.1016/j.watres.2014.11.021
- Singh S., Agarwal R.K., Tiwari S.C. y Singh H. (2012). Antibiotic resistance pattern among the *Salmonella* isolated from human, animal and meat in India. *Trop. Anim. Health Pro.* 44 (3), 665-674.
DOI: 10.1007/s11250-011-9953-7
- Su L., Chiu C.H., Chu C. y Ou J.T. (2004). Antimicrobial resistance in nontyphoid *Salmonella* serotypes: A global challenge. *Clin. Infect. Dis.* 39 (4), 546-551.
DOI: 10.1086/422726

- Vaz-Moreira I., Nunes O.C. y Manaia C.M. (2014). Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome. *Fems Microbiol. Rev.* 38(4), 761-778.
DOI: 10.1111/1574-6976.12062
- Vázquez-Garcidueñas M.S., Romero-Pérez N.L., Figueroa-Aguilar G.A., Jaime-Sánchez J.L. y Vázquez-Marrufo G. (2014). Investigation of a food-borne *Salmonella* Oranienburg outbreak in a Mexican prison. *The Journal of Infection in Developing Countries* 8 (2), 143-153.
DOI: 10.3855/jidc.3367
- Voss-Rech D., Potter L., Vaz C.S.L., Pereira D.I.B., Sangioni L.A., Vargas A.C. y Botton S.D.A. (2016). Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* isolated from human and poultry-related samples in Brazil: 20-Year Meta-Analysis. *Foodborne Pathog. Dis.* 14 (2), 116-124. DOI: 10.1089/fpd.2016.2228
- Zhang Q.Q., Ying G.G., Pan C.G., Liu Y.S. y Zhao J.L. (2015). Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance. *Environ. Sci. Technol.* 49 (11), 6772-6782.
DOI: 10.1021/acs.est.5b00729