



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**ESTUDIO SOBRE PREVALENCIA Y RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA DE *Salmonella* spp. AISLADA DE
SEDIMENTOS DE RÍOS**

Por:

Juan Carlos Guerra Rodríguez

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS AGRÍCOLAS DE
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito para obtener el grado de

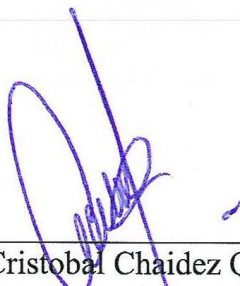
MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Juan Carlos Guerra Rodríguez, la han encontrado satisfactoria y recomienda que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.

JOSE A. MEDRANO

Dr. José Andrés Medrano Félix
Director de tesis



Dr. Cristobal Chaidez Quiroz
Integrante del comité



Dra. Nohelia Castro del Campo
Integrante del comité

LÓPEZ CUEVAS OSVALDO

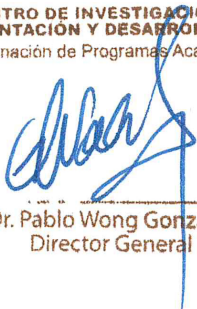
Dr. Osvaldo López Cuevas
Integrante del comité

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Estudio Sobre Prevalencia y Resistencia Antimicrobiana de *Salmonella* spp. Aislada de Sedimentos de Ríos” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Juan Carlos Guerra Rodríguez, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.

GENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CONACYT por el apoyo económico otorgado durante el posgrado.

Agradezco al CIAD, en especial a la unidad Culiacán por haberme permitido realizar mis investigaciones dentro de sus instalaciones.

Agradezco al Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIA) por haberme incluido dentro de uno de sus proyectos de *Salmonella* y por todo el apoyo económico que se dio para la realización de este estudio.

Agradezco a todas las personas que aportaron su grano de arena en mi trayectoria como estudiante, gracias a ellos se fomentaron los conocimientos que hoy tengo.

Agradezco especialmente al Dr. José Andrés Medrano Félix por depositar su confianza en mí para llevar a cabo esta investigación, por todos los conocimientos que me brindó y todos los consejos que me sirvieron de gran inspiración.

Agradezco a mi Comité de Tesis por estar pendientes del proyecto a lo largo de esta investigación. Gracias Dr. Cristóbal Chaidez Quiroz, Dra. Nohelia Castro del Campo y Dr. Osvaldo López Cuevas.

Agradezco a todo el personal del CIAD en general por el apoyo recibido durante mi estancia.

Agradezco a todos los amigos de la maestría por todos los momentos que vivimos juntos, momentos tanto de estrés como de felicidad. A Daizha, Arlet, Mónica, María José, Olimpia, Judith, Lucia, Judit, Elizabeth, Manuel, Eduardo y Aramis, a todos muchas gracias.

Agradezco a Emily Anguiano, Julia Quintero y familia por todo el apoyo brindado en este país extraño para mí, mil gracias por cada momento en los que estuvieron presentes dándome su cariño incondicional.

Agradezco a toda mi familia por estar presente en cada paso de mi vida, agradezco a ellos que me han apoyado en todo momento dándome amor y fuerza para seguir adelante a pesar de cualquier adversidad. Un agradecimiento especial a mi madre Virginia Rodríguez Barrio, mi padre Juan Antonio Guerra Lemes y mi hermana Aimé Guerra Rodríguez, así como a mis abuelos que siempre me están guiando desde un lugar especial.

DEDICATORIA

A toda mi familia, profesores, amigos y personas que tuvieron confianza en mí.

CONTENIDO

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE CUADROS.....	9
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. ANTECEDENTES	16
2.1. El Género <i>Salmonella</i>	16
2.2. Salmonelosis.....	16
2.3. Características Morfológicas y Bioquímicas de <i>Salmonella</i>	18
2.4. Serotipificación.....	21
2.5. Clasificación Taxonómica	21
2.6. Estructura Antigénica	23
2.7. Factores de Virulencia	24
2.8. <i>Salmonella</i> en el Ambiente.....	28
2.9. Frecuencia de Aislamientos de <i>Salmonella</i>	30
2.9.1. Aislamiento de <i>Salmonella</i> en Alimentos y Humanos	30
2.9.2. Aislamiento de <i>Salmonella</i> en Ambiente.....	32
2.9.3. Aislamiento de <i>Salmonella</i> en Sedimentos.....	33
2.10. Susceptibilidad de <i>Salmonella</i> Frente a Agentes Antimicrobianos.....	34
3. HIPÓTESIS	39
4. OBJETIVOS.....	40
4.1. Objetivo General.....	40
4.2. Objetivos Específicos	40
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
5.1. Recolección de Muestras de Sedimentos de Ríos	41
5.2. Aislamiento de <i>Salmonella</i>	42
5.3. Preparación de Muestra	42
5.4. Análisis Microbiológico Mediante Número Más Probable (NMP).	43
5.5. Identificación Bioquímica.	44
5.6. Confirmación Mediante Técnica de PCR Punto Final.	45
5.7. Serotipificación de <i>Salmonella</i>	45
5.8. Prueba de Susceptibilidad a Antimicrobianos.	46
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
6.1. Aislamiento de <i>Salmonella</i> de Sedimentos de Ríos.	47

CONTENIDO (continuación)

6.2. Confirmación de <i>Salmonella</i> por PCR Punto Final.....	58
6.3. Identificación de Serotipos de <i>Salmonella</i>	60
6.4. Susceptibilidad a Antimicrobianos.....	63
7. CONCLUSIONES	68
8. RECOMENDACIONES	69
9. REFERENCIAS	70
10. ANEXOS	79

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
1. Relación de <i>Salmonella</i> spp. con el humano y el ambiente. Adaptado de	17
2. Características morfológicas de <i>Salmonella</i> (presencia de flagelos y tinción de Gram -). Adaptada de La Sociedad Española de Microbiología (SEM, 2016).	19
3. Crecimiento característico de <i>Salmonella</i> en medio Hektoen.	20
4. Crecimiento característico de <i>Salmonella</i> en medio XLD.	20
5. Componentes estructurales de la célula bacteriana. Principales antígenos de <i>Salmonella</i> . Adaptado de Gómez-López, (2010).	24
6. Ciclo infeccioso de <i>Salmonella</i> en el intestino. Adaptado de Riquelme-Barrios, (2016). ...	26
7. Principales genes contenidos en las islas de patogenicidad de <i>Salmonella</i> . Adaptado de Fábrega, (2013).	28
8. Sitios de muestreo en los sedimentos de los ríos en el Valle de Culiacán.	42
9. Porcentaje de aislamiento de <i>Salmonella</i> en los diferentes sitios de muestreo	47
10. Cuantificación de <i>Salmonella</i> (NMP) en los diferentes sitios de muestreo.	48
11. Promedio de la salinidad del agua en los diferentes sitios de muestreos.	55
12. Confirmación de <i>Salmonella</i> por PCR. Meses de junio (parte superior) y julio (parte inferior).	58
13. Confirmación de <i>Salmonella</i> por PCR. Meses de agosto (parte superior) y noviembre (parte inferior).	59
14. Confirmación de <i>Salmonella</i> por PCR. Mes de enero.	59
15. Confirmación de <i>Salmonella</i> por PCR. Mes de Febrero.	60
16. Distribución geográfica del serotipo Oranienburg (SO) a través de los ríos Humaya y Culiacán.	62
17. Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos en las cepas de <i>Salmonella</i> contra los 11 antibióticos probados. B. Alta susceptibilidad de las cepas frente a ciprofloxacino. C. Resistencia total de las cepas frente a rifampicina.	67
18. Planta de tratamiento de agua residual en San Pedro, Navolato.	79
19. Presencia de ganado bovino y heces cerca de la presa Sanalona.	79
20. Criadero de ganado porcino cerca de la Guácima.	80
21. Presencia de ganado bovino en el punto de muestreo Navolato.	80

LISTA DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Principales características metabólicas de <i>Salmonella</i>	19
2. Especies y subespecies de <i>Salmonella</i> y origen de aislamiento. Adaptado de Stanchi (2007).	22
3. Serotipos de <i>Salmonella</i> adaptados al hombre y a diferentes animales. Adaptado de Centre de recerca en sanitat animal, (UAB, 2008).	29
4. Principales serotipos de <i>Salmonella</i> reportados en diferentes regiones del mundo. Adaptado de Hendriksen et al. (2011).	31
5. Componentes utilizados para la PCR punto final.....	45
6. Resultados para <i>Salmonella</i> del NMP/ 4 g de peso seco (por cada sitio de muestreo) en todos los meses de muestreo.	51
7. Valores de parámetros físico-químicos del agua de todos los meses en los sitios de muestreo.	56
8. Serotipos de <i>Salmonella</i> aislados de sedimentos de ríos en el valle de Culiacán (en cada sitio de muestreo).	61
9. Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos de los serotipos de <i>Salmonella</i> aislados de sedimentos de los ríos en el valle de Culiacán.....	65
10. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Junio.	81
11. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Julio.	82
12. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Agosto	82
13. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Diciembre.	83
14. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Enero.	83
15. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Febrero.	84
16. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de marzo	84
17. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para <i>Salmonella</i> en los diferentes puntos de muestreo (JUNIO).	85
18. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para <i>Salmonella</i> en los diferentes puntos de muestreo (JULIO).....	86
19. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para <i>Salmonella</i> en los diferentes puntos de muestreo (AGOSTO).....	87
20. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para <i>Salmonella</i> en los diferentes puntos de muestreo (NOVIEMBRE).	88

LISTA DE CUADROS (continuación)

21. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para <i>Salmonella</i> en los diferentes puntos de muestreo (ENERO).	89
22. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para <i>Salmonella</i> en los diferentes puntos de muestreo (FEBRERO).	90

RESUMEN

Las especies del género *Salmonella* están presentes en el medio ambiente como comensales o patógenas de la mayoría de los animales de sangre caliente y fría. El agua superficial y su sedimento son considerados como los principales nichos donde la bacteria se adapta, establece, reproduce y disemina. Esta estrategia va en detrimento de la salud de las personas que utilizan el agua con fines recreativos o agrícola. En el Valle de Culiacán existen 3 ríos (Tamazula, Humaya y Culiacán) de gran utilidad para fines agrícolas y por la importancia de estos ríos, el objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia, el grado de resistencia a antibióticos y la cuantificación de los serotipos de *Salmonella* presentes en los sedimentos. El muestreo se realizó durante los meses de junio de 2018 a marzo de 2019, seleccionando 11 puntos. Las muestras se procesaron según el método 1682 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América para la enumeración de *Salmonella* mediante la técnica del número más probable (NMP). Para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana se evaluaron 11 antibióticos: Tetraciclina, Eritromicina, Cloranfenicol, Sulfametoxazol-Trimetoprima, Azitromicina, Gentamicina, Amikacina, Penicilina, Ciprofloxacino, Trimetoprima y Rifampicina, utilizando el método de difusión en disco (Kirby-Bauer). El punto de muestreo con el valor máximo de NMP fue “presa Sanalona” (20 NMP) y el mayor nivel de prevalencia se obtuvo en los meses de junio, julio y agosto (62.5 %). En el mes de diciembre *Salmonella* estuvo ausente en todos los puntos de muestreo, probablemente por las bajas temperaturas que se presentaron durante esta etapa del proyecto, factor que afecta el crecimiento de la bacteria, aunque también las bacterias pudieron estar en un estado viable pero no cultivable. Los serotipos con mayor frecuencia de aislamiento fueron Oranienburg, Montevideo y Minnesota, además se aisló, por primera vez, el serotipo Goerlitz, por lo que se considera introducido en la región. Las cepas de *Salmonella* mostraron resistencia contra tres antibióticos: rifampicina, penicilina y eritromicina, así como susceptibilidad a ocho antibióticos. Los resultados del estudio demuestran la prevalencia, distribución y alta concentración de *Salmonella* en los sedimentos de los ríos Tamazula, Humaya y Culiacán, así como su perfil de resistencia antimicrobiana, lo cual debe ser atendido por las autoridades correspondientes para tomar acciones y mitigar el riesgo que pudiera generar la presencia de esta bacteria en estos sedimentos.

Palabras claves: Salmonelosis, sedimentos, cuantificación.

ABSTRACT

The genus *Salmonella* participate as commensal of most warm and cold-blooded animals and is known to be a pathogen in humans. Surface water and its sediment are considered the main niches where the bacteria adapt, establishes, reproduces and disseminates, posing risk to people whom uses water for recreational or agricultural purposes. In Culiacan, Mexico, fresh produce production is the main economical activity and the water for that purpose is substracted from three rivers (Tamazula, Humaya and Culiacán), therefore the objective of this research was to determine the prevalence, the degree of antibiotic resistance and the quantification of *Salmonella* serotypes present in sediments. Sampling was carried out during the months of June 2018 to March 2019. Eleven sampling points were selected across the rivers path. Samples were processed according to method 1682 of the United States Environmental Protection Agency for the enumeration of *Salmonella* using the most probable number (MPN) technique. For the antimicrobial susceptibility test, 11 antibiotics were evaluated: Tetracycline, Erythromycin, Chloramphenicol, Sulfamethoxazol-Trimethoprim, Azithromycin, Gentamicin, Amikacin, Penicillin, Ciprofloxacin, Trimethoprim and Rifampicin, using the Kirby-Bauer disk diffusion method. Results showed that “Sanalona Dam” was the sampling point with maximum MPN values (20 MPN) and with the highest level of prevalence during the months of June, July and August (62.5%). In December, *Salmonella* was absent at all sampling points, probably due to the low temperatures that occurred during this stage of the project, affecting the growth of the bacteria, although the bacteria could also be in a viable but not culturable stage. Serotypes with the highest isolation frequency were Oranienburg, Montevideo and Minnesota. Also, for the first time the Goerlitz serotype was isolated in this region which is known to be introduced. In general, all *Salmonella* strains showed resistance against three antibiotics: rifampicin, penicillin and erythromycin, and susceptibility to eight antibiotics. The results of the study demonstrate the prevalence, distribution and high concentration of *Salmonella* in sediments of the Tamazula, Humaya and Culiacán rivers, as well as its antimicrobial resistance profile, which must be addressed by the corresponding authorities to take actions and mitigate the risk that could generate the presence of this bacterium in these sediments.

Keywords: Salmonellosis, sediments, quantification.

1. INTRODUCCIÓN

Los serotipos que pertenecen al género *Salmonella* están extensamente diseminados en la naturaleza (agua de ríos, mares, lagos, suelos y sedimentos) como comensales y como patógenos de mamíferos domésticos y silvestres, aves, reptiles e insectos. En el caso de los humanos, la bacteria puede llegar a producir fiebre tifoidea o salmonelosis (Sánchez, 2003). En la actualidad, se conocen más de 2,500 serotipos de *Salmonella* (2,557 de *S. enterica* y 22 de *S. bongori*) (Stanchi, 2007). En México se ha reportado la presencia de al menos 216 serotipos de *Salmonella enterica* de los cuales, los más frecuentes, tanto en muestras humanas como no humanas son: Typhimurium, Enteritidis, Derby, Agona y Anatum (Gutiérrez-Cogco et al., 2000; Ramírez, 2014; Hiroshi et al., 2019; Contreras –Soto et al., 2019). *Salmonella* es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por los alimentos en todo el mundo (Scallan et al., 2011; Shao et al., 2011; López et al., 2018). A nivel mundial se reportan anualmente 550 millones de casos de gastroenteritis y 155,000 muertes debido a infecciones por *Salmonella*, donde el 85% de éstos se relacionan con el consumo de agua y alimentos contaminados (Deng et al., 2012; OMS, 2018).

La adaptabilidad de *Salmonella* a condiciones desfavorables, le permite desarrollarse y sobrevivir en varios ambientes durante prolongados periodos de tiempo (Moore et al., 2003; García et al., 2010). Por ejemplo, *Salmonella* tiene la capacidad de sobrevivir y adaptarse a condiciones adversas tales como la disminución en los niveles de nutrientes, desecación y un rango variado de temperaturas y valores de pH. Con relación a la adaptabilidad de *Salmonella* en ambientes ácidos, se ha estudiado *S. Typhimurium* como modelo experimental, probablemente debido al extenso conocimiento de su genoma y a la capacidad que posee para sobrevivir en un amplio rango de condiciones de estrés ácido (alimentos ricos en ácidos orgánicos y la acidez estomacal) (Lound et al., 2017). Esta característica también se ha descrito para otros serotipos, como *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Gaminara*, *S. Michigan*, *S. Montevideo*, *S. Poona* y *S. Senftenberg* (Álvarez, 2009). Con relación a la tolerancia de *Salmonella* a altas temperaturas (48-54°C), se hipotetiza que está estrechamente relacionada con el contenido de agua que se encuentra dentro de la célula, en la cual a altas temperaturas ocurren colisiones entre las moléculas internas cuando la actividad de agua (*A_w*) es elevada. Los valores óptimos para que pueda crecer la bacteria, oscilan entre 0.96-

0.99. Estos aspectos se tienen en cuenta fundamentalmente en la conservación de ciertos alimentos (Gruzdev et al., 2011; Lound et al., 2017).

Uno de los factores que favorece la persistencia de *Salmonella* en el ambiente es su capacidad de formar biopelículas, las cuales son agregaciones de microorganismos rodeadas por una matriz de sustancias extracelulares poliméricas (EPS, siglas en inglés) sobre diferentes tipos de superficies, inertes y vivas; esto contribuye a la supervivencia y protección de las bacterias tanto en ambientes hostiles como también en condiciones favorables para su desarrollo (Vu et al., 2009; Lianou et al., 2012).

En relación con la supervivencia, *Salmonella* puede inducir un estado viable pero no cultivable (VBNC, siglas en inglés) ante condiciones adversas tales como carencia de nutrientes, fluctuaciones de temperatura, pH, salinidad, estrés oxidativo, exposición a metales pesados y tratamientos con antibióticos; en donde la bacteria presenta actividad metabólica, pero no lleva a cabo el proceso de reproducción (Oliver, 2005). Como respuesta ante la carencia de nutrientes, se ha demostrado que *Salmonella*, una vez que se encuentra en ambientes no hospederos, como son los diferentes nichos ecológicos, puede utilizar fuentes de carbono ambientales, tales como carbohidratos, aminoácidos, ácidos carboxílicos y polímeros, esto debido a su flexibilidad metabólica en la que puede alternar sus rutas de utilización de carbono de Embden Meyerhof Parnas a la ruta Entner Doudoroff (Medrano-Félix., 2018).

Una vez que la bacteria llega a estos cuerpos de agua, puede establecerse en sus sedimentos los cuales a su vez le brindan protección contra los diferentes factores que afectan su viabilidad. En este sentido, los sedimentos juegan un papel importante en el ciclo elemental del medio acuático ya que son los encargados de transportar una proporción importante de nutrientes (Marquis, 2005). De igual forma en los sedimentos de los ríos o lagunas se generan condiciones anóxicas que permiten el desarrollo de bacterias con metabolismo anaerobio, como es el caso de *Salmonella* (Serment et al., 2017). Cuando ocurre un aumento en las precipitaciones, estas poblaciones bacterianas pueden resuspenderse y ser arrastradas por la corriente, y aunado a los desechos generados por las actividades antrópicas (industrial, agropecuaria, etc) llega a comprometer la calidad de las aguas de ríos, presas, suelos y demás nichos ecológicos (Li et al., 2014; Serment et al., 2017). En el Valle de Culiacán existen ríos de gran importancia agrícola, de los cuales se derivan canales de riego que son utilizados en la irrigación de varios cultivos. El riesgo mayor para desarrollar algún trastorno gastrointestinal o salmonelosis, se presenta si una

persona está en constante contacto con esta agua y la ingiere, o si consume algún alimento contaminado previamente irrigado con agua proveniente de estos canales (Levantesi et al., 2012; Castañeda-Ruelas et al., 2018).

Adicionalmente, diversos estudios han reportado un aumento en la aparición de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a antibióticos, principalmente provenientes de alimentos de origen animal (Mosquito et al., 2011; Rivera et al., 2012). La creciente resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. ha sido atribuida al uso excesivo de antibióticos, tanto en la terapéutica humana como animal (Junod, 2013). El aumento de este fenómeno se ve favorecido por diversos factores, como la prescripción innecesaria de antimicrobianos, la automedicación y el mal uso de estos fármacos como promotores del crecimiento en la industria animal (CDC, 2013).

Atendiendo a lo planteado anteriormente, se asume a los sedimentos de ríos como un nicho ecológico apto para la prevalencia, reproducción y diseminación de *Salmonella* a través de las corrientes de agua. Por las características presentes en estos sedimentos, la concentración bacteriana se puede incrementar y representar un riesgo de la contaminación para los alimentos, principalmente aquellos que se consumen en fresco. Debido a que se han realizado pocos estudios en relación a este tema en el Valle de Culiacán, es necesario conocer el comportamiento de estas bacterias en los principales ríos de esta región, que permita generar información científica básica de utilidad para las autoridades competentes en cuestiones de agricultura y salud en el estado de Sinaloa. Información relacionada con la cuantificación que presentan estos serotipos de *Salmonella* en estos sedimentos y los niveles de resistencia a los antimicrobianos.

2. ANTECEDENTES

2.1. El Género *Salmonella*

El género *Salmonella* recibe su nombre en honor al microbiólogo americano Daniel Elmer Salmon, quien junto a Theobald Smith descubrieron estas bacterias en el año 1885, aislándolas de cerdos con cólera (Stanchi, 2007). *Salmonella* spp. es la enterobacteria de mayor importancia a nivel de salud pública por producir trastornos del tracto gastrointestinal no solo en el ser humano, sino en todas las especies animales (Selbitz et al., 1995; Turnbull, 1979; Lujan y Blas, 2007). En el caso de humanos, puede originar fiebre tifoidea, septicemia, infecciones localizadas de diversos tejidos corporales y gastroenteritis (Stanchi, 2007; Ryan et al., 2017). Todos los miembros del género son potencialmente patógenos y parásitos intracelulares que pueden internalizarse y sobrevivir dentro de los macrófagos (Stanchi, 2007; Smith et al., 1952; Mahajan et al., 2003).

2.2. Salmonelosis

La salmonelosis es la enfermedad ocasionada por los serotipos de *Salmonella*. Generalmente se caracteriza por fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos. Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse entre 6 y 72 horas (generalmente 12 a 36 horas) después de la ingesta de *Salmonella* a través de agua y alimentos contaminados, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días. En la mayoría de los casos, los síntomas de salmonelosis son relativamente leves y los pacientes se recuperan sin tratamiento específico. Sin embargo, en algunos casos, particularmente en niños pequeños y en ancianos, la deshidratación causada por la enfermedad puede ser grave y poner en peligro la vida. Esto genera altos costos económicos debido al tratamiento para combatir la enfermedad y en casos más graves pueden ocasionar la muerte de la persona. (Batz et al., 2014). El agua contaminada es una importante fuente y reservorio de

agentes causales de diarrea en los países en desarrollo. En el mundo, más de 700 millones de personas no tiene acceso a fuentes de agua segura y más de 2 mil millones no tienen servicios sanitarios básicos (Murray, 2003; UNICEF, 2014). Si bien los grandes brotes de salmonelosis suelen atraer la atención de los medios informativos, entre el 60% y el 80% de los casos no se registran como parte de un brote conocido y se clasifican como casos esporádicos, o ni siquiera se diagnostican (OMS, 2017). La mayoría de los casos se han reportado asociados con el consumo de alimentos contaminados (SUIVE/DGE/SALUD, 2011) (**Figura 1**). Estudios realizados por Chávez de la Peña et al. (2001) reportaron un brote de salmonelosis asociado al consumo de alimentos contaminados, generando alrededor de 129 casos; siendo *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium los serotipos identificados como responsables del brote.

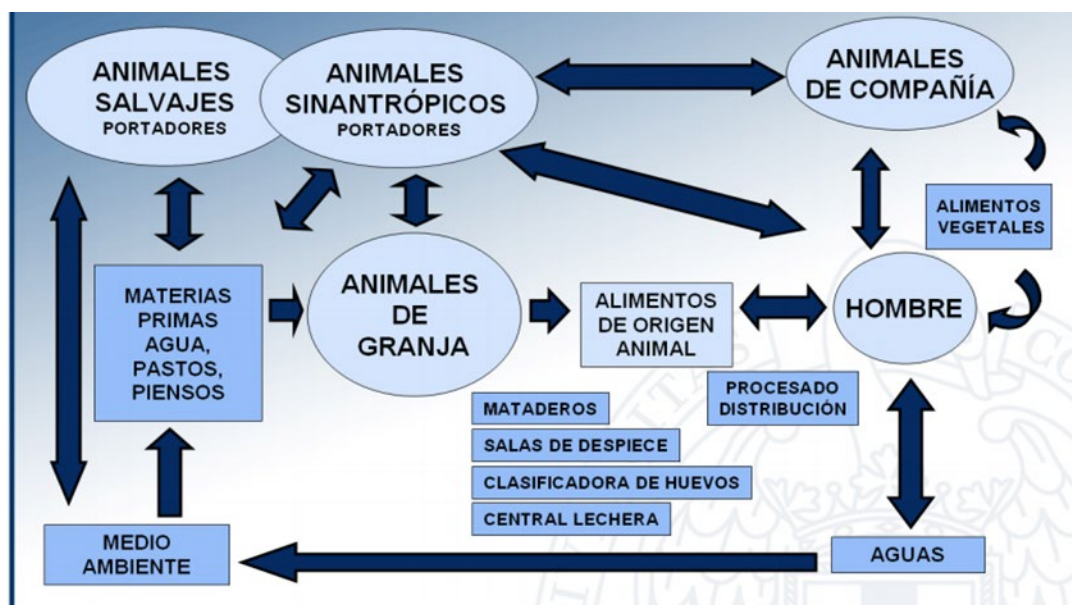


Figura 1. Relación de *Salmonella* spp. con el humano y el ambiente. Adaptado de Laboratorio de Vigilancia Sanitaria (VISAVET, 2004).

Por otra parte, Vázquez-Garcidueñas et al. (2014) reportaron en México el primer brote de salmonelosis causado por el serotipo Oranienburg, el cual afectó a 152 internos en una prisión del estado de Michoacán. 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 a septiembre (DGE, 2014). En este mismo ámbito, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica reportó un acumulado de 75,875 y 77,238 casos de salmonelosis en los años 2015 y 2016, respectivamente (SINAVE, 2015, 2016). Según información del CDC, (2019); entre los meses de enero a junio se reportó un brote de salmonelosis (implicados 8 estados) en el que enfermaron 71 personas y 27 fueron hospitalizadas por consumir papayas contaminadas con *Salmonella*. En estos casos se detectó el serotipo *S. Uganda* como responsable de la enfermedad. Lo anterior implica que microorganismos como *Salmonella* pueden presentarse en un amplio espectro de productos frescos tales como tomates, chiles serranos, melón, lechugas y mango entre otros. Se ha reportado que una variedad de serotipos de *S. enterica* (Typhimurium, Enteritidis y Senftenberg) se adhieren eficientemente a los vegetales de hoja, sin embargo, otros serotipos no lo hacen (*Arizona*, *Heidelberg* y *Agona*) (Berger et al., 2010).

2.3. Características Morfológicas y Bioquímicas de *Salmonella*

Los miembros del género *Salmonella* son bacilos cortos, Gram-negativos, de 0,7-1,5 μm de diámetro x 2,0-5 μm de longitud, no fermentadores de lactosa, anaerobios facultativos y no esporulados (Terragno et al., 2003). Generalmente presentan motilidad mediante flagelación peritrica con la excepción de *Salmonella Gallinarum* y *Salmonella Pullorum*, los cuales carecen de este tipo de elementos de motilidad. La presencia de cápsula y flagelo en *Salmonella* depende del serotipo en cuestión, solamente *S. enterica* serotipo Typhi, *S. enterica* serotipo Paratyphi C y *S. enterica* serotipo Dublin presentan cápsula (Inda, 2005) (**Figura 2**). *Salmonella* presenta un metabolismo fermentativo y oxidativo con la producción de compuestos como ácido sulfhídrico que le confiere a las colonias su color negro característico cuando se siembran en medios selectivos con disponibilidad de ciertos nutrientes (**Cuadro 1**).

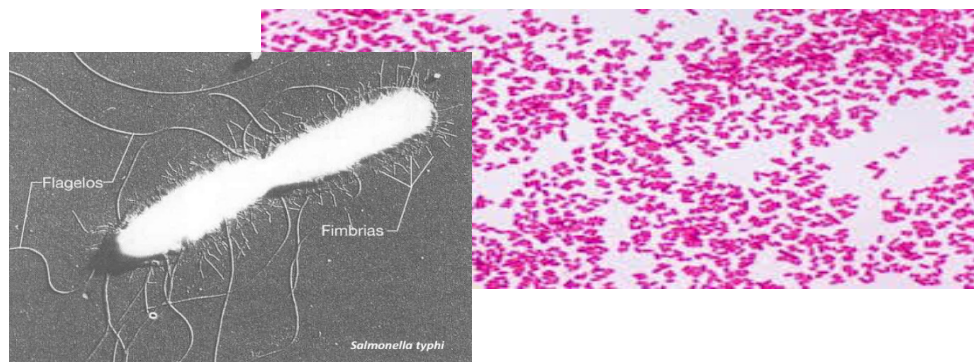


Figura 2. Características morfológicas de *Salmonella* (presencia de flagelos y tinción de Gram -). Adaptada de La Sociedad Española de Microbiología (SEM, 2016).

Cuadro 1. Principales características metabólicas de *Salmonella*.

METABOLISMO		
Oxidativo		Fermentativo
Oxidasa, Indol, Urea y Voges- Proskauer	negativo	Glucosa con producción de ácido y gas (excepto <i>S. Typhi</i>)
Catalasa, Rojo de Metilo, Citrato de Simmons, Lisina, Ornitina, Tetracionato Reductasa y Descarboxilasa	positiva	L-arabinosa, maltosa, D-manitol, Dmanosa, L-ramnosa, Dsorbitol, trehalosa, D-xilosa y D-dulcitol
Producción de H₂S		
Reducción de Nitratos a Nitritos		
Desaminación de Fenilalanina		

La multiplicación ocurre adecuadamente en medios como el agar entérico Hektoen y el agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD). Las colonias post incubación por 18 a 24 horas a 32°C son de 2 a 3 mm de diámetro (Merck, 1994; González et al., 2014). En Agar entérico Hektoen (HE) se desarrolla como colonias azules o verde azuladas con o sin centro negro (**Figura 3**).



Figura 3. Crecimiento característico de *Salmonella* en medio Hektoen.

En Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) muchos cultivos de *Salmonella* spp. pueden producir colonias con un centro negro grande y brillante o colonias casi completamente negras (**Figura 4**). Algunos serotipos producen pequeñas colonias rosadas (*S. Typhimurium*), pudiendo presentar o no un centro negro debido a la producción de ácido sulfhídrico (H_2S) (Gaillot et al., 1999; González et al., 2014).



Figura 4. Crecimiento característico de *Salmonella* en medio XLD.

Salmonella tiene un rango de pH ideal para su crecimiento que oscila entre 6,6 y 8,2, pero son incapaces de tolerar altas concentraciones de salinidad (mayor al 8 %). Estudios previos han registrado la supervivencia de esta bacteria en agua de mar hasta por 9 días (ESR, 2001) con salinidades de hasta 3.5% (Minette, 1986). En este sentido, Mejri et al. (2012) analizaron *in vitro* la supervivencia de *Salmonella* Typhimurium utilizando microcosmos compuestos de agua marina filtrada; como resultado, las cepas perdieron progresivamente la capacidad de ser cultivadas, entrando en un estado viable pero no cultivable, donde el valor T90 (tiempo requerido

para la reducción del 90% de las células) osciló entre 25 y 30 h. Su desarrollo y crecimiento ocurre en un amplio rango de temperaturas (7–37°C), pero se ha reportado que estas bacterias son capaces de sobrevivir a temperaturas de congelación por más de tres meses (Jawetz et al., 2005; Gómez et al., 2012). La muerte de la bacteria aumenta durante el proceso de congelación (0°C y -10°C), aunque este proceso pueda dañar seriamente el estado de la bacteria, no garantiza su destrucción total en los alimentos. Con relación a esto, se ha demostrado que *Salmonella* spp. es capaz de sobrevivir en mangos y papayas congeladas, almacenados a -20°C durante al menos 180 días (Strawn y Danyluk, 2010).

2.4. Serotipificación

Las técnicas serológicas son comúnmente empleadas para identificar cultivos desconocidos con sueros conocidos (Smith et al., 1952). *Salmonella* spp. está serotipificada de acuerdo a sus antígenos somáticos de superficie (LPS, antígenos O), flagelares (proteínas, antígenos H) y capsular (Vi) (Terragno et al., 2003).

En el género *Salmonella* existe un solo tipo capsular, el tipo Vi (de virulencia), aunque la mayoría no producen cápsula (Hirsh, 2006). La constitución antigénica de la fracción polisacáridica del lipopolisacárido (LPS) define en gran parte la especie; asimismo, la clase y el número de azúcares junto con los enlaces existentes entre los mismos, definen los determinantes antigénicos que contienen los antígenos O de un determinado aislado; dichos antígenos O, junto con los determinantes antigénicos existentes en la superficie de los flagelos (antígenos H), los cuales contribuyen, desde el punto de vista serológico, a definir como especie un determinado aislado bacteriano. Este esquema de clasificación se le denomina de Kauffmann-White (Biberstein y Chung Zee, 1990).

2.5. Clasificación Taxonómica

La más reciente clasificación del género *Salmonella* (2008) está basada en técnicas de hibridación del DNA de la bacteria y se ha concluido que éste está conformado por dos especies: *Salmonella*

enterica y *Salmonella bongori* (Popoff y Le Minor, 1992; Grimont y Weill, 2007; OIE, 2008) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Especies y subespecies de *Salmonella* y origen de aislamiento. Adaptado de Stanchi (2007).

Especies y subespecies de <i>Salmonella</i>	No. de serotipos dentro de la especie	Origen de aislamiento
<i>Salmonella enterica</i> <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	1531	Humanos y Animales de sangre caliente
<i>Salmonella enterica</i> <i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	505	Animales de sangre fría y del ambiente.
<i>Salmonella enterica</i> <i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	99	Animales de sangre fría y del ambiente.
<i>Salmonella enterica</i> <i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	336	Animales de sangre fría y del ambiente.
<i>Salmonella enterica</i> <i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	73	Animales de sangre fría y del ambiente.
<i>Salmonella enterica</i> <i>S. enterica</i> subsp. <i>indica</i>	13	Animales de sangre fría y del ambiente.
<i>Salmonella bongori</i> subsp. V	22	Animales de sangre fría y del ambiente
Total	2579	

Salmonella bongori (Subespecie V): En pocas ocasiones se ha reportado que constituye un patógeno para los humanos, pero sí ha sido implicada en ciertas patologías en animales (Farmer, 2003; Terragno et al., 2003; Stanchi, 2007; Fookes et al., 2011).

El Manual de la Organización Internacional de Epizootiología (OIE) sobre animales terrestres en su versión del 2008, tomando en cuenta la actual nomenclatura, muestra nuevos avances en la taxonomía, además de las dos especies importantes *S. enterica* y *S. bongori*, una tercera especie, *S. subterranea*, tras el aislamiento en marzo del año 2005 de una única cepa ambiental poco

usual, descubrimiento que fue aceptado poco después por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (OIE, 2008).

Es de suma importancia aclarar que, según su hibridación de DNA, tanto las especies como las subespecies mencionadas se encuentran constituidas por más de 2,500 variedades serológicas, determinadas según las distintas asociaciones de los antígenos somáticos O y flagelares H (Deng et al., 2012).

2.6. Estructura Antigénica

La estructura antigénica de *Salmonella* spp. es similar a la de otras enterobacterias, contando con la presencia de dos clases de antígenos principales: antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares).

En el caso particular del antígeno O, determina el grupo (serogrupo) al que pertenece *Salmonella*. El antígeno O es una estructura de naturaleza polisacárida (de 5-6 unidades de azúcar) que se encuentra en la superficie exterior de la bacteria y que se mantiene estable al calor. Dependiendo de los enlaces covalentes entre las unidades de azúcar, así como el enlace entre las subunidades, pueden existir múltiples antígenos O (D'Aoust, 2007; Nataro et al., 2011).

El serotipo lo determina el antígeno flagelar H (Agasan et al., 2002). En función de su estructura, se ha descrito que *Salmonella* es única entre las bacterias entéricas, ya que puede expresar uno o dos antígenos H. Estos están compuestos por subunidades de flagelina, que son la porción filamentosa de los flagelos bacterianos (Ryan et al., 2017).

En algunas cepas se encuentra un tercer tipo de antígeno de superficie, análogo funcionalmente a los antígenos K (capsulares) de otros 23 géneros. Al estar este antígeno relacionado con la virulencia de las cepas, se le denomina antígeno Vi (Koneman y Allen, 1999), que puede interferir con la aglutinación por antiseros O y que se relacionan con invasividad (Jawetz et al., 2005). Este antígeno se encuentra preferentemente en *S. Typhi*, *S. Paratyphi C*, pero también se identifica ocasionalmente en *S. Dublin* (D'Aoust, 2007; Nataro et al., 2011) (**Figura 5**).

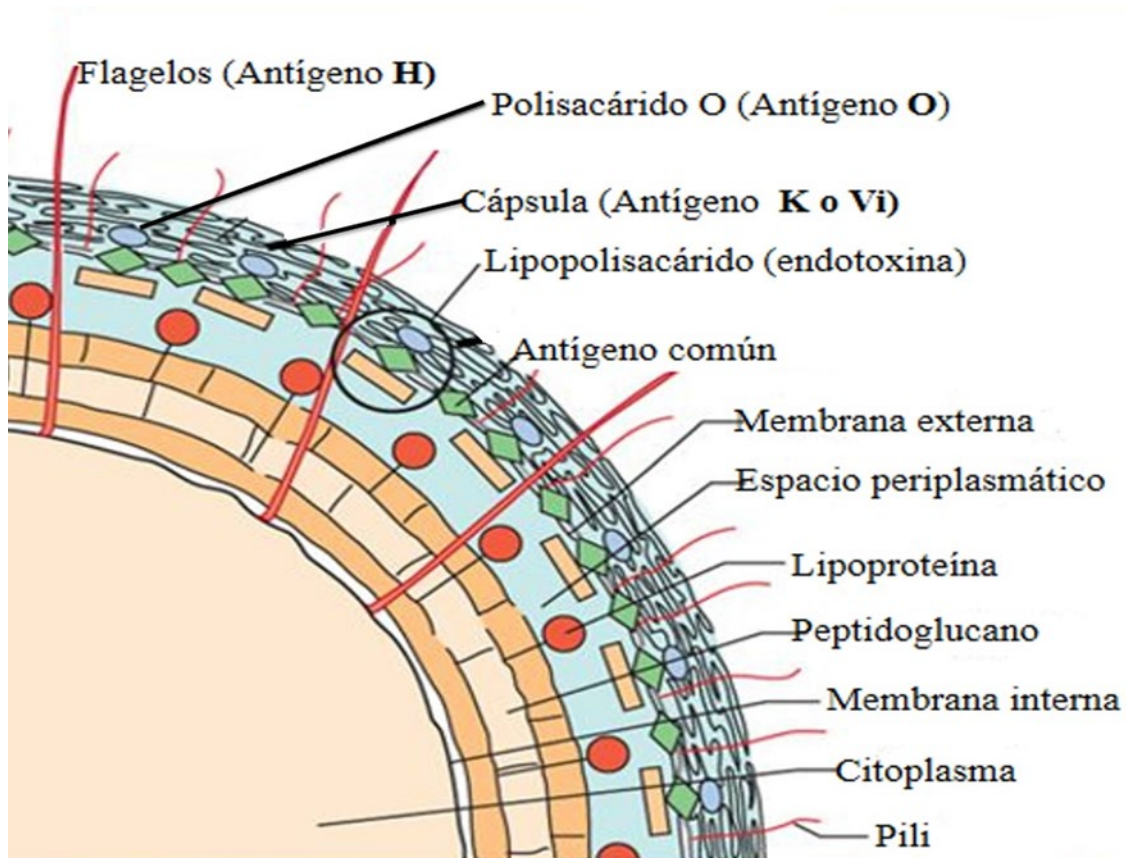


Figura 5. Componentes estructurales de la célula bacteriana. Principales antígenos de *Salmonella*. Adaptado de Gómez-López, (2010).

2.7. Factores de Virulencia

Para *Salmonella* spp. se conocen varios factores de virulencia, uno de ellos es la producción de al menos tres toxinas:

-Enterotoxinas

Son sustancias proteicas liberadas al intestino, que ocasionan síntomas gastrointestinales como cólicos y diarrea (Figueroa y Verdugo, 2005).

-Endotoxinas

Forman parte de la membrana externa de la bacteria y cuya actividad biológica está asociada con la adhesión a las células epiteliales (Figueroa y Verdugo, 2005).

-Citotoxinas

Proteínas asociadas con la superficie celular, las cuales inhiben la síntesis proteica en la célula hospedadora y pueden estar implicadas en la adherencia a las células epiteliales, constituyendo esta última otro factor de virulencia de *Salmonella* spp. (Madigan et al. 1997; Salyers y Whitt, 2002).

Las especies del género *Salmonella* segregan compuestos propios de la bacteria, los cuales una vez que ha tenido lugar la adherencia, determinan que la enfermedad generada sea diarreica o septicémica. Las cepas que producen diarrea se multiplican, segregan una toxina semejante a la toxina LT (termolábil) que altera la síntesis de los nucleótidos cíclicos, haciendo que el microorganismo invada la célula. Una vez en el interior, las células bacterianas segregan la citotoxina que provoca la muerte celular y su desprendimiento de la mucosa intestinal, desencadenando un flujo de iones y líquido hacia la luz intestinal, lo que a su vez ocasiona diarrea. (Hirsh, 2006; Biberstein y Chung Zee, 1990).

Adicionalmente, se ha descrito en algunos serotipos de *Salmonella* (ejemplo: Typhimurium) la formación de pseudópodos al entrar en contacto con una célula hospedera, lo que trae como resultado la internalización de la bacteria en vesículas endocíticas; adicionalmente, la producción de adhesinas que incluyen fimbrias codificadas por el plásmido de virulencia pSLT, permiten la unión de la bacteria a las microvellosidades de los enterocitos, fimbrias polares largas que se encargan de la unión de la bacteria a las placas de Peyer, y las fimbrias agregativas delgadas llamadas “Curli” que también pueden estar implicadas en la unión a las vellosidades de los enterocitos (Madigan et al., 1997; Salyers y Whitt, 2002) **(Figura 6)**.

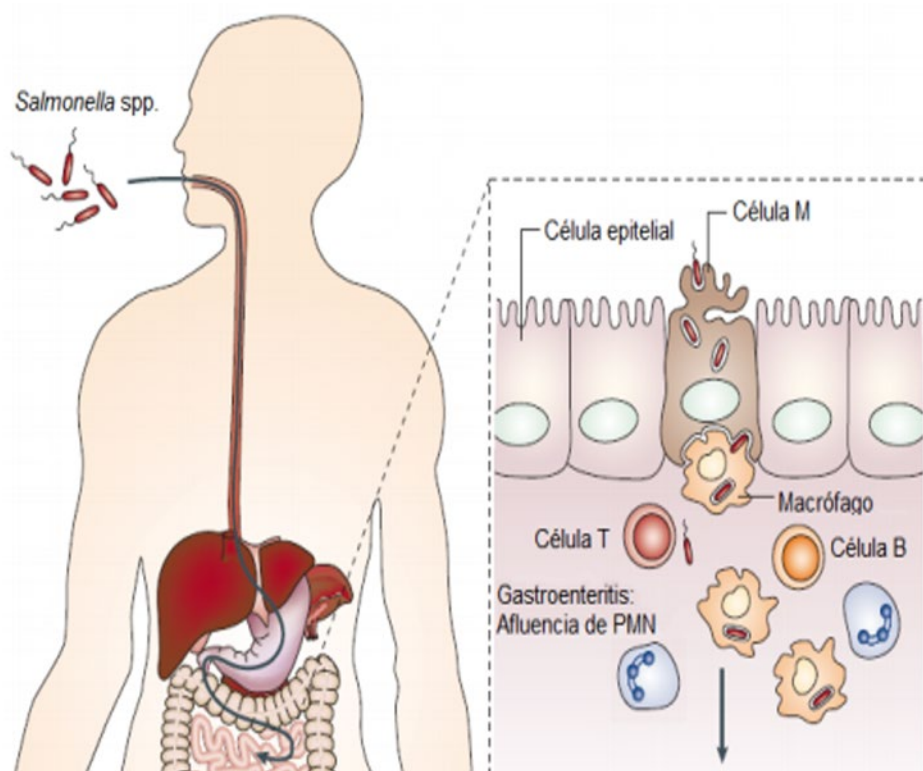


Figura 6. Ciclo infeccioso de *Salmonella* en el intestino. Adaptado de Riquelme-Barrios, (2016).

Algunos factores que determinan el carácter patógeno de ciertos serotipos del género *Salmonella* se encuadran en agrupaciones genéticas denominadas islas de patogenicidad (SPI o grupos de genes relacionados con la virulencia) que se encuentran en organismos patógenos (Salyers y Whitt, 2002). A pesar de que las SPI son diversas en cuanto a su estructura y función, se pueden encontrar ciertas propiedades comunes. Una de sus características es poseer un porcentaje de los nucleótidos G+C entre 40-60 %, distinto al promedio del resto del genoma de la bacteria. Se encuentran frecuentemente adyacentes a genes de ARNt, y por lo general están delimitadas por secuencias repetidas de nucleótidos. Estas características concuerdan con su probable adquisición mediante transferencia horizontal de genes, aunque su origen, así como los mecanismos de transferencia no han sido clarificados para muchas de éstas (Marcus et al., 2000; Hensel, 2004; Barreto et al., 2016). *Salmonella* spp cuenta con al menos 10 islas de patogenicidad, de las cuales las islas SPI-1, SPI-2 y SPI-3 han sido las mayormente estudiadas con base en la importancia de las características genéticas se mencionan a continuación:

-Isla SPI-1: Contiene al menos 29 genes, dentro de los cuales se encuentran los responsables de la internalización a las células. Estos genes, así como otros de la misma isla de patogenicidad (*spa*, *prg H*, *invA*, *invH* y *org*) codifican para un sistema de secreción tipo III, clase 1 (T3SS-1); también contienen genes que codifican proteínas reguladoras (*hilA*) del T3SS y proteínas efectoras (*sptP*), que son inyectadas en la célula eucariótica mediante este sistema de secreción. El gen *sptP* codifica para una enzima llamada tirosina fosfatasa que altera la transducción de señales en células de la mucosa, produciendo diarrea. Los genes contenidos en esta isla son importantes en las etapas iniciales de la infección, en la cual, las bacterias invaden las células de la mucosa (Hensel, 2004).

-Isla SPI-2: Codifica un sistema de secreción tipo III, clase 2 (T3SS-2), diferente al codificado por la isla SPI-1, usado por la bacteria al interior del fagosoma para evitar la fusión fagosoma-lisosoma; en este proceso se encuentran involucrados varios genes fundamentales, como son *ssc*, que codifican las proteínas chaperonas *sscA* y *sscB*, así como otros genes que codifican para un sistema efector de secreción, como lo son los genes *sse* (Klein, 2001).

-Isla SPI-3: Contiene varias unidades transcripcionales, incluye al operón *mgtCB* que codifica la proteína MgtC (*intramacrophage survival protein*) y el transportador de Mg^{2+} de alta afinidad, el cual puede ser de importancia en la supervivencia de la célula al interior de fagosomas.

-Isla SPI-4: Codifica un supuesto sistema de secreción tipo 1 (T1SS) que media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al ambiente intracelular en los macrófagos, tiene un peso de 27 kb y está compuesta por 18 genes.

-Isla SPI-5: Codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, como *SopB* (SigD) que además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en el flujo de macrófagos, para su secreción utiliza el T3SS-1 de la SPI-1 (Inda et al., 2005) (**Figura 7**).

-Isla SPI-7 o isla mayor de patogenicidad (MPI): es específica de los serotipos Typhi, Paratyphi C y Dublin. Esta isla contiene diferentes genes de virulencia que codifican el polisacárido capsular Vi, la proteína efectora SopE y cuatro tipos de fimbrias relacionadas con la invasión a células epiteliales. Posee, además genes relacionados con la movilidad del ADN (Hensel, 2004).

Otras SPI: se ha descubierto la presencia de otras islas de patogenicidad a partir de la secuencia del genoma de varios serotipos de *Salmonella*. En estas islas se han descubierto genes con función desconocida, pero con secuencias similares a los genes de virulencia.

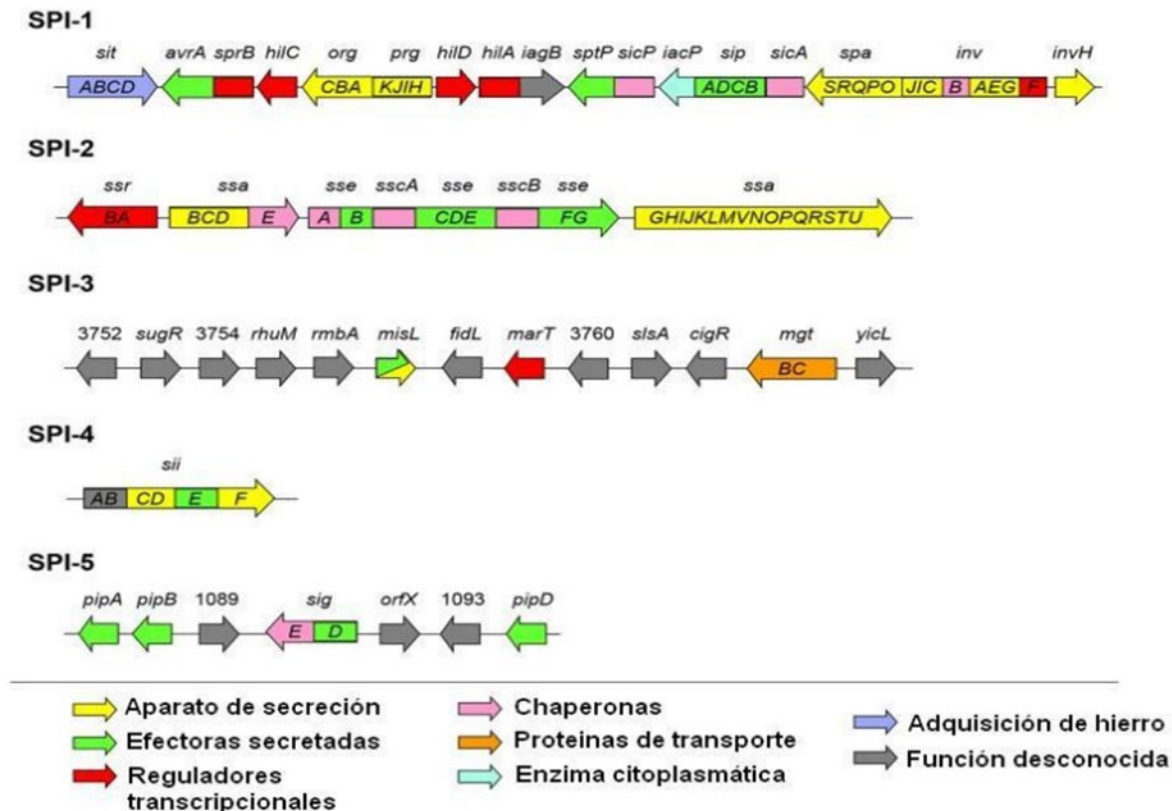


Figura 7. Principales genes contenidos en las islas de patogenicidad de *Salmonella*. Adaptado de Fábrega, (2013).

2.8. *Salmonella* en el Ambiente

Salmonella presenta capacidad de alojarse en su hospedero sin desencadenar síntomas visibles, de manera que puede permanecer en el tracto gastrointestinal de diferentes organismos hospedantes, como mamíferos, aves, roedores o insectos, el hombre o en el entorno que los rodea, como puede ser el alimento contaminado, sus heces y el polvo o suelos mal desinfectados, entre otros factores, donde puede sobrevivir por largos períodos (Winfield y Groisman, 2003). Esta bacteria también puede sobrevivir en el agua bajo condiciones adversas.

La contaminación se establece no sólo como un elemento que amenaza los equilibrios ecológicos, sino que también facilita el contacto de animales silvestres con agentes biológicos o productos tóxicos de origen humano, determinando un riesgo mutuo en la transmisión de enfermedades o en

la susceptibilidad hacia éstas. En este sentido, las aves juegan un rol muy importante y se han visto involucradas fundamentalmente en la transmisión de *Salmonella* Enteritidis (Jones et al., 2013).

En el caso de *Salmonella*, la detección de diversos serotipos en el agua y la fauna silvestre, pueden representar un riesgo para la salud humana. El establecimiento en el ambiente puede ser temporal, sobre todo cuando se asocia a derrames accidentales de aguas contaminadas, inundaciones o escorrentías de agua de lluvia, o bien, persistente cuando existe descarga continua de aguas servidas, desecho o si la bacteria está distribuida dentro de una gran concentración de animales silvestres donde destacan las aves de corral, siendo *Salmonella* Enteritidis uno de los principales serotipos transmitidos por estos animales (Jokinen et al., 2015).

Además, en cuanto a la fauna silvestre, diversos reportes sugieren que la infección es prevalente en animales de ambientes acuáticos, en aves y mamíferos, aunque se desconoce el efecto ecológico de la infección en estas poblaciones. Existe un mayor número de evidencias como portadores de *S. enterica* para las aves, razón por la cual estos animales han recibido el interés de los organismos sanitarios por su capacidad para distribuir patógenos zoonóticos altamente transmisibles. Así se mantiene un programa de vigilancia en los sectores avícolas para la detección de *Salmonella*, donde los serotipos que se han reportado son Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Virchow e Infantis (Farías, 2015). Aunado a esto, se han encontrado varios serotipos de *Salmonella* que se han adaptado a un hospedero en específico (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Serotipos de *Salmonella* adaptados al hombre y a diferentes animales. Adaptado de Centre de recerca en sanitat animal, (UAB, 2008).

Serotipos adaptados al hombre	Serotipos adaptados a animales
<i>Salmonella</i> Typhi	Aves: <i>Salmonella</i> Pullorum y <i>Salmonella</i> Gallinarum
<i>Salmonella</i> Paratyphi A, B	Vacuno: <i>Salmonella</i> Dublin
<i>Salmonella</i> Sendai	Ovino: <i>Salmonella</i> Abortusovis
	Equino: <i>Salmonella</i> Abortusequi
	Cerdo: <i>Salmonella</i> Choleraesuis
	Conejo: serovariedad perteneciente a la subespecie III a
Otros serotipos no adaptados a hospedadores específicos que afectan a conejos y personas: <i>Salmonella</i> Typhimurium y <i>Salmonella</i> Enteritidis	

Alrededor del 60% de los serotipos de *Salmonella* encuentran su hábitat natural en el tracto digestivo de animales de sangre caliente y, por lo tanto, las excretas son la principal vía de eliminación (Brenner et al., 2000) y como vía de diseminación el agua, donde en épocas de lluvia aumenta sustancialmente la dispersión de la bacteria (Simental y Martínez-Urtaza, 2008). En este aspecto, factores ambientales como la temperatura, la salinidad, la radiación solar, la presión osmótica, la radiación ultravioleta, los nutrientes, las sustancias tóxicas presentes en el agua, la depredación, la resuspensión de partículas con organismos asociados y el crecimiento de otros organismos juegan un papel importante en la supervivencia, crecimiento o decrecimiento y distribución de los microorganismos (en general) en el agua (Mestres-Ridge, 2002).

Existen otros factores que contribuyen a la diseminación de *Salmonella* en diferentes ambientes. En los últimos años el ser humano ha experimentado cambios socioculturales significativos, así como un sobrecrecimiento poblacional y su concentración en zonas urbanas. Aunado a esta situación está el gran intercambio de productos y subproductos alimenticios, así como los viajes de personas alrededor del planeta, muchas veces con fines ecoturísticos donde aumenta el riesgo de exposición a vectores, hospederos y patógenos de otras zonas geográficas. Asimismo, ha ocurrido un aumento en la crianza masiva de animales de compañía y animales exóticos, así como el consumo de alimentos exóticos o crudos y estos a su vez son factores predisponentes que se han popularizado recientemente, especialmente en las culturas occidentales (Marlen et al., 2016). De igual forma, el uso de agua no tratada con fines de riego agrícola, es otro factor que contribuye a la diseminación de *Salmonella*. En diversas partes de México, la producción de hortalizas para su consumo en fresco es irrigada con agua no tratada o residual (González-Mendoza et al., 2015).

2.9. Frecuencia de Aislamientos de *Salmonella*

2.9.1 Aislamiento de *Salmonella* en Alimentos y Humanos

Un estudio realizado entre 2001 y 2007 analizó la frecuencia de aislamiento de *Salmonella* en 37 países (mayormente proveniente de humanos), llevándose a cabo en laboratorios que participaron en la Red Mundial de Infecciones Transmitidas por los Alimentos de la Organización Mundial de

la Salud. En todas las regiones, con la excepción de las regiones de Oceanía y América del Norte, los serotipos de *Salmonella* Enteritidis y Typhimurium se clasificaron como los más comunes en cuanto a frecuencia de aislamiento (Hendriksen et al., 2011) Según la Organización Mundial de la Salud, para el año 2011, los serotipos de *Salmonella* más reportados y aislados de humanos en diferentes continentes (América, África) fueron Enteritidis, Typhimurium (OMS, 2012)(**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Principales serotipos de *Salmonella* reportados en diferentes regiones del mundo.
Adaptado de Hendriksen et al. (2011).

Región	Serotipo con mayor frecuencia de aislamiento
Norteamérica y Oceanía (Australia y Nueva Zelanda)	Typhimurium, Enteritidis, Infantis y Agona
América Latina, América del Norte y Europa	Typhimurium, Enteritidis, Infantis, Newport y Agona
Asia, Europa y Oceanía	Typhimurium, Enteritidis, Infantis, Virchow y Hadar

De manera puntual, estudios realizados a nivel mundial han reportado la presencia de *Salmonella* en varias fuentes de aislamiento. Ejemplo de esto lo constituye un reporte realizado en España en el cual analizando carne de pollo vendida al por menor, el porcentaje de aislamiento fue de 35%, donde los serotipos predominantes fueron Enteritidis (47.8%), Hadar (25.35%) Mbandaka, (Domínguez et al., 2002). En Australia, según un estudio realizado por Fearnley et al. (2008) se detectó *Salmonella* en un 38.8% aislada de diferentes fuentes como carne de pollo, huevos y humanos, donde el principal serotipo fue Typhimurium con un 61.7% seguido de Infantis. En Taiwán, un estudio realizado en el año 2010, donde se analizó carne de pollo vendida en mercados tradicionales, reportó una frecuencia de aislamiento de la bacteria en un 30%, donde los serotipos con mayor porcentaje de aislamiento fueron Albany (36.7%), Schwarzengrund (33.5%) y Estambul (13.2%) (Chen et al., 2010).

En Egipto, en el año 2013 se reportó una frecuencia de aislamiento de 44%, en este caso específicamente del serotipo Typhimurium, aislado de carne de pollo vendida al por menor (El-Aziz, 2013). En Centroamérica (Guatemala), al analizar muestras de carne de aves vendidas en varios mercados, se documentó un porcentaje de aislamiento de *Salmonella* de 34.3%, siendo los

serotipos más frecuentes Paratyphi B (34.8%), Heidelberg (16.3%) y Derby (11.6%) (Jarquin et al., 2015). Autores como Bai et al. (2015), reportaron en China una frecuencia de aislamiento de *Salmonella* del 29.2%, donde los serotipos predominantes en muestras de pollo fueron Enteritidis, Hadar e Indiana, mientras que los de las muestras de cerdo fueron Typhimurium, Derby y Enteritidis.

En México, Gutiérrez-Cogco et al. (2000) y Contreras-Soto et al. (2019), reportaron que los principales serotipos de *Salmonella* aislados de humanos fueron: Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Agona, Newport, Derby, Heidelberg, Anatum, Worthington e Infantis.

2.9.2. Aislamiento de *Salmonella* en Ambiente

A nivel mundial se han realizado aislamientos de *Salmonella* en diferentes ambientes no hospederos. Un estudio realizado en el año 2000, reportó la presencia y diversidad de 35 serotipos de *Salmonella* aislados en agua de río, siendo los serotipos Oranienburg, Saintpaul, Typhimurium, Newport y Virchow los que presentaron un mayor porcentaje de aislamiento (Baudart et al., 2000). Haley et al. (2009), analizaron muestras de agua superficial recolectadas en primavera, tuvieron como resultado que los serotipos Muenchen y Rubislaw estuvieron presentes en el 79% de las muestras. En varias zonas costeras de Marruecos, se determinó la presencia de los serotipos Blockley, Kentucky y Senftenberg (Setti et al., 2009).

En el caso de México, se han detectado 216 serotipos de *Salmonella*, de los cuales, Enteritidis, Typhimurium, Derby, Agona y Anatum, Meleagridis y Oranienburg han sido los más reportados (Gutiérrez-Cogco et al., 2000; Contreras et al., 2019). Estudios realizados en agua de río, canales de riego, arroyos, suelo de cultivo y superficies de empaques, han reportado como los serotipos más predominantes a Oranienburg, Typhimurium, Saintpaul, Anatum y Give (Simental y Martínez-Urtaza, 2008; López-Cuevas et al., 2009). En estudios posteriores, se analizaron varias empacadoras de tomate situadas en la región central del estado de Sinaloa, así como el agua de riego utilizada para irrigar estos cultivos. En 13 muestras de agua se detectaron 8 serotipos de *Salmonella*, siendo el serotipo Oranienburg (34%) el más predominante, mientras que en tomates se aislaron los serotipos Agona y Weltevreden (Estrada-Acosta et al., 2014).

2.9.3. Aislamiento de *Salmonella* en Sedimentos.

Los sedimentos son un componente ecosistémico muy importante, formado por un conjunto de materiales sólidos no consolidados, constituidos por partículas de diferentes tamaños, acumulaciones de material detrítico, minerales precipitados químicamente y materia orgánica, la cual es fuente energética primaria en ecosistemas acuáticos, además constituyen un sitio importante de mineralización y reciclaje de nutrientes (Bonilla et al., 2003; Gómez et al., 2013).

Los sedimentos están conformados por un componente mineral derivado de la erosión de la roca madre, y un componente orgánico que surge durante los procesos de formación del suelo (incluyendo la producción y descomposición biológica y microbiológica). Un componente orgánico adicional puede ser añadido por la actividad biológica de otros microorganismos dentro del cuerpo de agua. Bajo estas condiciones, las bacterias pueden utilizar como fuentes de carbono y donadores de hidrógeno, los compuestos producidos por bacterias fermentadoras (Serment et al., 2017). Teniendo en cuenta este aspecto en los sedimentos y la presencia de bacterias, el método 1682 es un método basado en el rendimiento para detectar *Salmonella* en biosólidos. Este método requiere el cálculo del Número Más Probable (NMP) mediante enriquecimiento, con selección y confirmación bioquímica para determinación de *Salmonella*. El paso de enriquecimiento utiliza caldo de soja tríptico (TSB). Después de la incubación del medio TSB. Luego se detecta la presencia de la bacteria en medio semisólido selectivo modificado Rappaport-Vassiliadis (MSRV). Presuntamente las colonias identificadas se aíslan en agar Desoxicolato Xilosa-Lisina (XLD), para luego realizar las pruebas bioquímicas. Los cálculos para la concentración se basan en el peso seco.

Un estudio realizado por Delgadillo-Hinojosa (1987) analizó sedimentos en la Bahía de Todos Santos, Baja California, encontrando una alta concentración de bacterias patógenas, incluyendo *Salmonella* (*Choleraesuis* y *Salmonella* Typhi con un alto porcentaje en cuanto a frecuencia de aislamiento). Como resultado de este estudio se consideró como un riesgo potencial a la salud pública, ya que la interfase sedimento-agua no es un sistema estático y las bacterias presentes pueden ser liberadas al agua adyacente por efecto de mareas y corrientes, y ser transportadas a zonas de uso recreativo y/o cultivo. Posteriormente, Simental y Martínez-Urtaza (2008) analizando varios puntos de la bahía de Todos Santos, Baja California, detectaron la presencia de

Salmonella y su asociación con parámetros ambientales y con infecciones humanas en el área. La bacteria se presentó en todos los puntos analizados con una incidencia de 4.8%, en la cual se identificaron 20 serotipos, y donde *Salmonella* Typhimurium presentó el mayor porcentaje de aislamiento (23.4%), seguido del serotipo Vejle con un 6.2%. Con la recopilación de datos ambientales y análisis de los mismos, se determinó que la escorrentía de aguas residuales es uno de los factores más importantes en el transporte de la bacteria desde los puntos de origen hasta el mar a través de los arroyos.

Becerra y Botello, (1995), señalan altos niveles de contaminación por Coliformes totales, fecales y patógenos en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México; detectando la presencia de *Salmonella* Paratyphi y *Salmonella* Thyphi en sedimentos. También se han encontrado concentraciones significativas de bacterias y virus entéricos en el agua y sedimentos de canales costeros en los que se descargan aguas negras tratadas secundariamente, donde *Salmonella* ha sido una de las bacterias aisladas con mayor frecuencia (Gerba et al., 1976).

En otros tipos de sedimentos, como el de los estanques de cultivo de camarón, el aislamiento frecuente y consistente de *Salmonella* demuestra que este patógeno es capaz de sobrevivir en estos ambientes, debido a la alta carga orgánica presente, como resultado de la eutroficación de las aguas del lago, aunado a los nutrientes liberados por los alimentos concentrados utilizados en el cultivo de camarones. Por lo tanto, se ha reportado que las principales fuentes que contribuyen a la prevalencia de *Salmonella* en camarones de cultivo, son el agua de las piscinas de cultivo y el sedimento de las mismas (Reilly et al., 1995; Bhaskar et al., 1998; Gómez-Gamboa, 2012).

2.10. Susceptibilidad de *Salmonella* Frente a Agentes Antimicrobianos

Los antibióticos son biomoléculas producidas por microorganismos y/o compuestos semi-sintéticos o sintéticos, que inhiben o eliminan a otros microorganismos (Escobar, 2004). Sin embargo, ningún agente antimicrobiano tiene la capacidad para actuar eficazmente sobre todo tipo de microorganismos, debido a la diferente actividad de la sustancia y las variadas características de susceptibilidad y resistencia que presenta cada bacteria (Escobar, 2004). La

selectividad se explica por las diferencias estructurales y bioquímicas entre las células eucariotas y procariotas (Gentilini, 2007).

Los mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos se encuadran en cuatro tipos:

1. Inhibición de la síntesis de pared celular
2. Alteración de la función de la membrana celular
3. Inhibición de la síntesis o de la función del ácido nucleico
4. Inhibición de la síntesis de proteínas (Prescott, 1988).

En su discurso de aceptación del premio nobel en 1945, Alexander Fleming mencionó “la penicilina puede representar un peligro en dosis subletales”. No es difícil obtener microorganismos resistentes en el laboratorio al exponerlos a concentraciones no suficientes para eliminarlos (Fleming, 1945). Esta característica está mediada fundamentalmente en el cromosoma bacteriano. Existen dos formas para que *Salmonella* pueda adquirir esta resistencia:

1. Mediante transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias.
2. A través de mutaciones en el cromosoma bacteriano (Fernández, 2003).

Estos sucesos ocurren fundamentalmente en los integrones, que son elementos genéticos descritos por primera vez por Stokes y Hall en 1989, generalmente asociados a genoma bacterianos, los cuales permiten una eficiente adquisición y expresión de genes externos (Gilling, 2014). Su mecanismo incluye componentes de recombinación específica que le permiten capturar y movilizar genes, en específico, aquellos determinantes de resistencia antibiótica (Van Hoek et al., 2011).

Existen varias clases de integrones, los de clase 1 se encuentran en la mayoría de aislados clínicos. La acumulación de genes de resistencia, así como su extraordinaria capacidad de recombinación e intercambio dentro de los integrones bacterianos, pueden contribuir en la aparición y diseminación de organismos que sean multirresistentes (Pérez et al., 2005). Dentro de los mecanismos más comunes de resistencia se encuentra el desarrollado contra quinolonas; este mecanismo se basa en mutaciones del gen de la ADN girasa (topoisomerasa II, en los genes *gyrA* y *gyrB*) y en la topoisomerasa IV (en *parC* y *parE*). Estas mutaciones se ubican principalmente en la región determinante de la resistencia a la quinolona (QRDR) del gen *gyrA* y su región homóloga del gen *parC* (Qiang et al., 2002). En este sentido, se ha producido un tendiente aumento en la incidencia de *S. enterica* resistente a múltiples antibióticos debido a la

diseminación de elementos genéticos, que incluyen la presencia de integrones y, en algunas ocasiones, elementos de virulencia.

El caso más representativo es el de la isla genética de patogenicidad SGI1 (*Salmonella* Genomic Island 1), un elemento de 43 kb que incluye una región en la que se localizan dos integrones de clase 1. En el primer integrón se encuentran los genes *aadA2* (resistencia a estreptomicina) y *sulI* (resistencia a sulfametoxazol). En el segundo integrón está presente el gen *pseI* (resistencia a ampicilina). Entre los dos integrones se encuentran otros genes que codifican para otras resistencias a antibióticos: el gen *floR* (resistencia al florfenicol) y *tetA* (resistencia a tetraciclina). Estos elementos han sido descritos fundamentalmente en *S. Typhimurium* DT104 y otros aislados como *S. Agona* (Fluit, 2005; Guerra et al., 2002).

En el caso de *Salmonella*, se han realizado estudios para determinar la susceptibilidad frente a agentes antimicrobianos. Algunos de los grupos de antimicrobianos reportados a los que *Salmonella* ha presentado resistencia son: penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, sulfonamidas y tetraciclinas (Kuang et al., 2015).

Analizando cortes de carne de cerdo (chuletas, jamón, costillas), se detectaron cepas de los serotipos Infantis y Typhimurium, las cuales mostraron resistencia a diferentes antibióticos como ácido nalidíxico, ampicilina, carbenicilina, cefalotina, cefoxitina, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, kanamicina, sulfonamida, tetraciclina (Tessmann et al., 2008). En alimentos con carne de pollo, carne de pollo cruda, Enteritidis ha presentado resistencia a ampicilina, ceftazidima, ciprofloxacina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, sulfonamida, tetraciclina (Vaz et al., 2010). En huevos de gallina, Enteritidis mostró resistencia frente a antibióticos de alto interés clínico como ácido nalidíxico, ampicilina, cefotaxima, ciprofloxacina, cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol (Kottwitz, 2013). Otro estudio realizado a partir de muestras clínicas (heces), tuvo como resultado que los serotipos Enteritidis, Typhimurium, Infantis son resistentes a sulfametoxazol, eritromicina, ampicilina, tetraciclina, kanamicina, gentamicina, cloranfenicol, colistina, amikacina, ciprofloxacina y estreptomicina (Cruz-Marruffo, 2017).

Abatcha et al. (2018), realizaron un estudio para determinar la prevalencia, resistencia a antibióticos y presencia de genes de resistencia en integrones clase 1 en aislados de *Salmonella* en vegetales, pollo y ambientes relacionados. Se detectaron 37 serotipos, donde los más prevalentes fueron Corvallis, Brancaster, Weltevreden, Albany, Hvitittingfoss, Paratyphi B y

Typhimurium. Estos serotipos mostraron resistencia a estreptomicina, tetraciclina, sulfonamidas, trimetoprim-sulfametaxol, ampicilina y cloranfenicol. Se detectaron 11 de los 16 genes de resistencia (*tetA*, *tetB*, *blaTEM-1*, *temB*, *strA*, *StrB*, *aadA*, *sul1*, *sul2*, *floR* y *cmlA*) entre los aislados de *Salmonella* que presentaron resistencia.

En otro estudio, se evaluaron 33 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de muestras clínicas y ambientales, los serotipos mayormente aislados fueron Enteritidis, Paratyphi, Typhimurium, Typhi y Arizona. En este estudio, la mayoría de los aislados fueron resistentes a cefalosporina de primera y segunda generación, así como aminoglucósidos. Asimismo, varios aislados de *S. enterica* mostraron resistencia a los antibióticos de primera línea utilizados para el tratamiento de salmonelosis, tales como ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol y cloranfenicol. Esta resistencia se atribuyó a la presencia de genes tipo *carb*, *dfrA1*, *floR*, *tetA*. Por otro lado, la resistencia a fluoroquinolonas se relacionó con la presencia de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* (El-Tayeb et al., 2017).

Almeida et al. (2018) analizaron *Salmonella* Typhimurium aislada de humanos y alimentos de diferentes regiones geográficas de Brasil, entre 1983 y 2013. Se identificaron un total de 39 genes de resistencia a varios antibióticos de las familias tetraciclinas, sulfonamidas, trimetoprim, betalactámicos, fluoroquinolonas y macrólidos, así como la aparición de mutaciones puntuales en algunos de los genes, tales como *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*.

En un estudio realizado en China, se analizaron los sedimentos de lagos recreacionales, y se encontró a *S. enterica* dentro de los patógenos aislados. En cuanto a genes de resistencia a antimicrobianos, el gen *sul1* exhibió el nivel más alto de presencia entre los cinco genes que se cuantificaron. Las concentraciones de varios genes como *sul1*, *bla-TEM* y *tetX*, mostraron correlaciones positivas significativas con un integrón de clase 1 presente en los aislados (*intI1*) ($p < 0.05$), lo que indica que *intI1* puede estar involucrado en la expresión de estos genes entre las bacterias (Dong et al., 2019).

En México también se han realizado estudios respecto a la resistencia antimicrobiana. Al analizar piezas de pollo, cerdo y res a la venta, Zaidi, (2008), encontró que los serotipos de *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis, Agona, Muenchen, Oranienburg, Anatum, Newport y Meleagridis mostraron resistencia frente al ácido nalidíxico, ampicilina, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, kanamicina y tetraciclina. En otro estudio realizado

en el año 2009, se analizaron muestras de heces de vacas, cabras y gallinas, mostrando a los serotipos Oranienburg, Give, Minnesota y Saintpaul como los principales resistentes al ácido nalidíxico, ampicilina, cloranfenicol, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol, sulfonamida, furazolidona, amicacina y ampramicina (Castañeda-Ruelas, 2009).

En el Valle de Culiacán, Sinaloa, se probaron varios antibióticos con cepas aisladas de agua de canales de la región, y los serotipos Typhimurium, Infantis, Anatum, Agona, Oranienburg, Minnesota y Give fueron los que mostraron resistencia a tetraciclina (López et al., 2009). En otro estudio, se identificaron nueve serotipos aislados tanto de tomate como de agua de canal. Los serotipos Typhimurium, Agona, Oranienburg, Give, Saintpaul, Weltevreden y San Diego mostraron resistencia a siete antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina, kanamicina, cefoperazona, colistin sulfato, apramicina y estreptomicina). Otro estudio, donde se analizaron aislados de *Salmonella* obtenidos de cerdos faenados, concluyó que los serotipos Typhimurium, London, Agona, Anatum, Bredeney, Infantis, Reading, Havana, Choleraesuis, Tennessee, Adelaida y Enteritidis mostraron resistencia cuando se evaluó la acción de diferentes antibióticos como ampicilina, cloranfenicol y sulfametoxazol (Talavera et al., 2011). Además, en otro estudio, se realizó el análisis proteómico del serotipo Typhimurium que presentó resistencia a la tetraciclina (Lugo-Melchor, 2010). Atendiendo la distribución de estos aislados y su resistencia a antibióticos (RA), puede ser el resultado de la recirculación de estos serotipos entre el medio ambiente y diferentes animales domésticos o silvestres. En este sentido también puede representar un indicador en cuanto a la interacción de genes de RA entre aquellas poblaciones microbianas que se encuentran presentes en esos nichos ecológicos.

3. HIPÓTESIS

1. Los principales serotipos de *Salmonella* presentes en sedimentos de los ríos son *S. Minnesota*, *S. Oranienburg* y *S. Saintpaul*, coincidentes a los circulantes en agua superficial en la región.
2. Al menos el 90 % de los serotipos de *Salmonella* presentan resistencia a más de un antimicrobiano.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de serotipos de *Salmonella* resistente a antibióticos en sedimentos de ríos en el valle de Culiacán.

4.2 Objetivos Específicos

1. Aislar *Salmonella* de sedimentos de ríos del valle de Culiacán.
2. Identificar los serotipos de *Salmonella* aislados de sedimentos de ríos del valle de Culiacán.
3. Determinar los perfiles de resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella* aisladas de sedimentos de ríos del valle de Culiacán.

5.MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Recolección de Muestras de Sedimentos de Ríos

El período de muestreo comprendió de junio 2018 a marzo 2019, se seleccionaron 11 sitios de muestreo a lo largo de los ríos Humaya (longitud: 43km), Tamazula (longitud: 44km) y Culiacán (longitud: 83km); los cuales comprenden un área geográfica que abarca desde el nacimiento de los ríos en las presas Adolfo López Mateos y Sanalona, hasta su desembocadura en la comunidad de El Castillo, Navolato, Sinaloa (**Figura 8**). Por ser estos ríos los más importantes del valle de Culiacán, se decidió realizar el muestreo para conocer la prevalencia de *Salmonella* en estos ambientes, así como la posible diseminación de la bacteria a lo largo de los mismos. Se tomó la muestra de manera mensual en un punto por cada sitio a muestrear. Los puntos de muestreo se localizaron a una distancia promedio de 30 cm entre el sitio de la toma de muestra y la orilla del río. La muestra de sedimento de un peso aproximado de 100g se recolectó con una espátula estéril y se depositaron asépticamente en bolsas estériles previamente rotuladas. Posteriormente, las muestras se colocaron en hieleras a 4°C y se trasladaron al Laboratorio de Microbiología Ambiental y de Alimentos (LMAA) del LANIIA del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), coordinación Culiacán, para ser procesadas dentro de las primeras 24 h después de su recolección.

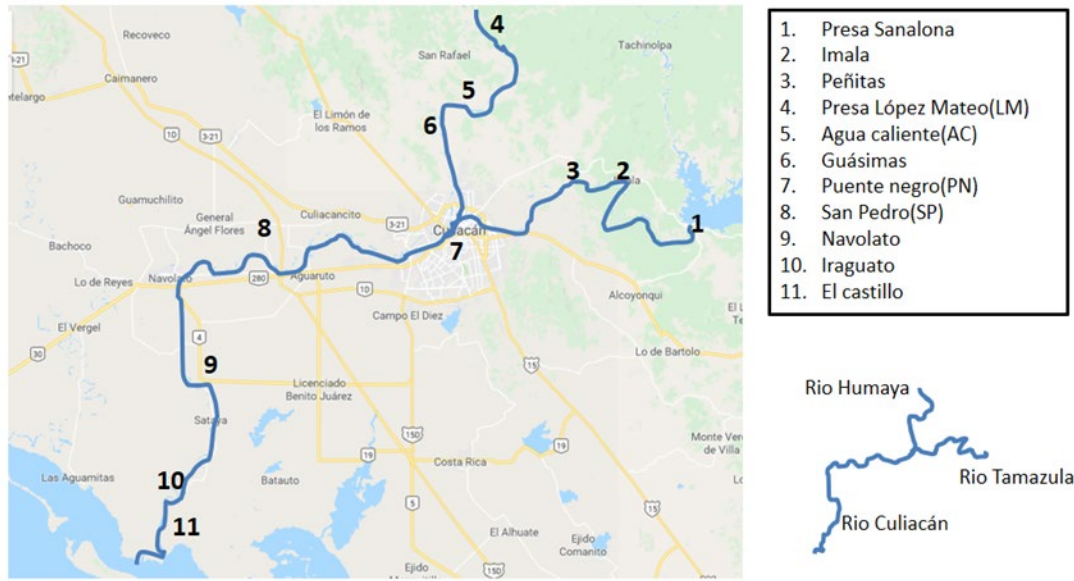


Figura 8. Sitios de muestreo en los sedimentos de los ríos en el Valle de Culiacán.

5.2. Aislamiento de *Salmonella*

El aislamiento e identificación de *Salmonella* se realizó con base en lo establecido en el protocolo presentado en el Método 1682 de la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (USEPA, 2006) empleando el medio semisólido Rappaport-Vassiliadis (MSRV), el cual proporciona la enumeración de *Salmonella* en biosólidos según la técnica del número más probable (NMP).

5.3. Preparación de Muestra

En bolsas estériles separadas se pesaron 30 g de cada muestra de los sedimentos, se añadieron 270 mL de buffer fosfato y se mezclaron durante 2 min. Adicionalmente se pesaron 30 g para determinar los gramos totales de la muestra en porcentaje peso seco. La determinación de los sólidos totales (% de peso seco) se realizó en una muestra representativa de biosólidos y se utilizó

para calcular el peso seco de NMP/g. La densidad de *Salmonella* se reportó como NMP/4 g de peso seco.

$$\% \text{ peso seco} = \frac{\text{muestra seca(g)}}{\text{muestra(g)}} \times 100 \quad (1)$$

Donde

Muestra seca(g): peso de la muestra después de secar

Muestra (g): peso de la muestra húmeda (30g)

$$\frac{\text{NMP}}{4\text{g}} \text{ peso seco} = \frac{\left(\frac{\text{NMP}}{\text{mL}} \text{ peso húmedo} \right) \times 4}{\% \text{ total de sólidos(decimal)}} \quad (2)$$

Donde

$\frac{\text{NMP}}{4\text{g}}$: número más probable en 4g de peso seco de muestra.

$\frac{\text{NMP}}{\text{mL}}$ **peso húmedo**: combinación de tubos positivos de bioquímica registrados en la tabla NMP

Index.

% total de sólidos(decimal): porcentaje obtenido de la fórmula 1 expresado de forma decimal

5.4. Análisis Microbiológico Mediante Número Más Probable (NMP).

Para ello se prepararon series de tubos con medio TSB, correspondiendo 15 tubos por cada muestra a analizar. Las diluciones del medio TSB estuvieron distribuidas de la siguiente manera para cada muestra:

-5 tubos con 20 mL de TSB 3X

-5 tubos con 5 mL de TSB 3X

-5 tubos con 10 mL de TSB 1X

La determinación de *Salmonella* implica la inoculación del medio de enriquecimiento TSB, con una cantidad medida de muestra a diferentes concentraciones: 20 mL/10mL TSB 3X, 10 mL/5 mL TSB 3X y 1 mL/10 mL TSB 1X. El inóculo se tomó de la muestra previamente preparada a partir del sedimento y el buffer. Una vez inoculados los tubos, se sometieron a incubación durante 24 horas a 37°C.

Posteriormente, para cada tubo que presentó crecimiento microbiano, se realizó la siembra en medio selectivo MSRV. El medio MSRV contiene novobiocina y verde malaquita para inhibir el crecimiento de la mayoría de las especies bacterianas que no pertenecen al género *Salmonella*. Para la siembra en placas se aplicaron seis gotas discretas (30 µL) de cada tubo con TSB sobre una placa MSRV correspondiente. Las gotas se colocaron de manera uniforme sobre toda la placa. Luego se incubó durante 24 h a 44°C. Posteriormente se examinaron las placas para ver la motilidad que rodea las inoculaciones, evidenciada por un "halo blanquecino" de crecimiento de aproximadamente 2 cm del centro de la mancha. Las colonias presuntamente identificadas fueron aisladas y se sembraron por estriado en el medio Agar-Xilosa-Lisina Desoxicolato (XLD) e incubadas durante 24 h a 37°C.

5.5. Identificación Bioquímica.

Las colonias con características presuntivas de *Salmonella* se seleccionaron del medio selectivo XLD y se realizó la siembra en medio TSA y se dejaron incubar por 24 h a 37°C. Una vez crecidas las colonias, se realizó la identificación bioquímica utilizando Agar-Hierro-Lisina (LIA), Agar hierro y triple azúcar (TSI) y Caldo de Urea. En los medios LIA y TSI se sembró mediante el método de punción con aguja bacteriológica, mientras que en el medio Caldo de Urea se inoculó una colonia presuntiva y se mezcló en el caldo, utilizando un asa bacteriológica, para posteriormente incubar a 37°C por 24h.

5.6. Confirmación Mediante Técnica de PCR Punto Final.

Para la confirmación de *Salmonella* se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa de punto final (PCR, siglas en inglés). La mezcla estuvo compuesta por 5 µL de master mix, 1.6 µL de agua nanopura, 3 µL de ADN y 0.2 µL de iniciadores pfk (fosfofructoquinasa) (ACACCTCCTCTTCTCACCAGCGTATC) y (CGGCTTTGATTTCGCCACCAGA), específicos de *Salmonella*. y que amplificaron un fragmento de 178 pares de bases del gen *pfk* (Wang et al., 1997; Brakstad et al., 1992) (**Cuadro 5**). La reacción de PCR se realizó en un termociclador Mastercycler (Eppendorf, Alemania) bajo las siguientes condiciones de amplificación: un ciclo de 94°C por 15 s, 35 ciclos de 94°C por 3 s, 50°C por 10 s y 74°C por 35 s. Finalmente, un ciclo de extensión de 74°C por 2 min y 45°C por 2 segundos (Wang et al., 1997). Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1% y se observaron las bandas amplificadas de ADN usando un Transiluminador UV (UVP, USA).

Cuadro 5. Componentes utilizados para la PCR punto final.

COMPONENTES	CANTIDAD(µL)
Master Mix	5.0
Primer reverse	0.2
Primer forward	0.2
Agua	1.6
ADN	3

5.7 . Serotipificación de *Salmonella*.

Una vez confirmadas mediante pruebas bioquímicas y PCR las cepas positivas de *Salmonella* fueron enviadas al Laboratorio de Serología en el Departamento de Investigación (Facultad de

Medicina de la Universidad Autónoma de México) para la determinación de serotipos mediante el esquema de serotipificación Kaufman-White.

5.8. Prueba de Susceptibilidad a Antimicrobianos.

Las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (PSA) se realizaron por el método de difusión en disco (Kirby-Bauer). Luego se inoculó cada cepa de *Salmonella* (a una densidad óptica de 0.08 a 600 nm (equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL) sobre placas de agar Müller-Hinton. A continuación, se colocaron discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos (Becton Dickinson) a evaluar: Tetraciclina (30µg), Eritromicina (15µg), Cloranfenicol (30µg), Sulfametoxazol-Trimetoprima (25µg), Azitromicina (15µg), Gentamicina (10µg), Amikacina (30µg), Penicilina (10IU), Ciprofloxacino (5µg), Trimetoprima (5µg) y Rifampicina (5µg) (CLSI, 2005).

Para el desarrollo del método, una vez inoculada la bacteria sobre la superficie del agar, se colocaron los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril presionando suavemente sobre cada disco, asegurándose un contacto completo con la superficie del agar. Se incubaron las placas durante 24 h a 37°C y posteriormente se midieron los halos de inhibición generados, interpretándose de acuerdo a los rangos de susceptibilidad y resistencia, descritos para cada antibiótico. Los resultados se expresaron como: Susceptible (S), Intermedio (I) y Resistente (R). Se utilizó como control positivo la cepa *Salmonella* ATCC 14028 y como control de calidad interno a *Escherichia coli* ATCC 25922.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Aislamiento de *Salmonella* de Sedimentos de Ríos.

Los resultados derivados de la presente investigación demuestran una alta prevalencia, concentración y diversidad de serotipos de *Salmonella* en la mayoría de las muestras analizadas, excepto en El Castillo donde estuvo ausente a lo largo del estudio. En este estudio, los sitios con el mayor porcentaje de aislamiento de *Salmonella* de acuerdo con los resultados positivos obtenidos por mes de muestreo fueron: Peñitas y La Guásima (62.5 %), seguidos de Navolato, Puente Negro, Aguacaliente (50 %) e Imala, Presa Adolfo López Mateos, Iraguato, San Pedro y Presa Sanalona (37.5 %) (Figura 9).

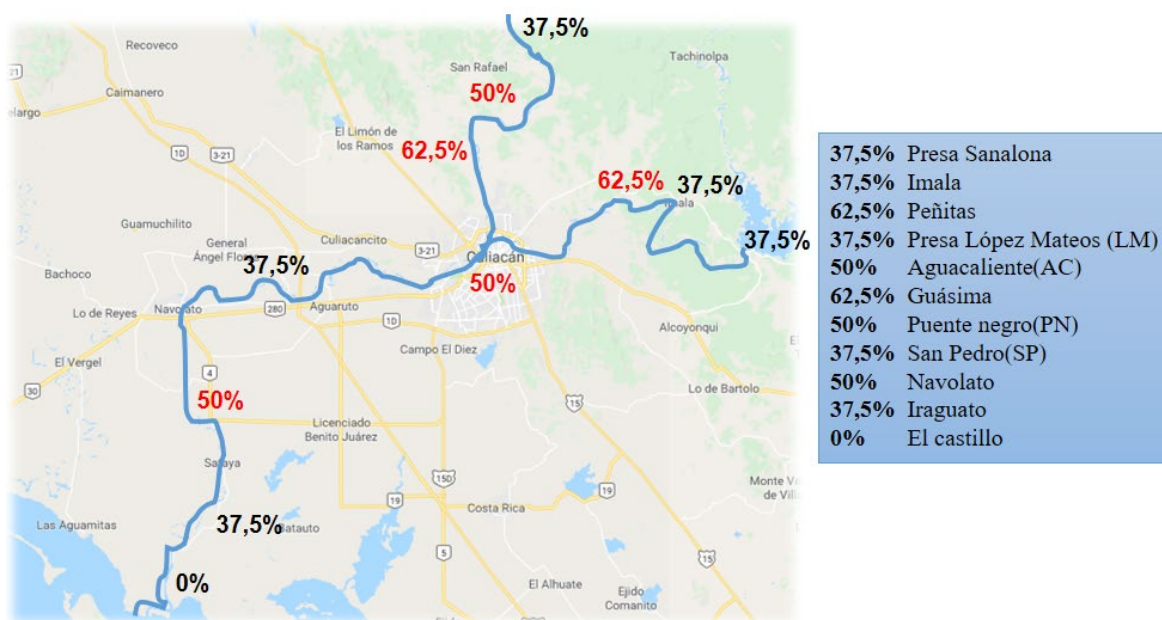


Figura 9. Porcentaje de aislamiento de *Salmonella* en los diferentes sitios de muestreo

Con los datos obtenidos en sedimentos de los ríos analizados, observamos que la concentración más alta, fue de 20 NMP/4 g de peso seco y se obtuvo en la presa Sanalona en el mes de junio

(Figura 10), la cual pudo ser producto del aporte de materia fecal de bovinos de traspatio que transitan por este sitio de muestreo, que compromete la calidad de estos nichos. En este sitio de muestreo, los serotipos con mayor frecuencia de aislamiento (Oranienburg Montevideo y Minnesota) no se identificaron, a pesar de que en la presa Sanalona se mostró el mayor valor de NMP/4 g de peso seco. No necesariamente los altos valores de NMP deben estar relacionados con los serotipos que se encontraron con mayor frecuencia de aislamiento. Sin embargo, el serotipo Oranienburg si se identificó en el Puente Negro, donde se reportó otro dato elevado (10.608 NMP/4 g de peso seco) en el mes de agosto (Figura 10), mes en el que comenzaron las lluvias y las precipitaciones en la Ciudad de Culiacán, Sinaloa, lo cual pudo propiciar la remoción de los sedimentos y liberación de los microorganismos presentes río arriba. Además, en algunos de los sitios de muestreo se presenta la descarga de aguas residuales de poblados aledaños a la ciudad y posiblemente de empresas agrícolas/ganaderas. Esto aunado a que en ese punto convergen los tres ríos analizados en este estudio, lo que podría explicar este resultado.

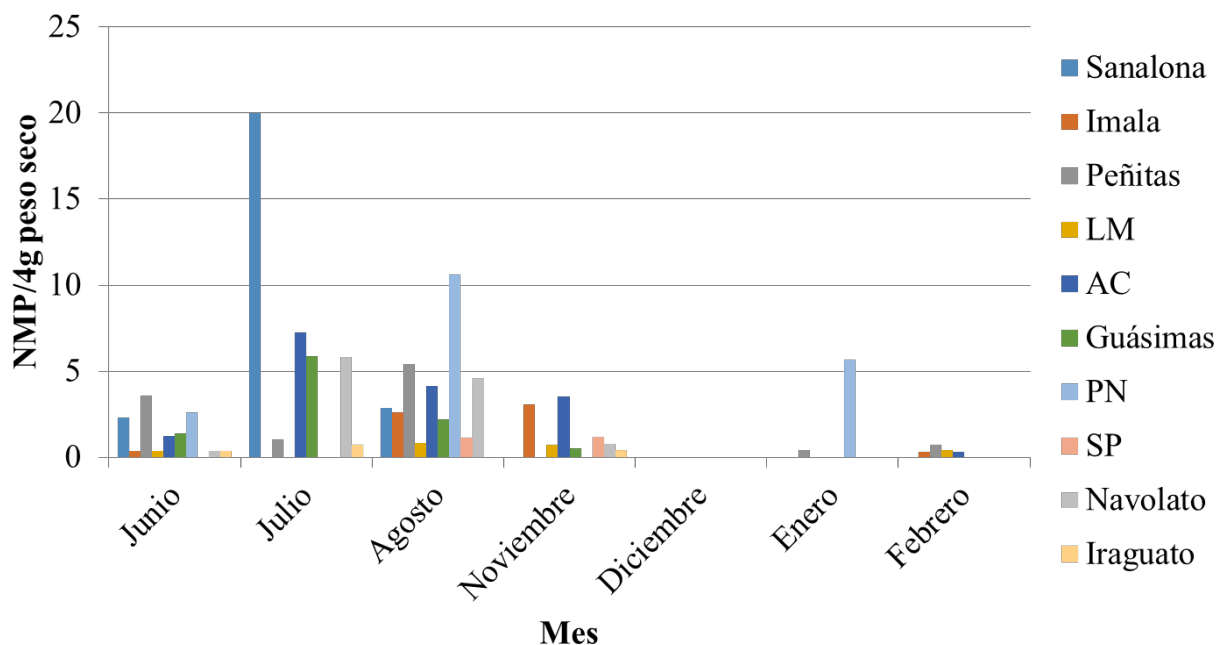


Figura 10. Cuantificación de *Salmonella* (NMP) en los diferentes sitios de muestreo.

En los meses de junio, julio y agosto, se reportaron altos valores en cuanto a unidades de NMP: Sanalona (20 NMP/4 g de peso seco), Peñitas (3.575 y 5.4 NMP/4 g de peso seco), Aguacaliente (7.239 y 4.17 NMP/4 g de peso seco), Puente negro (10.608 NMP/4 g de peso seco), La Guásima (5.856 NMP/4 g de peso seco) y Navolato (5.818 y 4.578 NMP/4 g de peso seco) (**Cuadro 6**). Según la metodología realizada para estos sedimentos, la concentración de *Salmonella* spp. puede ser <3 NMP/4 g sólidos totales, base seca y es considerado un sedimento adecuado; o mayor a este valor donde el riesgo de contaminación ya debe ser considerado; sin embargo, podemos observar que en este estudio se encontraron en varios sitios de muestreo, valores por encima de esos parámetros, además de identificarse el serotipo Oranienburg en tres de estos sitios con altos valores de NMP (La Guásima, Puente negro y Navolato), así como el serotipo Goerlitz (en Aguacaliente), clasificado como de nueva inserción en el territorio nacional, debido a que en México no existen reportes previos del mismo. Los resultados del presente estudio difieren a lo reportado por Jiménez-Edeza (2011), en el cual se analizó en el valle de Culiacán el agua de los mismos ríos y sitios de muestreo cercanos a los analizados en este estudio. Utilizando el método del NMP, este autor reporta bajos valores en la mayoría de los sitios muestreados, pero en este caso el método se realizó en base a la identificación de *Salmonella* en 10 litros de agua concentrada mediante ultrafiltración (con rangos de 300-46000 NMP/L⁻¹), en los cuales valores por debajo de 700 NMP/L⁻¹ fueron considerados como no riesgoso. Pero en este caso la metodología y las concentraciones utilizadas no son las mismas. Iraguato resultó uno de los sitios con mayor número de muestras positivas y Aguacaliente con alto índice de muestras negativas. Tomando en cuenta los valores del NMP, se puede realizar un análisis de riesgo microbiano que nos permite dilucidar el impacto que pueda tener la presencia de estas bacterias identificadas en estos nichos ecológicos. Atendiendo estos valores, países como Argentina establece estándares para el uso de agua con fines agrícolas y de consumo para los humanos. Valores superiores a 3 NMP de coliformes por 100 mL de agua representan un riesgo sanitario en ambos sentidos (Baccaro et al., 2006).

En los sitios de muestreo analizados, durante los meses de enero y febrero se presentó una disminución considerable en el aislamiento y concentración de *Salmonella*. En el mes de diciembre no se identificó a la bacteria en ningún sitio de muestreo. En enero solo resultaron dos sitios en los cuales se aisló *Salmonella*: Peñitas (0.423 NMP/4 g de peso seco) y en el Puente Negro (5.68 NMP/4 g de peso seco). En el mes de febrero se aisló *Salmonella* en más sitios de

muestreo no obstante, se presentó en bajas concentraciones: Imala (0.322 NMP/4 g de peso seco), Peñitas (0.698 NMP/4 g de peso seco), Presa Adolfo López Mateos (0.423 NMP/4 g de peso seco) y Aguacaliente (0.322 NMP/4 g de peso seco) (**Cuadro 6**). Estos resultados se pueden atribuir a que en estos meses las temperaturas tienden a bajar como consecuencia de la temporada invernal y se ha reportado que las bajas temperaturas afectan la viabilidad de la bacteria, aunque también el microorganismo pudo entrar en un estado viable pero no cultivable al momento de su cultivo (Strawn y Danyluk, 2010). En nuestros resultados, aunque no se analizó la presencia de *Salmonella* en el agua del río, solo en sus sedimentos, también se cuantificaron en varios sitios valores por debajo de los límites permitidos según la metodología para el análisis de biosólidos. Esto se reportó principalmente en tres sitios (Presa Adolfo López Mateo, San Pedro e Iraguato) en donde los valores de NMP estuvieron por debajo de 3 NMP/4 g de peso seco en todos los meses en los que se realizó el muestreo (**Cuadro 6**). Aunque estos valores son bajos, no debemos descartar la posibilidad de que esos nichos sean un posible reservorio de *Salmonella* y sus sedimentos estén involucrados en la diseminación de la bacteria. A pesar de que en la presa Adolfo López Mateos se registraron valores muy bajos de NMP, también se identificó la presencia en sus sedimentos del serotipo Goerlitz.

Cuadro 6. Resultados para *Salmonella* del NMP/ 4 g de peso seco (por cada sitio de muestreo) en todos los meses de muestreo.

MESES	PUNTOS DE MUESTREOS (valores de NMP/4 g de pesos seco)										
	Sanalona	Imala	Peñitas	PALM	Aguacalientes	Guásima.	Pte.Negro	S. Pedro	Navolato	Iraguato	Castillo
Junio	2.278	0.345	3.575	0.381	1.231	1.374	2.606	-	0.365	0.357	-
Julio	20	-	1.035	-	7.239	5.856	-	-	5.818	0.74	-
Agosto	2.888	2.632	5.4	0.81	4.153	2.205	10.608	1.135	4.578	-	-
Noviembre	-	3.073	-	0.736	3.538	0.496	-	1.205	0.776	0.429	-
Diciembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Enero	-	-	0.423	-	-	-	5.68	-	-	-	-
Febrero	-	0.322	0.698	0.423	0.322	-	-	-	-	-	-

Lo anterior demuestra una alta distribución de *Salmonella* a lo largo del trayecto de los ríos analizados, lo cual puede estar relacionado en parte, con la contaminación de estos nichos, así como con la capacidad de sobrevivencia y establecimiento de las cepas de *Salmonella* aisladas, las cuales incrementan rápidamente su concentración debido a la alta carga orgánica presente, esto como resultado de la eutroficación de las aguas y el efecto protector que le confiere su establecimiento en nichos ecológicos como los sedimentos (Gómez-Gamboa, 2012).

Con relación a la cuantificación de *Salmonella*, en muchos casos no se contempla la evaluación de esta bacteria, sin embargo, su análisis es valioso ya que se trata de un patógeno común en alimentos y relacionado con enfermedades de origen hídrico. En algunos países para realizar el riego del cultivo de ajo, se utilizan efluentes tratados en los cuales pueden estar presentes diversos microorganismos, que pueden ser contaminantes para estos cultivos. Parámetros establecidos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF), dictan que para *Salmonella* se debe reportar la no detección de la misma a la hora de realizar un análisis microbiológico en estos efluentes (ICMSF, 1978; Fasciolo, 2005).

En otro estudio realizado en Colombia, se evaluó la presencia de *Salmonella* en cultivos de lechuga irrigados con agua residual sin tratar. En este caso se reportó a la bacteria en concentraciones por debajo del límite de cuantificación de la técnica ($< 1,8$ NMP/L); por lo que el riesgo de enfermedad por la presencia de este patógeno, es bajo (OMS. 2006; Campos et al., 2014).

Con respecto a los demás sitios y la presencia de *Salmonella* en sus sedimentos, se podría decir que los canales y los ríos de uso agrícola en el valle de Culiacán se encuentran al aire libre, por lo que su contaminación puede tener diversos orígenes, desde fuentes puntuales de contaminación (descargas de granjas y/o mataderos de animales de granja, agua residual de poblaciones pequeñas, industria) y no puntuales (escorrentías en periodos de lluvia, excreta de animales de engorda o silvestres).

Entre los factores más significativos para la presencia de *Salmonella*, se encontró la introducción de agua residual a estos nichos, las descargas domésticas y las excretas de diferentes animales silvestres como reptiles y aves que fueron constatados durante las jornadas de toma de muestras (Thurston et al., 2002). Según la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) en México las poblaciones menores de 2,500 habitantes no requieren servicios de tratamiento de agua residual y pueden descargarse directamente en flujos de agua, lo cual puede representar la generación de

descargas potencialmente contaminantes para los diferentes cuerpos de agua (CONAGUA, 2007), tal como ocurre en los ríos evaluados en la presente investigación. Durante el periodo de muestreo fue evidente la presencia de animales silvestres y ganado bovino en las cercanías de los puntos de muestreo (**Anexo 1**).

En el último punto (El Castillo) no se detectó la presencia de *Salmonella* durante el presente estudio, esto puede deberse a que es una zona estuarina donde las mediciones de los niveles de salinidad fueron elevados (con valores máximos de 5000 ppm y mínimos de 40 ppm (promedio de 2840 ppm) en comparación con los demás sitios de muestreo donde estos valores se mantuvieron por debajo de 1000 ppm. La condición salina del agua pudo haber eliminado o reducido sustancialmente las poblaciones de *Salmonella*, o inducir a un estado “viable pero no cultivable”, impidiendo la identificación del microorganismo mediante el método realizado (**Figura 11**). Aunque se ha reportado la supervivencia de *Salmonella* Seftenberg en salmuera al 20% (20000 ppm), este serotipo es muy resistente a ambientes marinos (Martínez-Urtaza y Liébana, 2005); Sin embargo, dicho serotipo no se encontró en la presente investigación.

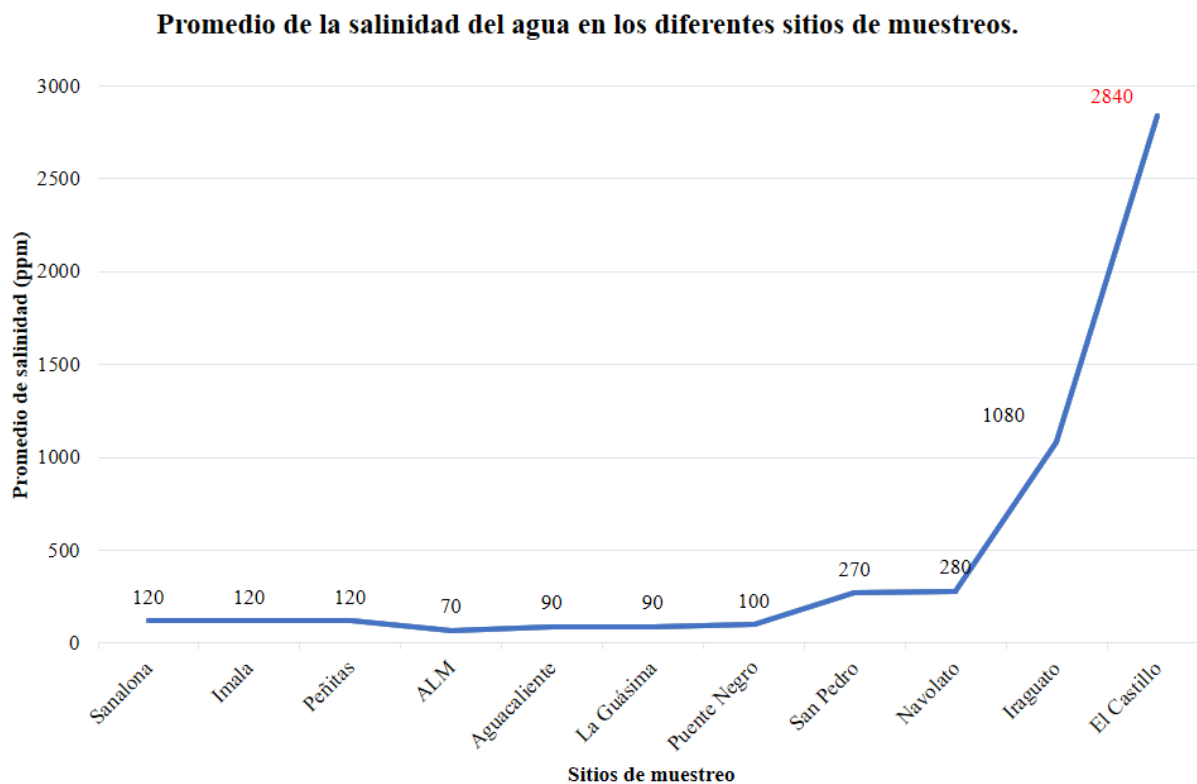


Figura 11. Promedio de la salinidad del agua en los diferentes sitios de muestreos.

Existen otros factores biológicos que pueden estar presentes en las zonas estuarinas, como los protozoos y los bacteriófagos, agentes que ejercen una considerable inactivación de las bacterias (Rhodes, 1998; Chandran y Hatha, 2005). Aunque en nuestro estudio no se realizaron aislamientos de estos agentes, es una posible causa adicional para la no presencia de *Salmonella* en el agua estarina analizada en el presente estudio.

Las condiciones fisicoquímicas, como pH, temperatura, sólidos disueltos totales, conductividad eléctrica y salinidad de los diferentes puntos de muestreo se pueden observar en el **Anexo 2** y el promedio de estos valores en los diferentes sitios de muestreos, se pueden analizar en el **cuadro 7**.

Cuadro 7. Valores de parámetros físico-químicos del agua de todos los meses en los sitios de muestreo.

PUNTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS (promedio)														
	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	Máx	Mín	Salinidad (ppm)	Máx	Mín	Temperatura (°C)	Máx	Mín	pH	Máx	Mín	Sólidos Disueltos (ppm)	Máx	Mín
Presa Sanalona	260.43	367	198	120	170	90	25.21	28.57	23.1	7.82	8.27	7.56	151.14	184	140
Imala	255.91	335	198.4	120	160	80	26.17	29.01	20.5	7.65	8.07	7.20	149.59	168	140
Peñitas	347.36	800	196.5	120	160	80	26.36	33.5	20.6	7.69	8.05	7.31	154.71	170	130
Presa López Mateo	168.83	257	111.3	70	120	40	27.62	31.92	20.6	7.31	7.68	7.06	96.14	128	70
Aguacaliente	211.17	360	141.1	90	170	50	26.79	31.92	20.6	7.72	8.37	7.02	120.57	180	90
La Guásima	210.70	341	101.5	90	160	40	26.72	31.37	22.7	7.51	7.98	7.1	121.86	171	70
Puente Negro	249.13	402	196.9	100	190	40	26.84	32.32	21.2	7.37	8	7	117.71	201	99
San Pedro	575.14	625	524	270	320	250	28.06	33.41	21.5	7.95	8.30	7.36	347.14	410	140
Navolato	591.86	638	548	280	320	250	27.13	34.73	20.25	7.64	8.32	7	342.43	410	299
Iraguato	2824.57	6.9 ms	811	1080	2510	390	26.91	33.39	20.6	7.71	8.13	7.41	1888.0	4950	406
El Castillo	2980.57	5000	1368	2840	5000	670	27.91	33.51	20.6	7.94	8.14	7.3	2980.57	5000	684

Los valores de pH se encontraron en el intervalo mínimo y máximo de 7-8.4, respectivamente, valores que no afectan el crecimiento de la bacteria. En efecto, se ha reportado que esta bacteria puede sobrevivir en ambientes con bajo pH. Según un estudio realizado por Koutsoumanis et al. (2004) el valor de pH mínimo que permitió el crecimiento de *S. Typhimurium* fue de 3.94 dentro del rango de temperatura de 25–35°C. La temperatura óptima de crecimiento de *Salmonella* se encuentra en un rango de 35-43°C, aunque la mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura que oscila desde 5°C a 47°C, algunas pueden crecer a valores de 2°C o 4°C y hasta 54°C como máximo (González et al., 2014). En el presente estudio, la temperatura del agua se mantuvo entre 20-34°C, pero la mayoría de los aislamientos se realizaron en los meses de junio, julio y agosto del 2018, donde se reportaron los valores mayores (33.39°C, 33.11°C y 33.51°C). Se ha reportado que las muestras de agua en temporadas cálidas, se asociaron con mayor tasa de detección de *Salmonella* (Martinez-Urtaza et al., 2004). Sin embargo, otros factores pueden haber influido sobre el desarrollo de esta bacteria.

En el caso de sólidos disueltos, es una variable que indica el valor de los compuestos inorgánicos y orgánicos en cuerpos de agua, muchos de los cuales son aprovechados por los microorganismos para poder proliferar (Morales et al., 2018). En este estudio, el sitio con la mayor concentración de sólidos disueltos fue El Castillo (5,000 ppm); mientras que el valor mínimo obtenido fue 70 ppm, correspondiente a la presa Adolfo López Mateos. Aunque en algunos puntos de muestreo los valores de sólidos disueltos son elevados (Iraguato: 3,240, El castillo: 5,000), se obtuvo poco o nulo aislamiento de *Salmonella*, probablemente como consecuencia, entre otros factores, de los niveles de salinidad reportados en estos sitios.

Respecto a la conductividad eléctrica, el valor mínimo fue de 111 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en la presa Adolfo López Mateos y el valor máximo resultante fue de 5,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, el cual correspondió a El Castillo. Este parámetro está relacionado con el desarrollo bacteriano, pero al igual que en los demás aspectos, podemos observar en las mediciones que no influyó mucho en la presencia de la bacteria en cada punto de muestreo, excepto en El Castillo, en donde no se detectó su presencia a lo largo del estudio. Estos resultados concuerdan con lo mencionado por Olías et al., (2015), quienes proponen categorías de salinidad en aguas de riego, mencionando que mediciones superiores a 3000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ afectan el crecimiento y desarrollo de microorganismos, además de que esta agua no es adecuada para el riego de productos comestibles por sus altos niveles de salinidad. Con base en estos resultados, se puede sugerir que la presencia o ausencia de *Salmonella* en los

diferentes sitios de muestreos, no depende de un solo factor, sino de una relación entre todos los aspectos o parámetros físico-químicos reportados.

En relación a la salinidad y su relación con la supervivencia de *Salmonella*, se ha descrito que este parámetro es de gran importancia para la bacteria. Los aislamientos ambientales de *Salmonella* (provenientes de agua) pueden mostrar comportamientos diferentes en dependencia del origen de la muestra (aguas frescas, estuarinas o marinas). En los 11 puntos de muestreo los valores de salinidad fueron variados (rango de 0.04-5 ppm), resultando los más elevados en la zona costera correspondientes Iraguato y El Castillo.

6.2. Confirmación de *Salmonella* por PCR Punto Final.

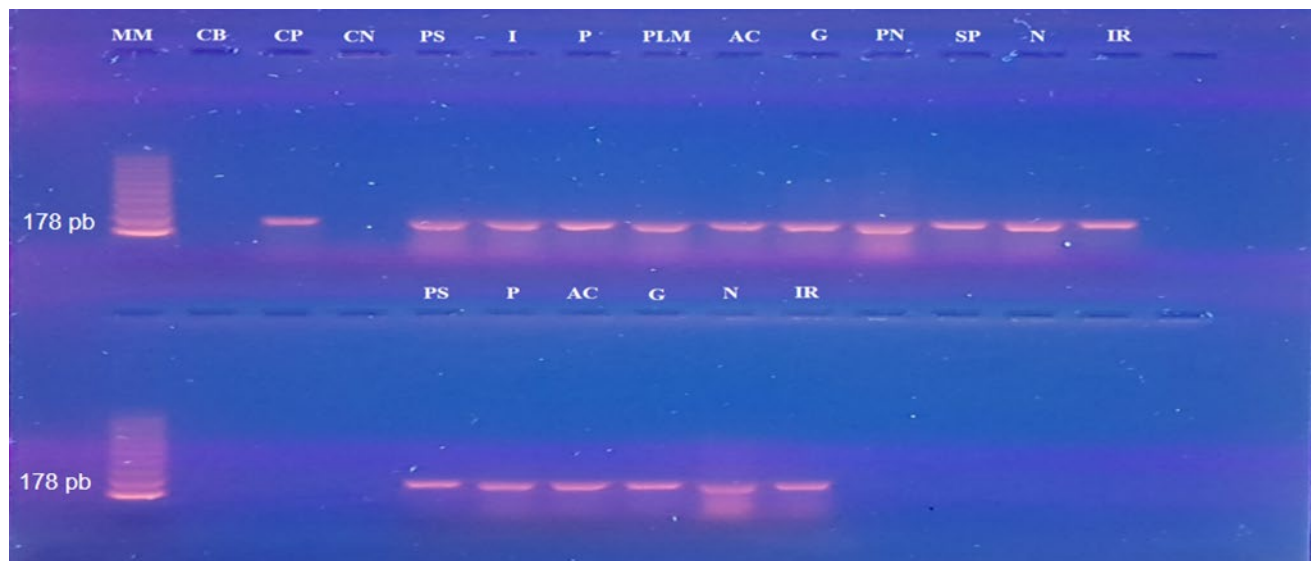


Figura 12. Confirmación de *Salmonella* por PCR. Meses de junio (parte superior) y julio (parte inferior).

MM: marcador molecular **CB:** control blanco **CN :** control negativo (*Bacillus* spp.) **CP:** control positivo (*Salmonella* spp.) **PS :** presa Sanalona **I:** Imala **P:** Peñitas **PLM :** Presa López Mateo **AC:** Aguacalientes **G:** Guasimas **PN :** puente negro **SP:** San Pedro **N :** Navolato **I:** Iraguato.

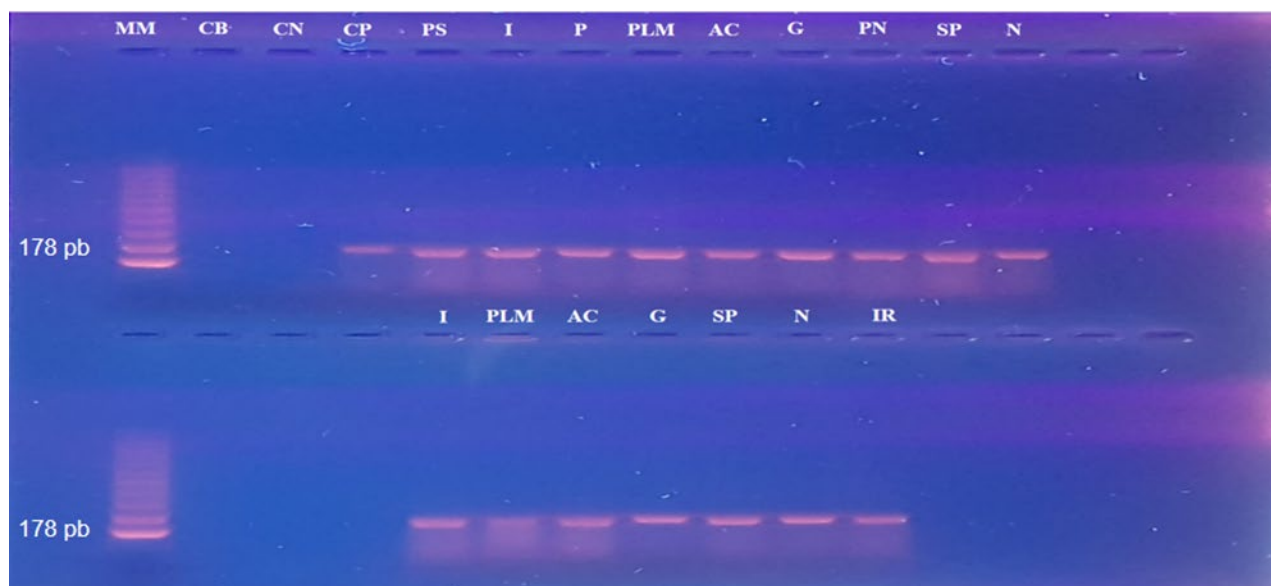


Figura 13. Confirmación de *Salmonella* por PCR. Meses de agosto (parte superior) y noviembre (parte inferior).

MM: marcador molecular **CB:** control blanco **CN :** control negativo (*Bacillus* spp.) **CP:** control positivo (*Salmonella* spp.) **PS :** presa Sanalona **I:** Imala **P:** Peñitas **PLM :** Presa López Mateo **AC:** Aguacalientes **G:** Guasimas **PN :** puente negro **SP:** San Pedro **N :** Navolato **I:** Iraguato.

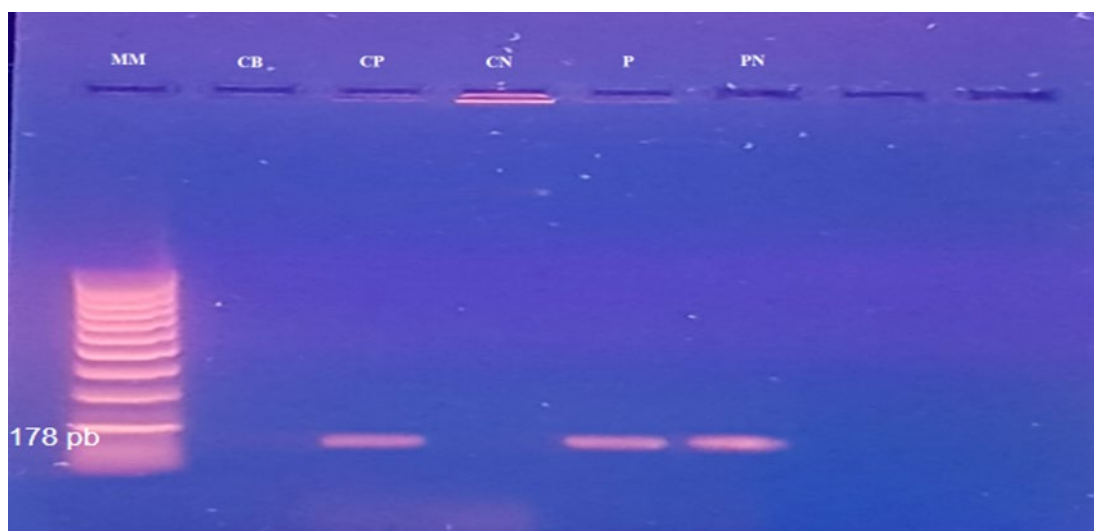


Figura 14. Confirmación de *Salmonella* por PCR. Mes de enero.

MM: marcador molecular **CB:** control blanco **CN :** control negativo (*Bacillus* spp.) **CP:** control positivo (*Salmonella* spp.) **P:** Peñitas **PN :** puente negro

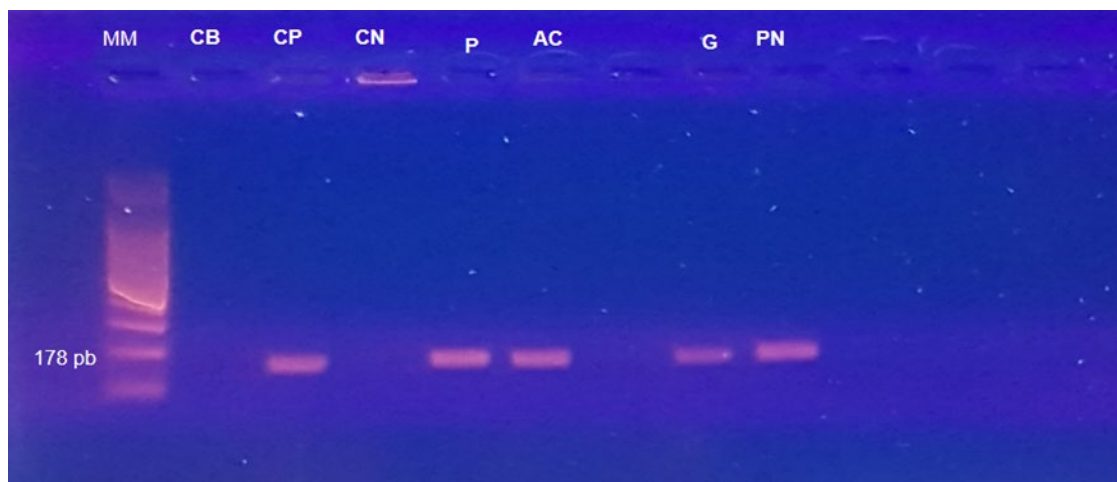


Figura 15. Confirmación de *Salmonella* por PCR. Mes de Febrero.
MM: marcador molecular **CB:** control blanco **CN :** control negativo (*Bacillus* spp.) **CP:** control positivo (*Salmonella* spp.) **P:** Peñitas **AC:** Aguacalientes **G:** Guasimas **PN :** puente negro.

6.3. Identificación de Serotipos de *Salmonella*.

Luego de realizar el aislamiento, confirmación y serotipificación (38 cepas), como resultado de este estudio se obtuvieron 6 serotipos de *Salmonella* (Minnesota, Montevideo, Javiana, Oranienburg, Agona y Goerlitz) distribuidos en los sedimentos de los ríos Tamazula, Humaya y Culiacán (**Cuadro 8**). El resto de las cepas (32) se identificaron como *Salmonella* spp. rugosa (no serotipificadas).

Cuadro 8. Serotipos de *Salmonella* aislados de sedimentos de ríos en el valle de Culiacán (en cada sitio de muestreo).

PUNTO DE MUESTREO	SEROTIPO
Presa Sanalona	Javiana
Imala	Minnesota y Montevideo
Peñitas	Minnesota
Presa López Mateos	Goerlitz, Montevideo y Oranienburg
Aguacaliente	Goerlitz y Montevideo
La Guásima	Oranienburg
Puente Negro	Oranienburg y Agona
San Pedro	Oranienburg
Navolato	Oranienburg
Iraguato	NS
El Castillo	<i>No se aisló Salmonella</i>

NS: no serotificado.

En investigaciones realizadas en la misma región de estudio de los ríos Tamazula, Humaya y Culiacán, se reportaron varios de los serotipos aislados en el presente estudio (López et al. 2008; Castañedas-Ruelas, 2009; Jiménez-Edeza, 2011; Estrada-Acosta, 2014). Un estudio realizado por Jiménez-Edeza (2011) en el valle de Culiacán, reportó la mayoría de estos serotipos distribuidos a lo largo del trayecto de estos ríos en estudio. Con estos resultados y al comparar los sitios de muestreo y el aislamiento de los diferentes serotipos identificados, podemos observar que en nuestra investigación se observa el hallazgo de los mismos serotipos en áreas geográficas similares: Oranienburg (Puente negro y Navolato), Minnesota (Peñitas e Imala), Montevideo (Imala) y Agona (Puente negro). Así, las poblaciones de *Salmonella* muestran una perspectiva que puede estar relacionada con la contaminación recurrente de estos nichos ecológicos y la diseminación de varios serotipos en sus sedimentos. Analizando los aislamientos, se puede observar que hay sitios en los que se obtuvo el mismo serotipo *S. Oranienburg* (SO) (puntos de muestreo cercanos desde la presa Adolfo López Mateos hasta el poblado Navolato) (**Figura 16**).

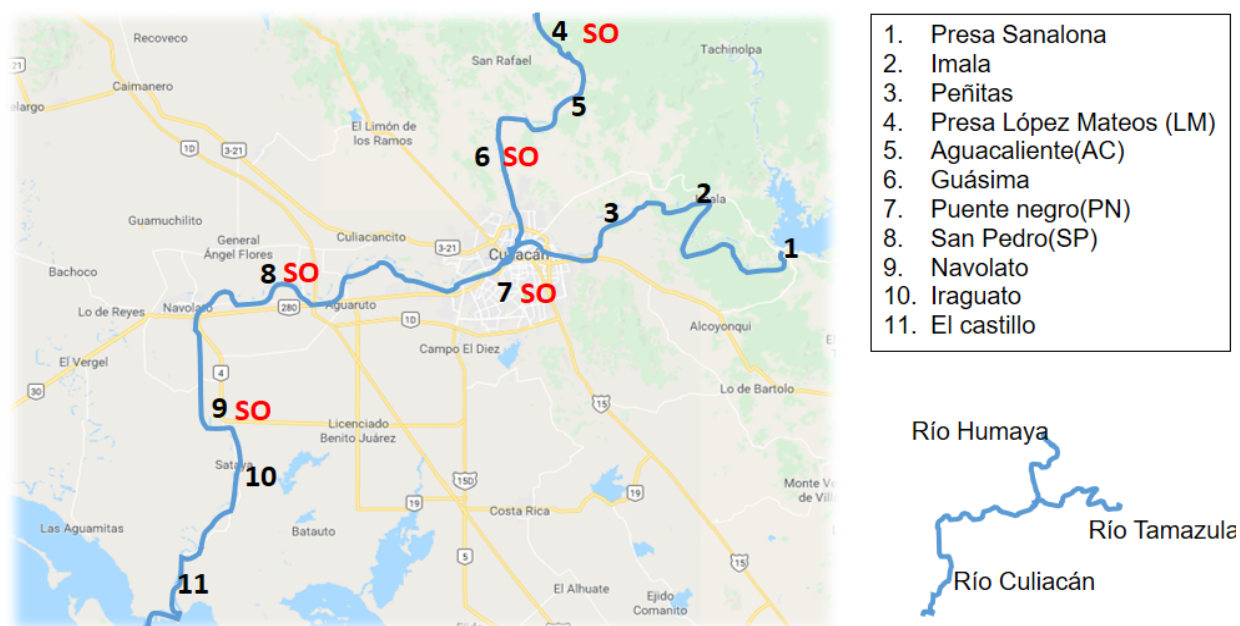


Figura 16. Distribución geográfica del serotipo Oranienburg (SO) a través de los ríos Humaya y Culiacán.

La distribución del serotipo Oranienburg puede tener múltiples fuentes de contaminación, que pueden asociarse con el flujo de agua presente en estos ecosistemas para transportar la bacterias de un sitio a otro en el trayecto en los ríos (Jiménez et al. 2014). Otro de los aislados bacterianos fue el serotipo Minnesota que al igual que Oranienburg están reportados como los principales que están dispersos en la región noroeste de México y además guardan relación con diversos brotes reportados a nivel mundial causados por SNT (Vázquez-Garcidueñas et al. 2014). Un caso particular en esta investigación es el hallazgo de *S. Goerlitz*, el cual, en las diferentes investigaciones, tanto estudios acumulativos (1972-1999) realizados en México por Gutierrez-Cogco, hasta estudios recientes por Contreras-Soto et al. (2019), dicho serotipo no se ha reportado en México y existen pocos estudios al respecto. En un estudio realizado se reportaron dos casos de pacientes infectados con *Salmonella* que fueron examinados con un gastroscopio y un sigmoidoscopio. En este caso se identificó *Salmonella* Goerlitz en las heces de estos pacientes y la bacteria fue recuperada de ambos equipos nueve días después (Hawke et al., 1981). En otro ámbito se identificó una cepa de *S. Goerlitz* cuando se analizó el alimento proporcionado a los cerdos en diferentes granjas; la fuente de aislamiento de este serotipo fue el pienso que contenía

pescado angoleño, siendo este producto el posible origen para la diseminación en este caso (Newell et al., 1959). Con base en nuestros estudios, podemos considerar a *Salmonella* Goertliz como un serotipo de nueva inserción y su primer reporte en México, el cual fue aislado en dos de los sitios de muestreo (Presa Adolfo López Mateos y Aguacaliente), donde uno (Presa Adolfo López Mateos) es de suma importancia debido a que también se encuentra en ese punto uno de los ríos importantes del valle de Culiacán, del cual derivan diferentes canales de riego para uso en agricultura. Precisamente una de los usos del agua de los ríos del valle Culiacán es para prácticas agrícolas irrigando diversas hortalizas, granos y frutas (Jimenez et al. 2014). Esta situación pone en manifiesto el riesgo de contaminación a los productos destinados a la exportación, los cuales representan una valiosa fuente de ingresos económicos para el país, resultando en el cierre de fronteras a la exportación de aquellos alimentos con problemas en la inocuidad. Directamente relacionado a esta situación, el CDC reportó esta realidad con un brote de *Salmonella* ocurrido en los Estados Unidos causado por el serotipo Saintpaul, en el cual enfermaron 84 personas y según las autoridades los productos sinaloenses (pepinos importados de Culiacán) estuvieron como sospechosos de haber ocasionado el brote (CDC, 2013).

6.4. Susceptibilidad a Antimicrobianos

En el presente estudio, en todos los meses y puntos de muestreo en los que se aisló a *Salmonella*, mostró resistencia contra tres antibióticos pertenecientes a las familias de rifamicinas (rifampicina), betalactámicos (penicilina) y macrólidos (eritromicina). Todos los aislados bacterianos y los serotipos identificados presentaron susceptibilidad a ocho de los once antibióticos que se probaron (**Cuadro 9**). Como ya se menciona, dentro de los antibióticos a los cuales las cepas mostraron resistencia, se encuentra la eritromicina, perteneciente a la familia de los macrólidos. Esta resistencia se ha reportado pocas veces en cepas de SNT, aunque en un estudio realizado en Brasil, se identificó la resistencia a macrólidos en cepas aisladas de alimentos, incluyendo en ellas la presencia de un gen de resistencia (*mphA*) (Almeida et al., 2018), lo que puede indicar que la resistencia que presentan las cepas aisladas de sedimentos en esta investigación, podría ser el resultado de la adquisición de genes a través de transferencia

horizontal mediada por elementos móviles entre las bacterias o por otros factores como la presión selectiva por la presencia de antibióticos disueltos en estas aguas de los ríos analizados. En Culiacán, estudios previos han reportado la resistencia de *Salmonella* a tetraciclina (López et al. 2009). Algunos medicamentos (como la tetraciclina) son excretados después de la medicación (más del 70%) y debido a su alta hidrofobicidad y baja volatilidad, le permiten prevalecer por periodos prolongados en ambientes acuáticos, lo cual puede ser un factor determinante para la exposición de los microorganismos a concentraciones no letales del antibiótico, favoreciendo la aparición de cepas resistentes (Daghrir y Drogui, 2013).

Cuadro 9. Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos de los serotipos de *Salmonella* aislados de sedimentos de los ríos en el valle de Culiacán.

ANTIBIÓTICO	CÓD	SEROTIPOS de <i>Salmonella</i>					
		Javiana	Minnesota	Montevideo	Goerlitz	Oranienburg	Agona
Tetraciclina (30µg)	Te	S	S	S	S	S	S
Eritromicina (15µg)	E	R	R	R	R	R	R
Cloranfenicol (30µg)	C	S	S	S	S	S	S
Sulfametoxazol (25µg)	SXT	S	S	S	S	S	S
Gentamicina (10µg)	GM	S	S	S	S	S	S
Amikacina (30µg)	AN	S	S	S	S	S	S
Rifampicina (5 µg)	RA	R	R	R	R	R	R
Azitromicina (15µg)	AZM	S	S	S	S	S	S
Penicilina (10 IU)	P	R	R	R	R	R	R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	S	S	S	S	S	S
Trimetoprima (5µg)	TMP	S	S	S	S	S	S

CÓD: Código, R: Resistente, S: Sensible, Te: Tetraciclina, E: Eritromicina, C: Cloranfenicol, SXT: Sulfametoxazol, GM: Gentamicina, AN: Amikacina, RA: Rifampicina, AZM: Azitromicina, P: Penicilina, CPR: Ciprofloxacino, TMP: Trimetoprima

El hallazgo de cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos como ampicilina, tetraciclina, estreptomicina, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, y sulfonamidas ya se ha reportado para *Salmonella* no tifoideas (SNT) (Levantesi et al., 2012; Abakpa et al., 2014). En un estudio realizado por Estrada-Acosta (2010), se reportó que las cepas de *Salmonella* mostraron resistencia a siete antibióticos evaluados, mientras que en nuestra investigación solo se determinó la resistencia a tres de los antibióticos evaluados. Debemos tener en cuenta que, a pesar que en nuestro trabajo se presentó un perfil de resistencia antimicrobiano más reducido en comparación con estudios previos, los aislados de *Salmonella* de nuestro estudio mostraron resistencia a nuevos antibióticos. El aumento de la resistencia a la penicilina entre los serotipos de *Salmonella* aislados en este estudio se podría considerar un problema potencial de salud pública en México, ya que este antibiótico es uno de los de elección para toxiinfecciones alimentarias en las instituciones de salud del país. La resistencia antimicrobiana (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) **(Figura 17 A-B-C)**.

En el caso particular de *S. Oranienburg* (serotipo con mayor frecuencia de aislamiento) se ha reportado que puede resistir al menos a nueve agentes antimicrobianos (Kaneene et al. 2010). Particularmente en México, se reportó la presencia de *S. Oranienburg* asociada a un brote de origen alimentario donde este serotipo presentó resistencia a varios antibióticos, aspecto que dificultó el tratamiento de la población afectada (Vázquez-Garcidueñas et al. 2014).

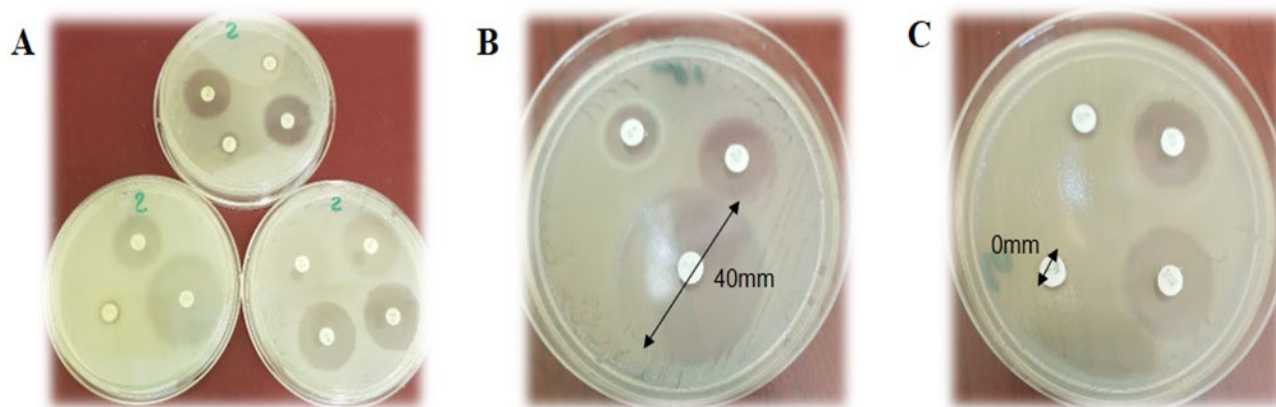


Figura 17. Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos en las cepas de *Salmonella* contra los 11 antibióticos probados. B. Alta susceptibilidad de las cepas frente a ciprofloxacino. C. Resistencia total de las cepas frente a rifampicina.

El estudio de la resistencia a antibióticos en *Salmonella* aislada de fuentes de agua y sus sedimentos, es de gran importancia ya que muchos de estos nichos ecológicos sirven como vehículo en la transmisión de la bacteria a los seres humanos (Li et al., 2014). Es por esto que la selección de antimicrobianos para el tratamiento de salmonelosis (cuando sea necesario), debe estar idealmente basado en el aislamiento de las cepas y la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana. En la práctica, no siempre se hace de esta manera, ya que el tiempo que implica el análisis desde el muestreo hasta la obtención de resultados no es compatible con el tratamiento rápido que pudiera requerirse para los enfermos. En México, existe escaso conocimiento sobre los serotipos de *Salmonella* aislados de sedimentos, y en menor proporción la resistencia a antibióticos que estos pudieran presentar. En este sentido, los resultados de este proyecto brindan una visión más clara relacionada con la frecuencia y diseminación de *Salmonella* y de su comportamiento antimicrobiano en los ríos más importantes y sus sedimentos en el Valle de Culiacán.

7. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio demuestran la presencia de *Salmonella* en los sedimentos de los principales ríos del valle de Culiacán, Sinaloa, con valores de hasta 20 NMP/4 g de peso seco. Los principales serotipos fueron Oranienburg, Montevideo y Minnesota, además de la identificación del serotipo Goerlitz clasificado de nueva introducción en la región. Así mismo, el presente estudio demuestra la habilidad de *Salmonella* Oranienburg para distribuirse y establecerse en sedimentos de los ríos. Las cepas de *Salmonella* presentaron múltirresistencia a los antimicrobianos Eritromicina, Rifampicina y Penicilina. Esta resistencia podría estar asociada a la adquisición de genes a través de transferencia horizontal entre las bacterias o por la posible presencia de algunos antibióticos que circulan en estas aguas de los ríos analizados. Los resultados obtenidos en este estudio, representan un panorama alarmante sobre la presencia, cuantificación y el perfil de resistencia antimicrobiano de *Salmonella* en los sedimentos de los ríos Tamazula, Humaya y Culiacán, que son los principales en esta región. Atendiendo a esta información, las entidades pertinentes tanto del sector agrícola como el de salud, pueden tener un mayor conocimiento y manejo de estos datos directamente relacionados con las toxiinfecciones alimentarias y el surgimiento de brotes esporádicos, lo que representa un riesgo mayor para la salud humana.

8. RECOMENDACIONES

Aumentar en el tiempo y espacio los programas de muestreos de los sedimentos en estos ríos, así como realizar estudios controlados sobre la supervivencia de *Salmonella* en estos nichos ecológicos, comparando varios tipos de sedimento, teniendo en cuenta las vías metabólicas que utiliza la bacteria para su reproducción, así como las diferentes fuentes de carbono. Profundizar en el conocimiento relacionado con la resistencia antimicrobiana de los serotipos de *Salmonella* no tifoideas recuperados de los sedimentos de los principales ríos en el valle de Culiacán, fundamentalmente en los que son de nueva inserción para esta región. Para reforzar esta información, se sugiere implementar otros estudios, donde se establezca una relación entre las cepas de *Salmonella* aisladas de estos sedimentos y las principales cepas clínicas que circulan entre los humanos en la ciudad de Culiacán, Sinaloa. De igual forma, se sugiere analizar y evaluar los roles fisiológicos de genes relacionados con la virulencia y la capacidad infecciosa que presentan las cepas de *Salmonella* aisladas de estos nichos ecológicos.

9. REFERENCIAS

- Abatcha M., Effarizah M., Rusul G. 2018. Prevalence, antimicrobial resistance, resistance genes and class 1 integrons of *Salmonella* serovars in leafy vegetables, chicken carcasses and related processing environments in Malaysian fresh food markets/ Food Control. 91: 170-180.
- Abakpa G.O., Umoh V.J., Ameh J.B., Yakubu S.E., Kwaga J.K. 2014. Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolated from fresh produce and environmental samples. Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management. 3: 38-46.
- Almeida F, Seribelli AA, Medeiros M.I., Rodríguez D, Mello A, Luo Y, Marc W. Allard A., Pfrimer J. 2018. Phylogenetic and antimicrobial resistance gene analysis of *Salmonella* Typhimurium strains isolated in Brazil by whole genome sequencing. PLoS ONE 13(8).
- Álvarez, A., Fernández A., Bernardo A., López M. 2009. Comparison of acids on the induction of an Acid Tolerance Response in *Salmonella* Typhimurium, consequences for food safety. Meat Science. 81: 65-70.
- Bai L., Lan R., Zhang X., Cui S., Xu J., Guo Y., Fengqin L., Ding Z. 2015. Prevalence of *Salmonella* isolates from chicken and pig slaughter - houses and emergence of ciprofloxacin and cefotaxime co-resistant *S. enterica* serovar Indiana in Henan, China. PLoS ONE. 10(12).
- Baudart J., Lemarchand K., Brisabois A., Lebaron P. 2000. Diversity of *Salmonella* strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions. Applied and Environmental Microbiology. 66(4): 1544-1552.
- Baccaro K., Degorgue M., Lucca M., Picone L., Zamuner E., Andreoli Y. 2006. Calidad del agua para consumo humano y riego en muestras del cinturón hortícola de Mar del Plata. Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA). 35(3): 95-110.
- Bhaskar N., Setty T.M., Mondal S., Joseph M.A., Raju C.V., Raghunath B.S., Anantha C.S. 1998. Prevalence of bacteria of public health significance in the culture shrimp (*Penaeus monodon*). Food Microbiology. 15(5):511-519.
- Berger C.N., Sodha S.V., Shaw R.K., Griffin P.M., Pink D., Hand P., Frankel G. 2010. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. Environmental Microbiology 12(9): 2385-2397.
- Becerra T., Botello A.V. 1995. Bacterias coliformes totales, fecales y patógenas en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. Hidrobiológica. 5(1-2): 87-94.
- Biberstein E., y Chung Zee Y. 1990. Tratado de Microbiología Veterinaria. Primera Edición. Editorial ACRIBIA S.A. 673.

- Brenner F.W., Villar R. G., Angulo F. J., Tauxe R., Swaminatham B. 2000. “*Salmonella* nomenclature”. *Journal of Clinical Microbiology*. 38 (7): 2465-2467.
- Castañeda-Ruelas G.M. 2009. Tesis de Maestría. Caracterización molecular de *Salmonella* spp aisladas de heces en el valle de Culiacán. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa. 59pp.
- Campos C., Contreras A.M., Leiva F. 2014. Evaluación del riesgo sanitario en un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) debido al riego con aguas residuales sin tratar en el centro agropecuario marengo (Cundinamarca, Colombia). *Biosalud*. 14(1): 69 – 78.
- Castañeda-Ruelas M. y Jiménez-Edeza M. 2018. Evaluación de ríos del Valle de Culiacán, México, como reservorios de serotipos de *Salmonella* resistentes a antibióticos. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*. 34 (2) 191-20.
- Center for Disease Control and Prevention CDC. *Salmonella* Surveillance: Annual Summary. 2005. Atlanta – Georgia: US Department of Health and Human Services. CDC, 2007.
- Comisión Nacional del Agua, CONAGUA. 2007. Estadísticas del Agua en México. 1a ed. 256. Coyoacán, México. En: www.conagua.gob.mx.
- Contreras M.B., Medrano J.A., Ibarra J. R., Martínez J., Cháidez C., Castro-del Campo, N. 2019. The last 50 years of *Salmonella* in México: Sources of isolation and factors that influence its prevalence and diversity. *Revista Bio Ciencias*. 6(2): e540.
- Center for Disease Control and Prevention CDC. *Salmonella* Surveillance: Annual Summary. (2005). Atlanta – Georgia: US Department of Health and Human Services. CDC, 2007. En: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/phlisdata/salmonella.htm>.
- CDC. 2013. Antibiotic Resistance Threats in the United States. Committee on Foreign Affairs Subcommittee on Africa, Global Health, Human Rights, and International Organizations. En: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>
- CDC. 2013. Multistate Outbreak of *Salmonella* Saintpaul Infections Linked to Imported Cucumbers. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED). En: <https://www.cdc.gov/salmonella/saintpaul-04-13/index.html>
- CDC. 2019. Outbreak of *Salmonella* Infections Linked to Cavi Brand Whole, Fresh Papayas. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED) En: <https://www.cdc.gov/salmonella/uganda-06-19/index.html>.
- Chen M.H., Wang S.W., Hwang W.Z., Tsai S.J., Hsieh Y.C., Chiou Y.C., et al. 2010. Contamination of *Salmonella* Schwarzengrund cells in chicken meat from traditional marketplaces in Taiwan and comparison of their antibiograms with those of the human isolates. *Poultry Science*. (89): 359-65.
- Chandran A., Hatha M. 2005. Relative survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium in a tropical estuary. *Water Research*. 39 (7): 1397-1403.

- Cruz-Marruffo C.G. 2017. Tesis para optar el Título Profesional de Médica Veterinaria. “Sensibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella* sp. de importancia en salud pública. Escuela Profesional de Ciencias Veterinarias. Lima, Perú.
- CLSI 2005. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. twentieth Informational Supplement, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 30:1
- Daghrir R. y Drogui P. 2013. Tetracycline antibiotics in the environment: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 11(3): 209–227.
- Deng X., Ran L., Wu S., Ke B., He D., Yang X., Feng Z., Kan B., Liu X., Mikoleit M., Varma J. 2012. Laboratory-based surveillance of non-typhoidal *Salmonella* infections in Guangdong Province, China. *Foodborne Pathogens and Disease*. 9(4): 305-312.
- Delgadillo H.F. y Orozco B. 1987. Bacterias patógenas en sedimentos de la Bahía de Todos Santos, Baja California. *Ciencias Marinas*. 13(3): 31-38.
- Dirección General de Epidemiología (DGE). Anuario de Morbilidad 1984-2014. Morbilidad nacional. http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/morbilidad_enfermedad.html
- Domínguez C., Gómez I., Zumalacárregui J. 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*. 72(1-2):165-168.
- Dong P., Cui Q., Fang T., HuiWang H. 2019. Occurrence of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in water and sediment in urban recreational water. *Journal of Environmental Sciences* 77: 65 – 74.
- El-Aziz D. M. 2013. Detection of *Salmonella* Typhimurium in retail chicken meat and chicken giblets. *Asian Pacific Journal and Tropical Biomedicine*. 3(9): 678-81.
- Escobar de Rico M. 2004. Microbiología General. Primera Edición. Editorial Javegraf. Bogotá. 314.
- Estrada-Acosta M., Jiménez M., Cháidez C., León-Félix J., Castro-del Campo N. 2014. Irrigation water quality and the benefits of implementing good agricultural practices during tomato (*Lycopersicum esculentum*) production. *Environmental Monitoring and Assessment*. 186(3): 4323-4330.
- Estrada-Acosta M., 2010. Tesis de Maestría. Caracterización fenotípica y genotípica de *Salmonella* spp. Aislada de agua de canal y de superficie de tomate en regiones agrícolas de la zona centro de Sinaloa. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa. 81pp.
- Farmer J.J. 2003. *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press. 1. 8th ed.
- Fasciolo G., Meca M.I., Calderón E., Rebollo M. 2005. Contaminación microbiológica en ajos y suelos regados con efluentes domésticos tratados. Mendoza (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 37(1): 31-40.

- Fariás L.F., Oliveira C.J., Medardus J.J., Molla B.Z., Wolfe B.A., Gebreyes W.A. 2015. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella enterica* in captive wildlife and exotic animal species in Ohio, USA. *Zoonoses and Public Health*. 62(6): 438-44.
- Fearnley E., Raupach J., Lagala F. Cameron S. 2008. *Salmonella* in chicken meat, eggs and humans; Adelaide, South Australia, 2008. *International Journal of Food Microbiology*. 146 (3): 219-27.
- Fernández F, Lopez J, Ponce LM, Machado C. 2003. Resistencia Bacteriana. *Revista Cubana Médica Militar*. 32(1): 44-48.
- Figuerola I., Verdugo A. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 47 (1-2): 25-42.
- Fleming A. 1945. Speech: "The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1945".
- García R., Baelum J., Fredslund L., Santorum P., Jacobsen C. 2010. Influence of temperature and predation on survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and expression of *invA* in soil and manure-amended soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 76(15): 5025-5031.
- Gaillot O., Camillo D., Berche P. Courcol R., Savage C. 1999. Comparison of CHROMagar *Salmonella* Medium and Hektoen Enteric Agar for isolation of *Salmonella* from stool sample. *Journal of Clinical Microbiology*. 37 (3):762-765.
- Gentilini E. 2007. Antimicrobianos. En: STANCHI, O. *Microbiología Veterinaria*. Editorial Intermédica. Buenos Aires- Argentina.
- Gerba C.P. y McLeod J.S. 1976. Effect of sediments on the survival of *Escherichia coli* in marine waters. *Applied Environmental Microbiology*. 32: 114- 120.
- Gilling M.M. 2014. Integrins: past, present and future. *Microbiology and Molecular Biology of Reviews*. 78(2). 257-77.
- González I. 2017. Tesis de Maestría. Regulación metabólica de *Salmonella* spp. como estrategia de adaptación en agua de río. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa. 62pp.
- González-Mendoza D., Torrentera-Olivera N.G., Ceceña C., Grimaldo-Juarez O. 2015. El agua como fuente de contaminación de *Salmonella* y *Escherichia coli* en la producción de hortalizas en México. *Revista Bio Ciencias*. 3(3): 156-162.
- Gómez L., Bermúdez J., Medina Z., López M., Navarro J., Morales E. 2012. Diversidad de serotipos de *Salmonella* en camarones de cultivo crudos congelados (*Litopenaeus vannamei*) de Venezuela *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*; 32 (1):22-28.
- González J., Pereira N., Soto Z. Hernández E.A., José Villarreal J. 2014. Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*. Barranquilla. 30 (1): 73-94.
- Gutiérrez-Cogco L., Montiel-Vázquez E., Aguilera-Pérez P., González-Andrade M. C. 2000. Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública de México*. 42(6):490-495.

- Gruzdev N.; Pinto R., Sela S. 2011. Persistence of *Salmonella enterica* during dehydration and subsequent cold storage. Food Microbiology 32(2):415-422.
- Grimont P. y Weill F.X. 2007. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. 9th revisión. WHO Collaborating center for reference and research on *Salmonella*. Institut Pasteur. Paris – France.
- Hawke P., Davies A., Viant A., Lush C., Mortensen N. 1981. Contamination of endoscopes by *Salmonella* species. Journal of Hospital Infection. 2: 373-376.
- Hensel M. 2004. Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. International Journal of Medical Microbiology. 294 (2-3): 95-102.
- Hirsh D. 2006. *Salmonella*. Tratado de Microbiología Veterinaria. Primera Edición. Editorial ACRIBIA S.A. Zaragoza – España. 119 – 124.
- Hiroshi J., Lima R., Freitas J. 2019. Prevalencia de *Salmonella* en Carnes de Venta Minorista y Personas con Infección Entérica. Revista Científica FVC-LUZ. 29(3): 601-606.
- International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). 1978. Microorganismos de los alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones. Acribia, España. 215.
- OMS. 2006. Safe use of wastewater, excreta and greywater. Wastewater Reuse in Agricultura. 2 :182.
- Jawetz E., Melnick J. y Adelberg E. 2005. Microbiología Médica. Editorial El Manual Moderno. 18ª edición. México.
- Jarquin C., Álvarez D., Morales O., Morales A. J., López B., Donado P. Valencia M., Arévalo A., Muñoz F., Walls I., Doyle M., Alali W. 2015. *Salmonella* on raw poultry in retail markets in Guatemala: Levels, antibiotic susceptibility, and serovar distribution. Journal of Food Protection. 78 (9): 1642-1650.
- Jokinen C.C., Koot J., Cole L., Desruisseau A., Edge T.A., Khan I.U., Koning W., Lapen D., Pintar K., Reid-Smith R., Thomas J., Topp E., Wang L., Wilkes G., Ziebell K. 2015. The distribution of *Salmonella enterica* serovars and subtypes in surface water from five agricultural regions across Canada. Water Research. 76: 120-31.
- Jimenez-Edeza M., 2011. Tesis de Doctorado. *Salmonella* spp. En ríos del valle de Culiacán: Detención, diseminación, PFGE-tipificación y resistencia a antibióticos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa. 123pp.
- Jones B.A., Grace D., Kock R., Alonso S., Rushton J., Said M.Y., McKeever D., Mutua F., Young J., McDermott J., Pfeiffer D. 2013. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. Proceeding of a National Academy of Science U S A. 110 (21): 8399-404.
- Junod T., López-Martin J., Gädick P. 2013. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario. Revista Medica Chile. 141(3):298-304.
- Koneman E. y Allen S. 1999. Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires – Argentina.

- Kottwitz L.B., Leão J.A., Back A., Rodríguez P., Magnani M., Oliveira T.C. 2013. Commercially laid eggs vs. discarded hatching eggs: contamination by *Salmonella* spp. Brazil Journal Microbiology. 44(2):367-70.
- Koutsoumanis K., Kendall P., y Sofos J., 2004. Modeling the boundaries of growth of *Salmonella* Typhimurium in broth as a function of temperature, water activity, and pH. Journal of Food Protection. 67 (1):53–59.
- Kuang X., Hao H., Dai M., Wang Y., Ahmad I., Liu Z. Yuan Z. 2015. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from farm animals in China. Frontiers in Microbiology. 6(602): 1-11.
- Levantesi C., Bonadonna L., Briancesco R., Briancesco R., Grohmann E., Toze S., Tandoi V. 2012. *Salmonella* in surface and drinking water: Occurrence and water-mediated transmission. Food Research International. 45 (2), 587-602.
- Lianou A. y Koutsoumanis K.P. 2012. Strain variability of the biofilm-forming ability of *Salmonella enterica* under various environmental conditions. International Journal of Food Microbiology. 160 (2): 171-8.
- Li B., Vellidis G., Liu H. Jay-Russell M., Zhao S., Hu Z., Wright A., Elkins C et al. 2014. Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from surface water in Southeastern United States. Applied and Environmental. Microbiology. 80 (20), 6355-6365.
- Gómez-Gamboa L., Bermudez J., Medina Z. López M., Navarro J., Morales E..2012. Diversidad de serotipos de *Salmonella* en camarones de cultivo crudos congelados (*Litopenaeus vannamei*) de Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 32(1): 22-28.
- López O., León J.F., Jiménez M.E.E y Cháidez C. 2009. Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola. Revista Fitotecnia Mexicana. 32 (2). 119-126.
- López A., Burgos T., Díaz M., Mejías R., Quinteros E. 2018. Contaminación microbiológica de la carne de pollo en 43 supermercados de El Salvador Alerta. 1(2): 45-53.
- Lound L., Aleu H., Broggi L. Genaro M.V., Tesouro R., Favre L., Plem S.C., Tofolón E. 2017. Resistencia térmica de *Salmonella*. Efecto del pH y la actividad del agua. Ciencia, Docencia y Tecnología. 7(7): 1-18.
- Lugo-Melchor O.Y. 2010. Tesis de Doctorado. Caracterización genética y proteínica de serotipos de *Salmonella* resistentes a tetraciclina. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa. 149pp.
- Lujan M. y Blas G. 2007. *Salmonella*. Microbiología Veterinaria. Primera Edición. Editorial Intermédica. 594.
- Mahajan R.K., Khan D., Chandel S., Kumar N., Hans C. y Chaudhty R. 2003. Fatal case of *Salmonella enteric* subsp. *arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. Journal of Clinical Microbiology. 41 (12): 5830-5832.
- Marcus S.L., Brumell J.H., Pfeifer C.G., Finlay B. 2000. *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. Microbes and Infection. 2 (2): 145-56.

- Madigan M., Martinko J. y Parker J. 1997. Biología de los Microorganismos de Brock. 8va edición. Prentice Hall. México. México, D.F.
- Marlen B., Mario C-R. y Patricio R. 2016. *Salmonella enterica*: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile Revista Chilena de Infectología. 33(5): 547-557.
- Medrano-Félix J.A., Castro-del Campo N., Peraza G.F.J., Martínez-Rodríguez C.I. and Cháidez, C. 2018. Carbon source utilization-based metabolic activity of *Salmonella* Oranienburg and *Salmonella* Saintpaul in river water. Water and Environmental Journal. 32: 118-124.
- Merck E. 1994. Manual de Medios de Cultivo. Darmstadt, Alemania.
- Mejri S., Boukef I., Gallas N., Mraouna R., Got P., Troussellier M., Klena J., Boudabbous A. 2012. Influence of marine water conditions on *Salmonella enterica* serovar Thyphimurium survival. Journal of Food Safety. 32(3): 270-278
- Minette H. 1986. Salmonellosis in the marine environment. A review and commentary. International Journal of Zoonoses. 13(2):71-5.
- Morales N., Torre A., García V., Chávez C. 2018. Estudio de la calidad bacteriológica y parámetros físicoquímicos del agua del Distrito de Riego 023. Tecnología y Ciencias del Agua. 9(1): 53-67.
- Moore B. C., Martínez E., Gay J. M., Rice D. H. 2003. Survival of *Salmonella enterica* in freshwater and sediments and transmission by the aquatic midge *Chironomus tentans* (Chironomidae: Diptera). Applied and Environmental Microbiology. 69 (8):4556-4560.
- Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Tenover F.C., Tenover H.C. 2003. Manual of Clinical Microbiology. Washington D.C ASM Press. 701-5.
- Newell B., McClarin R., et al. 1959. Salmonellosis in Northern Ireland, with special reference to pigs and *Salmonella*-contaminated pig meal. Journal: Epidemiology & Infection. 57 (1): 92-105.
- Organización Mundial de la Salud. 2012.
- Organización Mundial de la Salud. 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/> revisado 25/03/18.
- Olías M., Cerón J.C. y Fernández I. 2015. Sobre la utilización de la clasificación de las aguas de riego del U.S. Laboratory Salinity (USLS). Geogaceta. 37: 111-113.
- Popoff M. y Le Minor I. 1992. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. 7th revisión. WHO Collaborating center for reference and research on *Salmonella*. Institut Pasteur.
- Prescott J.F. y Bagot J.D. 1988. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Blackwell Scientific Publications.
- Ramírez R., Rincón D., Vargas J., 2014. *Salmonella* Enteritidis en huevos de gallina comercializados en Tunja (Colombia). Salud y Sociedad Uptc. 1(2): 22-27.
- Reilly P.J., Twiddy D.R., Fuchs R.S. 1992. Review on the occurrence of *Salmonella* in cultured tropical shrimps. FAO Fish Circ. 851:1-9.

- Rivera L.G., Motta P.A., Cerón M.F., Chimonja F.A. 2012. Resistencia de la *Salmonella* a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 7 (1): 116-29.
- Rhodes M., Kator H., 1998. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in estuarine environments. Applied and Environmental Microbiology. 2902-2907.
- Salyers A. y Whitt D. 2002. Bacterial Pathogenesis. A molecular Approach. 2nd Ed. ASM Press.
- Selbitz H.J., Sinell H.J. y Sziegoleit A. 1995. Das Salmonellen – Problem. Salmonellen als Erreger von Tierseuchen und Zoonosen. Gustav Fischer Verlag, Jena – Stuttgart.
- Setti I., Rodríguez-Castro A., Pata M P., Cadarso-Suarez C., Yacoubi B., Bensmael L., Moukrim A., Martínez-Urtaza J. 2009. Characteristics and dynamics of *Salmonella* contamination along the coast of Agadir, Morocco. Applied and Environmental Microbiology. 75(24): 7700-7709.
- Serment J.H., Lara H.A., Becerril K., Suárez S., Ramírez N. 2017. Detección y aislamiento de microorganismos exoelectrógenos a partir de lodos del río Lerma, estado de México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 33(4): 617-628.
- Simental L., Martínez-Urtaza J. 2008. Climate patterns governing the presence and permanence of *Salmonella* in coastal areas of Bahía de todos Santos, México. Applied and Environmental Microbiology. 74 (19): 5918-5924.
- SUIVE/DGE/SALUD/información epidemiológica de morbilidad. Anuario. 2011.
- Smith D.T., Conant N.F. y Beard J. 1952. Zinseer's textbook of bacteriology. Ed Appietoh Century Cofts. 10 Edition. USA.
- Stanchi O. 2007. Microbiología Veterinaria. Primera Edición. Editorial Intermedica. 210 –214.
- Strawn, L.K., Danyluk, M.D., 2010. Fate of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. International Journal of Food Microbiology. 138 (1-2): 78-84.
- Scallan E., Hoekstra R. M., Angulo F. J., Tauxe R. V., Widdowson M.A., Roy S., Jeffery L., Griffin P. 2011. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. Emerging Infectious Diseases. 17(1): 7-15.
- Shao D., Shi Z., Wei J. y Ma Z. 2011. A brief review of foodborne zoonoses in China. Epidemiology and Infection. 139 (10): 1497-1504.
- Talavera M., Varela J., Reyes N., Lagunas S., Valladares B., Alonso M., Velázquez V. 2011. Resistencia antibiótica de genotipos de cepas de *Salmonella* spp de cerdos sacrificados en rastros del Estado de México. Veterinaria Mexico. 42 (4): 269-276.
- Tessmann C., Zocche F., Lima A., Bassani M., Lopes G., Silva W. 2008. Ocorrência e perfil de sensibilidade a antibióticos de *Salmonella* spp. isolada em cortes de carne suína comercializados em feiras-livres de Pelotas (RS). Bol Cent Pesqui Process Aliment. 26(2):307-313.
- Turnbull P.C. 1979. Food poisoning with special reference to *Salmonella* – its epidemiology pathogenesis and control. Clinical Gastroenterology. 8: 586-594.

- Thurston E.J., Watt P., Down S.E., Enriquez R., Pepper I.L., Gerba C.P. 2002. Detection of protozoan parasites and microsporidia in irrigation waters used for crop production. *Journal of Food Protection*. 65:378-382.
- USEPA. 2006. Environmental Protection Agency: Method 1682. *Salmonella* in Sewage Sludge (Biosolids) by Modified Semisolid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) Medium.
- Vázquez-Garcidueñas M. S., Romero-Pérez N. L., Figueroa-Aguilar G. A., Jaime-Sánchez J. L., Vázquez-Marrufo G. 2014. Investigation of a food-borne *Salmonella* Oranienburg outbreak in a Mexico prison. *Journal of Infection in Developing Countries*. 8(2): 143-153.
- Van Hoek A.H., Mevius D., Guerra B., Mullany P., Roberts A., Aarts H. 2011. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in Microbiology*. 2 (2013): 1-27.
- Vaz C.S., Streck A.F., Michael G.B., Marks F.S., Rodríguez D.P., Dos Reis E.M., Cardoso M., Canal C. 2010. Antimicrobial resistance and subtyping of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis isolated from human outbreaks and poultry in southern Brazil. *Poultry Science*. 89(7):1530–6.
- Vu B., Chen M., Crawford R.J., Ivanova E.P. 2009. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molecules*. 14 (7): 2535-54.
- Winfield M. D., Groisman E. A. 2003. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(7): 3687-94.
- Zaidi M.B., Clava J.J., Estrada-Garcia M.T., Leon V., Vázquez G., Leon V., Figueroa G., Lopez E., Contreras J., Abbott J., Zhao S., McDermott P., Tollefson L. 2008. Integrated Food Chain Surveillance System for *Salmonella* spp in México. *Emerging Infectious Disease*. 14(3):429-35.

10. ANEXOS

Anexo 1. Principales factores relacionados con la presencia de *Salmonella* en los diferentes sitios de muestreo.

Figura 18. Planta de tratamiento de agua residual en San Pedro, Navolato.



Figura 19. Presencia de ganado bovino y heces cerca de la presa Sanalona.



Figura 20. Criadero de ganado porcino cerca de la Guácima



Figura 21. Presencia de ganado bovino en el punto de muestreo Navolato.

Anexo 2

Conduc. (conductividad)

Salin. (salinidad)

Temp. (temperatura)

Sóli. Dis. (sólidos disueltos)

Cuadro 10. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Junio.

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Salin.(ppm)	Temp.($^{\circ}\text{C}$)	ph	Sóli. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	306	140	26.81	7.69	153
Imala	308	150	28.18	7.49	154
Peñitas	322	150	29.36	7.44	161
Presa López Mateo	203	90	28.62	7.34	102
Aguacaliente	219	100	29.64	7.35	109
La Guásima	225	100	30.91	7.3	113
Puente Negro	248	120	32.11	7.12	124
San Pedro	576	270	32.81	8.19	288
Navolato	598	290	32.21	7.61	299
Iraguato	1328	650	33.39	7.889	664
El Castillo	1368	670	33.42	8.14	684

Cuadro 11. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Julio.

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Salin.(ppm)	Temp.($^{\circ}\text{C}$)	ph	Sól. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	367	170	27.49	8.27	184
Imala	335	160	27.73	7.76	168
Peñitas	349	160	28.87	7.47	175
Presa López Mateo	227	110	31.1	7.27	113
Aguacaliente	360	170	30.11	7.02	180
La Guásima	198	90	28.8	7.1	99
Puente Negro	198	90	28.88	7.1	99
San Pedro	625	300	32.22	8.25	312
Navolato	658	320	30.9	8.01	329
Iraguato	892	430	31.24	7.43	446
El Castillo	1380	680	33.11	8.03	690

Cuadro 12. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Agosto

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Salin.(ppm)	Temp.($^{\circ}\text{C}$)	ph	Sól. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	322	150	28.57	7.95	161
Imala	331	160	29.01	7.21	165
Peñitas	334	160	30.12	7.31	167
Presa López Mateo	257	120	31.92	7.39	128
Aguacaliente	271	130	31.37	7.25	135
La Guásima	341	160	31.2	7.12	171
Puente Negro	402	190	32.32	7	201
San Pedro	600	290	33.41	8.3	300
Navolato	638	300	34.73	8.32	319
Iraguato	811	390	31.29	7.44	406
El Castillo	4300	2250	33.51	8	2150

Cuadro 13. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Diciembre.

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.(μ S/cm)	Salin.(ppm)	Temp.(°C)	ph	Sóli. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	212	90	23.2	7.8	140
Imala	208	90	20.5	7.2	140
Peñitas	800	90	22.8	7.63	140
Presa López Mateo	111.3	40	20.6	7.06	70
Aguacaliente	165.8	70	22.9	7.043	120
La Guásima	232	100	22.8	7.3	150
Puente Negro	268	120	22.6	7.3	180
San Pedro	524	260	26.3	7.36	360
Navolato	554	260	22.1	7.11	410
Iraguato	934	460	26.6	7.41	670
El Castillo	1920	1330	23.3	7.3	2340

Cuadro 14. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Enero.

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.(μ S/cm)	Salin.(ppm)	Temp.(°C)	ph	Sóli. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	204	90	23.1	7.8	140
Imala	198.4	90	23.5	7.98	140
Peñitas	196.5	80	23	8.05	140
Presa López Mateo	113	50	26.8	7.6	80
Aguacaliente	183.3	80	25.8	7.91	120
La Guásima	221	100	24.9	7.9	150
Puente Negro	196.9	40	22.4	8	140
San Pedro	546	250	21.5	8.1	380
Navolato	548	260	21.8	7	250
Iraguato	4130	2190	20.6	8.13	2840
El Castillo	5000	5000	20.6	7.97	5000

Cuadro 15. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de Febrero.

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.(μS/cm)	Salin.(ppm)	Temp.(°C)	ph	Sóli. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	210	90	23.3	7.66	140
Imala	211	90	26	8.07	140
Peñitas	230	90	20	7.96	170
Presa López Mateo	127.5	50	28	7.49	80
Aguacaliente	138	60	25	8.01	90
La Guásima	156.4	70	25.6	7.89	100
Puente Negro	228	70	21.2	7.2	150
San Pedro	598	280	23	7.39	410
Navolato	599	280	20.2	8.1	410
Iraguato	4777	2510	23.4	7.94	3240
El Castillo	5000	50000	22	8.1	5000

Cuadro 16. Parámetros físico-químicos reportados en los puntos de muestreo. Mes de marzo

PTOS DE MUESTREO	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
	Conduc.(μS/cm)	Salin.(ppm)	Temp.(°C)	ph	Sóli. Dis.(ppm)
Presa Sanalona	202	90	24	7.56	140
Imala	200	80	28.6	7.86	140
Peñitas	200	90	30.4	7.94	130
Presa López Mateo	143	60	26.3	7.58	100
Aguacaliente	141.1	50	22.7	8.37	90
La Guásima	101.5	40	22.8	7.98	70
Puente Negro	203	90	28.4	7.9	140
San Pedro	557	260	27.2	8.04	380
Navolato	548	250	28	7.35	380
Iraguato	6.9ms	920	21.7	7.7	4950
El Castillo	5000	5000	29.4	8.04	5000

Anexo 3

CÓD. (código)

CONT. (controles)

I: intermedio

R: resistente

S: susceptible

Cuadro 17. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella* en los diferentes puntos de muestreo (JUNIO).

ANTIBIÓTICO	CÓD	PUNTO DE MUESTREO										CONT.	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	(+)	(-)
Tetraciclina (30µg)	Te	26.9 S	26.3 S	26.3 S	25.8 S	25.9 S	24.4 S	25 S	24 S	24.7 S	25 S	26.8 S	15 R
Eritromicina (15µg)	E	11.6 R	10.7 R	9.9 R	10.2 R	11 R	10.6 R	10 R	11.4 R	10.2 R	12.3 R	11.6 R	10.7 R
Cloranfenicol (30µg)	C	27.1 S	27.8 S	27.6 S	28.4 S	27.7 S	27.7 S	26.7 S	27.1 S	24.8 S	29 S	31.5 S	24.6 I
Sulfametoxazol (25µg)	SXT	26.8 S	26..8 S	25.8 S	28.1 S	26.1 S	26.5 S	25.3 S	25.5 S	27.1 S	27.7 S	28.3 S	20.7 R
Gentamicina (10µg)	GM	26.5 S	24.6 S	27.9 S	23.6 S	14.2 I	24.8 S	15.4 S	25.1 S	23.3 S	24.8 S	24.8 S	25.1 S
Amikacina (30µg)	AN	23.8 S	25.3 S	25 S	25.1 S	24.6 S	24.8 S	24.4 S	23 S	24.3 S	23.2 S	23.5 S	23.6 I
Rifampicina (µl)	RA	12.1 R	10 R	9.6 R	10.4 R	9.8 R	9.8 R	9.7 R	9.6 R	11 R	9.8 R	9.6 R	9.8 I
Azitromicina (15µg)	AZM	24.1 S	27.5 S	24.9 S	23.7 S	16.6 R	24.3 S	23.7 S	24 S	24.1 S	25.5 S	26.2 S	25.5 S
Penicilina (10 IU)	P	15.7 R	12.9 R	14.9 R	12.2 R	14.9 R	14.1 R	14.5 R	13.9 R	11.4 R	14.1 R	14.1 R	0 R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	38.3 S	34.9 S	38 S	34.1 S	35.9 S	36.2 S	35.9 S	38.5 S	35.8 S	34.1 S	37.5 S	38.8 I
Trimetoprima (5µg)	TMP	23.6 S	27.9 S	26.3 S	27.7 S	26.9 S	27.6 S	25.7 S	23.5 S	26.5 S	28.8 S	30 S	26.8 I

Cuadro 18. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella* en los diferentes puntos de muestreo (JULIO).

ANTIBIÓTICO	CÓD	PUNTO DE MUESTREO						CONT.	
		1	3	5	6	9	10	(+)	(-)
Tetraciclina (30µg)	Te	24 S	23.6 S	26.1 S	25.4 S	24.2 S	22.9 S	26.8 S	15 R
Eritromicina (15µg)	E	10 R	9.8 R	11.8 R	10 R	9.6 R	11.9 R	11.6 R	10.7 R
Cloranfenicol (30µg)	C	26.3 S	23.9 S	27.4 S	25.2 S	23.9 S	23.8 S	31.5 S	28.6 S
Sulfametoxazol (25µg)	SXT	23.7 S	23.2 S	27.5 S	23.5 S	26.1 S	25.5 S	28.3 S	20.7 R
Gentamicina (10µg)	GM	24.8 S	22.4 S	23 S	24.9 S	23.8 S	22.9 S	24.8 S	25.1 S
Amikacina (30µg)	AN	23.6 S	22.5 S	23.8 S	24.7 S	20.6 S	23.6 S	23.5 S	23.6 I
Rifampicina (µl)	RA	9.8 R	11.2 R	10.6 R	9.9 R	0 R	0 R	9.6 R	9.8 I
Azitromicina (15µg)	AZM	23.6 S	25.4 S	25.3 R	23.3 S	22.2 S	22.9 S	26.2 S	25.5 S
Penicilina (10 IU)	P	15.1 R	15 R	14.5 R	12.5 R	14.9 R	0 R	14.1 R	0 R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	38.2 S	34.7 S	36.6 S	38 S	33.5 S	35.7 S	37.5 S	38.8 I
Trimetoprima (5µg)	TMP	25.6 S	24.6 S	29 S	24.4 S	23.6 S	23.3 S	30 S	26.8 I

Cuadro 19. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella* en los diferentes puntos de muestreo (AGOSTO).

ANTIBIÓTICO	CÓD	PUNTO DE MUESTREO									CONT.	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	(+)	(-)
Tetraciclina (30µg)	Te	28.4 S	26.5 S	27.6 S	24.8 S	27.1 S	26.7 S	25.5 S	28.6 S	26.5 S	26.7 S	14.9 R
Eritromicina (15µg)	E	10.8 R	9.8 R	11.8 R	10.6 R	13.3 R	9.8 R	11.45 R	13 R	9.8 R	11.6 R	9.7 R
Cloranfenicol (30µg)	C	31.4 S	28.8 S	28.8 S	27.3 S	29.6 S	28.6 S	28.4 S	29.7 S	29 S	28.4 S	31 S
Sulfametoxazol (25µg)	SXT	31.2 S	28.1 S	27.1 S	25.3 S	27.5 S	27.9 S	27.9 S	29.1 S	27.8 S	25.1 S	21.4 R
Gentamicina (10µg)	GM	25.5 S	23.1 S	24.7 S	25.1 S	25.1 S	24.1 S	23.8 S	26.7 S	25.5 S	22.4 S	22.3 S
Amikacina (30µg)	AN	26.3 S	30 S	25 S	23.3 S	26.3 S	24.4 S	24.7 S	26.8 S	24.4 S	23.6 S	23.8 I
Rifampicina (µl)	RA	9.9 R	10 R	9.7 R	9.6 R	10 R	9.8 R	9.8 R	9.8 R	9.4 R	10.8 R	9.8 I
Azitromicina (15µg)	AZM	32 S	38.5 S	32.7 S	24 S	24.2 R	25.3 S	26.3 S	24.4 S	34.1 S	22.6 S	25.5 S
Penicilina (10 IU)	P	13.1 R	0 R	12.8 R	15.6 R	16 R	16.7 I	10.9 R	16.4 R	11.8 I	12.9 R	0 R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	40.3 S	38.2 S	39.5 S	38 S	38.5 S	37.2 S	39.4 S	37.8 S	40 S	35.5 S	37.3 I
Trimetoprima (5µg)	TMP	34.8 S	28.3 S	29.9 S	26.7 S	27.5 S	28.8 S	28.1 S	30.2 S	28.2 S	26.1 S	27.5 I

Cuadro 20. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella* en los diferentes puntos de muestreo (NOVIEMBRE).

ANTIBIÓTICO	CÓD	PUNTO DE MUESTREO						CONT.	
		2	4	5	6	9	10	(+)	(-)
Tetraciclina (30µg)	Te	26.1 S	27.3 S	26.1 S	28.6 S	27.2 S	27.5 S	26.7 S	14.9 R
Eritromicina (15µg)	E	12.8 R	10.5 R	10.5 R	11 R	9.6 R	11 R	11.6 R	9.7 R
Cloranfenicol (30µg)	C	27.3 S	27.5 S	26.7 S	30 S	27.3 S	27.6 S	28.4 S	31 S
Sulfametoxazol (25µg)	SXT	25.4 S	27.5 S	24.6 S	30.4 S	28.1 S	29.2 S	25.1 S	21.4 R
Gentamicina (10µg)	GM	26.5 S	24.2 S	23.4 S	24.8 S	22.4 S	24.6 S	22.4 S	22.3 S
Amikacina (30µg)	AN	24.4 S	24.1 S	23.8 S	24.8 S	24 S	25.3 S	23.6 S	23.8 I
Rifampicina (µl)	RA	10 R	9.8 R	0 R	10.7 R	9.7 R	9.9 R	10.8 R	9.8 I
Azitromicina (15µg)	AZM	25 S	23.7 S	24 S	26.5 S	27.1 R	26.2 S	22.6 S	25.5 S
Penicilina (10 IU)	P	17.4 R	18.3 R	11.6 R	14.3 R	16.6 I	17.4 R	12.9 R	0 R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	39.9 S	36.4 S	37 S	39.4 S	31.7 S	40.3 S	35.5 S	37.3 I
Trimetoprima (5µg)	TMP	26.3 S	28.5 S	25.1 S	31 S	28.1 S	29.2 S	26.1 S	27.5 I

Cuadro 21. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella* en los diferentes puntos de muestreo (ENERO).

ANTIBIÓTICO	CÓD	PUNTO DE MUESTREO		CONT.	
		3	7	(+)	(-)
Tetraciclina (30µg)	Te	25.6 S	26.9 S	26.7 S	14.9 R
Eritromicina (15µg)	E	10.4 R	10.6 R	11.6 R	9.7 R
Cloranfenicol (30µg)	C	28.8 S	28.4 S	28.4 S	31 S
Sulfametoxasol (25µg)	SXT	28.1 S	29.2 S	25.1 S	21.4 R
Gentamicina (10µg)	GM	24.6 S	23.9 S	22.4 S	22.3 S
Amikacina (30µg)	AN	23.8 S	24 S	23.6 S	23.8 I
Rifampicina (µl)	RA	9.8 R	9.6 R	10.8 R	9.8 I
Azitromicina (15µg)	AZM	26.3 S	26.5 S	22.6 S	25.5 S
Penicilina (10 IU)	P	14.8 R	13.3 R	12.9 R	0 R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	38.2 S	39.3 S	35.5 S	37.3 I
Trimetoprima (5µg)	TMP	30.7 S	30.4 S	26.1 S	27.5 I

Cuadro 22. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana para *Salmonella* en los diferentes puntos de muestreo (FEBRERO).

ANTIBIÓTICO	CÓD	PUNTO DE MUESTREO				CONT.	
		3	5	6	7	(+)	(-)
Tetraciclina (30µg)	Te	24.2 S	22.1 S	24.3 S	26 S	26.1 S	15.1 R
Eritromicina (15µg)	E	7.2 R	11.1 R	8 R	7.4 R	12.2 R	9 R
Cloranfenicol (30µg)	C	32.2 S	31 S	32.1 S	34.3 S	27.3 S	32.3 S
Sulfametoxazol (25µg)	SXT	27.3 S	28 S	27.5 S	29.3 S	25.3 S	21.8 R
Gentamicina (10µg)	GM	24.4 S	23 S	24.1 S	24.3 S	22.1 S	23.3 S
Amikacina (30µg)	AN	23 S	23.2 S	25.4 S	24.3 S	23.2 S	23 I
Rifampicina (µl)	RA	7 R	8.2 R	0 R	7.1 R	11.3 R	9.2 I
Azitromicina (15µg)	AZM	25.1 S	25. S	26.2 S	24 S	23.2 S	24.1 S
Penicilina (10 IU)	P	7.2 R	9.1 R	7 R	8.1 R	12 R	0 R
Ciprofloxacino (5µg)	CPR	39.2 S	40 S	37.6 S	39 S	34.3 S	38.2 I
Trimetoprima (5µg)	TMP	29.2 S	31 S	29.4 S	28.3 S	26.6 S	27.4 I