



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Química**  
**Departamento de Investigación y Posgrado de**  
**Alimentos**

Repertorios genéticos de virulencia y multirresistencia a antibióticos de *Salmonella enterica* prevalente en carne de pollo

TESIS

Como parte de los requisitos para obtener el grado de:  
**Maestro en Ciencias y Tecnología de los Alimentos**

**PRESENTA**

QFB María Guadalupe Balbuena Alonso

**DIRIGIDA POR**

Dr. Gerardo M. Nava Morales

**CO-DIRIGIDA POR**

Dra. María del Pilar Castañeda Serrano

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales  
Presidente

Dra. María del Pilar Castañeda Serrano  
Secretario

Dr. Edmundo Mercado Silva  
Vocal

Dra. Blanca Estela García Almendárez  
Suplente

Dr Carlos Alberto Eslava Campos  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro  
Diciembre 2019  
México

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mis padres por ser el mejor ejemplo de tenacidad, determinación e inteligencia que pude tener. También agradezco el apoyo de mis hermanos (Pepe y Antonio), por siempre confiar en mi y siempre animarme. A mis cuñadas por elegir formar parte de mi familia y ser las hermanas que nunca tuve y siempre quise y a mi sobrina Mía por siempre preguntar si jugamos “al laboratorio” y animarme a seguir haciendo este trabajo.

Agradezco a Fer por ser mi *labpartner*, por debatir sobre cada artículo que leíamos, por ser amiga y por ser familia. No puedo pensar en otra persona al lado de la cual me hubiera gustado compartir estos dos años. Y también por darme la oportunidad de conocer a Dania y compartir lo buena persona que es.

A Italia agradezco la oportunidad que me diste de conocerte, de aconsejarte y de vez en cuando de regañarte. De ver como fuiste convirtiéndote en esa persona buena y brillante que siempre supe que eras.

A Isa y Martita, a ambas les agradezco por darme un hogar, un lugar donde sentirme segura, querida y cuidada. Isa gracias por permitirme siempre enseñarte lo poquito que sé, y por compartir conmigo cada nuevo hallazgo en tu investigación me mantenías motivada, siempre me sorprendía lo rápido que aprendes, y lo dispuesta que estas cada vez que se trataba de un nuevo reto. Y también agradezco que hayas traído a lle a mi vida, y que ella me dejara compartir su talento y su amistad.

A Isa V gracias por ser siempre tan dedicada y muy inteligente, por siempre estar dispuesta a ayudarme en los proyectos, por dejarme guiarte un poquito en tu investigación y ser la excelente persona que eres.

A Yuri por hacerme saber que no me equivoqué cuando dije “esa niña es muy inteligente y trabajadora” por escucharme y dejarme enseñarte lo poquito que sabía respecto al trabajo de laboratorio, por siempre estar dispuesta a trabajar y por compartirme tu vida, tus sueños y tus aspiraciones.

A Annette y a Vanessa porque a pesar de no estar a mi cargo, tuvieron a bien considerar mi opinión respecto a sus proyectos y a sus escritos. Y darme cuenta de que debía seguir mejorando para poder ayudarlas. También me dieron su amistad y su cariño sincero.

A mis niños de verano y residencia, Beyda, que la vi aprender con una velocidad impresionante en sólo dos meses. A Carlos, Osvaldo, Jorge, Lupita Ruíz por tener esas ganas de aprender, de desarrollar su propio proyecto y de siempre estar dispuestos a apoyar en los trabajos de los demás.

A Yajaira y a Cris que estuvieron dispuestas a enseñarme cada técnica, cada procedimiento cuando recién entré. A Yajaira porque los primeros meses la molesté cientos de veces por teléfono para pedirle ayuda y siempre estuvo ahí pasándome archivos y explicándome, con toda la paciencia de la que es capaz.

Gracias a mi comité, por siempre estar en la mejor disposición de apoyarme, de orientarme y de procurar que aprendiera lo que más pudiera, y que encontrara nuevas formas de solucionar los retos a los que se enfrentaba mi investigación.

Y sé que faltan muchos nombres, entre profesores, compañeros de programa de posgrado y personal administrativo, que siempre que tuvieron la oportunidad me tendieron una mano y me apoyaron en cada paso de la maestría, estoy infinitamente agradecida por tanto apoyo y muestras de cariño y de fé.

Finalmente agradezco a CONACyT y a la UAQ por brindarme una beca y brindarme la oportunidad de realizar un posgrado de excelencia académica.

## INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	I
INDICE GENERAL	III
INDICE DE FIGURAS	V
INDICE DE GRÁFICAS	VI
INDICE DE CUADROS	VII
RESÚMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	4
2.1 <i>Salmonella enterica</i>	4
2.2 PREVALENCIA EN CARNE DE POLLO	5
2.3 FACTORES DE VIRULENCIA	7
2.3.1 ISLAS DE PATOGENCIDAD	8
2.4.2 PROTEINAS EFECTORAS	11
2.5 RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS	15
2.5.1 MECANISMOS DE RESISTENCIA	16
2.5.2 ELEMENTOS GENETICOS DE RESISTENCIA EN <i>Salmonella enterica</i>	17
2.5.2.2 ISLAS GENÓMICAS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	19
2.6 SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (SGC)	20
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. OBJETIVOS	23
4.1 OBJETIVO GENERAL	23
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES	23

<b>5. METODOLOGÍA</b>	<b>24</b>
5.1 SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE <i>S. enterica</i>	24
5.2 ACTIVACIÓN Y PURIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS DE <i>S. enterica</i> .	25
5.3 CONFIRMACIÓN DE <i>S. enterica</i> POR MÉTODOS MOLECULARES	26
5.4 SECUENCIACIÓN Y ENSAMBLE DEL GENOMA	27
5.5 SEROTIPIFICACIÓN <i>In silico</i>	27
5.6 IDENTIFICACIÓN DE ISLAS DE PATOGENICIDAD	27
5.7 CARACTERIZACIÓN DE PLÁSMIDOS	28
5.8 PRUEBA DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS	28
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>29</b>
6.1 SEROTIPIFICACIÓN	29
6.2 ISLAS DE PATOGENICIDAD	31
6.2.1 Prevalencia de islas de patogenicidad	31
6.2.2 Distribución anual de islas de patogenicidad	36
6.2.3 Relación de islas de patogenicidad en serotipos	36
6.2.4 Islas de patogenicidad por punto de venta	38
6.3 RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	43
6.3.1 Evaluación genotípica de resistencia a antibióticos	43
6.3.2 Evaluación fenotípica de resistencia a antibióticos	54
6.3.3 SGC como herramienta para predecir la resistencia fenotípica	67
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>70</b>
<b>8. PERSPECTIVA</b>	<b>72</b>
8.1 Métodos alternativos al uso de antibióticos	72
<b>9. REFERENCIA</b>	<b>75</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sistema de clasificación de <i>Salmonella</i>	5
<b>Figura 2.</b> Distribución anual de serotipos de <i>S. enterica</i> recuperados en carne de pollo	33
<b>Figura 3.</b> Dendograma de perfiles de islas de patogenicidad de serotipos de <i>S. enterica</i> .	42
<b>Figura 4.</b> Dendograma de genes de resistencia por familia de serotipos de <i>S. enterica</i> .	53
<b>Figura 5.</b> Ocurrencia de perfiles de resistencia a antibióticos fenotípicos a antibióticos de serotipos de <i>S. enterica</i> .	61

## INDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Número de aislamientos de <i>S. enterica</i> que presentan cada una de las IPS.	34
<b>Gráfica 2.</b> Distribución de IPS de aislamientos de <i>S. enterica</i> por año.	36
<b>Gráfica 3.</b> Número de islas de patogenicidad asociadas a los serotipos frecuentes en aislamientos de <i>S. enterica</i> .	38
<b>Gráfica 4.</b> Número de islas de patogenicidad frecuentes en aislamientos de <i>S. enterica</i> recuperados de supermercado y mercado público.	39
<b>Gráfica 5.</b> Porcentaje de aislamientos de <i>S. enterica</i> con determinantes genéticas de resistencia por clase de antibióticos.	46
<b>Gráfica 6.</b> Distribución anual de genes de resistencia presentes en aislamientos de <i>S. enterica</i> .	49
<b>Gráfica 7.</b> Número de genes de resistencia a antibióticos presentes en aislamientos de <i>S. enterica</i> en diversos serotipos.	50
<b>Gráfica 8.</b> Presencia de genes de resistencia a antibióticos en aislamientos de <i>S. enterica</i> de dos puntos de venta: mercado público y supermercado.	52
<b>Gráfica 9.</b> No. de antibióticos a los que presentan resistencia los aislamientos de <i>S. enterica</i> .	54
<b>Gráfica 10.</b> Porcentaje de resistencia a antibióticos de <i>S. enterica</i> .	57
<b>Gráfica 11.</b> Ocurrencia de serotipos de <i>S. enterica</i> resistente a antibióticos..	59
<b>Gráfica 12.</b> Ocurrencia de resistencia (número de antibióticos) en aislamientos de <i>S. enterica</i> de mercados públicos y supermercados.	60
<b>Gráfica 13.</b> Porcentaje de aislamientos de <i>S. enterica</i> resistente a antimicrobianos de último recurso.	64
<b>Gráfica 14.</b> Resistencia a miembros de la clase de fluoroquinolonas de <i>S. enterica</i>	66
<b>Gráfica 15.</b> Comparación de resistencia fenotípica y genotípica a antibióticos de aislamientos de <i>S. enterica</i> .	68

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1..</b> Reportes de brotes de <i>S. enterica</i> asociados al consumo pollo.	6
<b>Cuadro 2.</b> Islas de patogenicidad de <i>S. enterica</i> .	12
<b>Cuadro 3.</b> Proteínas efectoras producidas por <i>S. enterica</i> .	14
<b>Cuadro 4.</b> $\beta$ -lactamasas y antimicrobianos afectados.	18
<b>Cuadro 5.</b> Identificación de aislamientos de <i>S. enterica</i>	24
<b>Cuadro 6.</b> Número de aislamientos de <i>S. enterica</i> por serotipo.	30
<b>Cuadro 7.</b> Genes asociados a la resistencia a cada una de las clases de antibióticos.	45



## RESÚMEN

La salmonelosis humana es un problema importante de salud a nivel mundial y la carne de pollo ha sido considerada como una de las principales fuentes de *Salmonella enterica* para el humano. En varios países, las autoridades sanitarias han establecidos programas de vigilancia continuos para conocer la prevalencia del patógeno y potencial de virulencia de *S. enterica* prevalente en productos cárnicos; sin embargo, esta información es escasa en México. Para atender esta problemática, el presente trabajo tiene por objetivo identificar los repertorios genéticos de virulencia y multirresistencia a antibióticos de *S. enterica* prevalente en carne de pollo. Para este fin, se realizó secuenciación del genoma completo de aislamientos provenientes de carne de pollo, recuperados por el Sistema de Monitoreo Continuo de *Salmonella* realizado durante el periodo 2015 y 2018, en mercados públicos y supermercados de la ciudad de Querétaro. En total, se analizaron 39 aislamientos, pertenecientes a 19 serotipos, donde la mayor prevalencia fue Enteritidis (20.5%), seguido de Infantis (12.8%), Anatum (10.3%) y Agona (7.1%), Braenderup (6.1%), Havana (6.1%), Kentucky (6.1%) y Newport (6.1%). Análisis genómicos comparativos revelaron la presencia de nueve islas de patogenicidad de *Salmonella* (IPS), donde las más prevalentes fueron IPS3 (95%), IPS4 (92%), IPS2 (69%), IPS5 (92%), IPS13 (92%), IPS14 (64%). Además, se evidenció la presencia de 35 genes de resistencia a antibióticos que confieren resistencia a nueve familias de antibióticos. La resistencia más prevalente fue hacia quinolonas (97%), seguida de tetraciclinas (64%), aminoglucósidos (62%) y sulfonamidas (59%). Estos perfiles de resistencia a antibióticos fueron corroborados por análisis fenotípicos. Interesantemente, se observó resistencia a antibióticos de último recurso como ciprofloxacino (64.1%), ceftriaxona (38.5%), colistina (5.1%) e imipenem (5.1%). También, se observó una tendencia ( $P = 0.06$ ) al aumento anual de resistencia quinolonas y cefalosporinas. Estos resultados revelan la presencia, en carne cruda de pollo, de *S. enterica* con una amplia gama de factores de virulencia y multirresistencia a antibióticos. Esta información resalta la necesidad de fortalecer los programas de control para *Salmonella* en la industria avícola y el continuo monitoreo del potencial de virulencia de este patógeno.

Palabras claves: *S. enterica*, carne de pollo, islas de patogenicidad, multiresistencia, antibióticos.

## SUMMARY

Human salmonellosis is a major health problem worldwide and chicken meat has been considered one of the main sources of *Salmonella enterica* for humans. In several countries, health authorities have established continuous surveillance programs to determine prevalence of this pathogen and its virulence potential. However, this type of information is limited in Mexico. To solve this problem, the present work aims to identify the genetic virulence repertoires and multi-drug resistance profiles in *S. enteric* recovered from retail chicken meat. To accomplish this goal, whole genome sequencing of chicken meat isolates was performed. Isolates were obtained from the *Salmonella* Continuous Monitoring System, a surveillance program carried out from 2015 to 2018, in public markets and supermarkets in Querétaro city, Qro. In total, 39 isolates were analyzed, belonging to 19 serotypes, the highest prevalence was observed for serotype Enteritidis (20.5%), followed by Infantis (12.8%), Anatum (10.3%) and Agona (7.1%), Braenderup (6.1%), Havana(6.1%), Kentucky (6.1%) and Newport (6.1%). Comparative genomic analysis revealed the presence of nine islands of *Salmonella* pathogenicity (IPS); the most prevalent were IPS3 (95%), IPS4 (92%), IPS2 (69%), IPS5 (92%), IPS13 (92%), and IPS14 (64%). In addition, 35 antibiotic resistance genes that confer resistance to nine antibiotic families were identified. The most prevalent resistance was against quinolones (97%), followed by tetracyclines (64%), aminoglycosides (62%) and sulfonamides (59%). These antibiotic resistance profiles were corroborated by phenotypic analysis. Interestingly, resistance to last-source antibiotics was detected; specifically, against ciprofloxacin (64.1%), ceftriaxone (38.5%), colistin (5.1%) and imipenem (5.1%). Also, a tendency ( $P = 0.06$ ) to an annual increase in resistance against quinolones and cephalosporins was observed. These results reveal the prevalence of multi-virulence and multi-drug resistance *S. enterica* in raw chicken meat. This information highlights the need of *Salmonella* prevention and control programs in the poultry industry, and the necessity of performing continuous surveillance of virulence factors and multi-resistance for this pathogen.

Key words: *S. enterica*, chicken meat, pathogenicity islands, multiresistance,

## 1. INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es un grave problema de salud a nivel mundial y los productos cárnicos crudos se consideran una de las principales fuentes de contaminación. En algunos países existen estrictos programas de vigilancia y control; lo que ha permitido una disminución gradual de la prevalencia de este patógeno. En EE. UU. y países de la Unión Europea se ha logrado reducir (<12%) los niveles de contaminación de *S. enterica* en productos cárnicos; sin embargo, la prevalencia de aislamientos multirresistentes a antibióticos (MRA) se ha incrementado (~17%) en los últimos años.

La capacidad de *S. enterica* para colonizar, sobrevivir y proliferar de manera eficiente en el huésped depende de su capacidad para sincronizar una compleja red de mecanismos de virulencia; incluyendo los sistemas de resistencia a antibióticos. Por esta razón, es fundamental incluir el análisis del potencial de virulencia en los programas nacionales de vigilancia de *S. enterica*.

Para conocer el potencial de virulencia de los aislamientos de *S. enterica* prevalentes en México, en el presente estudio, se realizaron análisis comparativos de genomas completos para identificar los perfiles de genes de virulencia y MRA en aislamientos de *S. enterica* que prevalentes en productos cárnicos. Este trabajo permitirá conocer la prevalencia anual de los factores de virulencia; así como su distribución por puntos de venta. La información generada será fundamental para entender la evolución de la virulencia de este patógeno; así como generar bases biológicas para establecer medidas de control y prevención.

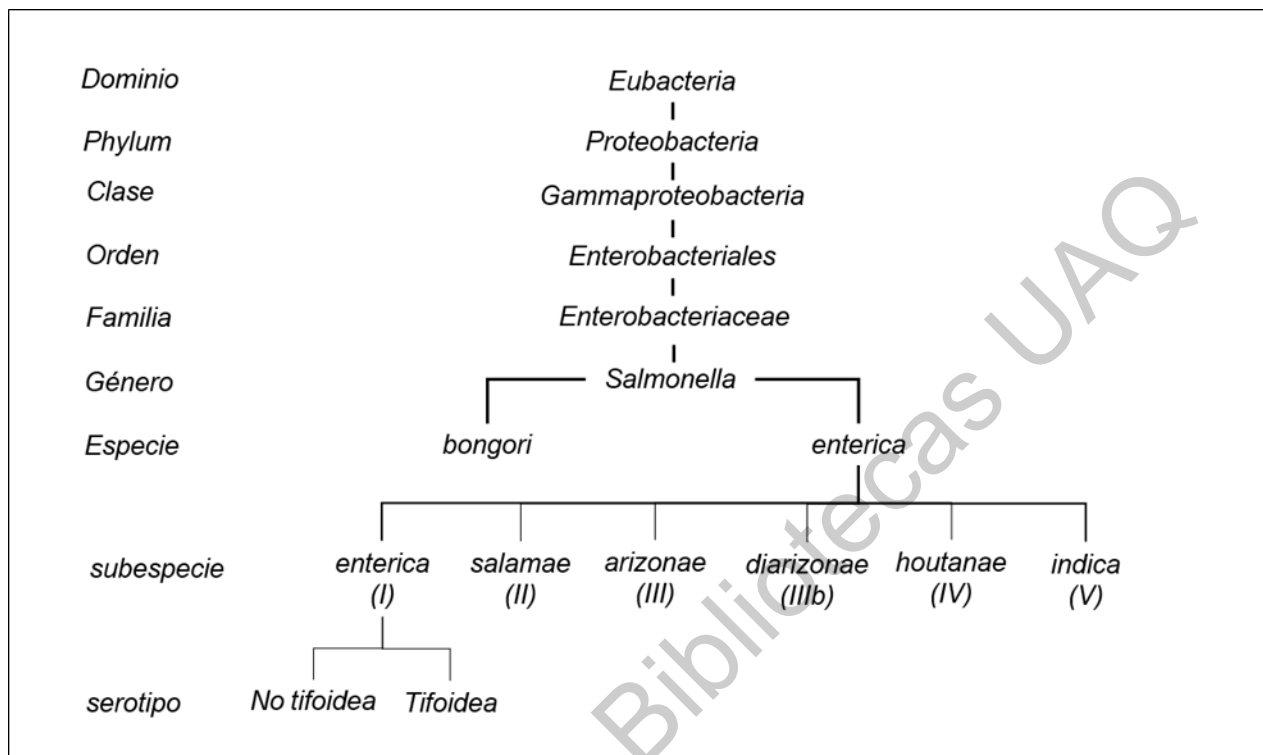
## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 *Salmonella enterica*

*Salmonella* es una bacteria Gram-negativa, móvil, anaerobia facultativa, de importancia clínica y alimentaria por ser un patógeno intracelular (Majowicz *et al.*, 2010). De acuerdo a la Organización de la Salud (OMS) cada año enferman 550 millones de personas por enfermedades gastrointestinales, siendo *Salmonella* una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial (OMS, 2018).

El género *Salmonella*, se divide en dos especies; *Salmonella bongori* y *enterica*, del cual *S. entérica* además se divide en seis subespecies que son designadas con números romanos (I, *entérica*; II, *salamae*; IIIa, *arizonae*; IIIb, *diarizonae*; IV, *houtenae*; and VI, *indica*) (Figura 1). Así mismo, *S. enterica* se clasifica en serovares usando el sistema de clasificación White-Kauffman-Le Minor (MacKenzie *et al.*, 2017). La serotipificación es una combinación única representativa de antígenos flagelares (H1 y H2) y lipopolisacárido (O) o antígeno capsular (K). En la actualidad se han identificado más de 2,600 serovares (Gal-Mor, Boyle, & Grassl, 2014).

Desde el punto de vista epidemiológico, *S. enterica* se clasifica en serovariedades tifoideas (ST) y no tifoideas (SNT) (Grimont & Weill, 2008). La mayoría, de las SNT son zoonóticas y las infecciones humanas generalmente surgen a través del consumo de alimentos contaminados con este patógeno (Majowicz *et al.*, 2010). Las SNT comúnmente resultan en gastroenteritis auto limitantes; sin embargo, entre 3-10 % de los casos la infección se vuelve sistémicos (Hohmann, 2001) resultando en cuadros clínicos graves y potencialmente mortales (Okeke *et al.*, 2005)



**Figura 1.** Sistema de clasificación de *Salmonella*

En el 2017, la OMS estimó que alrededor del mundo, 120 millones de personas fueron afectadas por *S. enterica*, de las cuales 355,000 fallecieron (OMS, 2018). En EE.UU. entre el 2006 y 2018, la CDC (CDC, 2018) reportó 67 brotes causados por *S. enterica* asociados al consumo de alimentos contaminados, afectando a más de 6,700 personas, en su mayoría niños <5 años y adultos >60 años de edad. En la mayoría de los casos mundiales asociados con alimentos, siendo los productos cárnicos el principal vehículo de *S. enterica* (Finstad *et al*, 2012) .

## 2.2 PREVALENCIA EN CARNE DE POLLO

Existen programas permanentes de vigilancia para productos cárnicos debido a la asociación con *S. enterica*. Por ejemplo, en EE.UU. el Sistema Nacional de Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana (NAMRS por su siglas en inglés) en los

últimos cinco años ha reportado una prevalencia promedio del 11.5%, 7.5%, 1.4% y 0.8% para carne de pollo, pavo, cerdo y res; respectivamente (NARMS, 2017a). En la Unión Europea, para el año 2016 se reportó una prevalencia de *S. enterica* en carne en punto de venta del 7.7%, 6.4%, 2.4% y 0.2% para pavo, pollo, cerdo y res, respectivamente (EFSA, 2017c). En particular, el consumo de carne de pollo ha sido asociado con importantes brotes epidemiológicos alrededor del mundo (**Cuadro 1**).

**Cuadro 1..** Reportes de brotes de *S. enterica* asociados al consumo pollo.

País	Serotipo	No de casos	% Hospitalizados	Referencia
Inglaterra	Enteritidis	281	1	Mercado et al., 2012
EE UU	Heidelberg	634	38	CDC, 2013b
EE UU	Heidelberg	9	22	CDC, 2014
EE UU	Enteritidis	9	33	CDC, 2015
Canadá	Braenderup	51	10	PHAC, 2017
Canadá	Enteritidis	90	23	PHAC, 2018
EE UU	Infantis	129	19	CDC, 2018
Canadá	Enteritidis	11	9	PHAC, 2019

En México, se han realizado pocos estudios temporales de prevalencia en carne de pollo. Miranda y colaboradores realizaron muestreos quincenales durante 19 meses en el estado de Hidalgo, obteniendo una prevalencia del 35% (41/116) (Miranda, Mondragón *et al*, 2009). En Yucatán otro grupo de trabajo realizó 12 muestreos mensuales de canal de pollo y estimaron una prevalencia de *S. enterica* de 39% (115/295) (Zaidi *et al.*, 2008).

En laboratorio de microbiología molecular lleva a cabo el programa de monitoreo para la detección permanente de *S. enterica* en productos cárnicos en la ciudad de Querétaro en mercados y supermercados. Se han recolectado aproximadamente de 3,000 muestras de carne de pollo, a partir del año 2015 hasta la fecha; sin embargo, los datos obtenidos nos han permitido estudiar de manera longitudinal la presencia de *S. enterica* en el periodo 2015-2018, reportando una presencia de 21% con un incremento anual progresivo (Regalado-Pineda *et al*, 2019 datos no publicados).

No obstante, además de conocer la prevalencia de *S. enterica* en alimentos, es fundamental conocer el potencial de virulencia de los aislamientos prevalentes y recurrentes en matrices alimentarias. Se ha demostrado que la capacidad patogénica de diferentes serotipos depende del potencial de virulencia de la bacteria (Hoffmann *et al.*, 2014; Osman, Marouf, & Alatfeehy, 2013)

### **2.3 FACTORES DE VIRULENCIA**

*Salmonella enterica* alberga una variedad diversa de genes de virulencia necesarios para la adhesión, invasión, sobrevivencia intracelular y proliferación (Wang, L. *et al*, 2018). Estos genes se encuentran en diversos lugares del genoma, siendo las más reconocidas las islas de patogenicidad de *S. enterica* (IPS) y las islas genómicas de *S. enterica* (IGS), ambas se consideran fragmentos del cromosoma que contienen genes necesarios para desarrollar la maquinaria

responsable de la patogenicidad y resistencia a antimicrobianos en el huésped (Marcus *et al*, 2000).

En general, los factores de virulencia tienen un papel crucial en las infecciones. La patogenicidad de las *S. enterica* está determinada por los genes de virulencia presentes en las IPS donde se incluyen proteínas efectoras, plásmidos de virulencia y resistencia a antimicrobianos (Main-Hester *et al*, 2008; Mirolid *et al.*, 2001; Rychlik *et al.*, 2009; Wisner *et al* 2012).

### 2.3.1 ISLAS DE PATOGENICIDAD

Se han identificado 23 IPS en el género *Salmonella* (**Cuadro 2**), cinco de estas (IPS-1 a IPS-5) se consideran comunes en todas las serovariedades de *S. enterica* (Rychlik *et al.*, 2009). La IPS-1, localizada en el centisoma 63, posee múltiples genes involucrados en la invasión del hospedador. Este locus es un segmento de 35-40 kb que contiene 39 genes divididos en tres categorías, i) genes que codifican el sistema de secreción tipo III (Gong *et al.*, 2009; Palmer, Kim, & Slauch, 2019), ii) genes que codifican proteínas involucradas en la translocación de las moléculas efectoras dentro del citoplasma de la célula hospedero y iii) genes que codifican las proteínas efectoras y sus chaperonas (Westerman *et al*, 2018). Estas tres categorías son las responsables de codificar determinantes para la invasión de células del hospedero no fagocíticas, apoptosis de macrófagos *in vitro*, activación de MAP cinasas y factores de transcripción. Así mismo, se ha mostrado que las cepas carentes de IPS-1 muestran una reducida virulencia en el ratón, cuando la bacteria es inoculada por vía oral; sin embargo, la virulencia no se ve disminuida cuando se inocula por vía parenteral, lo que indica que la IPS-1 es importante para la invasión de tejidos a nivel intestinal, pero no para diseminación sistémica (Figuroa Ochoa & Verdugo Rodríguez, 2005).



La IPS-2 se localiza en el centisoma 31 y su tamaño es de ~40 kb. Consta de 32 genes que regulan la supervivencia y replicación bacteriana en los compartimentos intracelulares de macrófagos y células epiteliales (Valdivia & Falkow, 1997). La IPS-2 se activa en la etapa intracelular de la bacteria, localizada dentro de vacuola que contiene *S. enterica* (VCS), (Browne *et al*, 2008) después de la invasión en las células del huésped, la VCS madura gradualmente a través de interacciones con la vía endocítica del huésped, con características de los endosomas tardíos, como medio acidificado y presencia de glucoproteínas; sin embargo no contiene hidrolasas lisosómicas (Thompson *et al*, 2011). Se ha establecido que la pérdida de la función de IPS-2 en diversos serotipos causa disminución de la virulencia, asociado generalmente a un defecto de crecimiento intracelular (Kuhle & Hensel, 2004; Salcedo *et al*, 2001; Shea *et al*, 1999) y la interferencia con la señalización inmune.

También las IPS-2 codifica para proteínas efectoras que promueven la inflamación en las células del huésped, como consecuencia de la inflamación, las especies reactivas de oxígeno producido oxidan compuestos de azufre para producir tetrionato, y la respiración de tetrionato confiera una ventaja de crecimiento a *S. enterica* sobre otros microorganismos intestinales competidores (Bäumler *et al*, 2011).

La IPS-3 es necesaria para la supervivencia intracelular en macrófagos, también provee el operón *mgtCB* necesario para el crecimiento de *S. enterica* en condiciones limitadas de magnesio ( $Mg^{2+}$ ) (Moncrief & Maguire, 1998). Su tamaño es ~17 kb y está localizada en el centisoma 82 (Figueroa Ochoa & Verdugo Rodríguez, 2005).

La IPS-4 codifica un sistema de secreción tipo I (SSTI) que regula la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *S. enterica* al ambiente

intracelular en los macrófagos. Su tamaño es de ~27 kb y está compuesta por 18 genes localizados en el centisoma 92 (Haraga, Ohlson, & Miller, 2008)

Finalmente, la IPS-5 tiene un tamaño de ~7.5 kb y se encuentra localizada en el centisoma 20. Codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, como *SopB* (también conocido como *SigD*) que además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en el flujo de macrófagos, para su secreción utiliza el SSTIII de la IPS-1 (DeVinney, Steele-Mortimer, & Finlay, 2000). Existen IPS que han sido identificadas únicamente en las subespecies *arizonae*, *diarizonae* y *houtanae*, como la IPS-20, IPS-21 y IPS-22 (Wisner *et al.*, 2012).

También se han identificado IPS específicas de serotipos, como IPS-6, descrita en Typhimurium la cual codifica el SST6 que es empleado como un mecanismo de eliminación hacia bacterias comensales (Sana *et al.*, 2016). La IPS-7 sólo se ha descrito en Typhi CT18 (Nair *et al.*, 2004) identificando en esta sección el operón *viaB*, que codifica para el antígeno Vi, que actúa como un factor protector del antígeno O contra la acción de los anticuerpos (Liu *et al.*, 1988), usualmente las bacterias con este antígeno capsular con más resistentes a la fagocitosis en la ausencia de anticuerpo específicos.

La IPS-13 se ha reconocido en Typhimurium y Enteritidis, mientras que IPS-8 se determinó en Typhi; ambas participan en la internalización a macrófagos murinos; fenómeno que no acontece en macrófagos humanos (Espinoza *et al.*, 2017). Así mismo IPS-9 han sido identificadas en Enteritidis; mientras que IPS-11 y IPS-12 fueron reconocidas en Typhimurium (Wisner *et al.*, 2012). Con funciones como la regulación de la osmolaridad, regulación de pH promoviendo la sobrevivencia en los macrófagos y otras células inmunes. Las IPS-15, IPS17, IPS-18 y IPS-23 se han reportado en la subespecie *enterica*; sin embargo, se desconoce la función de

los genes que contienen (Fuentes *et al.*, 2008; Hayward *et al.*, 2014; Wisner *et al.*, 2012).

Las islas de patogenicidad contribuyen a la macro evolución, al desarrollar variantes patogénicas, mientras que el proceso de transferencia de islas de patogenicidad tiene fuerte impacto en la micro evolución y adaptación de los microorganismos patógenos durante el proceso de infección (Figueroa Ochoa & Verdugo Rodríguez, 2005).

#### **2.4.2 PROTEINAS EFECTORAS**

El patógeno *S. enterica* tiene la capacidad de invadir a los enterocitos del intestino delgado por endocitosis mediada. Este proceso inicia al adherirse la célula bacteria a la pared apical del enterocito. Esta bacteria tiene afinidad por las células M del intestino, las cuales son células epiteliales especializadas que transportan a las células linfoides contenidas en las placas de Peyer subyacentes (Riquelme *et al.*, 2016). Cuando la bacteria logra alcanzar las células del intestino, el sistema de secreción tipo III (codificado en la IPS-1) media la transferencia de proteínas efectoras desde la célula bacteriana a la célula huésped. Una vez dentro de la célula eucariota, estos efectores pueden alterar las funciones celulares del huésped, como arquitectura del citoesqueleto, tráfico de membranas, transducción de señales y la expresión de genes de citoquinas, con el fin de promover supervivencia bacteriana y colonización (Haraga *et al.*, 2008).

Estudios *in vitro*, han demostrado que la función concertada de varias proteínas efectoras es necesaria para una invasión eficiente del epitelio, incluida la participación en el reordenamiento del citoesqueleto del huésped, el reclutamiento de células inmunes, el metabolismo celular, la secreción de fluidos y la regulación de la respuesta inflamatoria del huésped (Jones *et al.*, 2008; Knodler, Finlay, & Steele-Mortimer, 2005; Vonaesch *et al.*, 2014).

**Cuadro 2.** Islas de patogenicidad de *S. enterica*.

IPS	Tamaño (pb)	Función	Referencia
1	40.2	Codifica para el SST3, necesario para la invasión en el epitelio intestinal	Marcus <i>et al.</i> , 2000; Mirolid <i>et al.</i> , 2001
2	39.8	Sobrevivencia y proliferación intracelular, en el enterocito y macrófagos.	Main-Hester <i>et al.</i> , 2008a; Ochoa & Rodríguez, 2005
3	16.6	Sobrevivencia en ambientes bajos en Mg <sup>+2</sup>	Blanc-Potard <i>et al.</i> , 1999
4	25	Participa en el reordenamiento estructural del epitelio intestinal y en la entrada a células polarizadas en conjunto con el SST3 de la IPS-1	Marcus <i>et al.</i> , 2000; Porwollik, Steffen, 2011
5	6.6	Codifica <i>SopB</i> que permiten el cambio estructural y la integración de la bacteria al citoplasma	Hensel, 2004; Marcus <i>et al.</i> , 2000
6	49.9	Codifica para sistema de secreción tipo VI (SST6) que contribuye a la capacidad para colonizar ratones. Así como operón fimbrial <i>saf</i> y en gen de invasión <i>pagN</i> .	Pezoa <i>et al.</i> , 2013; Sana <i>et al.</i> , 2016
7	28	Biosíntesis de factores de virulencia: antígeno Vi, efector <i>SopE</i> y los pili tipo IVB.	Pickard <i>et al.</i> , 2003; Seth-Smith, 2008
8	5.7	Internalización y sobrevivencia de macrófagos de pollo y ratón	Espinoza <i>et al.</i> , 2017
9	16.3	Se ha asociado con la formación de biopelículas y se ha descrito como un factor de virulencia en ratones. Está regulada por alta osmolaridad y bajo pH.	Velásquez <i>et al.</i> , 2016
12	16.3	Ayuda a la supervivencia en ratones; sin no identificaron los genes individuales responsables de esta capacidad.	Tomljenovic-Berube <i>et al.</i> , 2013
13	25.3	Internalización y sobrevivencia de macrófagos de pollo y ratón	Espinoza <i>et al.</i> , 2017; Wisner <i>et al.</i> , 2012
14	6.8	Codifica <i>loiA</i> , regulador de la transcripción de <i>hilD</i> , lo que lleva a la activación de <i>hilA</i> (IPS-1)	Jiang <i>et al.</i> , 2017
16	3.3	Codifican las proteínas involucradas en la modificación del lipopolisacárido.	Singh <i>et al.</i> , 2018
19	6.3	Alberga un SST6, requerido para la colonización en pollo.	Blondel <i>et al.</i> , 2009

Las proteínas *SopE*, *SopE2* y *SopB*, activan en el huésped, las proteínas *Rho* *GTPasas*, *Cdc42* y *Rac1*, que conducen a la reorganización del citoesqueleto y el plegamiento de la membrana promoviendo la internalización bacteriana (Friebel *et al.*, 2001). Así mismo, al estimular a *Cdc42*, esta desencadena varias rutas de la proteína cinasa (*MAPK*), que incluye las vías *Erk*, *Jnk* y *p38*, da como resultado la activación de los factores de transcripción *AP-1* y del factor nuclear *NFκβ* (Schlumberger & Hardt, 2006), a su vez, estos factores promueven la producción de interleucina 8 (*IL-8*), estimulando así mismo la trans migración de células polimorfonucleares (PMN), y por ende la respuesta inflamatoria (Wood *et al.*, 2000).

El proceso de infección continua una vez traspasada la barrera epitelial del enterocito, ya que puede continuar el proceso de infección en las células intestinales induciendo macropinocitosis y activando *ssBr* (Pérez-Morales *et al.*, 2017), sensible a la disminución de pH, que permite la modificación del fagosoma para generar un compartamiento replicativo denominado VCS (vacuola que contiene a *Salmonella*) (Steele-Mortimer, 2008) este espacio vacuolar puede persistir intracelularmente durante horas o días sin progresión a la formación del fagolisosoma o al reciclaje de la formación vacuolar (Helaine *et al.*, 2014).

Después de resistir la fagocitosis en la células inmunes intestinales, *S. enterica* puede migrar a los macrófagos y otras células del sistema inmune innato del huésped (Behnsen *et al.*, 2015), y emplearlas como vehículo para propagarse dentro del huésped. Evadiendo el sistema inmune, promoviendo la replicación bacteriana y la posterior diseminación al organismo de forma sistémica (Kurtz, Goggins, & McLachlan, 2017).

**Cuadro 3.** Proteínas efectoras producidas por *S. enterica*, codificadas en las IPS.

<b>Efactor</b>	<b>Función celular</b>	<b>Referencia</b>
Avra	Modula las respuestas inmunitarias y de supervivencia intestinal de los mamíferos mediante la inhibición de JNR MAPK.	Wu, Jones, & Neish, 2012
SipA (SspA)	Disminuye la concentración de G-actina y aumenta la estabilidad de F-actina; también induce la migración transepitelial de PMN e interrumpe uniones estrechas.	Chen <i>et al</i> , 2013
SopA	Estimula la transmigración de PMN al atacar a las ubiquitinas E3 del huésped.	Kamanova <i>et al</i> , 2016
SopD	Estimula la acumulación de líquido en asas ileales ligadas a bovinos, contribuye a la diarrea en terneros y enfermedad sistémica en ratones.	Bakowski <i>et al</i> , 2007
SopE y SopE2	Activa Cdc42, Rac1, RhoG por su actividad GEF e interrumpe uniones estrechas.	Vonaesch <i>et al.</i> , 2014
SptP	Inhibe Cdc42 y Rac1 por su actividad GAP y la señalización de MAPK y la secreción de IL-8 a través de su actividad de tirosina fosfatasa.	Choi <i>et al.</i> , 2013
SifA	Induce la formación de Sif, mantiene la integridad de VCS y regula negativamente el reclutamiento de quinesina en el VCS.	Ohlson <i>et al.</i> , 2008
SpiC	Interfiere con el tráfico endosomal.	Uchiya & Nikai, 2008
SpvB	ADP-ribosiltransferasa actina-específica.	Chu <i>et al.</i> , 2016
SseF	Contribuye a la formación de Sif y la agrupación de microtúbulos.	Müller, Chikkaballi, & Hensel, 2012
Ssel (SrfH)	Contribuye a la difusión de células del huésped	Brink <i>et al.</i> , 2018
SseL	Deubiquitinasa	Mesquita, Holden, & Rolhion, 2013
SspH2	Inhibe la tasa de polimerización de actina y contribuye a la virulencia en terneros.	Bhavsar <i>et al.</i> , 2013
PipB/PipB2	Necesarias para la extensión radial de los túbulos <i>Sif</i> , también para la colonización y respuestas secretora e inflamatoria en asas ileales.	Knodler <i>et al.</i> , 2005
SspH1	Inhibe la señalización de NFκβ y la secreción de <i>IL-8</i> , contribuye a la virulencia en terneros y tiene actividad de ubiquitinasa ligasa E3.	Cook <i>et al.</i> , 2019

## 2.5 RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

La creciente resistencia bacteriana a antibióticos, representa un problema importante para la salud de los individuos; debido a que cada vez aumenta más el número de casos donde la terapia con antibióticos no es efectiva (Greig *et al.*, 2015). Se estima que 700,000 muertes en todo el mundo podrían atribuirse a MRA y que la cifra aumentará a 10 millones de muertes en el 2050 (OMS, 2015).

La dispersión de cepas de *S. enterica* con resistencia a varios antibióticos es preocupante; actualmente, gran número de aislamientos son resistentes a antibióticos comunes como la ampicilina, cloranfenicol y trimetoprima-sulfametoxazol, forzado a migrar al uso de fluoroquinolonas y cefalosporinas de espectro extendido (Arlet *et al.*, 2006; Cuypers *et al.*, 2018). Desafortunadamente, también se han identificado cepas de *S. enterica* con resistencia a estos antibióticos y otros de último recurso como carbapenems (Fernández, Guerra, & Rodicio, 2018) y colistina (Lima, Domingues, & Da Silva, 2019) reduciendo drásticamente el arsenal de medicamentos para tratar estos padecimientos.

La MRA se definió de manera inicial como la resistencia a ampicilina, cloranfenicol y trimetoprima/sulfametoxazol (Dyson *et al.*, 2019); sin embargo este concepto ha cambiado, debido al uso de otros tratamientos farmacológicos haciendo referencia a la resistencia a un agente antimicrobiano clave de al menos 3 clases de antibióticos, de la misma manera se han introducido otros conceptos como extremadamente resistente (XRA) y panresistente (PAR), definidos como la resistencia a un antibiótico de todas las clases de antibióticos recomendados y resistencia a todos los antibióticos de todas las clases de antibióticos recomendados para cada microorganismo, respectivamente (Magiorakos *et al.*, 2012). La evidencia de la presencia de microorganismos con esta capacidad de resistencia resalta la necesidad de establecer sistemas de vigilancia para conocer

la evolución de este problema y posibles factores que contribuyen a su propagación.

### 2.5.1 MECANISMOS DE RESISTENCIA

Existen cuatro mecanismos principales de resistencia a antimicrobianos.

- I) Modificaciones en la molécula antimicrobiana, empleando alteraciones químicas al antibiótico como acetilaciones, fosforilaciones y adenilaciones (Wright, 2005); el efecto resultante se relaciona con el impedimento estérico. También la destrucción funcional del antibiótico, en este grupo la  $\beta$ -lactamasas resultan ser el mecanismo principal, existiendo más de 1000 enzimas diferentes (Bush, 2018) y resulta de suma importancia la aparición de las carbapenemasas y su rápida diseminación, estas enzimas son específicas para este grupo de antibióticos de último recurso.
- II) Disminución de la penetración, mediante la disminución de la permeabilidad membranal, este mecanismo es particularmente importante en las bacterias Gram-negativas, debido a la baja penetración en la membrana externa y a la baja expresión, modificación o deterioro de porinas en la membrana (Delcour, 2009). Así mismo las bombas de eflujo permiten exportar sustancias dañinas para el microorganismo desde el espacio citoplasmático al extracelular (Fernandez & Hancock, 2012). Estas estructuras se agrupan de acuerdo con su conformación, fuentes de energía, rango de antibióticos que pueden extruir y tipo de organismos en los que se encuentran distribuidas. Los genes que codifican para estas bombas pueden estar en elementos genéticos móviles o en el cromosoma.
- III) Realizar cambios en el sitio objetivo, con la intención de evitar la acción del antibiótico en este lugar, ya sea protegiéndolo, mediante la competición o por la modificación a través de mutaciones, alteraciones enzimáticas o bien por reemplazo o derivación del sitio original (Woodford & Ellington, 2007).



- IV) Resistencia debido a adaptaciones celulares globales, mediante sistemas de detección/respuesta al estrés y mantenimiento de la homeostasis en la pared celular. Así como procesos metabólicos como el aumento de la utilización de ácidos grasos y fructosa, disminución del glutamato y deterioro del metabolismo del acetato y del ciclo del ácido tricarboxílico (Martínez & Rojo, 2011).

### **2.5.2 ELEMENTOS GENETICOS DE RESISTENCIA EN *Salmonella enterica***

Las bacterias emplean dos estrategias genéticas principales para evitar la actividad de un antibiótico; la generación de mutaciones en el gen, aunque estos cambios que conducen a la resistencia son costosos para la homeostasis celular y sólo se mantiene si es necesario en presencia del antibiótico y a menudo asociado con el mecanismo de acción del compuesto (Woodford & Ellington, 2007), o bien la adquisición de ADN extracelular de determinantes de resistencia a través de transferencia horizontal de genes (THG) (Lerminiaux & Cameron, 2019), donde la estrategia principal es la conjugación que emplea elementos genéticos móviles, como plásmidos, transposones e integrones (Thomas & Nielsen, 2005).

#### **2.5.2.1 PLÁSMIDOS**

Un elemento plasmídico de suma importancia por su creciente propagación a nivel mundial (Abatcha *et al* 2014), son las enzimas  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (**Cuadro 3**), un mecanismo predominante de resistencia en bacterias gramnegativas (Jacoby & Medeiros, 1991). Estas enzimas destruyen el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico, lo que hace que el antimicrobiano sea ineficaz. Se han encontrado en el cromosoma, pero su mayor incidencia ha sido en elementos genéticos móviles (EGM), especialmente en plásmidos e integrones, lo que facilita su diseminación (Livermore, 2008). Existen varios tipos de enzimas identificadas; sin embargo, no todas ellas se han identificado en *S. enterica* aún.

**Cuadro 4.**  $\beta$ -lactamasas y antimicrobianos afectados. Proteínas codificadas mediante el gen codificantes asociado a la región *bla* del transposon Tn5-Tn3 (38pb) y antibióticos que afecta.

Ambler	$\beta$ -lactamasa	Antibiótico que inhibe	Alelos	Referencia
A	TEM	Penicilina, Cefalosporina, Monobactams	140	Elumalai <i>et al.</i> , 2014
A	SHV	Penicilina, Cefamicinas	60	Elumalai <i>et al.</i> , 2014
A	CTX-M	Cefalosporinas	80	Cantón, González-Alba, & Galán, 2012
A	KPC	Cefalosporinas, Carbapenems, Monobactams	30	Fernández <i>et al.</i> , 2018; Hall & Barlow, 2005
A	GES	Carbapenems	30	Meletis, 2016
B	IMP	Carbapenem (Imipenem)	70	Escandón-Vargas <i>et al.</i> , 2017
B	NDM	Carbapenems	20	Escandón-Vargas <i>et al.</i> , 2017
B	VIM	Carbapenems	30	Fernández <i>et al.</i> , 2018
D	OXA	Oxacilinas, Cefalosporinas	>200	Evans & Amyes, 2014
C	AmpC	Cefalosporinas	5	Jacoby, 2009

En la última década, la aparición de bacterias resistentes a carbapenems condujo a la reutilización de colistina como opción terapéutica para el tratamiento de infecciones humanas que había caído en desuso por efectos adversos como nefrotoxicidad y neurotoxicidad y la reducida información de su farmacocinética (Ordooei-Javan, Shokouhi, & Sahraei, 2015); no obstante, se ha utilizado ampliamente en medicina veterinaria en animales productores de alimentos, para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas (Kempf, 2016).

La resistencia a colistina mediada por el plásmido es conferida por genes *mcr*, que codifican una transferasa de fosfoetanolamina que modifica el lípido A, disminuyendo la unión de colistina al LPS (lipopolisacárido) aumentando su resistencia (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015). Se han identificado 8 variantes del gen *mcr* en distintos países y huéspedes; sin embargo únicamente los primeros 5 (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* y *mcr-5*) han sido identificados en *S. enterica* (Wang *et al.*, 2018).

### 2.5.2.2 ISLAS GENÓMICAS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

*Salmonella enterica* posee una región cromosómica que le confiere la capacidad de resistencia a antibióticos, éste locus se denomina IGS1 y fue identificado por primera vez en cepas multirresistentes a antibióticos (MRA) de *S. entérica* Typhimurium (Levings, Djordjevic, & Hall, 2008). IGS1 es un elemento integrado móvil de 42.4 kb, que contiene cinco genes de resistencia a antibióticos, confiriéndole resistencia a estreptomomicina, espectinomomicina, antibióticos  $\beta$ -lactámicos y sulfonamidas, así mismo incluye una determinante de resistencia a cloranfenicol y florfenicol y otro determinante de resistencia a tetraciclina (Levings *et al.*, 2008).

IGS1 o alelos de la misma también se han encontrado en muchos otros serotipos, incluidos Agona, Albany, Cerro, Derby, Dusseldorf, Infantis, Kentucky, Kiambu, Meleagredis, Newport, Paratyphi B y Tallahassee (Ebner, Garner, & Mathew, 2004; Levings *et al.*, 2005; Vo, van Duijkeren, Fluit, & Gaastra, 2007).

Las variantes de IGS1, IGS1-A a IGS1-O, contienen diferentes conjuntos de genes de resistencia a antimicrobianos encontrándose en diversos aislamientos de *S. enterica*. La mayoría de estos aislamientos parecen haber ganado, perdido o intercambiado estos genes de resistencia (Murányi *et al.*, 2016).

Debido a la aparición de variaciones alélicas cada vez más frecuentes en genes de resistencia a antibióticos (Munita & Arias, 2016), su identificación por métodos moleculares convencionales resulta limitante; sin embargo, el análisis del genoma completo ha supuesto un avance importante para la identificación de múltiples genes y variaciones desconocidas.

## 2.6 SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (SGC)

Convencionalmente, los estudios epidemiológicos se fundamentaban principalmente en la serotipificación de *S. enterica* o en la designación de patrones genéticos como los campos pulsados y análisis multilocus (Wattiau, Boland, & Bertrand, 2011), análisis de repetición en tándem variable de multilocus (MLVA) y la virulotipificación (Huehn *et al.*, 2010). Estas herramientas son muy útiles en estudios de rastreabilidad, sin embargo, la limitación de estos métodos radica en un poder discriminatorio insuficiente para diferenciar los aislamientos de *S. enterica* estrechamente relacionados en las investigaciones de brotes y sobre todo para evaluar el potencial de virulencia individual de cada aislamiento (Gilchrist *et al.*, 2015).

El complejo genético que lleva a la patogénesis de las infecciones sistémicas por *S. enterica*, como la colonización, proliferación, invasión, sobrevivencia intracelular (Haraga *et al.*, 2008) y respuestas al estrés, cómo la tolerancia a los ácidos y bajas temperaturas, así como formación de biopelículas (Gahan, 1999; Steenackers *et al.*, 2012), está compuesto por numerosos genes que participan en estos mecanismos. Conocer el repertorio genético de virulencia permite en primera instancia seleccionar potenciales determinantes genéticas de virulencia logrando establecer un marcador que permita cuantificar el riesgo para la salud pública.

También, se ha demostrado el potente uso de SGC para identificar determinantes genéticas de resistencia a antibióticos conocidos en *S. enterica* y correlacionarlos con los fenotipos de susceptibilidad (McDermott *et al.*, 2016a), facilitando la identificación y caracterización de los aislamientos. Constantemente se describen nuevas secuencias asociadas a la resistencia a antibióticos o variaciones alélicas que impactan de manera significativa en el tratamiento en pacientes (Sun *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; J. Yin *et al.*, 2009), por ello, con el objetivo de facilitar la identificación de genes de resistencia y evaluar su propagación se han establecido bases de datos de genes de resistencia constantemente actualizadas (Gupta *et al.*, 2014; Jia *et al.*, 2017; B. Liu & Pop, 2009; McArthur *et al.*, 2013).

El análisis del genoma completo de este patógeno proporciona información única sobre su virulencia, adaptación, resistencia a antibióticos y evolución en el huésped, esta gran cantidad de información mejora en gran medida nuestra comprensión de la biología de *S. enterica*, catalizará el desarrollo de nuevas estrategias de intervención para reducir la carga de enfermedades relacionadas y permitirá predecir la evolución del patógeno conduciendo a un mejor control.

Finalmente, los avances en las metodologías de secuenciación del genoma completo han dado como resultado la capacidad de realizar una secuenciación de alto rendimiento de genomas bacterianos a un costo moderado (Caulfield *et al.*, 2013) lo que lo convierte en una alternativa económicamente viable a los métodos tradicionales para la vigilancia de la salud pública y la detección de brotes, con la ventaja intrínseca de poder analizar el potencial de virulencia y la presencia de elementos genéticos de resistencia a antimicrobianos. Esta herramienta debe ser complementaria a los ensayos rastreadibilidad genética y evaluación del potencial de virulencia en modelos *in vivo*, mejorando con esto nuestro conocimiento de los riesgos asociados con este patógeno.

### 3. JUSTIFICACIÓN

*Salmonella enterica* ha evolucionado numerosos factores de virulencia y MRA para adaptarse exitosamente al huésped. Estas características han provocado que *S. enterica* sea un patógeno de importancia global; el cual genera más de 93 millones de infecciones al año. En México, datos oficiales estiman que ocurren >120,000 casos al año y la mayoría de los casos son transmitidos por el consumo de alimentos contaminados con el patógeno.

Los productos cárnicos son considerados una de las principales fuentes de *S. enterica*, dentro de los cuales, la carne de pollo ocupa la primera posición. Por lo tanto, es fundamental conocer el potencial de virulencia de los aislamientos que circulan en estos productos. En México, desde el 2015 a la fecha, nuestro grupo de trabajo ha llevado a cabo un Programa de Vigilancia de *S. enterica* en la Cd. de Querétaro, este programa ha permitido evaluar la prevalencia anual y patrones de distribución temporal. El presente proyecto, se enfocó a caracterizar el potencial de virulencia de los aislamientos prevalentes en productos cárnicos, que se han obtenido durante el desarrollo del programa de vigilancia para *Salmonella*.

El potencial de virulencia de *S. enterica* depende directamente del repertorio de genes destinados a codificar factores de virulencia y MRA. En los últimos años, numerosos estudios han documentado un incremento en el número de casos clínicos asociados a aislamientos de *S. enterica* MRA y el surgimiento cepas resistentes a antibióticos considerados la última opción para combatir las infecciones. Por tal motivo es fundamental realizar estudios que nos permitan identificar el repertorio genético que confiere mayor virulencia y MRA a *S. enterica*; así como su distribución y principales fuentes de contaminación. En conjunto, estos estudios nos permitirán elucidar el proceso evolutivo de virulencia de *S. enterica* endémica en México.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar los repertorios genéticos de virulencia y MRA de *S. entérica* prevalente en carne de pollo.

### 4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar la secuenciación del genoma completo de aislamientos de *S. enterica* prevalente en carne de pollo.
- Identificar el repertorio genético de virulencia de *S. enterica* prevalente en carne pollo, a partir de análisis genómicos comparativos.
- Identificar los patrones fenotípicos y genotípicos de MRA de *S. enterica* prevalente en carne de pollo, mediante ensayos de resistencia a antimicrobianos en placa y el análisis de la secuencia del genoma completo.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE *S. enterica*

Se seleccionaron 39 aislamientos de *S. enterica* (**Cuadro 5**), obtenidas de carne de pollo de acuerdo con los métodos descritos por la EFSA (25g de piel). Las muestras provinieron de mercados públicos y supermercado, en la ciudad de Querétaro, Querétaro en el periodo 2015-2018, recolectados por el programa de monitoreo y vigilancia permanente de *S. enterica* en productos cárnicos, implementados por el laboratorio de microbiología molecular. Los aislamientos pertenecen a la colección de aislamientos del mismo programa almacenados en glicerol (Thermo Fisher, ultrapure) al 20% (v/v) a -20°C.

**Cuadro 5.** Identificación de aislamientos de *S. enterica*

Muestra	Fecha de recolección	Origen	Pieza
1	06/04/2015	Mercado publico	Cuello
2	06/04/2015	Mercado publico	Cuello
3	06/04/2015	Mercado publico	Cuello
4	20/11/2015	Mercado publico	Muslo/Pierna
5	20/11/2015	Mercado publico	Muslo/Pierna
6	20/11/2015	Mercado publico	Muslo/Pierna
7	06/04/2015	Supermercado	Cuello
8	07/04/2015	Supermercado	Cuello
9	07/04/2015	Supermercado	Cuello
10	20/11/2015	Supermercado	Muslo/Pierna
11	20/11/2015	Supermercado	Muslo/Pierna
12	20/11/2015	Supermercado	Muslo/Pierna
13	11/01/2016	Mercado publico	Muslo/Pierna
14	26/05/2016	Mercado publico	Muslo/Pierna
15	05/07/2016	Mercado publico	Muslo/Pierna
16	24/10/2016	Mercado publico	Muslo/Pierna
17	02/12/2016	Mercado público	Muslo/Pierna
18	11/01/2016	Supermercado	Muslo/Pierna
19	25/03/2016	Supermercado	Muslo/Pierna



Muestra	Fecha de recolección	Origen	Pieza
20	12/05/2016	Supermercado	Muslo/Pierna
21	05/07/2016	Supermercado	Muslo/Pierna
22	02/12/2016	Supermercado	Muslo/Pierna
23	23/01/2017	Supermercado	Muslo/Pierna
24	28/03/2017	Supermercado	Muslo/Pierna
25	28/05/2017	Supermercado	Muslo/Pierna
26	28/08/2017	Supermercado	Muslo/Pierna
27	19/10/2017	Supermercado	Muslo/Pierna
28	16/11/2017	Supermercado	Muslo/Pierna
29	20/06/2017	Mercado público	Muslo/Pierna
30	28/08/2017	Mercado público	Muslo/Pierna
31	19/10/2017	Mercado público	Muslo/Pierna
32	16/11/2017	Mercado público	Muslo/Pierna
33	05/12/2017	Mercado público	Muslo/Pierna
34	28/02/2018	Supermercado	Muslo/Pierna
35	23/04/2018	Supermercado	Muslo/Pierna
36	25/06/2018	Supermercado	Muslo/Pierna
37	28/02/2018	Mercado público	Muslo/Pierna
38	28/05/2018	Mercado público	Muslo/Pierna
39	23/04/2018	Mercado público	Muslo/Pierna

## 5.2 ACTIVACIÓN Y PURIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *S. enterica*.

El aislamiento almacenado se descongeló a temperatura ambiente. Una alícuota de 100µl se inoculó en 3 ml de caldo soya tripticaseína (Acumedia, Neogen) y se incubó por 24 horas a 37°C (Hatti *et al*, 2017). Se inoculó en el medio Xilosa-Lisina y desoxicolato con novobiocina 0.001% v/v se seleccionaron las colonias con morfología típica (colonias redondas y convexas con precipitado negro y halo rosa) y se realizó la prueba de urea para confirmar la identidad del aislamiento (EFSA, 2015). Posteriormente se inoculó mediante estría cruzada una placa con agar soya tripticaseína (Acumedia, Neogen) y se incubó por 24 horas a 37°C para garantizar la obtención de un cultivo axénico (Gorski, 2012).

### 5.3 ACTIVACIÓN DE AISLAMIENTOS Y EXTRACCIÓN DE ADN

Los aislamientos fueron inoculados nuevamente en caldo soya tripticaseína (Acumedia, Neogen) por 24 horas a 37°C (Incubator 815). Posteriormente un mililitro del cultivo fue sometido a extracción de ADN con el kit Quick -gDNA miniprep Zymo Research® siguiendo las indicaciones del fabricante. La concentración y pureza de ADN se analizó con Nanodrop 2000 (Thermo Scientific) (Nga *et al.*, 2010).

### 5.3 CONFIRMACIÓN DE *S. enterica* POR MÉTODOS MOLECULARES

El ADN extraído de los aislamiento se empleó como template para la confirmación por PCR mediante la amplificación de los genes *invA* y *16S rRNA* (Esquivel-Hernandez *et al.*, 2018). Las condiciones para el gen *invA* fueron: desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, seguida por 35 ciclos que comprende una desnaturalización a 94°C por 45 seg, una alineación a 57.4°C por 30 seg y extensión a 72°C por 30seg; por último, una extensión final a 72°C por 5 minutos. Las condiciones del gen *16S rRNA* fueron: desnaturalización inicial 94°C por 3 min, continuando con 32 ciclos que incluyen desnaturalización a 94°C por 20 seg, una alineación a 53°C por 30 seg y una extensión a 72°C por 30 seg; finalmente se realizó una extensión final por 2 minutos. La reacción se llevó a cabo en un termociclador (modelo c1000 touchcycler de 96 pozos marca Bio-rad) y se corrió un gel de agarosa (1.5%) en una cámara de electroforesis (Marca Bio-rad) a 85 V por 25 minutos. El gel fue observado en un transiluminador (bio-imagen system Pro-DnR). Las muestras que presentaron ambos genes: *invA* (437 pb) y *16S rRNA* (402 pb) fueron confirmadas como *S. enterica*.

## 5.4 SECUENCIACIÓN Y ENSAMBLE DEL GENOMA

Las librerías genómicas se prepararon con el kit de preparación de muestra Nextera Flex de Illumina®, y se cuantificaron mediante qPCR, secuenciándose en un carril durante 151 ciclos desde cada extremo de los fragmentos en el equipo HiSeq400, empleando el kit de secuenciación HiSeq v1. La calidad de las lecturas crudas se verificó mediante el software FastQC (Brown, Pirrung, & McCue, 2017), y se eliminaron los adaptadores Illumina mediante el uso del software Trimmomatic (v0.39) (Bolger, Lohse, & Usadel, 2014). El ensamble del genoma de *novo* se realizó con SPAdes versión 3.6.0 (Bankevich *et al.*, 2012). La calidad del acoplamiento se verificó con QUAST (Gurevich *et al.*, 2013).

## 5.5 SEROTIPIFICACIÓN *In silico*

Cada uno de los genomas ensamblados se sometió al análisis de predicción de serotipo empleando la plataforma bioinformática de genoserotipificación SISTR (*Salmonella In Silico* Typing Resource) basada en secuencias de MLST, rMLST, cgMLST (Yoshida *et al.*, 2016) al igual que SeqSERO 1.0 que emplea secuencias de determinantes genéticas asociadas al serotipo (*rfb*, *fliC* y *fljB*) (Ibrahim & Morin, 2018) el empleo de las dos plataformas permitió una verificación cruzada.

## 5.6 IDENTIFICACIÓN DE ISLAS DE PATOGENICIDAD

La presencia o ausencia de IPS se realizó con SPIFinder 1.0 (Zankari *et al.*, 2012). La configuración predeterminada se eligió con un mínimo de 95% de identidad para evitar el ruido por fragmentos de los genes y una longitud mínima del 60% para poder detectar genes al comienzo y al final de contigs que pudieran tener ensamblajes defectuosos.

## 5.7 CARACTERIZACIÓN DE PLÁSMIDOS

Se emplearon plásmidos de cepas caracterizadas, como referencia. First PlasmidSPAdes (Antipov *et al.*, 2016) se empleó para ensamblar plásmidos a partir de lecturas crudas. Los contigs ensamblados se cargaron al servidor RAST para su anotación. Los contigs anotados se alinearon frente a los plásmidos de referencia. Los plásmidos estructurados también se cargaron a ResFinder 3.1 (Zankari *et al.*, 2012) para la determinación *in silico* de genes de resistencia a antimicrobianos.

## 5.8 PRUEBA DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS

Se empleó el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) con Agar Mueller-Hinton (Acumedia, Neogen). Se emplearon sensidiscos (Oxoid, Termofisher) de trimetoprima con sulfametoxazol (SXT, 5/24 µg), ácido nalidíxico (NAL, 10 µg), amoxicilina con ácido clavulánico (AMC, 20/10 µg), cloranfenicol (CHL, 30 µg), tetraciclina (TYC, 30 µg), ampicilina (AMP, 10 µg), estreptomicina (STR, 15 µg), cefalotina (CEP, 30 µg), azitromicina (AZT, 15 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), colistina (CST, 10 µg), ceftriaxona (CRO, 30 µg), ciprofloxacino (CIP, 5 µg) and imipenem (IMI, 10 µg), enrofloxacin (ENR, 10 µg), ofloxacino (OFL, 5 µg), moxifloxacino (MOX, 5 µg), levofloxacino (LEV, 5 µg), norfloxacino (NOR, 10 µg). El halo de inhibición se interpretó como se indica en el Instituto de estándares de laboratorio y clínicos (CLSI, 2015) Los aislamientos que mostraron susceptibilidad intermedia fueron considerados como no susceptibles y *Escherichia coli* ATCC 25922 fue usada como cepa control de susceptibilidad.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 SEROTIPIFICACIÓN

La información del serotipo sigue siendo la piedra angular en las actividades de seguridad alimentaria y salud pública destinadas a reducir la incidencia de salmonelosis. Esto debido a que se ha demostrado que los serotipos se correlacionan con los posibles huéspedes, así como la evolución de la enfermedad; sin embargo, la metodología está basada en reacciones de antisueros dirigidos al lipopolisacárido (antígeno O codificado por genes *rfb*) y antígenos flagelares (codificados por *fliC* y *fliB*) (McQuiston *et al.*, 2004). Este ensayo además de ser un costoso, requiere personal altamente capacitado en su procedimiento. En contraste, la serotipificación por secuenciación del genoma completo (SGC) permite la identificación, y logra establecer una relación genética y evolutiva. La SGC ha sido validado por varios estudios comparado con la serotipificación convencional (Ashton *et al.*, 2016; Leekitcharoenphon *et al.*, 2014; Yoshida *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2015). Aportando una herramienta de tipificación precisa, robusta, confiable y de alto rendimiento que apoya la vigilancia de rutina de *S. enterica*, que debe complementarse con información clínica y epidemiológica (Ibrahim & Morin, 2018).

En el presente estudio, los 39 aislamientos de *S. enterica* en este estudio fueron sometidos a serotipificación a través de SGC. Los aislamientos fueron obtenidos de muestras de carne de pollo en mercado público (48.7%) y supermercados (51.3%). Se identificaron 19 serotipos, de los cuales los más predominantes fueron Enteritidis (20.5%), Infantis (12.8%), Anatum (10.3%), Agona (7.1%), Braenderup (6.1%), Havana (6.1%), Kentucky (6.1%) y Newport (6.1%) (**Cuadro 6**). Coincidiendo con los serotipos reportados en la Unión Europea en el 2015, siendo Enteritidis (37.6%) e Infantis (37.4%) los serotipos con mayor prevalencia (EFSA, 2017c). A diferencia de EE. UU. en el 2017, donde Typhimurium (26.6%) ocupó la

primera posición, seguido de Kentucky (24.5%) y Enteritidis (18.9%) (NARMS, 2017a) y Canadá reportó con mayor incidencia a Heidelberg (32.4%) y Kentucky (29.2%).(CIPARS, 2016).

**Cuadro 6.** Número de aislamientos de *S. enterica* (n = 39) por serotipo. 2015, 2016, 2017, 2018, año de obtención de aislamiento.

<b>Serotipo</b>	<b>2015</b> (n = 12)	<b>2016</b> (n = 10)	<b>2017</b> (n = 11)	<b>2018</b> (n = 6)	<b>Total</b> (n = 39)
Enteritidis		4	3	1	8
Infantis	2		2	1	5
Anatum	4				4
Agona		2	1		3
Braenderup		1		1	2
Havana	2				2
Kentucky	1			1	2
Newport			2		2
Bere	1				1
Derby				1	1
Give		1			1
Johannesburg		1			1
London		1			1
Manhattan			1		1
Muenchen	1				1
Muenster	1				1
Ouakam			1		1
Rissen				1	1
Senftenberg			1		1

No obstante, existen estudios previos en nuestro equipo de trabajo que han permitido establecer la presencia de otros serotipos: Anatum, Abae-Rubis, Agona, Bredeney, Chester, Choleraesuis, SaintPaul, Heidelberg, Infantis, Montevideo, Newport, Ouakam, Minesota, Typhimurium, Enteritidis y Thompson (Alcaraz-González, 2016; Esquivel-Hernandez, 2018), donde el serotipo con mayor prevalencia fue Enteritidis (47.8%, 65.9% y 32.20%) siendo consistente con lo reportado en el presente estudio. Los resultados de las investigación presentan 15

serotipos principales y otros asociados a la región geográfica y condiciones ambientales, indicando que existe una amplia distribución de los principales serotipos en diversas partes del mundo; sin embargo, aún entre aislamientos del mismo serotipo existe evidencia que hay variaciones genéticas asociadas al punto geográfico de recuperación permitiendo su trazabilidad (Cao *et al.*, 2013; Delgado-Suárez *et al.*, 2019).

También una aportación importante del presente estudio es la recuperación de diferentes serotipos en cada punto de venta y asociados al año de recolección (**Figura 2**), indicando una clara diferencia de las poblaciones de *S. enterica*, posiblemente causada por factores ambientales, manejo y almacenamiento (Alcaraz-González, 2016; Esquivel-Hernandez, 2018; A. S. Khan *et al.*, 2018). Se necesita continuar con los esfuerzos de muestreo y análisis genotípicos y fenotípicos que permitan corroborar la distribución de serotipos por puntos de venta y año.

## 6.2 ISLAS DE PATOGENICIDAD

### 6.2.1 Prevalencia de islas de patogenicidad

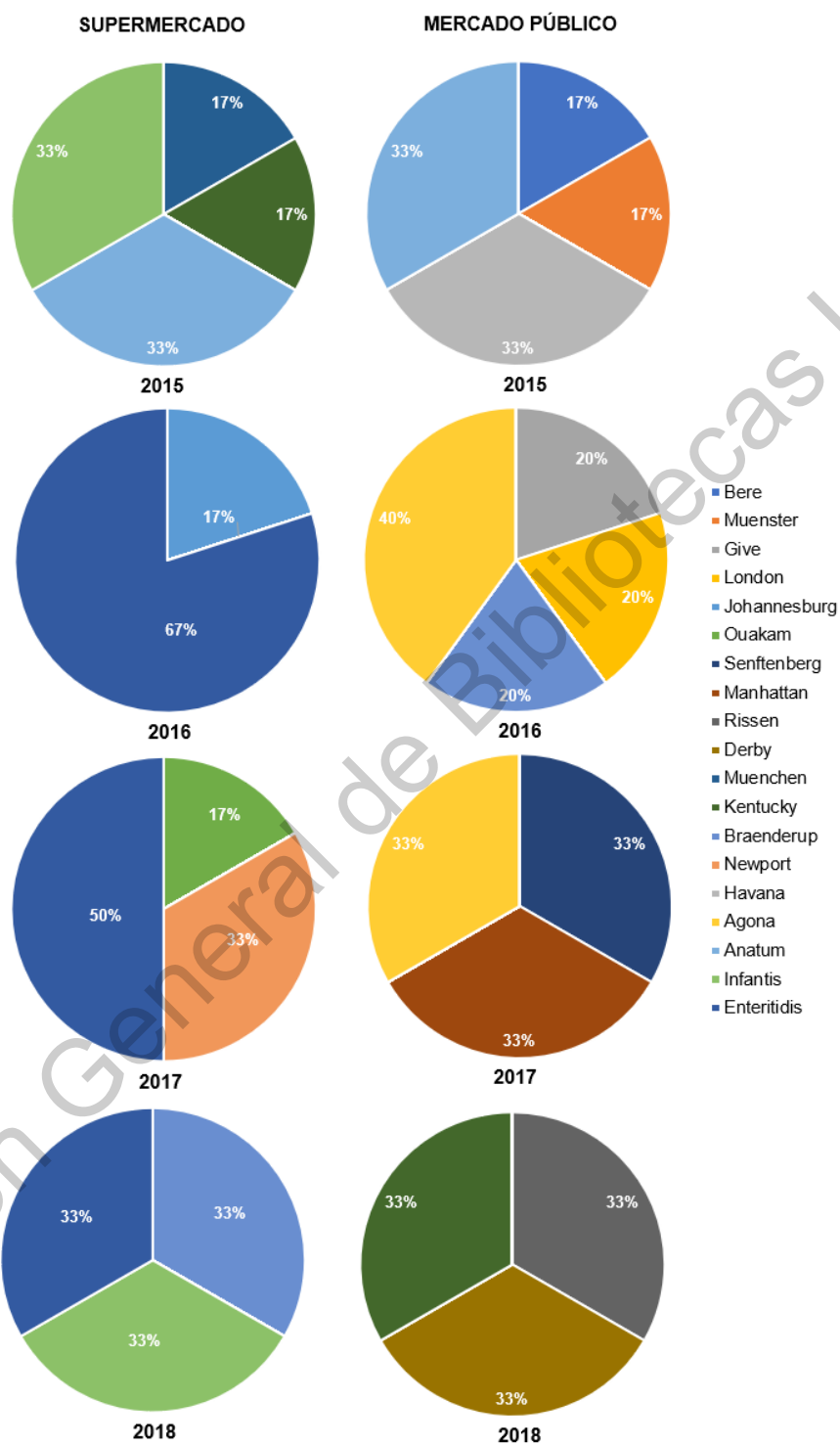
Se han descrito 23 IPS en *Salmonella enterica* (Hayward *et al.*, 2014; Hayward, Petrovska, & Woodward, 2016); a pesar que no todas ellas se encuentran presentes en el genoma bacterianos estas se consideran elementos importantes en la evolución de este microorganismo, ya que se han adquirido por transferencia horizontal, desempeñando un papel fundamental en la patogenicidad (Ochman, Lawrence, & Groisman, 2000).

En el presente estudio se identificaron 9 islas de patogenicidad (**Gráfica 1**). El 100% (39/39) de los aislamientos contaron con al menos 3 islas de patogenicidad. El 48.7% (19/39) mostró la presencia de 7 islas de patogenicidad. Mientras que el

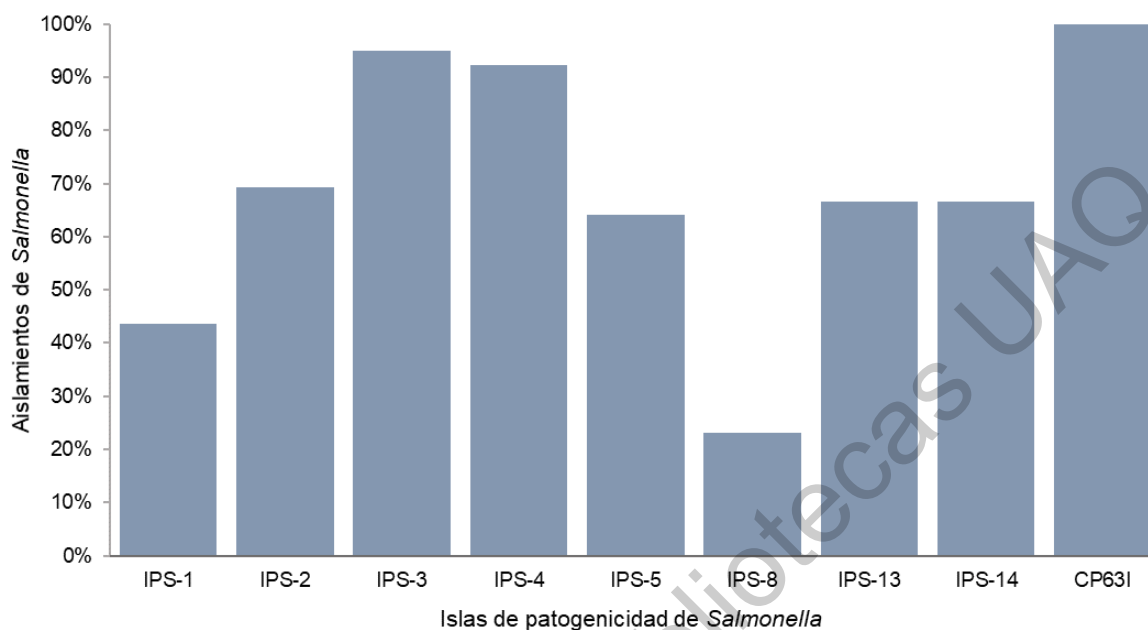
17.6% (7/33) presentó 6 IPS, 2.6% (3/39) de los aislamientos mostraron 8 IPS y 2.5% (1/39) sólo 3 IPS. Estos resultados sugieren que la mayoría de los aislamientos prevalentes en carne de pollo pueden ser considerados mayormente virulentos, debido a que un número mayor de islas de patogenicidad indican una mayor capacidad para causar daño (Marcus *et al.*, 2000), ya que un mayor número de elementos genéticos de virulencia pueden mejorar la actitud de las cepas bacterianas para infectar a un huésped, persistir, proliferar y transmitirse a un nuevo huésped en un nicho específico.

Dirección General de Bibliotecas UAG





**Figura 2.** Distribución anual de serotipos de *S. enterica* recuperados en carne de pollo



**Gráfica 1.** Número de aislamientos de *S. enterica* ( $n = 39$ ) que presentan cada una de las IPS.

Varios estudios indican que las IPS-1 a IPS-5 están altamente (~100%) conservadas en los serotipos de *S. enterica*, indistintamente del origen (Blondel *et al.*, 2009; Desai *et al.*, 2013; Haneda *et al.*, 2009). En México, Delgado-Suárez y col. (2018) identificaron que las IPS-1 a IPS-5 están conservadas en aislamientos clínicos de humanos, pero no son prevalentes en los aislamientos provenientes de carne de res. Esta observación se corrobora en el presente trabajo, donde las IPS-1 a IPS-5 se identificaron en el 7.7% (3/39) de los aislamientos recuperados de carne de pollo.

Las IPS-3, IPS-4 y la región C63PI, se observaron en el 95% (37/39), 92% (36/39) y 100% (39/39); de los aislamientos recuperados; respectivamente. Estas IPS están implicadas en mecanismos para la obtención de nutrientes (Blanc-Potard *et al.*, 1999; Ikeda, Janakiraman *et al.*, 2005; Zhou & Hardt, 1999), adhesión a células epiteliales y secreción de proteínas de unión a metales de alta afinidad para sustraer principalmente magnesio, hierro y manganeso, garantizando la

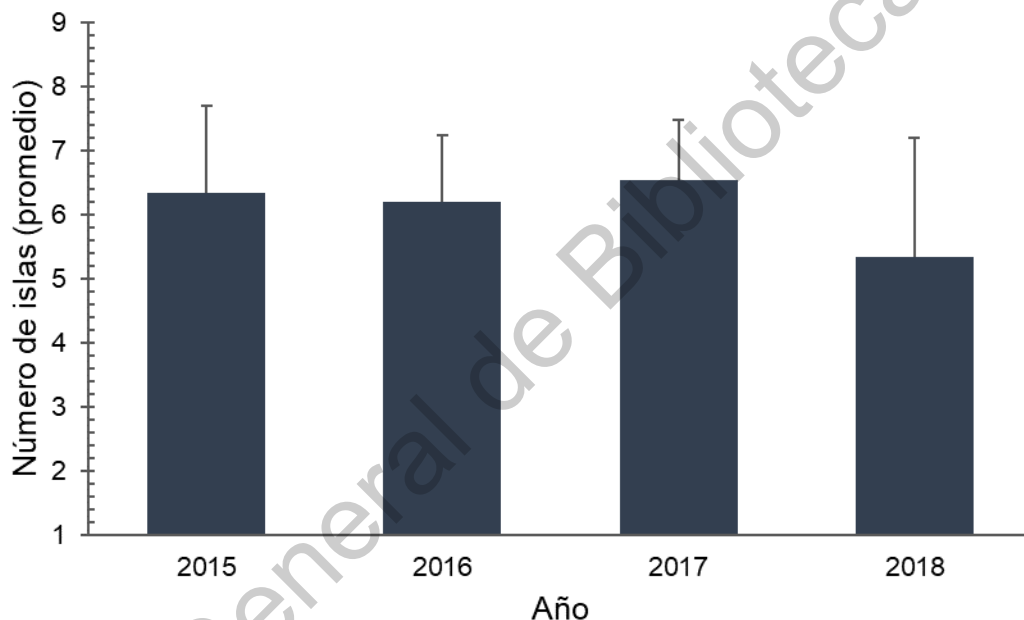
obtención de los nutrientes necesarios para su sobrevivencia en ambientes restringidos de estos componentes. (Main-Hester et al., 2008a).

En el 21.4% de los aislamientos se observó IPS-8; mientras que en el 64.2% se encontró IPS-13; estas islas se encuentran asociadas a la capacidad de sobrevivencia en macrófagos (Espinoza *et al.*, 2017). En el 33.3% (13/39) de los aislamientos, ambas islas se mostraron ausentes. En contraste, las IPS asociadas a la internalización e infección en el huésped (IPS-1, IPS-2, IPS-5 y IPS-14) observaron una menor presencia con 43.8%, 62.8%, 61.1% y 53.8%, respectivamente. La IPS-1 se considera necesaria para la invasión en el enterocito y células M; debido que codifica un sistema de secreción tipo III (SST3) que permite la inyección de proteínas efectoras codificadas en la IPS-5, que propician la absorción celular de la bacteria (Galán, 2001); se ha demostrado que la supresión de este mecanismo concertado de la presencia de SST3 y las proteínas efectoras representa una reducción significativa en la virulencia (Dieye *et al.*, 2009; Troxell *et al.*, 2015).

También, la IPS-2 permite la evasión de la formación del fagolisosoma en la fase sistémica (Figueira & Holden, 2012); promoviendo la colonización del bazo e hígado (McGhie *et al.*, 2009). El 15.3% (6/39) mostró ausencia de ambas islas, implicando una seria reducción en el potencial de virulencia en estos aislamientos (Osman et al., 2013). Finalmente, la IPS-14, considerada de importancia para la virulencia de Typhimurium en condiciones de O<sub>2</sub> bajas, emulando el ambiente intestinal, a través del *loiA* que activa la transcripción *hilD* a su vez activando *hilA* (el activador maestro de IPS-1) (Jiang *et al.*, 2017); sin embargo en el presente estudio varios aislamientos mostraron la presencia de IPS-14, pero no IPS-1. Por lo que se considera que los genes contenidos en IPS-14 deben cumplir una función adicional, sin embargo, aún no se encuentra descrita.

### 6.2.2 Distribución anual de islas de patogenicidad

El análisis de IPS presentes en el aislamiento de *S. enterica* obtenidos en los años 2015, 2016, 2017 y 2018 no reveló ( $P > 0.05$ ) patrones anuales de distribución (**Gráfica 2**); esto podría indicar la conservación temporal del potencial de virulencia; una característica anteriormente observada (Desai *et al.*, 2013). Esta resiliencia y estabilidad genética de *S. enterica* es considerada un proceso de adaptación geográfica (Dandekar *et al.*, 2015).



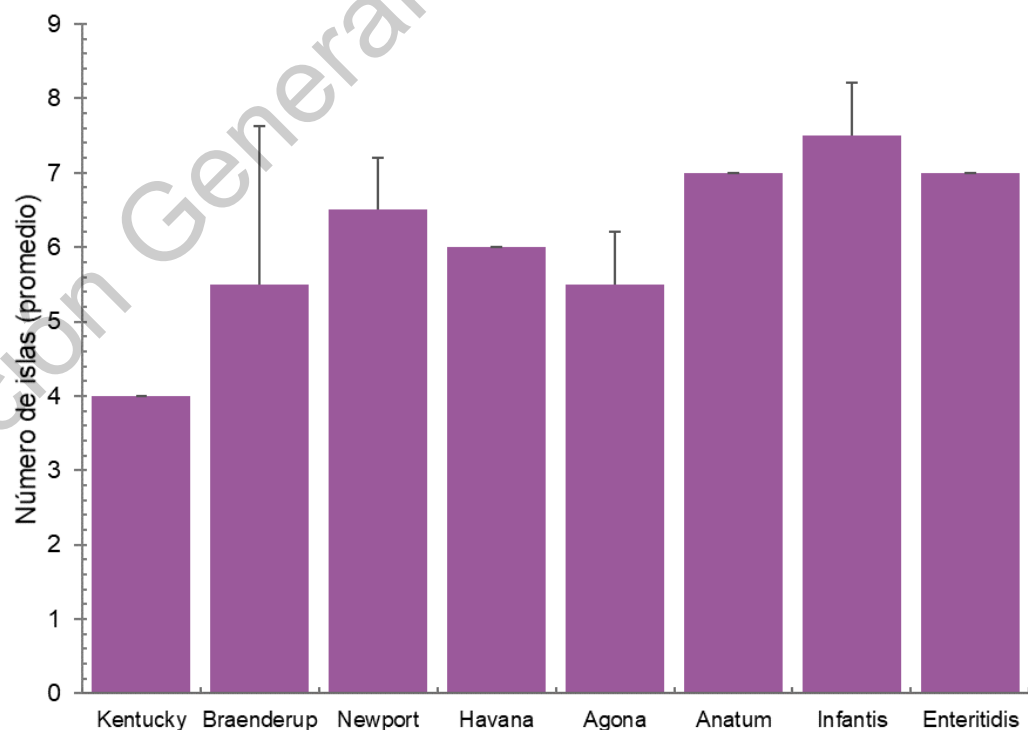
**Gráfica 2.** Distribución de IPS de aislamientos de *S. enterica* ( $n = 39$ ) por año. Prueba Tukey ( $P > 0.05$ ).

### 6.2.3 Relación de islas de patogenicidad en serotipos

Para realizar el análisis estadístico de la relación existente entre la presencia de islas de patogenicidad y los serotipos identificados se agruparon en 3 categorías: I) Serotipos identificados en 3 o más aislamientos, donde se encontraron: Enteritidis, Infantis, Anatum y Agona; II) Serotipos identificados en solo 2 aislamientos, los cuales fueron: Kentucky, Braenderup, Newport y Havana; III)

Serotipos que fueron identificados de manera individual en un aislamiento, en este grupo se encontraba el resto de los serotipos. La categoría I se sometió al análisis estadístico por contar con aislamientos suficientes, para las categorías restantes las conclusiones requieren un mayor número de aislamientos; sin embargo, se observa un comportamiento similar a la primera categoría.

El análisis permitió establecer que los aislamientos de un mismo serotipo presentaron aproximadamente la misma cantidad de islas de patogenicidad (**Gráfica 3**); esta observación coincide con estudios que analizan un serotipo a la vez (Amavisit *et al*, 2003; Cao *et al.*, 2014; Prasertsee *et al.*, 2019) ; sin embargo, esta conclusión debe confirmarse con un tamaño de muestra más grande, que incluya aislamientos de otras matrices alimentarias y clínicas humanas y veterinarias, ya que estas observaciones pueden estar relacionadas con el huésped o bien las condiciones ambientales y de procesamiento.



**Gráfica 3.** Número de islas de patogenicidad asociadas a los serotipos frecuentes en aislamientos de *S. enterica* ( $n = 39$ ). Prueba Tukey ( $P > 0.05$ ).

En particular, los serotipos Enteritidis, Infantis y Anatum mostraron un mayor número (>6) de IPS, esto podría estar asociado a la mayor capacidad de invasión y probabilidad de causar infecciones sistémicas de estos serotipos en comparación con los demás (La Ragione *et al*, 2003). Además, estos tres serotipos han sido reportados como los más prevalentes en muestras clínicas humanas, así como en animales de producción, y producto cárnicos de pollo y pavo (Almeida *et al*, 2013; CDC, 2018, 2018; Chironna *et al.*, 2014; Dunowska *et al.*, 2007; Esquivel-Hernandez, 2018; Hendriksen *et al.*, 2011; Nógrády *et al*, 2007; Pessoa-Silva *et al.*, 2002; Schroeder *et al.*, 2016; Zaidi *et al.*, 2008a).

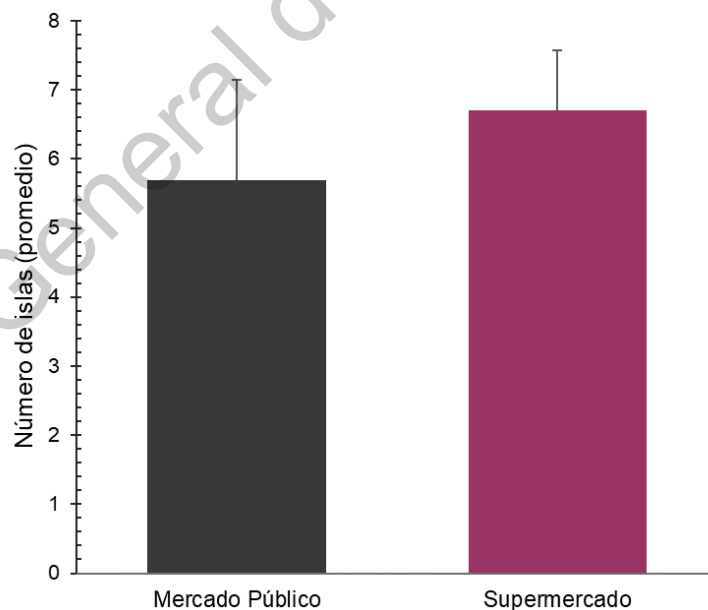
La identificación y distribución de la IPS en diferentes serotipos de *S. enterica* es esencial para comprender el desarrollo de la enfermedad, la evolución y adaptación de la bacteria a las condiciones ambientales y el desarrollo de la patogénesis en el huésped. Aunque la prevalencia de *S. enterica* ha ido en incremento en los últimos años en productos cárnicos (Alcaraz-González, 2016; Delgado-Suárez *et al.*, 2019; Zaidi *et al.*, 2008b), no existe una base de datos sobre las características genotípicas de los aislados de *S. enterica* en México. Por lo tanto, la identificación de los serotipos circulantes en toda la cadena de producción alimentaria, así como la caracterización del repertorio genético de virulencia es de vital importancia para la salud pública.

#### **6.2.4 Islas de patogenicidad por punto de venta**

La prevalencia de *S. enterica* varía sustancialmente entre países, se han reportado niveles de contaminación que oscilan entre 12% y 40% (Balakrishnan, Sangeetha, & Dhanalakshmi, 2018; Guran, Mann, & Alali, 2017; NARMS, 2017a; Thung *et al.*, 2016). Los análisis de prevalencia de *S. enterica* realizados por

nuestro grupo de trabajo (2015-2019) muestra un incremento anual (11.6%) en los niveles de contaminación en carne de pollo, y una mayor frecuencia en supermercado (24.6%) comparado con mercado público (9.2%) (Alcaraz-González, 2016; Esquivel-Hernandez, 2018), mismo comportamiento que se ha descrito en otros estudios alrededor del mundo (Capita, 2003; Harrison *et al*, 2001; Madden *et al*, 2011).

Al analizar los aislamientos recuperados de mercado público y supermercados, se observó un mayor ( $P < 0.05$ ), número de IPS en aislamientos provenientes de supermercado (**Gráfica 4**). Estos resultados sugieren que las poblaciones de *S. enterica* en estos dos puntos de venta son diferentes; posiblemente resultado de un proceso de selección determinado por las condiciones de procesamiento, almacenamiento y manipulación en cada punto de venta.



**Gráfica 4.** Número de islas de patogenicidad frecuentes en aislamientos de *S. enterica* recuperados de supermercado ( $n = 20$ ) y mercado público. ( $n = 19$ ). Prueba Tukey ( $P < 0.05$ ).

Tanto la prevalencia como la selección de poblaciones bacterianas en cada punto de venta, pueden ser originadas por varios factores; uno de ellos es la vida de anaquel, mientras que en supermercados permanece mayor tiempo permitiendo la proliferación bacteriana; en mercados públicos este tiempo es corto (<6 horas) (Alcaraz-González, 2016; Capita, 2003; Esquivel-Hernandez, 2018). La principal razón de esta diferencia es la posibilidad de almacenamiento. En supermercados se cuenta con unidades de refrigeración (4°C – 7°C) (NOM-251-SSA1-2009), mientras que en mercado público es prácticamente nula la posibilidad de esta. Lo que contribuye a la selección de bacterias; se ha demostrado que las poblaciones bacterianas no patógenas inmediatamente después del procesamiento de la canal (usualmente mesófilas) son diferentes a las poblaciones que ocasionan el deterioro de la carne de pollo durante el almacenamiento y que pueden crecer en refrigeración (Mutwakil, 2011). Así mismo las bacterias asociadas al deterioro tienen la particularidad de contar con un genoma extenso y un mayor número de genes (Sáenz-García *et al*, 2016) que permiten su desarrollo y proliferación, aún en condiciones de refrigeración. Esto podría ocurrir de la misma forma en bacterias patógenas como *S. enterica* (Jiménez *et al*, 2009; Pradhan *et al.*, 2012), explicando de esta manera la diferencia del repertorio genético en los aislamientos recuperados de ambos puntos de venta.

Así mismo, esta característica impactaría a la tasa de proliferación bacteriana en cada uno de los aislamientos, ya que para que el patógeno pueda poseer y expresar factores de virulencia, supone una penalización para su crecimiento (Sturm *et al.*, 2011). Esto explica la posibilidad de poblaciones de *S. enterica* con un menor número de IPS que proliferan de manera más eficiente en carne de pollo de venta en mercado público bajo temperaturas ambientales (20°C – 32°C). En contraparte las poblaciones de *S. enterica* con un mayor número de IPS tendrían una proliferación lenta en comparación con las anteriores; sin embargo, esto se ve compensando con el mayor tiempo de exposición de anaquel en supermercados, y la disminución de las poblaciones acompañantes debido a la temperatura de



refrigeración; sin embargo, hasta el momento no se tienen datos de investigaciones que hayan sometido a las mismas condiciones con diferente número de islas.

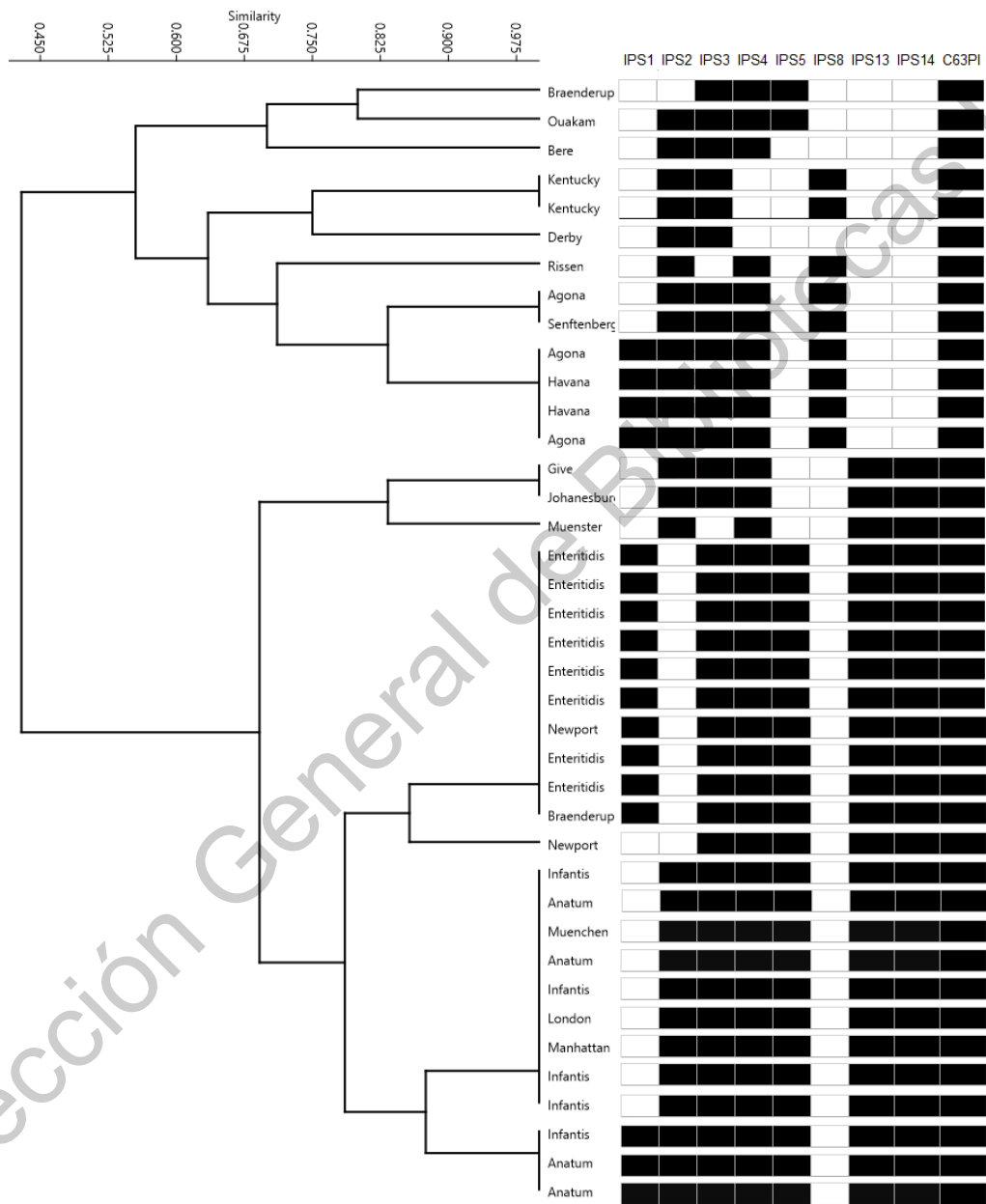
Otros factores que pudieran contribuir a la selección de las poblaciones bacterianas y que ocurren durante el almacenamiento de la carne de pollo, son los cambios de pH, ya que estudios han demostrado que poblaciones de *S. enterica*, muestran tolerancia cruzada a la disminución pH por efecto de la activación de sistemas antiporte en condiciones de refrigeración contribuyendo a la sobrevivencia selectiva de fenotipos resistentes (Keerthirathne, Ross, Fallowfield, & Whiley, 2016).

Al ser mayor el número de herramientas genéticas que permitan su desarrollo y sobrevivencia, la posibilidad de adecuarse a distintos ambientes es ineludible y favorece la selección de poblaciones bacterianas debido a condiciones específicas de desarrollo (Amavisit *et al*, 2003). Las islas de patogenicidad son elemento que a pesar de reconocer su importante contribución al potencial de virulencia; su distribución y prevalencia en aislamientos de *S. enterica* en México es nula.

#### **6.2.4 Perfiles de islas de patogenicidad**

El presente estudio reveló la presencia de 14 perfiles de IPS, que están asociados al serotipo (**Figura 3**). En todos los aislamientos del serotipo Enteritidis (8/8) se observó la ausencia de la IPS-2. La eliminación de esta isla de forma experimental ha revelado que las *S. entéricas* carentes de IPS-2 generan la misma respuesta de citocinas y producción de anticuerpos que las cepas nativas (wild-type) (Khan *et al.*, 2003). Específicamente, *S. entéricas* carentes de IPS-2, inducen una mejor respuesta inmune contra la infección por *S. enterica*, pero no logran evadir la presentación a linfocitos T y B, por lo que son un fenotipo frecuentemente utilizado como vacuna (Bohez *et al*, 2007; Papezova *et al.*, 2008); sin embargo es la primer

evidencia reportada de la recuperación de manera nativa del genotipo con estas características, lo que resalta la necesidad de analizar un número mayor de aislamientos y la evaluación del impacto en el potencial de virulencia.



**Figura 3.** Dendrograma de perfiles de islas de patogenicidad de serotipos de *S. enterica*. 85% punto de corte. Análisis multivariado e índice de similitud Jaccard (0.9743).

Las IPS13 y IPS14, se observaron de manera simultánea en el 67% (26/39) de los aislamientos. La presencia de IPS-13 y IPS14 de manera simultánea no ha sido reportado en otros estudios. La IPS-13 contribuye a la sobrevivencia en macrófagos (Elder, 2016); mientras que IPS-14 ha sido asociada con el proceso de invasión a enterocitos participando en la transcripción de *hilD* a su vez activando *hilA* (el activador maestro de IPS-1) (Jones, 2005) , sin embargo, la relación de estas dos islas no ha sido descrito, y por lo tanto se desconoce el impacto que tendría su concomitancia en el potencial de virulencia.

La IPS-13 y IPS-8, son mutuamente excluyentes, debido a que se encuentran en la misma ubicación genómica (adyacente al gen *tRNA-pheV*) (Espinoza *et al.*, 2017). IPS-13 se encuentra conservada en las *Salmonella* no tifoideas y ausente en tifoideas debido a que poseen IPS-8 (Espinoza *et al.*, 2017); sin embargo, el presente estudio reveló la presencia de IPS-8 en serotipos no tifoideos como Agona, Senftenberg, Rissen, Derby, Anatum, Havana y Kentucky. Los estudios que respaldan la ausencia de IPS-8 en no tifoideas (Espinoza *et al.*, 2017, p. 8; McClelland *et al.*, 2001), no han analizado los serotipos incluidos en el presente trabajo. Por lo tanto, este estudio revela la primera evidencia de este genotipo en *Salmonella* no tifoidea.

## **6.3 RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS**

### **6.3.1 Evaluación genotípica de resistencia a antibióticos**

#### **6.3.1.1 Prevalencia de genes asociados a diferentes clases de antibióticos**

Evaluar la distribución de genes de resistencia en la población bacteriana representa una herramienta detallada y potencialmente útil para mejorar la comprensión de la propagación de estos elementos genéticos, particularmente en México, ya que la información es limitada. También permite la caracterización de aislamientos y la trazabilidad de su distribución hasta su origen.

En el presente estudio se identificaron 37 genes asociados a resistencia a antibióticos. 11 genes asociados a aminoglucósidos, 6 a  $\beta$ -lactámicos, 6 a quinolonas, 5 relacionados con inhibidores de la vía del folato, 3 a sulfonamidas, 3 genes de resistencia a tetraciclinas, 1 relacionado con la resistencia a la fosfomicina, 1 a fenoles y finalmente 1 identificado como gen de resistencia a macrólidos (**Cuadro 7**).

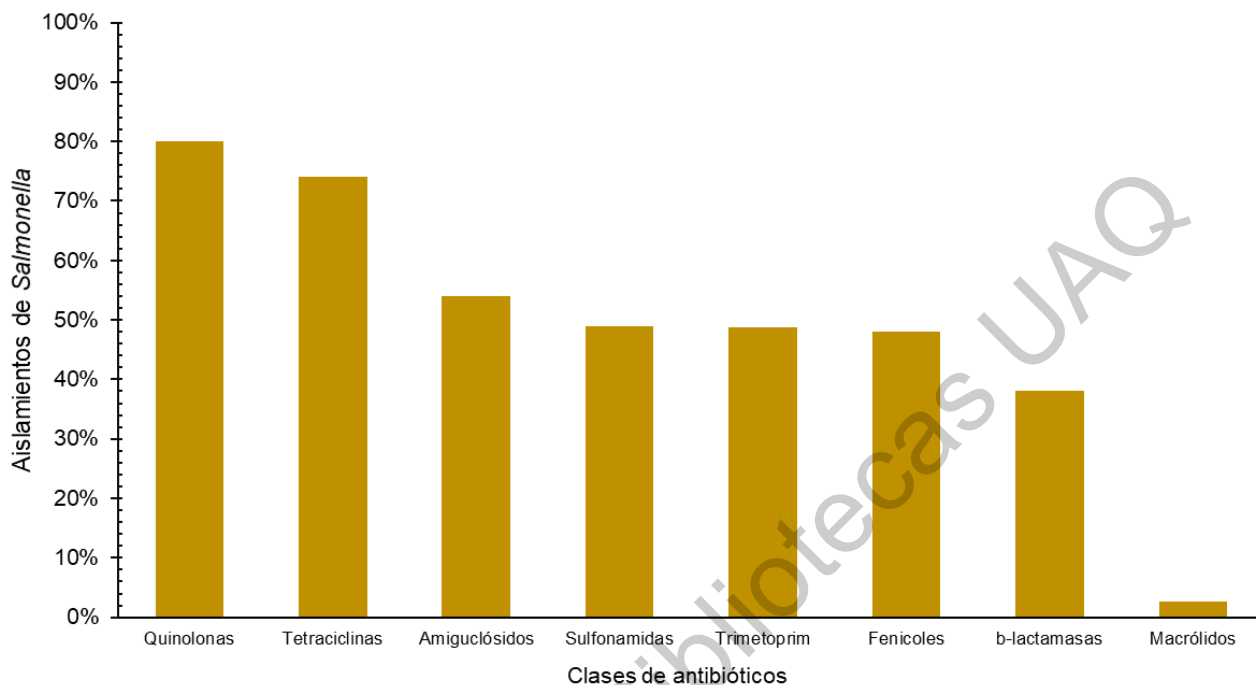
El 61.5% (24/39) de los aislamientos mostraron resistencia a aminoglucósidos, 15 de estos aislamientos portaban el gen *aadA2*, un gen que codifica para una aminoglucósido-adeniltransferasa ampliamente distribuida entre el género *S. enterica* (Ajiboye *et al.*, 2009; Khemtong & Chuanchuen, 2008; Michael & Schwarz, 2016; Wannaprasat, Padungtod, & Chuanchuen, 2011), el 15.4% (6/39) mostraron la presencia de *strA* y *strB*, y menos del 10% portaban *aadA1*, *aph(4)-la*, *strA-like*, *strB-like*, *aph(3')-Ic*, *aadA2-like* y *aph(3')-la-like*.

Además, se identificaron 6 genes (*blaTEM-1B*, *blaCARB-2*, *blaSHV-12*, *blaCARB-1-like*, *blaCTX-M-65*, *blaCMY-2*), que codifican para enzimas  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en 8 aislamientos, los cuales presentaron de igual forma genes asociados a un mayor número de clases de antibióticos. En particular el gen *blaCTX-M-65*, se encontró en 3 aislamientos, este gen está asociado a la resistencia a cefotaxima, una cefalosporina de 3ª generación indicada para infecciones sistémicas (Fu *et al.*, 1979). Así mismo las enzimas restantes han sido asociadas con la resistencia a ceftriaxona, el principal representante de la clase de las cefalosporinas de espectro extendido de última generación, esto representa una gran preocupación puesto que es el antibiótico de elección para tratar salmonelosis no tifoideas en niños (Su *et al.*, 2005). La distribución anual de  $\beta$ -lactamasas no sugiere un aumento en la propagación de los genes que las codifican en relación con el tiempo; no obstante, se requiere analizar un mayor número de aislamientos que permita confirmarlo.

**Cuadro 7.** Genes asociados a la resistencia a cada una de las clases de antibióticos.

Clase de antibiótico	Genes de resistencia
Aminoglucósidos	<i>aadA2, strA, strB, aac(3)-Iva-like, aadA1, aph(4)-la, strA-like, aph(3')-Ic, addA2-like, aph(3')-la-like</i>
$\beta$ -lactámicos	<i>blaTEM-1B, blaCARB-2, blaSHV-12, blaCARB-1-like, blaCTX-M-65, blaCMY-2</i>
Fenoles	<i>floR-like</i>
Fosfomicinas	<i>fosA</i>
Trimetoprima	<i>dfrA12, dfrA14-like, dfrA16, dfrA18-like</i>
Macrólidos	<i>mph(A)</i>
Quinolonas	<i>parC, gyrA, qnrB19, oqxA, oqxB-like, qnrA1</i>
Sulfonamidas	<i>sul1, sul2, sul1-like</i>
Tetraciclinas	<i>tet(A), tet(D), tet(A)-like</i>

El 64.1% (24/39) de los aislamientos de *S. enterica* presentó resistencia a tetraciclina, y se identificaron 3 genes asociados: *tet(A)*, *tet(D)* y *tet(A)-like*, usualmente codificados en plásmidos, integrones e SG1. El uso extendido de las tetraciclinas en prevención y control de infecciones bacterianas en infecciones humanas y medicina veterinaria, al igual que en la acuicultura y en árboles frutales para controlar infecciones bacterianas (Chopra & Roberts, 2001), se considera la causa del incremento de aislamientos resistentes, mediante la adquisición de genes que codifican para mecanismos de eflujo dependientes de energía (**Gráfica 5**).



**Gráfica 5.** Porcentaje de aislamientos de *S. enterica* con determinantes genéticas de resistencia por clase de antibióticos.

También se encontró en el 25.6%(10/39) de los aislamientos, genes *florR*, reconocidos en la resistencia del cloranfenicol y florfenicol, este último solamente usado en medicina veterinaria (Holman *et al*, 2018). El gen *florR* ha sido identificado en la IGS1 posicionado junto a *tetG* (Arcangioli, Leroy-Sactrin, Martel, & Chaslus-Dancla, 1999), estudios han podido demostrar que el contacto de una cepa con cloranfenicol en dosis subletales induce la expresión de genes de resistencia a tetraciclina (Brunelle, Bearson, & Bearson, 2015), capacitando a la bacteria para resistir al antimicrobiano antes de estar en contacto con él, este efecto podría sugerirse de la misma forma para genes contenidos en IGS1 como *sul1* y *aadA2* asociados a la resistencia a sulfonamidas y aminoglucoSIDOS, respectivamente, sin embargo aún no se ha demostrado (**Gráfica 5**).

También se reportaron genes asociados a la resistencia a sulfonamidas (61%). El 46.1% (18/39) aislamientos reportaron *sul1* y 23.0% (9/39) *sul2*. Ambos genes han

sido reportados con frecuencia en aislamientos de *S. enterica* en varias partes del mundo (Antunes *et al.*, 2005; Guerra, Soto, Cal, & Mendoza, 2000; Sandvang, Aarestrup, & Jensen, 1998). El gen *sul1* normalmente se encuentra vinculado a otros genes de resistencia en integrones, por lo que su propagación ha sido mayor que la de *sul2* que ha sido identificado en plásmidos no conjugativos (Deekshit *et al.*, 2012); sin embargo 4 aislamientos han presentado ambos genes, demostrando la capacidad de *S. enterica* de poseer ambas estructuras y potenciar la resistencia contra los antibióticos.

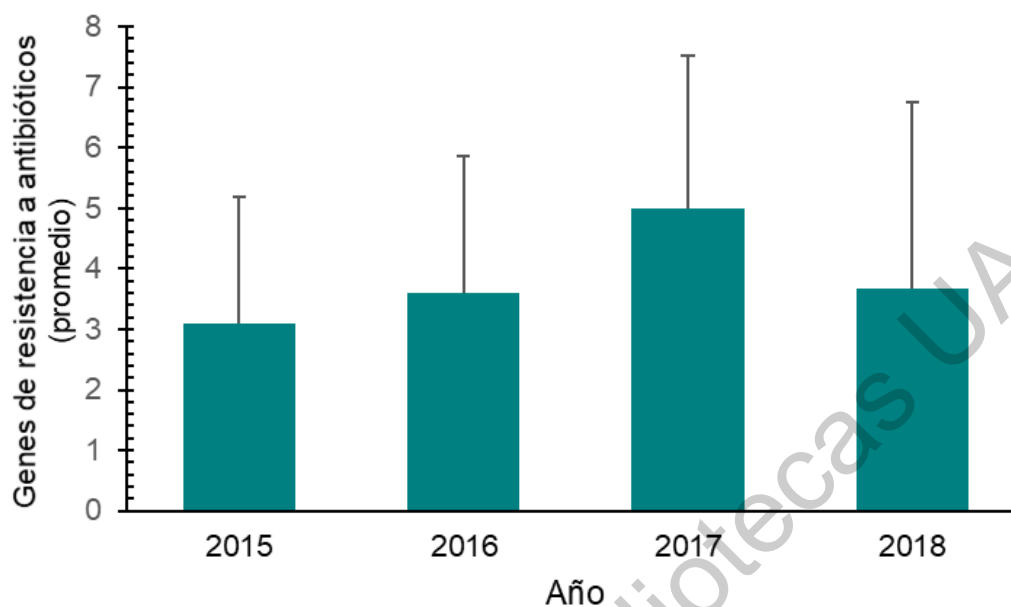
Para la resistencia a trimetoprima se han identificado en el 48.7% (19/39) de los aislamientos solamente 4 diferentes genes *dfrA12*, *dfrA14*, *dfrA16* y *dfrA18*, a pesar que en *S. enterica* se han identificado más de 15 genes (Agerso, Peirano, & Aarestrup, 2006; Michael & Schwarz, 2016). El mecanismo de resistencia conduce a la expresión de una forma insensible de dihidrofolato reductasa (DHFR) que no puede ser inhibida por trimetoprima. Los genes *dfr* se encuentran ubicados usualmente en IGS1 e IGS2 y sus variantes.

Para el caso particular del ciprofloxacino EE UU se reporta 5.8% de resistencia a ciprofloxacino (NARMS, 2017c) un antibiótico clave en la farmacología humana para el tratamiento de infecciones invasivas por *S. enterica*; sin embargo, en otros países como Nigeria se ha reportado el 87% de no susceptibilidad (Adesiji, Deekshit, & Karunasagar, 2014) en Brasil el 56.6% (Pribul *et al.*, 2017) y en Canadá se ha reportado 30% de resistencia a ciprofloxacino en aislamientos de *S. enterica* (Mulvey *et al.*, 2013). En el presente estudio encontramos el 64.1% de resistencia a ciprofloxacino siendo similar a países en vías de desarrollo, sin embargo, encontramos el 97.4% (38/39) de aislamientos que presentan genes asociados a la resistencia a las quinolonas, esto indica que algunos genes de resistencia son silenciosos *in vitro* (Deekshit *et al.*, 2012); no obstante estos pueden propagarse a otras bacterias o activarse *in vivo*, especialmente bajo presión del antibiótico.

La resistencia a la ciprofloxacina se atribuye principalmente a mutaciones en los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*, conocidas como regiones determinantes de la resistencia a la quinolona (QRDR), provocando una menor afinidad de unión entre la quinolona y las proteínas codificadas. Las bombas de eflujo codificada por *oexA* y *oqxAB*, así como la presencia de *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* conocidas como determinantes de resistencia a quinolonas mediadas por plásmidos (PMQR), contribuyen a una menor susceptibilidad a estos antibióticos. Se identificaron en el 20.5% (8/39) de aislamientos la mutación en *gyrA*, 66.7% (26/39) en *parC* y 7.6% (3/39) aislamientos presentaron ambas mutaciones. Qnr19 fue determinado en el 41.0% (16/39) de los aislamientos, mientras que *qnrB2* y *qnrA1* fueron identificados en un aislamiento diferente cada uno. *oqxA* y *oqxB* por el contrario fueron reconocidos en un mismo aislamiento. PMQR podrían desempeñar un papel importante en la propagación de fluoroquinolonas entre los aislamientos, esto se refleja por el número de genes PMQR *qnr* detectados en el estudio.

Sin embargo, al evaluar la distribución temporal de genes de resistencia en cada aislamiento, no se encontraron diferencias entre las poblaciones analizadas ( $P > 0.05$ ) (**Gráfica 6**), esto implica al igual que la distribución de las determinantes de virulencia un equilibrio entre las poblaciones bacterianas que presentan diferentes características genéticas, sin embargo, cabe señalar nuevamente que el estudio de las mismas debe realizarse con un número mayor de aislamientos, ahora con las determinantes genéticas de resistencia identificadas en SGC.

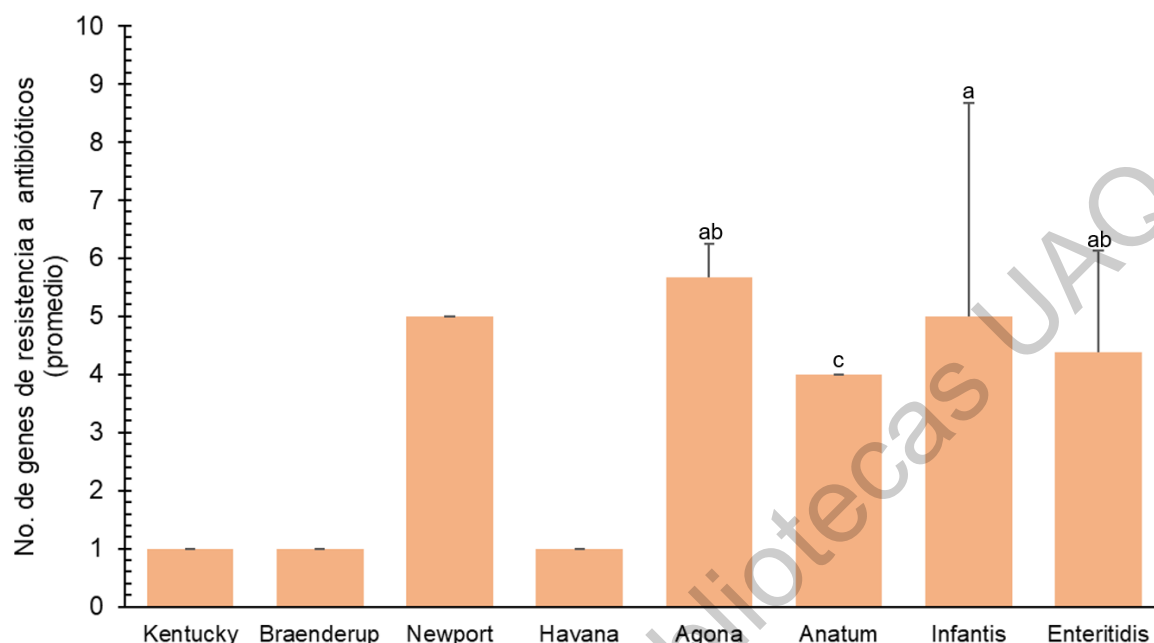




**Gráfica 6.** Distribución anual de genes de resistencia presentes en aislamientos de *S. enterica*. Prueba de Tukey ( $P > 0.05$ )

### 6.3.2.2 Repertorio genético de resistencia asociado al serotipo

Los resultados ilustran que la cantidad (**Gráfica 7**) y tipo de determinantes genéticos de resistencia a antibióticos está asociada al serotipo. Los serotipos más frecuentes son los que cuentan con mayor número de genes de resistencia, y en la mayoría de los aislamientos del mismo serotipo se muestra un perfil genotípico de resistencia similar. Los aislamientos del serotipo Havana, Kentucky, Newport y Anatum, muestran este comportamiento confirmando que la presencia de genes de resistencia a antibióticos está relacionada de manera inherente al serotipo (**Figura 4**).



**Gráfica 7.** Número de genes de resistencia a antibióticos presentes en aislamientos de *S. enterica* en diversos serotipos obtenido de carne de pollo. Kentucky, Braenderup, Newport, Havana, no fueron sometidos al análisis estadístico por el número de aislamientos (2). Prueba de Tukey ( $P < 0.05$ )

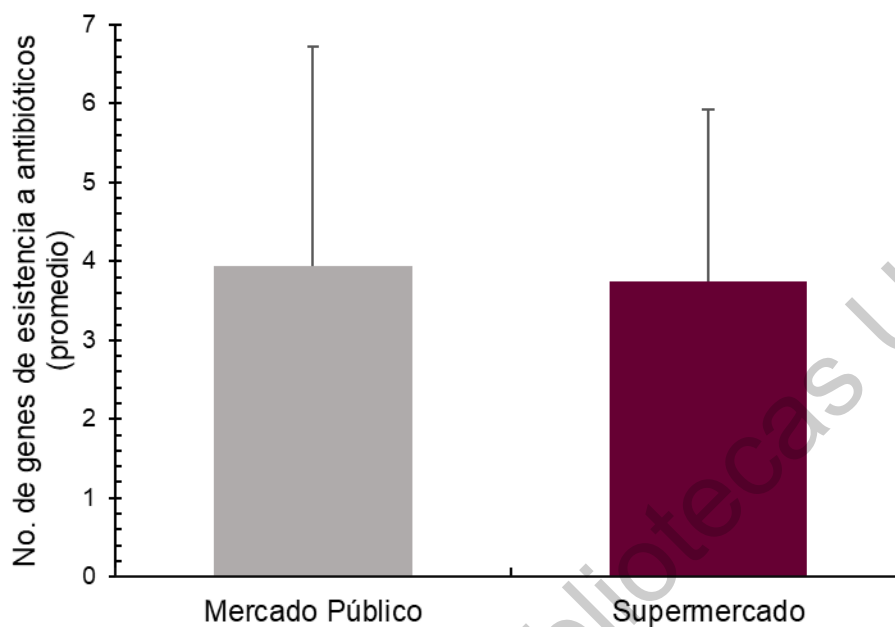
El 87.5% (7/8) de los aislamientos del serotipo Enteritidis mostraron un perfil similar (*gyrA*, *tetA*, *aadA*, *sul1*) implicando la resistencia a 4 clases de antibióticos (fluoroquinolonas, tetraciclinas, aminoglucósidos y sulfonamidas). Cabe destacar que todos los aislamientos de este serotipo fueron recuperados de supermercado, no obstante, en tres años diferentes, por lo que podría sugerirse una relación filogenética entre ellos.

Para el serotipo Infantis, se muestra un comportamiento singular, dos aislamientos recuperados en el año 2015 muestran una única determinante de resistencia, la determinante *parC* con la correspondiente mutación que disminuye la afinidad del antibiótico por el sitio blanco; sin embargo para aislamientos del mismo serotipo pero del año 2017 y 2018, el repertorio genético es diferente y más abundante (*aph(4)-Ia*, *aac(3)-Iva*, *aph(3)-Ic*, *CTX-M-65*, *fosA*, *floR*, *dfrA*, *sul1*, *tetA*, *aadA1*,

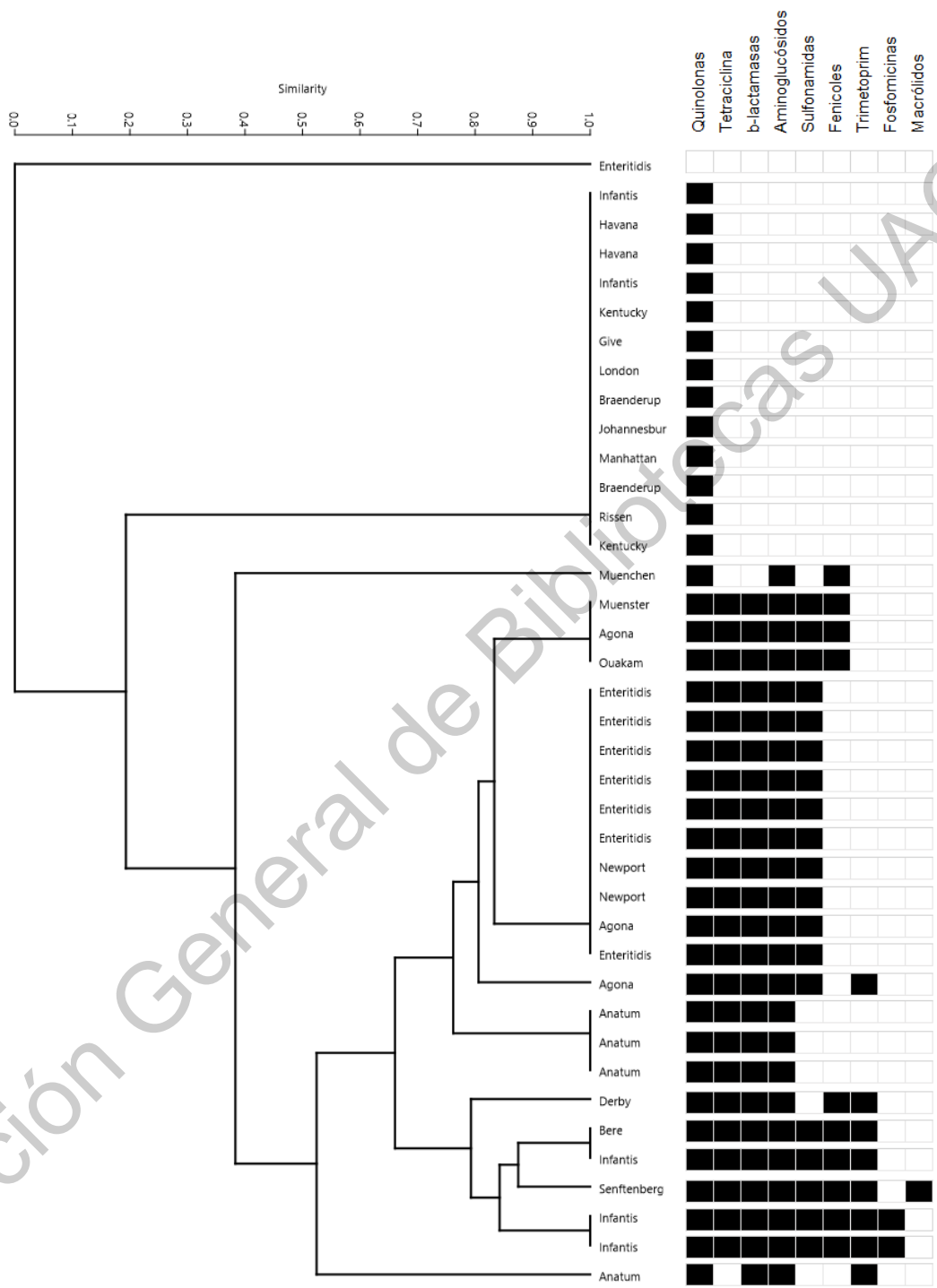
*gyrA/parC*) este perfil exceptuando *gyrA* y *parC* ya ha sido caracterizado en aislamientos de *S. enterica* reportados en EEUU en el mismo serotipo en 2012-2015 (Tate *et al.*, 2017), lo que sugiere que los aislamientos recuperados provienen del mismo origen. Desafortunadamente, no existen información respecto a la trazabilidad para la carne de pollo que se importa en México.

### **6.3.2.3 Genes de resistencia por punto de venta**

Los resultados muestran que los aislamientos de *S. enterica* recuperados de mercados públicos y supermercados (**Gráfica 8**) presentan un número similar de genes de resistencia, si bien se ha sugerido que la filogenia y la ecología son complementarias en la configuración del resistoma móvil bacteriano (von Wintersdorff *et al.*, 2016), otros autores señalan que partes de estos resistomas son compartidos (Gibson, Forsberg, & Dantas, 2015), entre bacterias ambientales y patógenas en un mismo nicho ecológico y la variación entre ellas tiende a disminuir; estudios *in vivo*, han demostrado que existe transferencia de genes de resistencia a antibióticos dentro de la microbiota de un alimento, incluso en ausencia de la exposición al antibiótico (Sandoval-Motta & Aldana, 2016); sin embargo, la red de transferencia de la resistencia móvil y las fuerzas que impulsan la transferencia de elementos móviles de resistencia son en gran medida desconocidas.



**Gráfica 8.** Presencia de genes de resistencia a antibióticos en aislamientos de *S. enterica* de dos puntos de venta: mercado público ( $n = 19$ ) y supermercado ( $n = 20$ ). Prueba  $t$  de student ( $P > 0.05$ ).

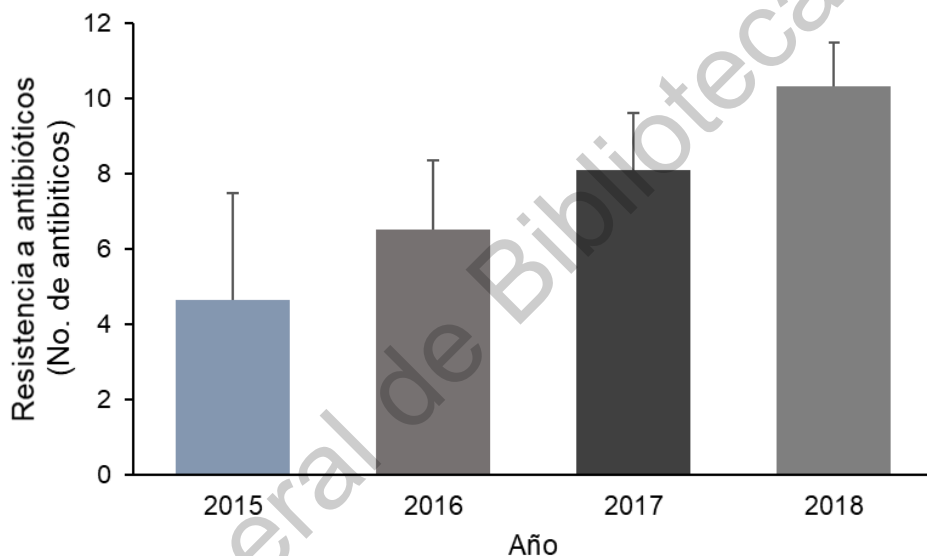


**Figura 4.** Dendrograma de genes de resistencia por familia de serotipos de *S. enterica*. 85% punto de corte. Análisis multivariado e índice de similitud Jaccard (0.9857).

### 6.3.2 Evaluación fenotípica de resistencia a antibióticos

#### 6.3.2.1 Relación temporal de resistencia a antibióticos

Al evaluar la resistencia a antibióticos *in vitro* se observó una tendencia ( $p = 0.06$ ) al incremento anual en las tasas de resistencia (**Gráfica 9**).



**Gráfica 9.** No. de antibióticos a los que presentan resistencia los aislamientos de *S. enterica* ( $n = 39$ ). Prueba de Tukey ( $P = 0.06$ )

El 82.1% (32/39) de los aislamientos mostraron resistencia al menos a 3 antibióticos de clases diferentes, evidenciando la alta prevalencia MRA este resultado resulta mayor a otros estudios realizados en México, donde la ocurrencia de aislamientos MRA fue de 44.3% en cerdo (Zaidi *et al.*, 2007) y 33% en carne de res (Perez-Montaña *et al.*, 2012) inclusive en un estudio realizado en el grupo de investigación previo, en el cual la ocurrencia de MRA fue 26.9% en carne de pollo recuperado en puntos de venta (Esquivel-Hernandez, 2018) ; sin embargo los antibióticos probados en cada investigación fueron variados. El 79.5% (31/39) presentó resistencia a más de 5 antibióticos de los 14 analizados. Se mostró una

mayor resistencia a TCY (79.5%), AMP (71.8%), CHL (66.7%) y NAL (76.9%) (**Gráfica 10**). Estos resultados indican que *S. enterica* MRA en carne de pollo es un problema creciente en México.

### **6.3.2.2 Prevalencia de resistencia fenotípica a antibióticos**

El incremento de aislamientos resistentes a antibióticos tradicionales (ampicilina, cloranfenicol y tetraciclina) en las últimas dos décadas ha sido descrita por otros autores en diversas partes del mundo (Ashraf *et al.*, 2018; Gallardo, Marco, Vila, Ruiz, & Towner, 1999; Kadykalo, Anderson, & Alsop, 2018; Luo, Yi, Yao, Zhu, & Qin, 2018; Rowe, Ward, & Threlfall, 1997), esta tendencia ha tratado de contrarrestarse con la limitación del uso de estos antibióticos y en algunos casos con el desuso total (Sharvani, 2016). Dicha medida ha permitido la disminución de la presencia de organismos resistentes (Shrestha *et al.*, 2016); no obstante, es un esfuerzo que genera impacto de manera paulatina. En México la limitación del uso de antibióticos es una estrategia que ha tratado de implementarse; sin embargo, los resultados muestran que aún no se ha logrado cumplir este objetivo en salud pública.

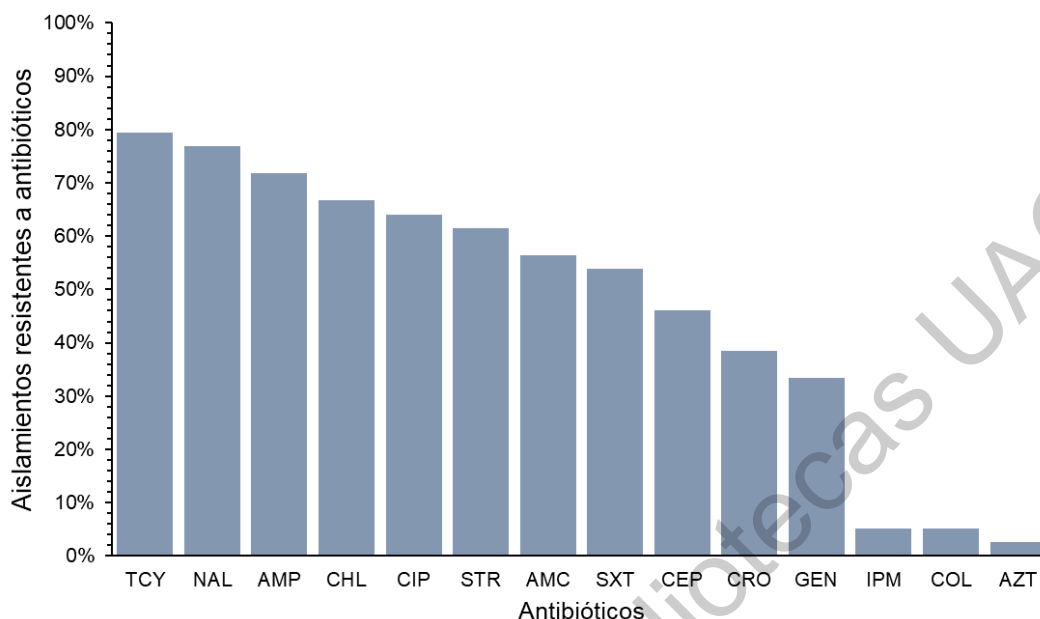
Por otra parte, al menos el 50% de los aislamientos analizados presentaron resistencia a estreptomicina (61.5%), amoxicilina (56.4%) y trimetoprima con sulfametoxazol (53.8%). Singularmente la resistencia a estreptomicina se volvió frecuente en miembros de la familia Enterobacteriaceae debido a la expresión de enzimas modificadoras de aminoglucósidos y mecanismos genéricos de resistencia a antibióticos (Srinivasan *et al.*, 2008).

En 2017, *S. enterica* resistente a estreptomicina fue responsable de un brote en EE. UU. ocasionado por el consumo de papaya provenientes de México (CDC, 2017), poniendo de manifiesto la presencia de *S. enterica* resistente a este antibiótico en el país. Así mismo la importancia de la resistencia a trimetoprima

con sulfametoxazol radica en que se ha demostrado que existe una mayor virulencia cuando la cepa presenta resistencia a este antibiótico (Smith & Tucker, 1976); esto puede explicarse, debido a que el mecanismo de resistencia empleado para evadir a este antibiótico es el uso alternativo a la vía del folato; lo que sugiere que cuando se enfrenta la bacteria a dosis subletales, esta desarrolla el uso alternativo de ambas vías. Finalmente la resistencia a amoxicilina con ácido clavulánico, representa un problema de suma importancia, ya que se ha descrito la resistencia a este antibiótico mediado por  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (Stapleton *et al.*, 1995), estas son enzimas capaces de afectar a un variado grupo de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas y oxacilinas; implicando la disminución de antibióticos disponibles para el tratamiento farmacológico efectivo en infecciones causadas por aislamientos resistentes (Hall & Barlow, 2005). El 84.6% de los aislamientos en este estudio muestran multiresistencia, a antibióticos de uso común para el tratamiento farmacológico, esto sugiere que la carne de pollo es una fuente importante de *S. enterica* multiresistente, revelando un riesgo potencial a la salud pública.

Las menores resistencias fueron asociadas a gentamicina (33%) y azitromicina (3%). Para el caso de la gentamicina, un aminoglucósido utilizado en infecciones por bacterias gramnegativas (Krause *et al.*, 2016); la baja prevalencia de resistencia, puede deberse a su uso limitado, ya que la gentamicina libre se filtra rápidamente a través del sistema renal, necesitando altas dosis; sin embargo, la administración de estas dosis pueden provocar nefrotoxicidad y ototoxicidad (Randjelovi, 2017). La baja selección de este antibiótico tiene beneficios ya que podría continuar su uso para infecciones en los cuales otros antibióticos ya no tienen un efecto significativo, además el diseño de nanoestructuras de copolímeros y liposomas (Ranjan, 2009), ha permitido la encapsulación de gentamicina, mejorando su farmacocinética y farmacodinamia, evitando los mecanismos enzimáticos de resistencia y reduciendo los efectos adversos.





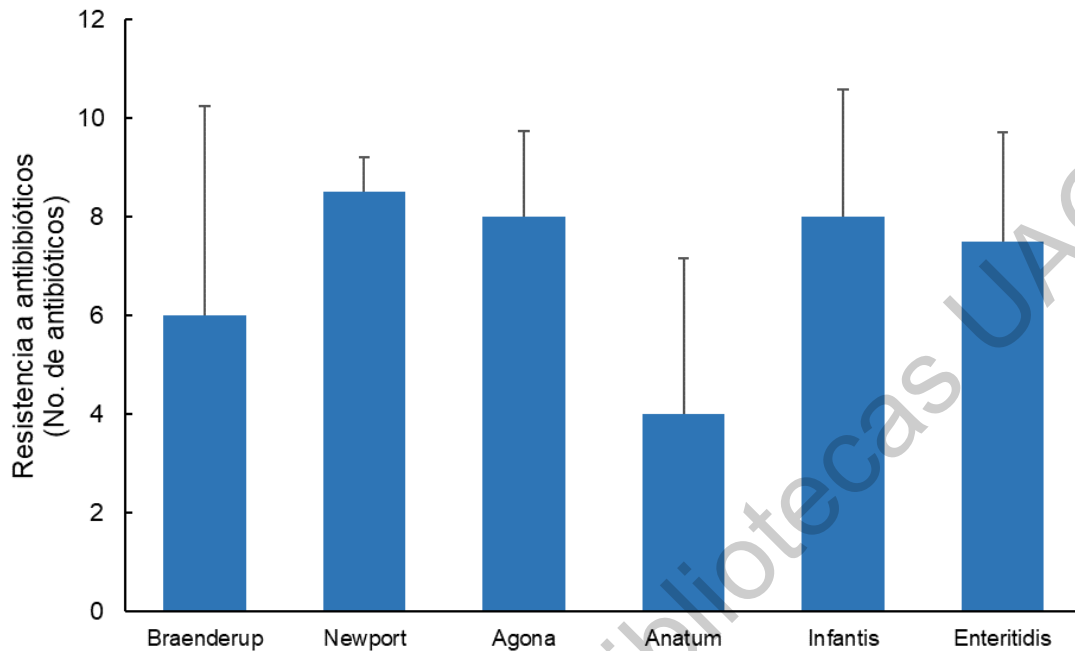
**Gráfica 10.** Porcentaje de resistencia a antibióticos. *TCY*, Tetraciclina; *NAL*, Ácido Nalidixico; *AMP*, Ampicilina; *CHL*, Cloranfenicol; *CIP*, Ciprofloxacino; *STR*, Estreptomina; *AMC*, Amoxicilina/Acido clavulánico; *SXT*, Trimetoprim/Sulfametoxazol; *CEP*, Cefalotina; *CRO*, Ceftriaxona; *GEN*, Gentamicina; *IPM*, Imipenem; *COL*, Colistina; *AZT*, azitromicina. Los aislamientos que presentaron resistencia intermedia se consideraron como resistentes.

Por último la azitromicina se usa cada vez más para el tratamiento de infecciones invasivas por *S. enterica*, siendo su potencial farmacológico equivalente o superior a las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de espectro extendido (Capoor *et al.*, 2007) esto lleva a sugerir que la resistencia a este fármaco es un indicador de un aislamiento altamente resistente a antibióticos; hasta el momento únicamente se habían reportado cepas resistentes a azitromicina recuperadas de aislamientos clínicos humanos (Sjölund-Karlsson *et al.*, 2011; Vlieghe *et al.*, 2012; Wong, Yan *et al.*, 2014), sin embargo, el encontrar un aislamiento resistente a la azitromicina en una matriz alimentaria implica la diseminación de bacterias resistentes a otros nichos ecológicos y el inminente riesgo a la población.

### 6.3.2.3 Resistencia a antibióticos independiente del serotipo y punto de venta.

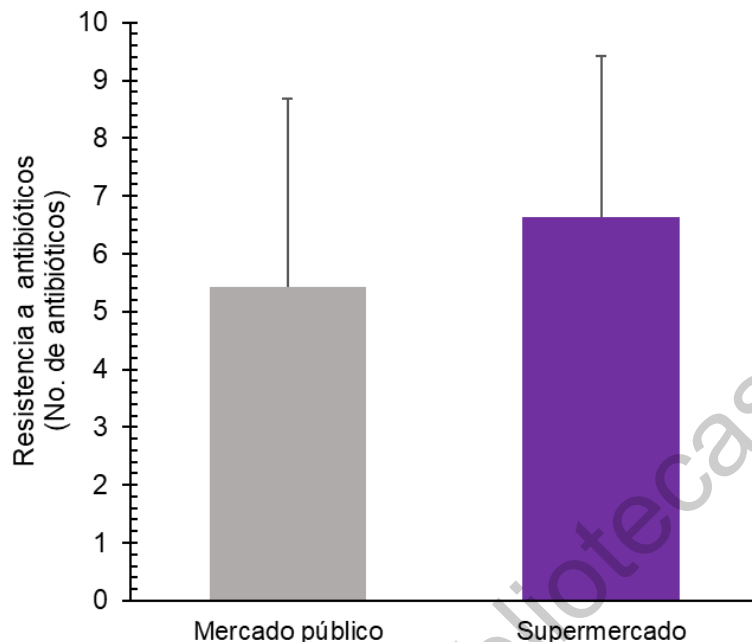
No se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ) al analizar la resistencia a antibióticos en cada serotipo y en los aislamientos prevalentes por punto de venta al asociar la resistencia fenotípica de los aislamientos de *S. enterica* con los serotipos (**Gráfica 11**) y punto de venta (**Gráfica 12**), este resultado no es sorprendente, ya que se ha observado en otros estudios que existe expresión diferencial de genes en los ensayos *in vitro* debido a varios puntos técnicos críticos o bien a elementos genéticos de sobrevivencia que interfieren en la actividad del antibiótico, como genes de codificación de proteínas asociados a membranas putativas, operones de sideróforos y fimbrias de expresión diferencial bajo condiciones ambientales particulares.

Estudios señalan que a pesar de existir determinantes genéticos particulares asociadas al serotipo, la prueba *in vitro* presenta resistencia a antibióticos de manera diferenciada, esto debido a otros elementos estructurales como variaciones alélicas (Arias-Sánchez & Hall, 2016) y dosis génica de expresión (Sharma *et al*, 2016). Incluso se ha propuesto la realización de la prueba a antibióticos en modelos *in vivo* debido al posible efecto inductor de resistencia en las condiciones dentro del huésped (Geisinger & Isberg, 2017).



**Gráfica 11.** Ocurrencia de serotipos de *S. enterica* resistente a antibióticos. Prueba de Tukey ( $P > 0.05$ ).

Al igual que en el análisis genotípico de resistencia no se mostró diferencia estadísticamente significativa entre los aislamientos recuperados de mercado y supermercado. Señalando la conservación del resistoma en la matriz alimentaria, así como la estandarización de las condiciones en la técnica empleada, evitando la expresión de genes diferenciada (Keerthirathne et al., 2016).



**Gráfica 12.** Ocurrencia de resistencia (número de antibióticos) en aislamientos de *S. enterica* de mercados públicos ( $n = 19$ ) y supermercados ( $n = 20$ ). Prueba  $t$  de student ( $P > 0.05$ )

### 6.3.2.3 Perfiles fenotípicos de resistencia a antibióticos

Únicamente para Enteritidis todos los aislamientos mostraron resistencia a tetraciclina y ciprofloxacino. Braenderup, Infantis y Agona presentaron resistencia a 13 antibióticos de 8 clases diferentes. En Febrero de 2019 la FDA en EEUU reportó un brote causado por *S. Infantis* MRA (CIP, CRO, GEN, TCY, CHL y SXT) asociado a carne de pollo y sus derivados, pero no pudo ser trazado a un único producto o proveedor (CDC, 2018), indicando la diseminación del organismo. En el presente estudio los 5 aislamientos identificados como Infantis presentaron diversos perfiles, con resistencia a TCY, NAL, CHL y AMP (**Figura 5**), implicando una MRA similar a la identificada en Estados Unidos, asumiendo la propagación de características de resistencia.

Serotipo	Año	PV	AMC	TCY	SXT	CHL	AMP	STR	NAL	GEN	CEP	CIP	CRO	AZT	COL
Havana	2015	MP	■	■											
Havana	2015	MP							■			■			
Anatum	2015	MP		■											
Anatum	2015	SM		■					■						
Anatum	2015	SM		■			■				■	■			
Anatum	2015	MP	■			■		■			■	■		■	
Bere	2015	MP	■			■		■			■	■			
Give	2016	MP	■			■		■			■	■			
Agona	2016	MP	■			■		■			■	■			
Agona	2016	MP							■						
London	2016	MP					■				■	■			
Muenster	2015	MP	■	■			■			■					
Braenderup	2016	MP				■		■							
Braenderup	2016	SM	■				■				■	■		■	
Infantis	2015	SM										■	■		
Infantis	2015	SM	■				■				■	■			
Muenchen	2015	SM		■			■				■	■			
Kentucky	2015	SM	■	■				■				■			
Johanesburg	2016	SM					■					■			
Enteritidis	2016	SM	■				■								
Enteritidis	2016	SM	■				■								
Enteritidis	2016	SM	■				■					■			
Enteritidis	2016	SM	■				■				■	■			
Enteritidis	2017	SM	■				■					■			
Enteritidis	2017	SM		■			■				■	■			
Enteritidis	2017	SM	■				■				■	■			■
Newport	2017	SM	■				■				■	■			
Newport	2017	SM	■				■			■	■	■			
Agona	2017	MP	■				■				■	■			
Ouakam	2017	SM	■				■				■	■			
Manhattan	2017	MP	■				■				■	■			
Infantis	2017	MP		■			■				■	■			
Infantis	2017	MP	■				■				■	■			
Senfterberg	2017	MP		■			■				■	■			■
Kentucky	2018	MP	■				■				■	■			
Infantis	2018	SM	■				■				■	■			
Enteritidis	2018	SM	■				■				■	■			
Derby	2018	MP		■			■				■	■			■
Rissen	2018	MP					■				■	■			

**Figura 5.** Ocurrencia de perfiles de resistencia a antibióticos fenotípicos a antibióticos de serotipos de *S. enterica* ( $n = 39$ ).

El 12.58% (5/39) aislamientos (Agona, Newport, Manhattan, Infantis, Enteritidis), mostraron el perfil de resistencia ACSSuT (ampicilina, cloranfenicol,

estreptomicina, sulfonamida y tetraciclina), que se encuentra codificada en la SGI (isla genómica de *Salmonella*) (Solghan *et al.*, 2010) y representa un perfil de MRA que sirve como marcador de diagnóstico para monitorear y controlar la resistencia a múltiples fármacos, ya que estos se emplean con frecuencia en la clínica como tratamiento en gastroenteritis e infecciones invasivas de origen animal y humano por *S. enterica* .

En general no se evidenció una relación contundente entre el serotipo o punto de venta y el perfil de resistencia a antibióticos para cada aislamiento al analizar en conjunto los 14 antibióticos seleccionados para este estudio, este resultado no es sorprendente, la determinación de perfiles fenotípicos de resistencia a antibióticos debe ser seleccionada de acuerdo con el objetivo de la investigación. La OMS describe más de 30 antibióticos pertenecientes a 14 clases diferentes, recomendadas para el tratamiento de la infección por *S. enterica* , numerosas investigaciones centran sus esfuerzos en la realización de perfiles fenotípicos amplios de resistencia (Aguilar-Montes de Oca *et al.*, 2018; Fernandes, Ghilardi, Tavechio, Machado, & Pignatari, 2003; Mayrhofer, Paulsen, Smulders, & Hilbert, 2004; Soufi *et al.*, 2012), si bien ayuda a caracterizar a los aislamientos e indicar una probable relación genética, los resultados deben manejarse con cautela sin perder el objetivo central, puesto que variaciones técnicas podrían afectar el resultado.

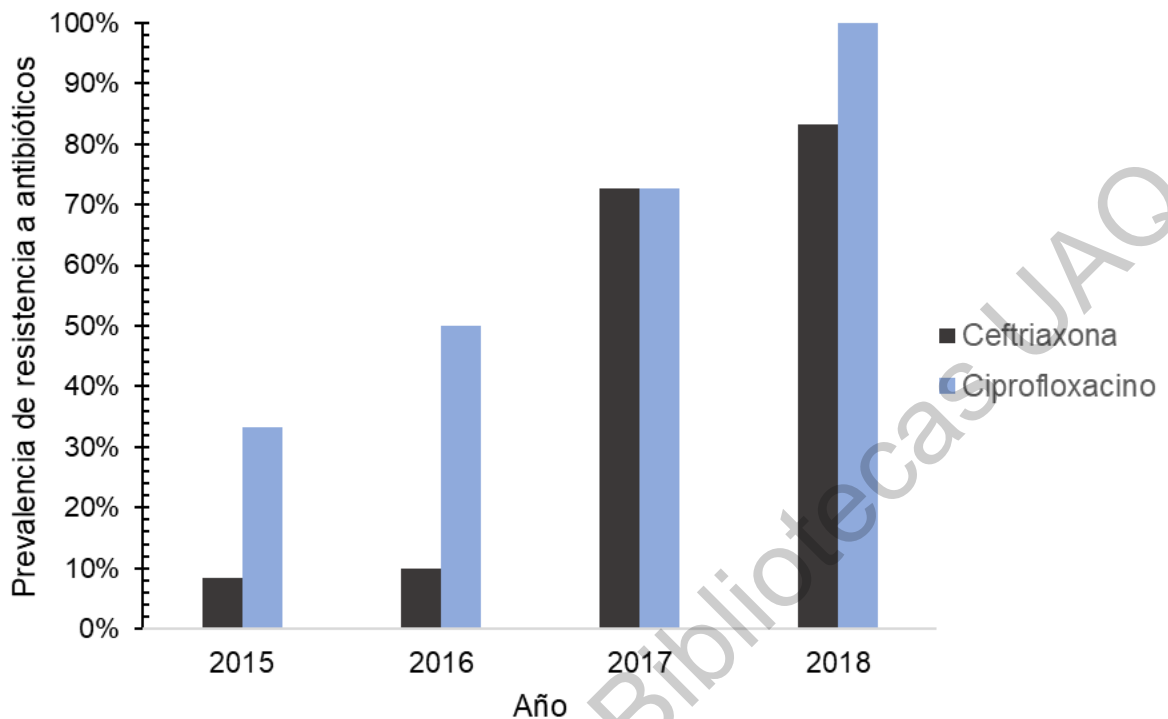
De particular preocupación es la resistencia a los antimicrobianos críticos de último recurso, como los carbapenems y colistina. 5.1% (2/39) de los aislamientos analizados, mostraron resistencia a imipenem (carbapenem) y colistina. En Europa el porcentaje descrito para *S. enterica* resistente a carbapenems es de 0%, no obstante, estudios en África muestran hasta 23.7% (Bisi-Johnson & Obi, 2015) de resistencia a imipenem en aislamientos clínicos humanos, mientras que en la India se identificó 20% de resistencia en aislamientos recuperados en cilantro (Singh *et al.*, 2007). La aparición global de bacterias productoras de carbapenemas condujo

a la reutilización de colistina como última opción terapéutica para el tratamiento de infecciones humanas, con el inevitable riesgo de resistencia emergente, la OMS considera a este antibiótico de importancia crítica en entornos clínicos humanos (OMS, 2011). La propagación de cepas resistentes a colistina se extiende de manera heterogénea, se ha reportado en aislamientos humanos 4.8% en China (J. Lu *et al.*, 2018), 6% en Italia (Carnevali *et al.*, 2016), 8.1% en los Países Bajos (EFSA, 2017a) y 26.4% en África (Konaté, Guessennd, Kouadio, & Dembélé, 2019); no obstante, al analizar aves de corral el porcentaje se incrementa en distintos países, por ejemplo Ecuador (14.5%) (Vinueza-Burgos, Cevallos, Ron-Garrido, Bertrand, & De Zutter, 2016) y Bangladesh (50%)(Hassan, 2014). Esto asociado con el uso profiláctico y metafiláctico en animales de granja como cerdos y aves de corral. La aparición de la resistencia de este patógeno a este tipo de antibiótico pone de relieve un grave problema clínico debido a la falta de opciones terapéuticas.

De acuerdo con este criterio se analizaron de manera individual los resultados de resistencia a antibióticos considerados de último recurso, con la finalidad de establecer la asociación con el potencial de virulencia.

#### **6.3.2.4 Resistencia a antibióticos de último recurso**

La creciente resistencia de microorganismos a antibióticos ha disminuido la disponibilidad de antibióticos para el tratamiento farmacológico efectivo en infecciones por *S. enterica*. Las fluoroquinolonas, cefalosporinas, carbapenems y colistina representan los antibióticos de último recurso (Carnevali *et al.*, 2016; Meletis, 2016). La aparición de aislamientos a este tipo de antibióticos pone de relieve un grave problema clínico debido a la falta de otras opciones terapéuticas. En esta sección se analizaron los datos de resistencia de manera individual para ceftriaxona y ciprofloxacino.



**Gráfica 13.** Porcentaje de aislamientos de *S. enterica* resistente a antimicrobianos de último recurso. Cada año, la resistencia a los antibióticos analizados se incrementó.

Ceftriaxona, una cefalosporina de espectro expandido, es un agente antimicrobiano comúnmente usado para tratar infecciones graves por *S. enterica*, especialmente en niños (Arlet *et al.*, 2006). Los aislamientos analizados presentaron 38.5% (15/39) de resistencia a este antibiótico. Un análisis temporal realizado en México y únicamente para *S. Typhimurium* reportó 77.3% de resistencia a ceftriaxona en carne de pollo (Zaidi *et al.*, 2008b). En EE UU se ha reportado en el 2009, 38% aislamientos resistentes a cefalosporinas en carne de pollo, sin embargo, para 2015 el porcentaje ha disminuido hasta 13% (NARMS, 2017b) esto después de las restricciones por parte de la FDA al uso de cefalosporinas en medicina veterinaria, principalmente ceftiofur (FDA, 2012), una tendencia similar es reportada en Canadá después de adoptar la misma medida



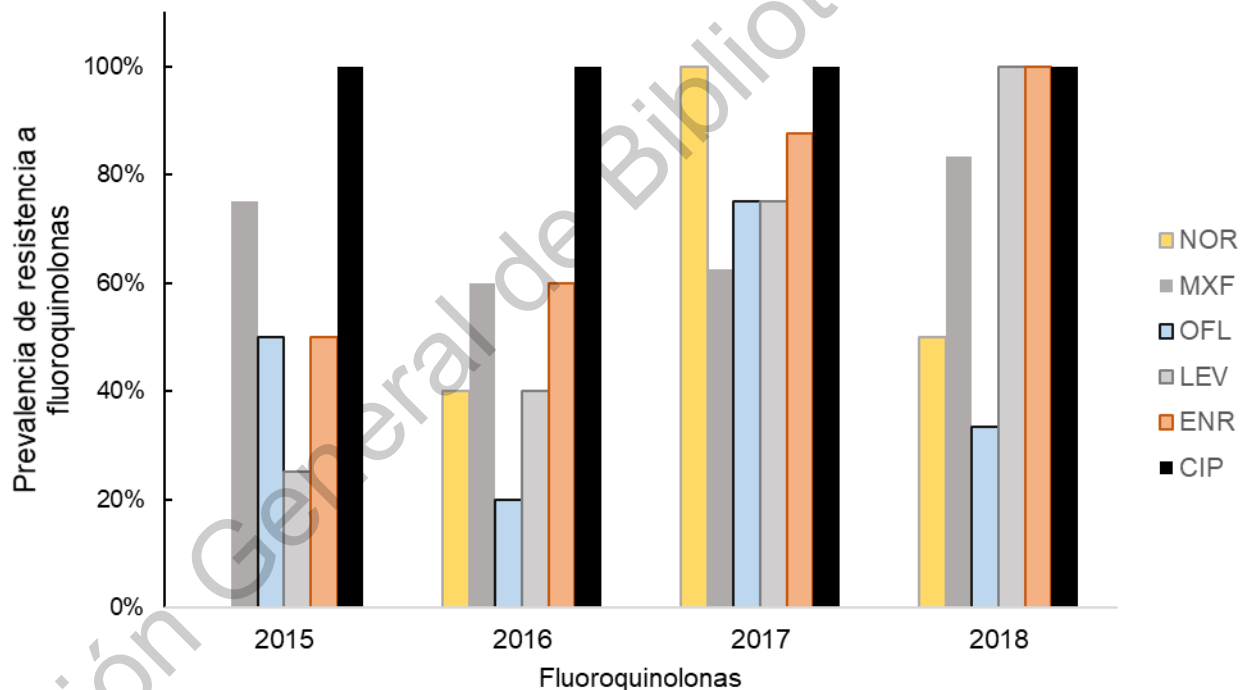
(CIPARS, 2016). Lo que implicaría una posible estrategia en México para limitar la propagación de cepas resistentes a este fármaco.

De manera particular, el incremento de los aislamientos resistentes a ciprofloxacino se duplicó tan sólo en 4 años (**Gráfica 13**). 25 (64.1%) aislamientos fueron resistentes a este antibiótico, lo cual tiene severas implicaciones epidemiológicas en el uso de fluoroquinolonas como tratamiento terapéutico para infecciones por *S. enterica*, ya que es considerado dentro de la clase de las fluoroquinolonas el antibiótico clave. Este porcentaje se encuentra por encima de EE UU (0.7%) (NARMS, 2017c) y Europa (14.5%) (EFSA, 2017b); sin embargo, se han registrado porcentaje similares e inclusive superiores en países como Pakistan, Taiwan y China, con 100%, 46.2% y 1.6-70%, respectivamente (Bai *et al.*, 2015; M. Cui *et al.*, 2016; S. Cui *et al.*, 2008; H.-Y. Lee *et al.*, 2009; Y. Lu *et al.*, 2011; B. Yang *et al.*, 2010). En México Zaidi *et al.*, en el 2008 reportan en pollo la disminución de la susceptibilidad a ciprofloxacino en 24.9% de los aislamientos recuperados (Zaidi *et al.*, 2008a). Una de las causas que se ha asociado a la resistencia de ciprofloxacino en productos cárnicos es el abuso de enrofloxacin en medicina veterinaria en producción, puesto que este es parcialmente metabolizado en hígado, dando lugar a ciprofloxacino el cual actúa sobre las bacterias, por lo que la presión selectiva va encaminada a este antibiótico y al resto de las fluoroquinolonas, generando resistencia limitando su uso como tratamiento farmacológico posterior.

#### **6.3.1.5 Resistencia a fluoroquinolonas**

El 64.1% (25/39) de los aislamientos presentó resistencia a ciprofloxacino. A estos 25 aislamientos se realizó en análisis completo con los 5 miembros de la familia de las fluoroquinolonas, mostrando resistencia similar, enrofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, levofloxacin y norfloxacin, en 84%, 76%, 68%, 76% y 48%,

respectivamente. La resistencia cruzada es un fenómeno donde se considera que un microorganismo que es resistente al antibiótico clave dentro de una clase, es resistente al resto de los miembros (Magiorakos *et al.*, 2012), implicando la resistencia a varios antibióticos dentro de la misma clase, impactando la disponibilidad de fármacos como tratamiento en las infecciones. La resistencia a las fluoroquinolonas genera un gran impacto en la salud pública mundial, ya que en el 2017 la OMS declara a *S. enterica* resistente a fluoroquinolonas como uno de los patógenos prioritarios para los cuales se requieren nuevos antibióticos (Tacconelli *et al.*, 2018).



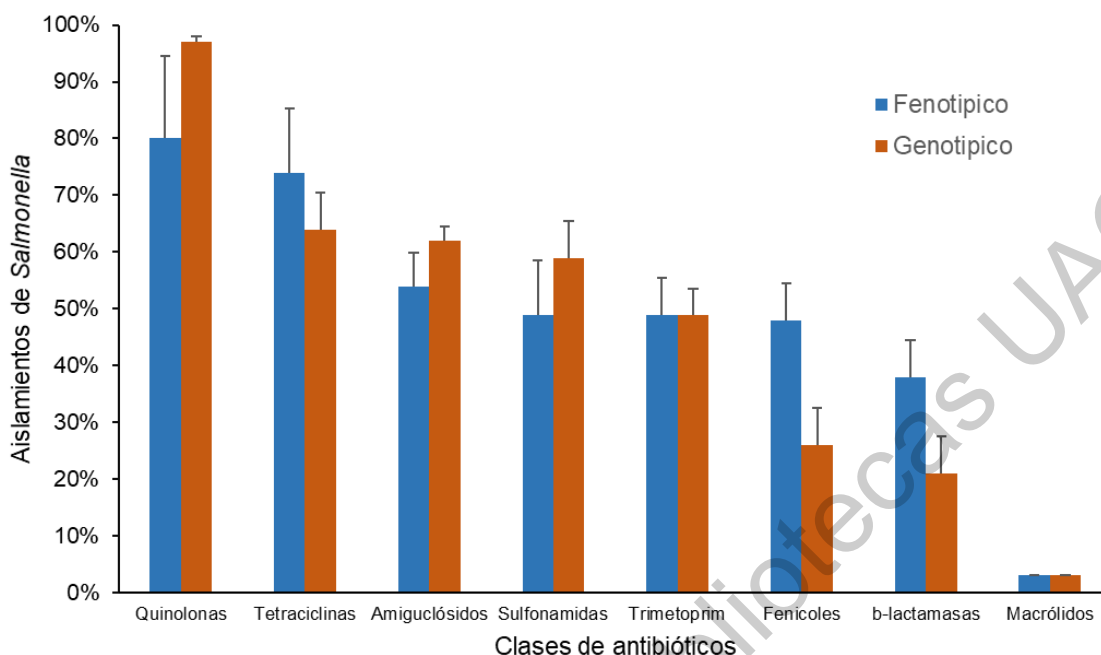
**Gráfica 14.** Prevalencia de resistencia a miembros de la clase de fluoroquinolonas. *NOR*, Norfloxacin; *MXF*, Moxifloxacin; *LEV*, Levofloxacin; *OFL*, Ofloxacin; *ENR*, Enrofloxacin.

Al realizar el análisis estadístico empleando ANOVA ( $P > 0.05$ ) se considera que no existen diferencias entre la resistencia mostrada para cada miembro de las fluoroquinolonas, esto es congruente con el análisis de los patrones, ya que se

observó que el 72% (18/25) de los aislamientos fueron resistentes al menos a 3 miembros de las fluoroquinolonas, de los cuales, 8 (32%) presentaron resistencia a todas las fluoroquinolonas seleccionadas de esta clase (**Gráfica 14**); un resultado esperado bajo el fenómeno de resistencia cruzada (Magiorakos *et al.*, 2012). Esta provee al microorganismo de capacidad para sobrevivir a moléculas relativamente diferentes mediante mecanismos similares. Este fenómeno tiene serias implicaciones epidemiológicas, y resalta la importancia de conocer los patrones de resistencia y proponer medidas que contrarresten la diseminación de organismos multirresistentes. Se considera que la resistencia de *S. enterica* a las fluoroquinolonas es una amenaza grave para la salud pública y la industria (CDC, 2013a; FDA, 2003), puesto que se reconoce a este grupo de antibióticos como medicamentos de importancia crítica para la salud humana (OMS, 2011); a su vez que las infecciones por microorganismo resistentes a fluoroquinolonas se asocian con infecciones persistentes y hospitalizaciones prolongadas (DeFife *et al.*, 2009).

### **6.3.3 SGC como herramienta para predecir la resistencia fenotípica**

En general, no se estableció diferencias estadísticas significativas entre los perfiles genotípicos y fenotípicos (**Gráfica 15**) ( $P > 0.05$ ). Anteriormente la SGC ha demostrado ser exitosa para la predicción de resistencia a antibióticos en otras bacterias patógenas gastrointestinales, incluyendo *Escherichia coli* (Tyson *et al.*, 2015), *Shigella* (Sadouki *et al.*, 2017) y varios serotipos de *S. enterica* (Day *et al.*, 2018; McDermott *et al.*, 2016b; Nair *et al.*, 2004). Nuestros datos corroboran el poder de SGC en la predicción de los fenotipos de resistencia.



**Gráfica 15.** Comparación de resistencia fenotípica y genotípica a antibióticos de aislamientos de *S. enterica* en carne de pollo.

La vigilancia y monitoreo de la resistencia a antibióticos de *S. enterica*, proporciona información valiosa, estableciendo un sistema de alerta temprana para las amenazas de resistencia emergentes. Tener una indicación de las tendencias de resistencia a antimicrobianos podría orientar mejor los esfuerzos de prevención y las disposiciones de manejo e higiene en todas las etapas del procesamiento.

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* han sido la base para guiar la terapia farmacológica y monitorear las tendencias de resistencia antimicrobiana, esta debería complementarse con métodos de secuenciación para ampliar nuestro conocimiento de la resistencia a los antibióticos; y mejorar el uso de puntos de corte de vigilancia más apropiados y un mayor conocimiento de nuevos alelos de resistencia, mejorando aún más las correlaciones.

Existen variaciones que pueden explicarse, donde un aislado es fenotípicamente susceptible pero tiene determinantes de resistencia genética, tal es el caso de las quinolonas, ya que prácticamente la totalidad de los aislamientos (97.4%) presentó determinantes genéticos asociados a la resistencia de esta clase, no obstante la resistencia fenotípica fue menor (64.1%), esta diferencia podría estar asociada con los puntos de corte para las pruebas fenotípicas, ya que posibles variaciones técnicas podrían hacer que un aislado se clasifique falsamente susceptible (Hombach *et al.*, 2016).

Otra explicación, son las variantes genéticas silenciosas que se ha observado que sólo se vuelven transcripcionalmente activas en condiciones *in vivo* o bajo modificaciones de condiciones de crecimiento (Adesiji, Deekshit, & Karunasagar, 2014). También la dosis génica se ha propuesto como responsable de estas diferencias, por ejemplo, los genes *qnr* al presentar un bajo número de copias genera únicamente susceptibilidad reducida a ciprofloxacino (Veldman, van Pelt, & Mevius, 2007) y en otras investigaciones no se considera su presencia suficiente, requiriendo estar acompañada de mutaciones en *gryA* o *parC* (Gunell *et al.*, 2009; Lunn & Fàbrega, 2010).

Otro escenario sucede donde se predice genéticamente que un aislado es susceptible, pero exhibe resistencia fenotípica, lo cual resalta la importancia de una revisión activa de bases de datos de genes de resistencia utilizadas, puesto que probablemente existan determinantes de resistencia no incluidos en las bases de datos de referencias o mecanismos de resistencia novedosos y desconocidos, cuyas determinantes genéticas aún no han sido descritas, o bien mecanismos genéricos de impermeabilidad o genes de bomba de eflujo que no son investigados ya que no generan resistencia para un antibiótico en particular (Becerra *et al.*, 2009).

## 7. CONCLUSIONES

En el presente estudio reveló que los serotipos de *S. enterica* más prevalentes en carne de pollo en puntos de venta son Enteritidis, Infantis, Anatum y Agona, serotipos prevalentes la industria avícola de EE. UU, Canadá y la Unión Europea. Esta información sugiere que, de los más de 2,500 serotipos de *Salmonella* existentes, solo un grupo limitado se ha adaptado a los pollos destinados a producción de carne.

El presente trabajo también reveló que la mayoría (~ 66%) de los aislamientos de *S. enterica* prevalente en carne de pollo, poseen >6 IPS, sugiriendo la presencia de *Salmonella* con potencial de multivirulencia, debido que el número de islas de patogenicidad está asociado a la virulencia de los patógenos. Estos resultados resaltan la necesidad de establecer programas de prevención y control de *Salmonella*, ya que estas cepas extremadamente virulentas representan un importante riesgo a la salud de los manipuladores y consumidores de carne de pollo.

Además, los análisis de resistencia a antibióticos revelaron que un alta (~ 74%) proporción de aislamientos de *S. enterica* fueron resistentes a tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol y ácido nalidíxico. Además, se presentó una gran ocurrencia de MRA con aislamientos resistentes hasta 8 antibióticos. También, se obtuvo una de las primeras evidencias en México de aislamientos resistentes a antibióticos de último recurso, imipenem, colistina, ceftriaxona y ciprofloxacino, recuperados a partir de carne de pollo. En conjunto esto nos sugiere que la carne de pollo puede ser una fuente importante de *S enterica* MRA y un potencial riesgo a para la salud.

En conjunto, este trabajo resalta la urgente necesidad de establecer programas estatales o nacionales de vigilancia continua de *S. enterica* en alimentos,

enfocados a evaluar el potencial de virulencia y MRA de este patógeno. La información generada será fundamental para elucidar la evolución de la virulencia de *Salmonella*; así como generar bases biológicas para establecer medidas de control y prevención efectivas.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 8. PERSPECTIVA

### 8.1 Métodos alternativos al uso de antibióticos

Se ha tratado de emplear métodos alternativos para combatir la resistencia. La estrategia más común ha sido limitar o eliminar su uso de antibióticos, ya que se considera que las mutaciones que confieren resistencia imponen un costo energético a las bacterias en ausencia del antibiótico (Johnsen *et al.*, 2009; Stickland *et al.*, 2009), este costo energético implica un costo a la tasa de replicación, los genotipos sensibles no pagan el costo de resistencia y deberían reemplazar a las cepas resistentes a una tasa proporcional a la magnitud del costo impuesto. Bajo esta actividad bacteriana, esta medida ha permitido que la resistencia a tales antibióticos haya desacelerado su aumento (NARMS, 2017); no obstante, no se ha logrado la completa eliminación de cepas resistentes, aún es ausencia de la presión ambiental (Andersson & Hughes, 2010; Enne *et al.*, 2001; Sundqvist *et al.*, 2010).

En el 2017, la OMS recomendó restringir el uso de antibióticos en la cría de animales de consumo (World Health Organization, 2017), ya que la mayoría de los estudios muestran que después de la introducción de un antibiótico en la práctica veterinaria no sólo aumenta el nivel de resistencia en las bacterias patógenas sino también de las bacterias comensales en la medicina humana (Chen *et al.*, 2013; Marshall, Ochieng, & Levy, 2009; Salyers, Gupta, & Wang, 2004); no obstante, inclusive en granjas libres del uso de antibióticos se han reportado la recuperación de cepas resistentes (M. Cui *et al.*, 2016; Miranda *et al.*, 2009) destacando el papel de factores y vectores ambientales (Fahrenfeld, Ma, O'Brien, & Pruden, 2013; Xu, Tao *et al.*, 2018).

Es necesario promover soluciones alternativas al uso de antibióticos. Una de ellas es el uso de probióticos como *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces*, *Arpergillus oryzae*



y algunas cepas de especies de *Lactobacillus* (*L. animalis*, *L. acidophilus*, *L. casei* u *L. salivarius*). En pollo se ha observado que la suplementación de estas bacterias en el agua potable reduce la colonización cecal de *S. enterica* y la invasión en células epiteliales al igual que el desprendimiento fecal (Menconi *et al.*, 2011; Wolfenden *et al.*, 2007). Mientras que en cerdos además de reducir la colonización e inflamación intestinal, disminuyó la invasión de las células esplénicas y la diarrea asociada (Yang *et al.*, 2017; Yin *et al.*, 2014).

Esta alternativa se complementa con el uso de prebióticos, que son carbohidratos no digeribles que promueven el crecimiento selectivo de probióticos en el intestino debido a la producción de ácidos grasos de cadena corta (Blaut, 2002). Los prebióticos estimulan el sistema inmune del huésped y reducen la expresión de factores de virulencia necesario para la colonización del patógeno, provocando que la unión del patógeno al tejido intestinal disminuya (Eeckhaut *et al.*, 2008; F. Fernandez, Hinton, & Gils, 2002; Pourabedin, Chen, Yang, & Zhao, 2017).

También se ha demostrado que los aceites esenciales tienen actividad antibacteriana, con un efecto positivo en el rendimiento de producción de pollos que se refleja en mayores ganancias de peso corporal y mejor estado de salud general. En particular el eugenol (componente de *S. aromaticum*) y el cinamaldehído (*C. zeylanicum*) tienen un amplio espectro de efectos antibacterianos y antifúngicos, ya que pueden inhibir la producción de enzimas esenciales para las bacterias, lo que las inactiva causándoles daño a la pared celular de las bacterias (Ebani *et al.*, 2019). En particular han mostrado un efecto de inactivación en Typhimurium y Enteritidis, pero no contra *Saccharomyces*, un probiótico empleado con regularidad en la producción animal (Kollanoor-Johny *et al.*, 2012; Tiago *et al.*, 2012), facilitando aún más la proliferación de organismos benéficos.

Así mismo los ácidos orgánicos (p. ej. butirato y propionato) ha generado un gran interés, se ha demostrado que limitan la colonización de *S. enterica*, en concentraciones subinhibitorias disminuyen la motilidad y la expresión de genes de virulencia e invasión, así mismo, se mostró un aumento en la susceptibilidad del patógeno a varios antibióticos (Boyen *et al.*, 2008; Inamuco *et al.*, 2012; Johnny, Hoagland, & Venkitanarayanan, 2010; Kollanoor-Johny *et al.*, 2012; Van Immerseel *et al.*, 2006).

Finalmente, otra alternativa es el uso de bacteriófagos específicos, que representan a un grupo de virus que infectan y se replican en bacterias. Estos virus se han empleado como biocontrol reduciendo la colonización de *S. enterica*, *in vivo* (Berchieri, Lovell, & Barrow, 1991; Higgins *et al.*, 2005) y también en los cadáveres de pollos (Carey-Smith *et al.*, 2006; Sukumaran *et al.*, 2015). La selección de bacteriófagos apropiados y la optimización del momento idóneo de aplicación, son factores cruciales en el control seguro y exitoso.

## 9. REFERENCIA

- Abatcha, M. G., Zakaria, Z., Kaur, D. G., & Thong, K. L. (2014). *Review Article: A trends of Salmonella and antibiotic resistance*. 17, 14.
- Adesiji, Y. O., Deekshit, V. K., & Karunasagar, I. (2014). Antimicrobial-resistant genes associated with *Salmonella* spp. Isolated from human, poultry, and seafood sources. *Food Science & Nutrition*, 2(4), 436-442. <https://doi.org/10.1002/fsn3.119>
- Agerso, Y., Peirano, G., & Aarestrup, F. M. (2006). DfrA25, a novel trimethoprim resistance gene from *Salmonella* Agona isolated from a human urine sample in Brazil. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(5), 1044-1047. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl366>
- Aguilar-Montes de Oca, S., Talavera-Rojas, M., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J., Vázquez-Navarrete, J., Acosta-Dibarrat, J., & Salgado-Miranda, C. (2018). Phenotypic and genotypic profile of clinical and animal multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates from Mexico. *Journal of Applied Microbiology*, 124(1), 67-74. <https://doi.org/10.1111/jam.13615>
- Ajiboye, R. M., Solberg, O. D., Lee, B. M., Raphael, E., DebRoy, C., & Riley, L. W. (2009). Global Spread of Mobile Antimicrobial Drug Resistance Determinants in Human and Animal *Escherichia coli* and *Salmonella* Strains Causing Community-Acquired Infections. *Clinical Infectious Diseases*, 49(3), 365-371. <https://doi.org/10.1086/600301>
- Alcaraz-González, A. (2016). *Análisis temporal de la prevalencia, distribución y diversidad de S. enterica en carne de pollo*. Querétaro.
- Almeida, F., Pitondo-Silva, A., Oliveira, M. A., & Falcão, J. P. (2013). Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25 years in São Paulo State, Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, 19, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.07.004>
- Amavisit, P., Lightfoot, D., Browning, G. F., & Markham, P. F. (2003). Variation between Pathogenic Serovars within *Salmonella* Pathogenicity Islands. *Journal of*

*Bacteriology*, 185(12), 3624-3635. <https://doi.org/10.1128/JB.185.12.3624-3635.2003>

Andersson, D. I., & Hughes, D. (2010). Antibiotic resistance and its cost: Are it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology*, 8(4), 260-271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>

Antipov, D., Hartwick, N., Shen, M., Raiko, M., Lapidus, A., & Pevzner, P. A. (2016). *plasmidSPAdes: Assembling Plasmids from Whole Genome Sequencing Data* [Preprint]. <https://doi.org/10.1101/048942>

Antunes, P., Machado, J., Sousa, J. C., & Peixe, L. (2005). Dissemination of Sulfonamide Resistance Genes (sul1, sul2, and sul3) in Portuguese Salmonella enterica Strains and Relation with Integrons. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 836-839. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.836-839.2005>

Arcangioli, M.-A., Leroy-SÃ©trin, S., Martel, J.-L., & Chaslus-Dancla, E. (1999). A new chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integron structures in *Salmonella typhimurium* DT104. *FEMS Microbiology Letters*, 174(2), 327-332. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13586.x>

Arias-Sánchez, F. I., & Hall, A. R. (2016). Effects of antibiotic resistance alleles on bacterial evolutionary responses to viral parasites. *Biology Letters*, 12(5), 20160064. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2016.0064>

Arlet, G., Barrett, T. J., Butaye, P., Cloeckert, A., Mulvey, M. R., & White, D. G. (2006). Salmonella resistant to extended-spectrum cephalosporins: Prevalence and epidemiology. *Microbes and Infection*, 8(7), 1945-1954. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.12.029>

Ashraf, S., Anjum, A. A., Ahmad, A., Firyal, S., Sana, S., & Latif, A. A. (2018). In vitro activity of *Nigella sativa* against antibiotic resistant *Salmonella enterica*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 58, 54-58. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.12.017>

Ashton, P. M., Nair, S., Peters, T. M., Bale, J. A., Powell, D. G., Painset, A., Salmonella Whole Genome Sequencing Implementation Group. (2016). Identification of

- Salmonella* for public health surveillance using whole genome sequencing. *PeerJ*, 4, e1752. <https://doi.org/10.7717/peerj.1752>
- Bai, L., Lan, R., Zhang, X., Cui, S., Xu, J., Guo, Y., Zhang, D. (2015). Prevalence of *Salmonella* Isolates from Chicken and Pig Slaughterhouses and Emergence of Ciprofloxacin and Cefotaxime Co-Resistant *S. enterica* Serovar Indiana in Henan, China. *PLOS ONE*, 10(12), e0144532. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144532>
- Bakowski, M. A., Cirulis, J. T., Brown, N. F., Finlay, B. B., & Brumell, J. H. (2007). SopD acts cooperatively with SopB during *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion: SopD regulates host-cell membrane dynamics. *Cellular Microbiology*, 9(12), 2839-2855. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.01000.x>
- Balakrishnan, S., Sangeetha, A., & Dhanalakshmi, M. (2018). Prevalence of *Salmonella* in chicken meat and its slaughtering place from local markets in Orathanadu, Thanjavur district, Tamil Nadu. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4.
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology*, 19(5), 455-477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Bäumler, A. J., Winter, S. E., Thiennimitr, P., & Casadesús, J. (2011). Intestinal and chronic infections: *Salmonella* lifestyles in hostile environments: *Salmonella* lifestyles in hostile environments. *Environmental Microbiology Reports*, 3(5), 508-517. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2011.00242.x>
- Becerra, G., Plascencia, A., Luévanos, A., Domínguez, M., & Hernández, I. (2009). *Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias*. 29, 7.
- Behnsen, J., Perez-Lopez, A., Nuccio, S.-P., & Raffatellu, M. (2015). Exploiting host immunity: The *Salmonella* paradigm. *Trends in Immunology*, 36(2), 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.12.003>
- Berchieri, A., Lovell, M. A., & Barrow, P. A. (1991). The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. *Research in Microbiology*, 142(5), 541-549. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(91\)90187-F](https://doi.org/10.1016/0923-2508(91)90187-F)

- Bhavsar, A. P., Brown, N. F., Stoepel, J., Wiermer, M., Martin, D. D. O., Hsu, K. J., Finlay, B. B. (2013). The Salmonella Type III Effector SspH2 Specifically Exploits the NLR Co-chaperone Activity of SGT1 to Subvert Immunity. *PLoS Pathogens*, 9(7), e1003518. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003518>
- Bialvaei, A. Z., & Samadi Kafil, H. (2015). Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Current Medical Research and Opinion*, 31(4), 707-721. <https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989>
- Bisi-Johnson, M., & Obi, C. (2015). Detection of Carbapenem Resistance in Salmonella Species from a Tertiary Hospital in Eastern Cape, South Africa. *British Microbiology Research Journal*, 10(3), 1-6. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2015/18586>
- Blanc-Potard, A.-B., Solomon, F., Kayser, J., & Groisman, E. A. (1999). The SPI-3 Pathogenicity Island of Salmonella enterica. *J. BACTERIOL.*, 181, 7.
- Blaut, M. (2002). Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. *European Journal of Nutrition*, 41(0), 1-1. <https://doi.org/10.1007/s00394-002-1102-7>
- Blondel, C. J., Jiménez, J. C., Contreras, I., & Santiviago, C. A. (2009). Comparative genomic analysis uncovers 3 novel loci encoding type six secretion systems differentially distributed in Salmonella serotypes. *BMC Genomics*, 10(1), 354. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-354>
- Bohez, L., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Van Immerseel, F. (2007). Long-term colonisation–inhibition studies to protect broilers against colonisation with Salmonella Enteritidis, using Salmonella Pathogenicity Island 1 and 2 mutants. *Vaccine*, 25(21), 4235-4243. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.02.082>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Boyen, F., Haesebrouck, F., Vanparys, A., Volf, J., Mahu, M., Van Immerseel, F., Pasmans, F. (2008). Coated fatty acids alter virulence properties of Salmonella Typhimurium and decrease intestinal colonization of pigs. *Veterinary Microbiology*, 132(3-4), 319-327. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.05.008>

- Brink, T., Leiss, V., Siegert, P., Jehle, D., Ebner, J. K., Schwan, C., Orth, J. H. C. (2018). Salmonella Typhimurium effector Ssel inhibits chemotaxis and increases host cell survival by deamidation of heterotrimeric Gi proteins. *PLOS Pathogens*, 14(8), e1007248. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007248>
- Brown, J., Pirrung, M., & McCue, L. A. (2017). FQC Dashboard: Integrates FastQC results into a web-based, interactive, and extensible FASTQ quality control tool. *Bioinformatics*, 33(19), 3137-3139. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx373>
- Browne, S. H., Hasegawa, P., Okamoto, S., Fierer, J., & Guiney, D. G. (2008). Identification of Salmonella SPI-2 secretion system components required for SpvB-mediated cytotoxicity in macrophages and virulence in mice. *FEMS Microbiology Ecology*, 1, 194-201. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00364.x>
- Brunelle, B. W., Bearson, B. L., & Bearson, S. M. D. (2015). Chloramphenicol and tetracycline decrease motility and increase invasion and attachment gene expression in specific isolates of multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00801>
- Bush, K. (2018). Past and Present Perspectives on  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(10), e01076-18, [/aac/62/10/e01076-18.atom](https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18). <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
- Cantón, R., González-Alba, J. M., & Galán, J. C. (2012). CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>
- Cao, G., Allard, M., Strain, E., Stones, R., Zhao, S., Brown, E., & Meng, J. (2014). Genetic Diversity of Salmonella Pathogenicity Islands SPI-5 and SPI-6 in Salmonella Newport. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(10), 798-807. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1784>
- Cao, G., Meng, J., Strain, E., Stones, R., Pettengill, J., Zhao, S., Allard, M. (2013). Phylogenetics and Differentiation of Salmonella Newport Lineages by Whole Genome Sequencing. *PLoS ONE*, 8(2), e55687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055687>

- Capita, R. (2003). Occurrence of salmonellae in retail chicken carcasses and their products in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 81(2), 169-173. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00195-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00195-2)
- Capoor, M. R., Rawat, D., Nair, D., Hasan, A. S., Deb, M., Aggarwal, P., & Pillai, P. (2007). In vitro activity of azithromycin, newer quinolones and cephalosporins in ciprofloxacin-resistant *Salmonella* causing enteric fever. *Journal of Medical Microbiology*, 56(11), 1490-1494. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47353-0>
- Carey-Smith, G. V., Billington, C., Cornelius, A. J., Hudson, J. A., & Heinemann, J. A. (2006). Isolation and characterization of bacteriophages infecting *Salmonella* spp. *FEMS Microbiology Letters*, 258(2), 182-186. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00217.x>
- Carnevali, C., Morganti, M., Scaltriti, E., Bolzoni, L., Pongolini, S., & Casadei, G. (2016). Occurrence of *MCR-1* colistin-resistant *Salmonella* isolates recovered from human and animals in Italy, 2012-2015. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, AAC.01803-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.01803-16>
- Caulfield, T., Evans, J., McGuire, A., McCabe, C., Bubela, T., Cook-Deegan, R., Wilson, B. (2013). Reflections on the Cost of «Low-Cost» Whole Genome Sequencing: Framing the Health Policy Debate. *PLoS Biology*, 11(11), e1001699. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001699>
- CDC. (2013a). *Antibiotic resistance threats in the United States, 2013*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>.
- CDC. (2013b). *Multistate Outbreak of Multidrug-Resistant Salmonella Heidelberg Infections Linked to Foster Farms Brand Chicken*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-10-13/index.html>
- CDC. (2014). *Outbreak of Salmonella Heidelberg Infections Linked to Tyson Brand Mechanically Separated Chicken at a Correctional Facility*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-01-14/index.html>
- CDC. (2015). *Outbreak of Salmonella Enteritidis Infections Linked to Raw, Frozen, Stuffed Chicken Entrees Produced by Aspen Foods*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/salmonella/frozen-chicken-entrees-part2-07-15/index.html>



- CDC. (2017). *Brote multiestatal de infecciones por Salmonella asociado a papayas maradol importadas*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/salmonella/kiambu-07-17/es/index.html>
- CDC. (2018). *Salmonella outbreak 2018*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/salmonella/infantis-10-18/advice.html>
- Chen, H.-M., Wang, Y., Su, L.-H., & Chiu, C.-H. (2013). Nontyphoid Salmonella Infection: Microbiology, Clinical Features, and Antimicrobial Therapy. *Pediatrics & Neonatology*, 54(3), 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.01.010>
- Chironna, M., Tafuri, S., Gallone, M. S., Sallustio, A., Martinelli, D., Prato, R., & Germinario, C. (2014). Outbreak of Salmonella infantis gastroenteritis among people who had eaten at a hash house in southern Italy. *Public Health*, 128(5), 438-443. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2014.02.002>
- Choi, H. W., Brooking-Dixon, R., Neupane, S., Lee, C.-J., Miao, E. A., Staats, H. F., & Abraham, S. N. (2013). Salmonella Typhimurium Impedes Innate Immunity with a Mast-Cell-Suppressing Protein Tyrosine Phosphatase, SptP. *Immunity*, 39(6), 1108-1120. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.11.009>
- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2), 232-260. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>
- Chu, Y., Gao, S., Wang, T., Yan, J., Xu, G., Li, Y., ... Wu, S. (2016). A novel contribution of spvB to pathogenesis of Salmonella Typhimurium by inhibiting autophagy in host cells. *Oncotarget*, 7(7). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6989>
- CIPARS. (2016). *Reductions in Antimicrobial Use and Resistance: Preliminary Evidence of the Effect of the Canadian Chicken Industry's Elimination of Use of Antimicrobials of Very High Importance to Human Medicine*. Recuperado de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/drugs-health-products/canadian-integrated-program-antimicrobial-resistances-surveillance-bulletin.html>

- CLSI. (2015). *M100-S25: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement*. 25 edición, 240.
- Cook, M., Delbecq, S. P., Schweppe, T. P., Guttman, M., Klevit, R. E., & Brzovic, P. S. (2019). The ubiquitin ligase SspH1 from *Salmonella* uses a modular and dynamic E3 domain to catalyze substrate ubiquitylation. *Journal of Biological Chemistry*, 294(3), 783-793. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004247>
- Cui, M., Xie, M., Qu, Z., Zhao, S., Wang, J., Wang, Y., ... Wu, C. (2016). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from an integrated broiler chicken supply chain in Qingdao, China. *Food Control*, 62, 270-276. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.036>
- Cui, S., Li, J., Sun, Z., Hu, C., Jin, S., Guo, Y., ... Ma, Y. (2008). Ciprofloxacin-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium, China. *Emerging Infectious Diseases*, 14(3), 493-495. <https://doi.org/10.3201/eid1403.070857>
- Cuypers, W. L., Jacobs, J., Wong, V., Klemm, E. J., Deborggraeve, S., & Van Puyvelde, S. (2018). Fluoroquinolone resistance in *Salmonella*: Insights by whole-genome sequencing. *Microbial Genomics*, 4(7). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000195>
- Dandekar, T., Fiesemann, A., Fischer, E., Popp, J., Hensel, M., & Noster, J. (2015). *Salmonella*—how a metabolic generalist adopts an intracellular lifestyle during infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00191>
- Day, M. R., Doumith, M., Do Nascimento, V., Nair, S., Ashton, P. M., Jenkins, C., Godbole, G. (2018). Comparison of phenotypic and WGS-derived antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(2), 365-372. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx379>
- Deekshit, V. K., Kumar, B. K., Rai, P., Srikumar, S., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2012). Detection of class 1 integrons in *Salmonella* Weltevreden and silent antibiotic resistance genes in some seafood-associated nontyphoidal isolates of *Salmonella* in south-west coast of India: Detection of class 1 integrons in *Salm. Weltevreden*. *Journal of Applied Microbiology*, 112(6), 1113-1122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05290.x>

- DeFife, R., Scheetz, M. H., Feinglass, J. M., Postelnick, M. J., & Scarsi, K. K. (2009). Effect of Differences in MIC Values on Clinical Outcomes in Patients with Bloodstream Infections Caused by Gram-Negative Organisms Treated with Levofloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(3), 1074-1079. <https://doi.org/10.1128/AAC.00580-08>
- Delcour, A. H. (2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1794(5), 808-816. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.005>
- Delgado-Suárez, E. J., Ortíz-López, R., Gebreyes, W. A., Allard, M. W., Barona-Gómez, F., & Rubio-Lozano, M. S. (2019). Genomic surveillance links livestock production with the emergence and spread of multi-drug resistant non-typhoidal Salmonella in Mexico. *Journal of Microbiology*, 57(4), 271-280. <https://doi.org/10.1007/s12275-019-8421-3>
- Delgado-Suárez, E. J., Selem-Mojica, N., Ortiz-López, R., Gebreyes, W. A., Allard, M. W., Barona-Gómez, F., & Rubio-Lozano, M. S. (2018). Whole genome sequencing reveals widespread distribution of typhoidal toxin genes and VirB/D4 plasmids in bovine-associated nontyphoidal Salmonella. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28169-4>
- Desai, P. T., Porwollik, S., Long, F., Cheng, P., Wollam, A., Clifton, S. W., ... McClelland, M. (2013). Evolutionary Genomics of Salmonella enterica Subspecies. *MBio*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00579-12>
- DeVinney, R., Steele-Mortimer, O., & Finlay, B. B. (2000). Phosphatases and kinases delivered to the host cell by bacterial pathogens. *Trends in Microbiology*, 8(1), 29-33. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(99\)01657-1](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(99)01657-1)
- Dieye, Y., Ameiss, K., Mellata, M., & Curtiss, R. (2009). The Salmonella Pathogenicity Island (SPI) 1 contributes more than SPI2 to the colonization of the chicken by Salmonella enterica serovar Typhimurium. *BMC Microbiology*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-3>
- Dunowska, M., Morley, P. S., Traub-Dargatz, J. L., Davis, M. A., Patterson, G., Frye, J. G., ... Dargatz, D. A. (2007). Comparison of Salmonella enterica serotype Infantis

- isolates from a veterinary teaching hospital. *Journal of Applied Microbiology*, 102(6), 1527-1536. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03198.x>
- Dyson, Z. A., Klemm, E. J., Palmer, S., & Dougan, G. (2019). Antibiotic Resistance and Typhoid. *Clinical Infectious Diseases*, 68(Supplement\_2), S165-S170. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy1111>
- Ebner, P., Garner, K., & Mathew, A. (2004). Class 1 integrons in various *Salmonella enterica* serovars isolated from animals and identification of genomic island SG11 in *Salmonella enterica* var. *Meleagridis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(6), 1004-1009. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh192>
- Eeckhaut, V., Van Immerseel, F., Dewulf, J., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., ... Broekaert, W. F. (2008). Arabinoxyloligosaccharides from Wheat Bran Inhibit *Salmonella* Colonization in Broiler Chickens. *Poultry Science*, 87(11), 2329-2334. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00193>
- EFSA. (2017a). *Salmonella resistance colistina*. Recuperado de [https://www.efsa.europa.eu/en/interactive\\_pages/AMR\\_Report\\_2017](https://www.efsa.europa.eu/en/interactive_pages/AMR_Report_2017)
- EFSA. (2017b). *Salmonella spp resistance to antibiotics*. Recuperado de [https://www.efsa.europa.eu/en/interactive\\_pages/AMR\\_Report\\_2017](https://www.efsa.europa.eu/en/interactive_pages/AMR_Report_2017)
- EFSA. (2017c). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, 262.
- Elder, J. R. (2016). *The Salmonella pathogenicity island 13 contributes to pathogenesis in streptomycin pre-treated mice but not in day-old chickens*. 12.
- Elumalai, S., Muthu, G., Selvam, R. E. M., & Ramesh, S. (2014). Detection of TEM-, SHV- and CTX-M-type  $\beta$ -lactamase production among clinical isolates of *Salmonella* species. *Journal of Medical Microbiology*, 63(Pt\_7), 962-967. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.068486-0>
- Enne, V. I., Livermore, D. M., Stephens, P., & Hall, L. M. (2001). Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *The Lancet*, 357(9265), 1325-1328. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04519-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04519-0)

- Escandón-Vargas, K., Reyes, S., Gutiérrez, S., & Villegas, M. V. (2017). The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 15(3), 277-297. <https://doi.org/10.1080/14787210.2017.1268918>
- Espinoza, R. A., Silva-Valenzuela, C. A., Amaya, F. A., Urrutia, Í. M., Contreras, I., & Santiviago, C. A. (2017). Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhi with murine and human macrophages. *Biological Research*, 50(1). <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0109-8>
- Esquivel-Hernandez. (2018). *Diversidad y distribución de Salmonella enterica en productos cárnicos avícolas*. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro.
- Esquivel-Hernandez, Y., Resendiz-Nava, C., Gonzales, A. A., Castañeda-Serrano, P., & Nava, G. M. (2018). An Improved *invA*-based PCR Method for Rapid and Accurate Detection of *Salmonella* Isolates. 16(2), 6.
- Evans, B. A., & Amyes, S. G. B. (2014). OXA -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(2), 241-263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
- Fahrenfeld, N., Ma, Y., O'Brien, M., & Pruden, A. (2013). Reclaimed water as a reservoir of antibiotic resistance genes: Distribution system and irrigation implications. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00130>
- FDA. (2003). *Guidance for industry 152: Evaluating the safety of antimicrobial new animal drugs with regard to their microbiological effects on bacteria of human health concern*. Recuperado de <https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM052519.pdf>.
- FDA. (2012). *Cephalosporin Order of Prohibition Questions and Answers*. Recuperado de <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2012-01-06/pdf/2012-35.pdf>
- Fernandes, S. A., Ghilardi, Â. C. R., Tavechio, A. T., Machado, A. M. O., & Pignatari, A. C. C. (2003). Phenotypic and molecular characterization of *Salmonella* Enteritidis strains isolated in São Paulo, Brazil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 45(2), 59-63. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000200001>

- Fernandez, F., Hinton, M., & Gils, B. V. (2002). Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella* Enteritidis colonization. *Avian Pathology*, 31(1), 49-58. <https://doi.org/10.1080/03079450120106000>
- Fernández, J., Guerra, B., & Rodicio, M. (2018). Resistance to Carbapenems in Non-Typhoidal *Salmonella enterica* Serovars from Humans, Animals and Food. *Veterinary Sciences*, 5(2), 40. <https://doi.org/10.3390/vetsci5020040>
- Fernandez, L., & Hancock, R. E. W. (2012). Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), 661-681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>
- Figueira, R., & Holden, D. W. (2012). Functions of the *Salmonella* pathogenicity island 2 (SPI-2) type III secretion system effectors. *Microbiology*, 158(Pt\_5), 1147-1161. <https://doi.org/10.1099/mic.0.058115-0>
- Figueroa Ochoa, I. M., & Verdugo Rodríguez, A. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(1-2), 25-42. <https://doi.org/10.1107/S1744309108039882>
- Finstad, S., O'Bryan, C. A., Marcy, J. A., Crandall, P. G., & Ricke, S. C. (2012). *Salmonella* and broiler processing in the United States: Relationship to foodborne salmonellosis. *Food Research International*, 45(2), 789-794. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.057>
- Friebel, A., Ilchmann, H., Aepfelbacher, M., Ehrbar, K., Machleidt, W., & Hardt, W. D. (2001). SopE and SopE2 from *Salmonella typhimurium* Activate Different Sets of RhoGTPases of the Host Cell. *Journal of Biological Chemistry*, 276(36), 34035-34040. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100609200>
- Fu, K. P., Aswapokee, P., Ho, I., Matthijssen, C., & Neu, H. C. (1979). Pharmacokinetics of cefotaxime. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 16(5), 592-597. <https://doi.org/10.1128/AAC.16.5.592>
- Fuentes, J. A., Villagra, N., Castillo-Ruiz, M., & Mora, G. C. (2008). The *Salmonella* Typhi hlyE gene plays a role in invasion of cultured epithelial cells and its functional

- transfer to *S. Typhimurium* promotes deep organ infection in mice. *Research in Microbiology*, 159(4), 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.02.006>
- Gahan, C. (1999). The relationship between acid stress responses and virulence in *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 93-100. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00079-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00079-3)
- Galán, J. E. (2001). *Salmonella* Interactions with Host Cells: Type III Secretion at Work. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 17(1), 53-86. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.53>
- Gallardo, F., Marco, F., Vila, J., Ruiz, J., & Towner, K. J. (1999). Increase in incidence of resistance to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim in clinical isolates of *Salmonella* serotype Typhimurium with investigation of molecular epidemiology and mechanisms of resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 48(4), 367-374. <https://doi.org/10.1099/00222615-48-4-367>
- Gal-Mor, O., Boyle, E. C., & Grassl, G. A. (2014). Same species, different diseases: How and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00391>
- Geisinger, E., & Isberg, R. R. (2017). Interplay Between Antibiotic Resistance and Virulence During Disease Promoted by Multidrug-Resistant Bacteria. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(suppl\_1), S9-S17. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw402>
- Gibson, M. K., Forsberg, K. J., & Dantas, G. (2015). Improved annotation of antibiotic resistance determinants reveals microbial resistomes cluster by ecology. *The ISME Journal*, 9(1), 207-216. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.106>
- Gilchrist, C. A., Turner, S. D., Riley, M. F., Petri, W. A., & Hewlett, E. L. (2015). Whole-Genome Sequencing in Outbreak Analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 541-563. <https://doi.org/10.1128/CMR.00075-13>
- Gong, H., Su, J., Bai, Y., Miao, L., Kim, K., Yang, Y., ... Lu, S. (2009). Characterization of the expression of *Salmonella* Type III secretion system factor PrgI, SipA, SipB, SopE2, SpaO, and SptP in cultures and in mice. *BMC Microbiology*, 9(1), 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-73>

- Gorski, L. (2012). Selective Enrichment Media Bias the Types of *Salmonella enterica* Strains Isolated from Mixed Strain Cultures and Complex Enrichment Broths. *PLoS ONE*, 7(4), e34722. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034722>
- Greig, J., Rajić, A., Young, I., Mascarenhas, M., Waddell, L., & LeJeune, J. (2015). A Scoping Review of the Role of Wildlife in the Transmission of Bacterial Pathogens and Antimicrobial Resistance to the Food Chain. *Zoonoses and Public Health*, 62(4), 269-284. <https://doi.org/10.1111/zph.12147>
- Grimont, P., & Weill, F.-X. (2008). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. *WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella*, 1-167.
- Guerra, B., Soto, S., Cal, S., & Mendoza, M. C. (2000). Antimicrobial Resistance and Spread of Class 1 Integrons among *Salmonella* Serotypes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(8), 2166-2169. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.8.2166-2169.2000>
- Gunell, M., Webber, M. A., Kotilainen, P., Lilly, A. J., Caddick, J. M., Jalava, J., ... Piddock, L. J. V. (2009). Mechanisms of Resistance in Nontyphoidal *Salmonella enterica* Strains Exhibiting a Nonclassical Quinolone Resistance Phenotype. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(9), 3832-3836. <https://doi.org/10.1128/AAC.00121-09>
- Gupta, S. K., Padmanabhan, B. R., Diene, S. M., Lopez-Rojas, R., Kempf, M., Landraud, L., & Rolain, J.-M. (2014). ARG-ANNOT, a New Bioinformatic Tool To Discover Antibiotic Resistance Genes in Bacterial Genomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(1), 212-220. <https://doi.org/10.1128/AAC.01310-13>
- Guran, H. S., Mann, D., & Alali, W. Q. (2017). *Salmonella* prevalence associated with chicken parts with and without skin from retail establishments in Atlanta metropolitan area, Georgia. *Food Control*, 73, 462-467. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.038>
- Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUASt: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072-1075. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086>
- Hall, B. G., & Barlow, M. (2005). *Revised Ambler classification of b-lactamases*. 2.



- Haneda, T., Ishii, Y., Danbara, H., & Okada, N. (2009). Genome-wide identification of novel genomic islands that contribute to *Salmonella* virulence in mouse systemic infection. *FEMS Microbiology Letters*, 297(2), 241-249. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01686.x>
- Haraga, A., Ohlson, M. B., & Miller, S. I. (2008). Salmonellae interplay with host cells. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1), 53-66. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1788>
- Harrison, W. A., Griffith, C. J., Tennant, D., & Peters, A. C. (2001). Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. *Letters in Applied Microbiology*, 33(6), 450-454. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2001.01031.x>
- Hassan, M. M. (2014). Antimicrobial Resistance Pattern against *E. coli* and *Salmonella* in Layer Poultry. *Research Journal for Veterinary Practitioners*, 2(2), 30-35. <https://doi.org/10.14737/journal.rjvp/2014/2.2.30.35>
- Hatti, K., Mathiharan, Y. K., Srinivasan, N., & Murthy, M. R. N. (2017). Seeing but not believing: The structure of glycerol dehydrogenase initially assumed to be the structure of a survival protein from *Salmonella typhimurium*. *Acta Crystallographica Section D Structural Biology*, 73(7), 609-617. <https://doi.org/10.1107/S2059798317007677>
- Hayward, M. R., AbuOun, M., La Ragione, R. M., Tchórzewska, M. A., Cooley, W. A., Everest, D. J., ... Woodward, M. J. (2014). SPI-23 of *S. Derby*: Role in Adherence and Invasion of Porcine Tissues. *PLoS ONE*, 9(9), e107857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107857>
- Hayward, M. R., Petrovska, L., Jansen, V. A. A., & Woodward, M. J. (2016). Population structure and associated phenotypes of *Salmonella enterica* serovars *Derby* and *Mbandaka* overlap with host range. *BMC Microbiology*, 16(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0628-4>
- Helaine, S., Cheverton, A. M., Watson, K. G., Faure, L. M., Matthews, S. A., & Holden, D. W. (2014). Internalization of *Salmonella* by Macrophages Induces Formation of Nonreplicating Persisters. *Science*, 343(6167), 204-208. <https://doi.org/10.1126/science.1244705>

- Hendriksen, R. S., Vieira, A. R., Karlslose, S., Lo Fo Wong, D. M. A., Jensen, A. B., Wegener, H. C., & Aarestrup, F. M. (2011). Global Monitoring of *Salmonella* Serovar Distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: Results of Quality Assured Laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(8), 887-900. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0787>
- Hensel, M. (2004). Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. *International Journal of Medical Microbiology*, 294(2-3), 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2004.06.025>
- Higgins, J. P., Higgins, S. E., Guenther, K. L., Huff, W., Donoghue, A. M., Donoghue, D. J., & Hargis, B. M. (2005). Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products. *Poultry Science*, 84(7), 1141-1145. <https://doi.org/10.1093/ps/84.7.1141>
- Hoffmann, M., Zhao, S., Pettengill, J., Luo, Y., Monday, S. R., Abbott, J., McDermott, P. F. (2014). Comparative Genomic Analysis and Virulence Differences in Closely Related *Salmonella enterica* Serotype Heidelberg Isolates from Humans, Retail Meats, and Animals. *Genome Biology and Evolution*, 6(5), 1046-1068. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu079>
- Hohmann, E. L. (2001). *Nontyphoidal Salmonellosis*. 7.
- Holman, D. B., Bearson, S. M. D., Bearson, B. L., & Brunelle, B. W. (2018). Chlorotetracycline and florfenicol induce expression of genes associated with pathogenicity in multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Gut Pathogens*, 10(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0236-y>
- Hombach, M., Ochoa, C., Maurer, F. P., Pfiffner, T., Böttger, E. C., & Furrer, R. (2016). Relative contribution of biological variation and technical variables to zone diameter variations of disc diffusion susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), 141-151. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv309>
- Huehn, S., La Ragione, R. M., Anjum, M., Saunders, M., Woodward, M. J., Bunge, C., Malorny, B. (2010). Virulotyping and Antimicrobial Resistance Typing of *Salmonella*

- enterica* Serovars Relevant to Human Health in Europe. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(5), 523-535. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0447>
- Ibrahim, G. M., & Morin, P. M. (2018). Salmonella Serotyping Using Whole Genome Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2993. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02993>
- Ikeda, J. S., Janakiraman, A., Kehres, D. G., Maguire, M. E., & Slauch, J. M. (2005). Transcriptional Regulation of sitABCD of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium by MntR and Fur. *Journal of Bacteriology*, 187(3), 912-922. <https://doi.org/10.1128/JB.187.3.912-922.2005>
- Inamuco, J., Veenendaal, A. K. J., Burt, S. A., Post, J. A., Tjeerdsma-van Bokhoven, J. L. M., Haagsman, H. P., & Veldhuizen, E. J. A. (2012). Sub-lethal levels of carvacrol reduce *Salmonella* Typhimurium motility and invasion of porcine epithelial cells. *Veterinary Microbiology*, 157(1-2), 200-207. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.12.021>
- Jacoby, G. A. (2009). AmpC -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161-182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>
- Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1991). More Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases. *E. Coli*, 35, 8.
- Jia, B., Raphenya, A. R., Alcock, B., Waglechner, N., Guo, P., Tsang, K. K., ... McArthur, A. G. (2017). CARD 2017: Expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D566-D573. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1004>
- Jiang, L., Feng, L., Yang, B., Zhang, W., Wang, P., Jiang, X., & Wang, L. (2017). Signal transduction pathway mediated by the novel regulator LoiA for low oxygen tension induced *Salmonella* Typhimurium invasion. *PLOS Pathogens*, 13(6), e1006429. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006429>
- Jiménez, S. M., Tiburzi, M. C., Salsi, M. S., Moguilevsky, M. A., & Pirovani, M. E. (2009). Survival of *Salmonella* on refrigerated chicken carcasses and subsequent transfer to cutting board. *Letters in Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02596.x>

- Johnsen, P. J., Townsend, J. P., Bøhn, T., Simonsen, G. S., Sundsfjord, A., & Nielsen, K. M. (2009). Factors affecting the reversal of antimicrobial-drug resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 9(6), 357-364. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70105-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70105-7)
- Johny, A. K., Hoagland, T., & Venkitanarayanan, K. (2010). Effect of Subinhibitory Concentrations of Plant-Derived Molecules in Increasing the Sensitivity of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104 to Antibiotics. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(10), 1165-1170. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0527>
- Jones, B. D. (2005). *Salmonella Invasion Gene Regulation: A Story of Environmental Awareness*. 43, 9.
- Jones, R. M., Wu, H., Wentworth, C., Luo, L., Collier-Hyams, L., & Neish, A. S. (2008). Salmonella AvrA Coordinates Suppression of Host Immune and Apoptotic Defenses via JNK Pathway Blockade. *Cell Host & Microbe*, 3(4), 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.02.016>
- Kadykalo, S. V., Anderson, M. E. C., & Alsop, J. E. (2018). *Passive surveillance of antimicrobial resistance in Salmonella and Escherichia coli isolates from Ontario livestock, 2007–2015*. 59, 6.
- Kamanova, J., Sun, H., Lara-Tejero, M., & Galán, J. E. (2016). The Salmonella Effector Protein SopA Modulates Innate Immune Responses by Targeting TRIM E3 Ligase Family Members. *PLOS Pathogens*, 12(4), e1005552. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005552>
- Keerthirathne, T., Ross, K., Fallowfield, H., & Whiley, H. (2016). A Review of Temperature, pH, and Other Factors that Influence the Survival of Salmonella in Mayonnaise and Other Raw Egg Products. *Pathogens*, 5(4), 63. <https://doi.org/10.3390/pathogens5040063>
- Kempf, I. (2016). *Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals*. 50.
- Khan, A. S., Georges, K., Rahaman, S., Abdela, W., & Adesiyun, A. A. (2018). Prevalence and serotypes of Salmonella spp. On chickens sold at retail outlets in

- Trinidad. *PLOS ONE*, 13(8), e0202108.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202108>
- Khan, S. A., Stratford, R., Wu, T., Mckelvie, N., Bellaby, T., Hindle, Z., Brennan, F. R. (2003). Salmonella typhi and S. typhimurium derivatives harbouring deletions in aromatic biosynthesis and Salmonella Pathogenicity Island-2 (SPI-2) genes as vaccines and vectors. *Vaccine*, 21(5-6), 538-548. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(02\)00410-3](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(02)00410-3)
- Khemtong, S., & Chuanchuen, R. (2008). Class 1 Integrons and *Salmonella* Genomic Island 1 Among *Salmonella enterica* Isolated from Poultry and Swine. *Microbial Drug Resistance*, 14(1), 65-70. <https://doi.org/10.1089/mdr.2008.0807>
- Knodler, L. A., Finlay, B. B., & Steele-Mortimer, O. (2005). The Salmonella Effector Protein SopB Protects Epithelial Cells from Apoptosis by Sustained Activation of Akt. *Journal of Biological Chemistry*, 280(10), 9058-9064. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412588200>
- Kollanoor-Johny, A., Upadhyay, A., Baskaran, S. A., Upadhyaya, I., Mooyottu, S., Mishra, N., ... Venkitanarayanan, K. (2012). Effect of therapeutic supplementation of the plant compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol on *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization in market-age broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research*, 21(4), 816-822. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00540>
- Konaté, A., Guessennd, N. K., Kouadio, F. K., & Dembélé, R. (2019). Epidemiology and Resistance Phenotypes of *Salmonella* spp. Strains Responsible for Gastroenteritis in Children less than Five Years of Age in Ouagadougou, Burkina Faso. *Archives of Clinical Microbiology*, 7.
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., & Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(6), a027029. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029>
- Kuhle, V., & Hensel, M. (2004). Cellular microbiology of intracellular *Salmonella enterica*: Functions of the type III secretion system encoded by *Salmonella* pathogenicity island 2. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(22), 2812-2826. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4248-z>

- Kurtz, J. R., Goggins, J. A., & McLachlan, J. B. (2017). Salmonella infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology Letters*, 190, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.07.006>
- La Ragione, R. M., Cooley, W. A., Velge, P., Jepson, M. A., & Woodward, M. J. (2003). Membrane ruffling and invasion of human and avian cell lines is reduced for aflagellate mutants of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *International Journal of Medical Microbiology*, 293(4), 261-272. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00263>
- Lee, H.-Y., Su, L.-H., Tsai, M.-H., Kim, S.-W., Chang, H.-H., Jung, S.-I., Chiu, C.-H. (2009). High Rate of Reduced Susceptibility to Ciprofloxacin and Ceftriaxone among Nontyphoid *Salmonella* Clinical Isolates in Asia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(6), 2696-2699. <https://doi.org/10.1128/AAC.01297-08>
- Leekitcharoenphon, P., Nielsen, E. M., Kaas, R. S., Lund, O., & Aarestrup, F. M. (2014). Evaluation of Whole Genome Sequencing for Outbreak Detection of *Salmonella enterica*. *PLoS ONE*, 9(2), e87991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087991>
- Lerminiaux, N. A., & Cameron, A. D. S. (2019). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(1), 34-44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>
- Levings, R. S., Djordjevic, S. P., & Hall, R. M. (2008). SGI2, a relative of *Salmonella* genomic island SGI1 with an independent origin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(7), 2529-2537. <https://doi.org/10.1128/AAC.00189-08>
- Levings, R. S., Lightfoot, D., Partridge, S. R., Hall, M., Djordjevic, S. P., & Hall, R. M. (2005). The Genomic Island SGI1 , Containing the Multiple Antibiotic Resistance Region of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104 or Variants of It , Is Widely Distributed in Other *S. enterica* Serovars The Genomic Island SGI1 , Containing the Multiple Anti. *Journal of Bacteriology*, 187(13), 4401-4409. <https://doi.org/10.1128/JB.187.13.4401>
- Lima, T., Domingues, S., & Da Silva, G. (2019). Plasmid-Mediated Colistin Resistance in *Salmonella enterica*: A Review. *Microorganisms*, 7(2), 55. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7020055>

- Liu, B., & Pop, M. (2009). ARDB--Antibiotic Resistance Genes Database. *Nucleic Acids Research*, 37(Database), D443-D447. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn656>
- Liu, S.-L., Ezaki, T., Miura, H., Matsui, K., & Yabuuchi, E. (1988). *Intact Motility as a Salmonella typhi Invasion-Related Factor*. 56, 7.
- Livermore, D. M. (2008). *Defining an extended-spectrum b-lactamase*. 8.
- Lu, J., Quan, J., Zhao, D., Wang, Y., Yu, Y., & Zhu, J. (2018). Prevalence and molecular characteristics of mcr-1 gene in *Salmonella typhimurium* in a tertiary hospital of Zhejiang Province. *Infection and Drug Resistance*, Volume 12, 105-110. <https://doi.org/10.2147/IDR.S190269>
- Lu, Y., Wu, C.-M., Wu, G.-J., Zhao, H.-Y., He, T., Cao, X.-Y., ... Shen, J.-Z. (2011). Prevalence of Antimicrobial Resistance Among *Salmonella* Isolates from Chicken in China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(1), 45-53. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0605>
- Lunn, A. D., & Fàbrega, A. (2010). Prevalence of mechanisms decreasing quinolone-susceptibility among *Salmonella* spp. Clinical isolates. *International Microbiology*, (13), 15-20. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.107>
- Luo, Y., Yi, W., Yao, Y., Zhu, N., & Qin, P. (2018). Characteristic diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella* from gastroenteritis. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 24(4), 251-255. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2017.11.003>
- MacKenzie, K. D., Palmer, M. B., Köster, W. L., & White, A. P. (2017). Examining the Link between Biofilm Formation and the Ability of Pathogenic *Salmonella* Strains to Colonize Multiple Host Species. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(August), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00138>
- Madden, R. H., Moran, L., Scates, P., McBride, J., & Kelly, C. (2011). Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* in Raw Chicken on Retail Sale in the Republic of Ireland. *Journal of Food Protection*, 74(11), 1912-1916. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-104>
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard

- definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268-281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Main-Hester, K. L., Colpitts, K. M., Thomas, G. A., Fang, F. C., & Libby, S. J. (2008). Coordinate Regulation of Salmonella Pathogenicity Island 1 (SPI1) and SPI4 in Salmonella enterica Serovar Typhimurium. *Infection and Immunity*, 76(3), 1024-1035. <https://doi.org/10.1128/IAI.01224-07>
- Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., Hoekstra, R. M. (2010). The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, 50(6), 882-889. <https://doi.org/10.1086/650733>
- Marcus, S. L., Brumell, J. H., Pfeifer, C. G., & Finlay, B. B. (2000). Salmonella pathogenicity islands: Big virulence in small packages. *Microbes and Infection*, 2(2), 145-156. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00273-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00273-2)
- Marshall, B. M., Ochieng, D. J., & Levy, S. B. (2009). Commensals: Underappreciated Reservoir of Antibiotic Resistance. *Microbe Magazine*, 4(5), 231-238. <https://doi.org/10.1128/microbe.4.231.1>
- Martínez, J. L., & Rojo, F. (2011). Metabolic regulation of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 768-789. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00282.x>
- Mayrhofer, S., Paulsen, P., Smulders, F. J. M., & Hilbert, F. (2004). Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 97(1), 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.04.006>
- McArthur, A. G., Waglechner, N., Nizam, F., Yan, A., Azad, M. A., Baylay, A. J., Wright, G. D. (2013). The Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(7), 3348-3357. <https://doi.org/10.1128/AAC.00419-13>
- McClelland, M., Sanderson, K. E., Spieth, J., Clifton, S. W., Latreille, P., Courtney, L., Wilson, R. K. (2001). Complete genome sequence of Salmonella enterica serovar Typhimurium LT2. *Nature*, 413(6858), 852-856. <https://doi.org/10.1038/35101614>



- McDermott, P. F., Tyson, G. H., Kabera, C., Chen, Y., Li, C., Folster, J. P., Zhao, S. (2016a). Whole-Genome Sequencing for Detecting Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal Salmonella. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(9), 5515-5520. <https://doi.org/10.1128/AAC.01030-16>
- McDermott, P. F., Tyson, G. H., Kabera, C., Chen, Y., Li, C., Folster, J. P., Zhao, S. (2016b). Whole-Genome Sequencing for Detecting Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal Salmonella. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(9), 5515-5520. <https://doi.org/10.1128/AAC.01030-16>
- McGhie, E. J., Brawn, L. C., Hume, P. J., Humphreys, D., & Koronakis, V. (2009). Salmonella takes control: Effector-driven manipulation of the host. *Current Opinion in Microbiology*, 12(1), 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.12.001>
- McQuiston, J. R., Parrenas, R., Ortiz-Rivera, M., Gheesling, L., Brenner, F., & Fields, P. I. (2004). Sequencing and Comparative Analysis of Flagellin Genes *fliC*, *fljB*, and *flpA* from Salmonella. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(5), 1923-1932. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.1923-1932.2004>
- Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 3(1), 15-21. <https://doi.org/10.1177/2049936115621709>
- Menconi, A., Wolfenden, A. D., Shivaramaiah, S., Terraes, J. C., Urbano, T., Kuttel, J., Tellez, G. (2011). Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of Salmonella enterica serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. *Poultry Science*, 90(3), 561-565. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01220>
- Mercado, M., Avila, J., Rey, M., Montoya, M., Gamboa, A., Carrascal, A. K., & Correa, D. X. (2012). Brotes por Salmonella spp., Staphylococcus aureus y Listeria monocytogenes asociados al consumo de pollo. Revisión sistemática de la literatura. *Biomédica*, 32(3). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.697>
- Mesquita, F. S., Holden, D. W., & Rolhion, N. (2013). Lack of Effect of the Salmonella Deubiquitinase SseL on the NF- $\kappa$ B Pathway. *PLoS ONE*, 8(1), e53064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053064>

- Michael, G. B., & Schwarz, S. (2016). Antimicrobial resistance in zoonotic nontyphoidal Salmonella: An alarming trend? *Clinical Microbiology and Infection*, 22(12), 968-974. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.033>
- Miranda, J. M., Mondragón, A. C., Martínez, B., Guarddon, M., & Rodríguez, J. A. (2009). Prevalence and Antimicrobial Resistance Patterns of Salmonella from Different Raw Foods in Mexico. *Journal of Food Protection*, 72(5), 966-971. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.5.966>
- Mirold, S., Ehrbar, K., Weissmuller, A., Prager, R., Tschape, H., Russmann, H., & Hardt, W.-D. (2001). Salmonella Host Cell Invasion Emerged by Acquisition of a Mosaic of Separate Genetic Elements, Including Salmonella Pathogenicity Island 1 (SPI1), SPI5, and sopE2. *Journal of Bacteriology*, 183(7), 2348-2358. <https://doi.org/10.1128/JB.183.7.2348-2358.2001>
- Moncrief, M. B. C., & Maguire, M. E. (1998). Magnesium and the Role of mgtC in Growth of Salmonella typhimurium. *INFECT. IMMUN.*, 66, 8.
- Müller, P., Chikkaballi, D., & Hensel, M. (2012). Functional Dissection of SseF, a Membrane-Integral Effector Protein of Intracellular Salmonella enterica. *PLoS ONE*, 7(4), e35004. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035004>
- Mulvey, M. R., Boyd, D. A., Finley, R., Fakharuddin, K., Langner, S., Allen, V., Wylie, J. (2013). Ciprofloxacin-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Kentucky in Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 19(6), 999-1001. <https://doi.org/10.3201/eid1906.121351>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Murányi, G., Szabó, M., Olasz, F., & Kiss, J. (2016). Determination and analysis of the putative AcaCD-responsive promoters of salmonella genomic island 1. *PLoS ONE*, 11(10), 1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164561>
- Mutwakil. (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.486.510>

- Nair, S., Alokam, S., Kothapalli, S., Porwollik, S., Proctor, E., Choy, C., Sanderson, K. E. (2004). Salmonella enterica Serovar Typhi Strains from Which SPI7, a 134-Kilobase Island with Genes for Vi Exopolysaccharide and Other Functions, Has Been Deleted. *Journal of Bacteriology*, 186(10), 3214-3223. <https://doi.org/10.1128/JB.186.10.3214-3223.2004>
- NARMS. (2017a). *2015 NARMS Integrated Report*. Recuperado de fda website: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2015-narms-integrated-report>
- NARMS. (2017b). *Salmonella resistance cephalosporine*. Recuperado de <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2015-narms-integrated-report>
- NARMS. (2017c). *Susceptibilidad de Salmonella a ciprofloxacino*. Recuperado de <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2015-narms-integrated-report>
- Nga, T. V. T., Karkey, A., Dongol, S., Thuy, H. N., Dunstan, S., Holt, K., Baker, S. (2010). The sensitivity of real-time PCR amplification targeting invasive Salmonellaserovars in biological specimens. *BMC Infectious Diseases*, 10(1), 125. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-125>
- Nógrády, N., Tóth, Á., Kostyák, Á., Pászti, J., & Nagy, B. (2007). Emergence of multidrug-resistant clones of Salmonella Infantis in broiler chickens and humans in Hungary. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(3), 645-648. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm249>
- NOM-251-SSA1-2009. (2009). *Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*. Recuperado de <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm>
- Ochman, H., Lawrence, J. G., & Groisman, E. A. (2000). *Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation*. 405, 6.
- Ochoa, I. M. F., & Rodríguez, A. V. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de Salmonella sp. *Rev Latinoam Microbiol*, 19.

- Ohlson, M. B., Huang, Z., Alto, N. M., Blanc, M.-P., Dixon, J. E., Chai, J., & Miller, S. I. (2008). Structure and Function of Salmonella SifA Indicate that Its Interactions with SKIP, SseJ, and RhoA Family GTPases Induce Endosomal Tubulation. *Cell Host & Microbe*, 4(5), 434-446. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.08.012>
- Okeke, I. N., Laxminarayan, R., Bhutta, Z. A., Duse, A. G., Jenkins, P., O'Brien, T. F., Klugman, K. P. (2005). Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: Recent trends and current status. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(8), 481-493. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70189-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70189-4)
- OMS. (2011). *Critically important antimicrobials for human medicine*. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77376/?jsessionid=0C947CA333F9F82CF7708F537AE6FB85?sequence=1>
- OMS. (2015). *United Nations meeting on antimicrobial resistance*. Recuperado de <https://www.who.int/bulletin/volumes/94/9/16-020916/en/>
- OMS. (2018). *Salmonella es una de las cuatro principales causas de enfermedades diarreicas*. Recuperado de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- Ordooei Javan, A., Shokouhi, S., & Sahraei, Z. (2015). A review on colistin nephrotoxicity. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 71(7), 801-810. <https://doi.org/10.1007/s00228-015-1865-4>
- Osman, K. M., Marouf, S. H., & Alatfeehy, N. (2013). Antimicrobial Resistance and Virulence-Associated Genes of *Salmonella enterica* Subsp. *Enterica* Serotypes Muenster, Florian, Omuna, and Noya Strains Isolated from Clinically Diarrheic Humans in Egypt. *Microbial Drug Resistance*, 19(5), 370-377. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0151>
- Palmer, A. D., Kim, K., & Slauch, J. M. (2019). PhoP-Mediated Repression of the SPI1 Type 3 Secretion System in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 201(16), e00264-19, [/jb/201/16/JB.00264-19.atom](https://doi.org/10.1128/JB.00264-19). <https://doi.org/10.1128/JB.00264-19>
- Papezova, K., Havlickova, H., Sisak, F., Kummer, V., Faldyna, M., & Rychlik, I. (2008). Comparison of live and inactivated *Salmonella* Typhimurium vaccines containing

- different combinations of SPI-1 and SPI-2 antigens in poultry. *Veterinární Medicina*, 53(No. 6), 315-323. <https://doi.org/10.17221/1858-VETMED>
- Perez-Montaña, J. A., Gonzalez-Aguilar, D., Barba, J., Pacheco-Gallardo, C., Campos-Bravo, C. A., Garcia, S., ... Cabrera-Diaz, E. (2012). Frequency and Antimicrobial Resistance of Salmonella Serotypes on Beef Carcasses at Small Abattoirs in Jalisco State, Mexico. *Journal of Food Protection*, 75(5), 867-873. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-423>
- Pérez-Morales, D., Banda, M. M., Chau, N. Y. E., Salgado, H., Martínez-Flores, I., Ibarra, J. A., ... Bustamante, V. H. (2017). The transcriptional regulator SsrB is involved in a molecular switch controlling virulence lifestyles of Salmonella. *PLOS Pathogens*, 13(7), e1006497. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006497>
- Pessoa-Silva, C. L., Toscano, C. M., Moreira, B. M., Santos, A. L., Frota, A. C. C., Solari, C. A., ... Jarvis, W. R. (2002). Infection due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Salmonella enterica subsp. Enterica serotype infantis in a neonatal unit. *The Journal of Pediatrics*, 141(3), 381-387. <https://doi.org/10.1067/mpd.2002.127279>
- Pezoa, D., Yang, H.-J., Blondel, C. J., Santiviago, C. A., Andrews-Polymenis, H. L., & Contreras, I. (2013). The Type VI Secretion System Encoded in SPI-6 Plays a Role in Gastrointestinal Colonization and Systemic Spread of Salmonella enterica serovar Typhimurium in the Chicken. *PLoS ONE*, 8(5), e63917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063917>
- PHAC. (2017). *Outbreak Salmonella braenderup. Raw chicken*. Recuperado de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/public-health-notices/2018/outbreaks-salmonella-infections-linked-raw-chicken-including-frozen-raw-breaded-chicken-products.html>
- PHAC. (2018). *Public Health Notice – Outbreak of Salmonella infections linked to poultry, including frozen raw breaded chicken products*. Recuperado de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/public-health-notices/2018/public-health-notice-outbreak-salmonella-infections-linked-poultry-frozen-raw-breaded-chicken-products.html>

- PHAC. (2019). *Outbreaks of Salmonella infections linked to raw chicken, including frozen raw breaded chicken products*. Recuperado de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/public-health-notices/2018/outbreaks-salmonella-infections-linked-raw-chicken-including-frozen-raw-breaded-chicken-products.html>
- Pickard, D., Wain, J., Baker, S., Line, A., Chohan, S., Fookes, M., ... Dougan, G. (2003). Composition, Acquisition, and Distribution of the Vi Exopolysaccharide-Encoding Salmonella enterica Pathogenicity Island SPI-7. *Journal of Bacteriology*, 185(17), 5055-5065. <https://doi.org/10.1128/JB.185.17.5055-5065.2003>
- Porwollik, Steffen. (2011). *Salmonella: from genome to function* (1° Edition). Estados Unidos.
- Pourabedin, M., Chen, Q., Yang, M., & Zhao, X. (2017). Mannan- and xylooligosaccharides modulate caecal microbiota and expression of inflammatory-related cytokines and reduce caecal *Salmonella* Enteritidis colonisation in young chickens. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(1), fiw226. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw226>
- Pradhan, A. K., Li, M., Li, Y., Kelso, L. C., Costello, T. A., & Johnson, M. G. (2012). A modified Weibull model for growth and survival of *Listeria innocua* and *Salmonella* Typhimurium in chicken breasts during refrigerated and frozen storage. *Poultry Science*, 91(6), 1482-1488. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01851>
- Prasertsee, T., Chuammitri, P., Deudom, M., Chokesajjawatee, N., Santiyanont, P., Tadee, P., ... Patchanee, P. (2019). Core genome sequence analysis to characterize *Salmonella enterica* serovar Rissen ST469 from a swine production chain. *International Journal of Food Microbiology*, 304, 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.022>
- Pribul, B. R., Festivo, M. L., Rodrigues, M. S., Costa, R. G., Rodrigues, E. C. dos P., de Souza, M. M. S., & Rodrigues, D. dos P. (2017). Characteristics of Quinolone Resistance in *Salmonella* spp. Isolates from the Food Chain in Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00299>
- Randjelovi, P. (2017). Gentamicin nephrotoxicity in animals: current knowledge and future perspectives. *EXCLI Journal*, 12.

- Ranjan, A. (2009). Antibacterial efficacy of core-shell nanostructures encapsulating gentamicin against an in vivo intracellular &nbsp; Salmonella model. *International Journal of Nanomedicine*, 289. <https://doi.org/10.2147/IJN.S7137>
- Riquelme, S., Varas, M., Valenzuela, C., Velozo, P., Chahin, N., Aguilera, P., Santiviago, C. A. (2016). Relevant genes linked to virulence are required for Salmonella typhimurium to survive intracellularly in the social amoeba Dictyostelium discoideum. *Frontiers in Microbiology*, 7(AUG), 1-10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01305>
- Rowe, B., Ward, L. R., & Threlfall, E. J. (1997). Multidrug-Resistant Salmonella typhi: A Worldwide Epidemic. *Clinical Infectious Diseases*, 24(Supplement\_1), S106-S109. [https://doi.org/10.1093/clinids/24.Supplement\\_1.S106](https://doi.org/10.1093/clinids/24.Supplement_1.S106)
- Rychlik, I., Karasova, D., Sebkova, A., Volf, J., Sisak, F., Havlickova, H., Nagy, B. (2009). Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of Salmonella enterica serovar Enteritidis for chickens. *BMC Microbiology*, 9(1), 268. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-268>
- Sadouki, Z., Day, M. R., Doumith, M., Chattaway, M. A., Dallman, T. J., Hopkins, K. L., Jenkins, C. (2017). Comparison of phenotypic and WGS-derived antimicrobial resistance profiles of Shigella sonnei isolated from cases of diarrhoeal disease in England and Wales, 2015. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(9), 2496-2502. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx170>
- Sáenz-García. (2016). *Desarrollo de ensayos moleculares para la identificación y cuantificación de los principales organismos específicos deterioradores en carne de pollo*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Salcedo, S. P., Noursadeghi, M., Cohen, J., & Holden, D. W. (2001). Intracellular replication of *Salmonella typhimurium* strains in specific subsets of splenic macrophages *in vivo*. *Cellular Microbiology*, 3(9), 587-597. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2001.00137.x>
- Salyers, A., Gupta, A., & Wang, Y. (2004). Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends in Microbiology*, 12(9), 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.07.004>

- Sana, T. G., Flaughnatti, N., Lugo, K. A., Lam, L. H., Jacobson, A., Baylot, V., Monack, D. M. (2016). *Salmonella* Typhimurium utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(34), E5044-E5051. <https://doi.org/10.1073/pnas.1608858113>
- Sandoval-Motta, S., & Aldana, M. (2016). Adaptive resistance to antibiotics in bacteria: A systems biology perspective: Adaptive resistance to antibiotics in bacteria. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 8(3), 253-267. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1335>
- Sandvang, D., Aarestrup, F. M., & Jensen, L. B. (1998). Characterisation of integrons and antibiotic resistance genes in Danish multiresistant *Salmonella enterica* Typhimurium DT104. *FEMS Microbiology Letters*, 160(1), 37-41. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb12887.x>
- Schlumberger, M. C., & Hardt, W.-D. (2006). *Salmonella* type III secretion effectors: Pulling the host cell's strings. *Current Opinion in Microbiology*, 9(1), 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.12.006>
- Schroeder, S., Harries, M., Prager, R., Höfig, A., Ahrens, B., Hoffmann, L., Rimek, D. (2016). A prolonged outbreak of *Salmonella* Infantis associated with pork products in central Germany, April–October 2013. *Epidemiology and Infection*, 144(7), 1429-1439. <https://doi.org/10.1017/S0950268815002629>
- Seth-Smith, H. M. B. (2008). SPI-7: *Salmonella*'s Vi-Encoding Pathogenicity Island. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(04), 267-271. <https://doi.org/10.3855/jidc.220>
- Sharma, V. K., Johnson, N., Cizmas, L., McDonald, T. J., & Kim, H. (2016). A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere*, 150, 702-714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.084>
- Sharvani, R. (2016). Antibigram of *Salmonella* Isolates: Time to Consider Antibiotic Salvage. *Journal of clinical and diagnostic research*. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/18102.7753>



- Shea, J. E., Beuzon, C. R., Gleeson, C., Mundy, R., & Holden, D. W. (1999). Influence of the *Salmonella typhimurium* Pathogenicity Island 2 Type III Secretion System on Bacterial Growth in the Mouse. *INFECT. IMMUN.*, 67, 7.
- Shrestha, K. L., Pant, N. D., Bhandari, R., Khatri, S., Shrestha, B., & Lekhak, B. (2016). Re-emergence of the susceptibility of the *Salmonella* spp. Isolated from blood samples to conventional first line antibiotics. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 5(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0121-8>
- Singh, B. R., Singh, P., Agrawal, S., Teotia, U., Verma, A., Sharma, S., Kant Agarwal, R. (2007). Prevalence of Multidrug Resistant *Salmonella* in Coriander, Mint, Carrot, and Radish in Bareilly and Kanpur, Northern India. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4(2), 233-240. <https://doi.org/10.1089/fpd.2006.0082>
- Singh, Y., Saxena, A., Kumar, R., & Saxena, M. K. (2018). Virulence System of *Salmonella* with Special Reference to *Salmonella enterica*. En M. T. Mascellino (Ed.), *Salmonella—A Re-emerging Pathogen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.77210>
- Sjölund-Karlsson, M., Joyce, K., Blickenstaff, K., Ball, T., Haro, J., Medalla, F. M., Whichard, J. M. (2011). Antimicrobial Susceptibility to Azithromycin among *Salmonella enterica* Isolates from the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(9), 3985-3989. <https://doi.org/10.1128/AAC.00590-11>
- Smith, H. W., & Tucker, J. F. (1976). The virulence of trimethoprim-resistant thymine-requiring strains of *Salmonella*. *Journal of Hygiene*, 76(1), 97-108. <https://doi.org/10.1017/S0022172400054991>
- Solghan, S. M., Dumas, N. B., Root, T. P., Quinlan, T. M., Armstrong, L. R., Spina, N. L., & Zansky, S. M. (2010). Multidrug-Resistant Nontyphoidal *Salmonella* in New York State's Foodborne Diseases Active Surveillance Network Counties. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(2), 167-173. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0329>
- Soufi, L., Sáenz, Y., de Toro, M., Salah Abbassi, M., Rojo-Bezares, B., Vinué, L., Torres, C. (2012). Phenotypic and Genotypic Characterization of *Salmonella enterica* Recovered from Poultry Meat in Tunisia and Identification of New Genetic Traits.

- Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(1), 10-16.  
<https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0667>
- Srinivasan, V., Nam, H.-M., Sawant, A. A., Headrick, S. I., Nguyen, L. T., & Oliver, S. P. (2008). Distribution of Tetracycline and Streptomycin Resistance Genes and Class 1 Integrons in Enterobacteriaceae Isolated from Dairy and Nondairy Farm Soils. *Microbial Ecology*, 55(2), 184-193. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9266-6>
- Stapleton, P., Wu, P.-J., King, A., Shannon, K., French, G., & Phillips, I. (1995). Incidence and Mechanisms of Resistance to the Combination of Amoxicillin and Clavulanic Acid in Escherichia coli. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER.*, 39, 7.
- Steele-Mortimer, O. (2008). The Salmonella-containing vacuole—Moving with the times. *Current Opinion in Microbiology*, 11(1), 38-45.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.01.002>
- Steenackers, H., Hermans, K., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2012). Salmonella biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Research International*, 45(2), 502-531.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.038>
- Stickland, H. G., Davenport, P. W., Lilley, K. S., Griffin, J. L., & Welch, M. (2009). *Mutation of nfxB Causes Global Changes in the Physiology and Metabolism of Pseudomonas aeruginosa*. 11.
- Sturm, A., Heinemann, M., Arnoldini, M., Benecke, A., Ackermann, M., Benz, M., Hardt, W.-D. (2011). The Cost of Virulence: Retarded Growth of Salmonella Typhimurium Cells Expressing Type III Secretion System 1. *PLoS Pathogens*, 7(7), e1002143.  
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002143>
- Su, L.-H., Wu, T.-L., Chia, J.-H., Chu, C., Kuo, A.-J., & Chiu, C.-H. (2005). Increasing ceftriaxone resistance in Salmonella isolates from a university hospital in Taiwan. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55(6), 846-852.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dki116>
- Sukumaran, A. T., Nannapaneni, R., Kiess, A., & Sharma, C. S. (2015). Reduction of Salmonella on chicken meat and chicken skin by combined or sequential

- application of lytic bacteriophage with chemical antimicrobials. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.025>
- Sun, J., Zhang, H., Liu, Y.-H., & Feng, Y. (2018). Towards Understanding MCR-like Colistin Resistance. *Trends in Microbiology*, 26(9), 794-808. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.006>
- Sundqvist, M., Geli, P., Andersson, D. I., Sjolund-Karlsson, M., Runehagen, A., Cars, H., ... Kahlmeter, G. (2010). Little evidence for reversibility of trimethoprim resistance after a drastic reduction in trimethoprim use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(2), 350-360. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp387>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318-327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Tate et al. (2017). *Comparative Analysis of Extended Spectrum Beta- Lactamase CTX-M-65-Producing Salmonella Infantis Isolates from Humans, Food Animals, and Retail Chickens in the United States*. 26.
- Thomas, C. M., & Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and Barriers to, Horizontal Gene Transfer between Bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 711-721. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1234>
- Thompson, J. A., Liu, M., Helaine, S., & Holden, D. W. (2011). Contribution of the PhoP/Q regulon to survival and replication of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in macrophages. *Microbiology*, 157(7), 2084-2093. <https://doi.org/10.1099/mic.0.048926-0>
- Thung, T. Y., Mahyudin, N. A., Basri, D. F., Wan Mohamed Radzi, C. W. J., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2016). Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in raw chicken meat at retail markets in Malaysia. *Poultry Science*, 95(8), 1888-1893. <https://doi.org/10.3382/ps/pew144>

- Tiago, F. C. P., Martins, F. S., Souza, E. L. S., Pimenta, P. F. P., Araujo, H. R. C., Castro, I. M., ... Nicoli, J. R. (2012). Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by *Saccharomyces* probiotics. *Journal of Medical Microbiology*, 61(Pt\_9), 1194-1207. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.042283-0>
- Tomljenovic-Berube, A. M., Henriksbo, B., Porwollik, S., Cooper, C. A., Tuinema, B. R., McClelland, M., & Coombes, B. K. (2013). Mapping and Regulation of Genes within Salmonella Pathogenicity Island 12 That Contribute to *In Vivo* Fitness of Salmonella enterica Serovar Typhimurium. *Infection and Immunity*, 81(7), 2394-2404. <https://doi.org/10.1128/IAI.00067-13>
- Troxell, B., Petri, N., Daron, C., Pereira, R., Mendoza, M., Hassan, H. M., & Koci, M. D. (2015). Poultry Body Temperature Contributes to Invasion Control through Reduced Expression of Salmonella Pathogenicity Island 1 Genes in Salmonella enterica Serovars Typhimurium and Enteritidis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(23), 8192-8201. <https://doi.org/10.1128/AEM.02622-15>
- Tyson, G. H., McDermott, P. F., Li, C., Chen, Y., Tadesse, D. A., Mukherjee, S., Zhao, S. (2015). WGS accurately predicts antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(10), 2763-2769. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv186>
- Uchiya, K. -i., & Nikai, T. (2008). Salmonella virulence factor SpiC is involved in expression of flagellin protein and mediates activation of the signal transduction pathways in macrophages. *Microbiology*, 154(11), 3491-3502. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/021667-0>
- Valdivia, R. H., & Falkow, S. (1997). Fluorescence-based isolation of bacterial genes expressed within host cells. *Science*, 277(5334), 2007-2011. <https://doi.org/10.1126/science.277.5334.2007>
- Van Immerseel, F., Russell, J. B., Flythe, M. D., Gantois, I., Timbermont, L., Pasmans, F., ... Ducatelle, R. (2006). The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: A mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathology*, 35(3), 182-188. <https://doi.org/10.1080/03079450600711045>

- Velásquez, J. C., Hidalgo, A. A., Villagra, N., Santiviago, C. A., Mora, G. C., & Fuentes, J. A. (2016). SPI-9 of *Salmonella enterica* serovar Typhi is constituted by an operon positively regulated by RpoS and contributes to adherence to epithelial cells in culture. *Microbiology*, *162*(8), 1367-1378. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000319>
- Veldman, K., van Pelt, W., & Mevius, D. (2007). First report of qnr genes in *Salmonella* in The Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *61*(2), 452-453. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm495>
- Vinueza-Burgos, C., Cevallos, M., Ron-Garrido, L., Bertrand, S., & De Zutter, L. (2016). Prevalence and Diversity of *Salmonella* Serotypes in Ecuadorian Broilers at Slaughter Age. *PLOS ONE*, *11*(7), e0159567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159567>
- Vlieghe, E. R., Phe, T., De Smet, B., Veng, C. H., Kham, C., Bertrand, S., Jacobs, J. A. (2012). Azithromycin and Ciprofloxacin Resistance in *Salmonella* Bloodstream Infections in Cambodian Adults. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *6*(12), e1933. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001933>
- Vo, A. T. T., van Duijkeren, E., Fluit, A. C., & Gaastra, W. (2007). A novel *Salmonella* genomic island 1 and rare integron types in *Salmonella* Typhimurium isolates from horses in The Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *59*(4), 594-599. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl531>
- von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., ... Wolfs, P. F. G. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- Vonaesch, P., Sellin, M. E., Cardini, S., Singh, V., Barthel, M., & Hardt, W.-D. (2014). The *Salmonella* Typhimurium effector protein SopE transiently localizes to the early SCV and contributes to intracellular replication: SopE localizes to SCV. *Cellular Microbiology*, *16*(12), 1723-1735. <https://doi.org/10.1111/cmi.12333>
- Wang, L., Yan, J., Niu, H., Huang, R., & Wu, S. (2018). Autophagy and Ubiquitination in *Salmonella* Infection and the Related Inflammatory Responses. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *8*, 78. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00078>

- Wang, X., Wang, Y., Zhou, Y., Li, J., Yin, W., Wang, S., ... Wang, Y. (2018). Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0124-z>
- Wannaprasat, W., Padungtod, P., & Chuanchuen, R. (2011). Class 1 integrons and virulence genes in *Salmonella enterica* isolates from pork and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(5), 457-461. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.12.001>
- Wattiau, P., Boland, C., & Bertrand, S. (2011). Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Subtyping: Gold Standards and Alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(22), 7877-7885. <https://doi.org/10.1128/AEM.05527-11>
- Westerman, T. L., Bogomolnaya, L., Andrews-Polymenis, H. L., Sheats, M. K., & Elfenbein, J. R. (2018). The *Salmonella* type-3 secretion system-1 and flagellar motility influence the neutrophil respiratory burst. *PLOS ONE*, 13(9), e0203698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203698>
- Wisner, A., Desin, T., White, A., Potter, A., & Kster, W. (2012). The *Salmonella* Pathogenicity Island-1 and -2 Encoded Type III Secretion Systems. En Y. Kumar (Ed.), *Salmonella—A Diversified Superbug*. <https://doi.org/10.5772/29203>
- Wolfenden, A. D., Pixley, C. M., Higgins, J. P., Higgins, S. E., Hargis, B. M., Tellez, G., Torres-Rodriguez, A. (2007). Evaluation of Spray Application of a *Lactobacillus*-based Probiotic on *Salmonella enteritidis* Colonization in Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 6(7), 493-496. <https://doi.org/10.3923/ijps.2007.493.496>
- Wong, M. H. Y., Yan, M., Chan, E. W. C., Biao, K., & Chen, S. (2014). Emergence of Clinical *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolates with Concurrent Resistance to Ciprofloxacin, Ceftriaxone, and Azithromycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3752-3756. <https://doi.org/10.1128/AAC.02770-13>
- Wood, M. W., Jones, M. A., Watson, P. R., Siber, A. M., McCormick, B. A., Hedges, S., Galyov, E. E. (2000). The secreted effector protein of *Salmonella dublin*, SopA, is

- translocated into eukaryotic cells and influences the induction of enteritis. *Cellular Microbiology*, 2(4), 293-303. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2000.00054.x>
- Woodford, N., & Ellington, M. J. (2007). The emergence of antibiotic resistance by mutation. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(1), 5-18. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01492.x>
- World Health Organization. (2017). *WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals*.
- Wright, G. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(10), 1451-1470. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>
- Xu, Y., Tao, S., Hinkle, N., Harrison, M., & Chen, J. (2018). Salmonella, including antibiotic-resistant Salmonella, from flies captured from cattle farms in Georgia, U.S.A. *Science of The Total Environment*, 616-617, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.324>
- Yang, B., Qu, D., Zhang, X., Shen, J., Cui, S., Shi, Y., ... Meng, J. (2010). Prevalence and characterization of Salmonella serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.015>
- Yang, G.-Y., Yu, J., Su, J.-H., Jiao, L.-G., Liu, X., & Zhu, Y.-H. (2017). Oral Administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG Ameliorates Salmonella Infantis-Induced Inflammation in a Pig Model via Activation of the IL-22BP/IL-22/STAT3 Pathway. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 323. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00323>
- Yin, F., Farzan, A., Wang, Q. (Chuck), Yu, H., Yin, Y., Hou, Y., ... Gong, J. (2014). Reduction of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104 Infection in Experimentally Challenged Weaned Pigs Fed a *Lactobacillus* -Fermented Feed. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(8), 628-634. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1676>
- Yin, J., Cheng, J., Sun, Z., Ye, Y., Gao, Y.-F., Li, J.-B., & Zhang, X.-J. (2009). Characterization of two plasmid-encoded cefotaximases found in clinical

- Escherichia coli isolates: CTX-M-65 and a novel enzyme, CTX-M-87. *Journal of Medical Microbiology*, 58(6), 811-815. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.006007-0>
- Yoshida, C. E., Kruczkiewicz, P., Laing, C. R., Lingohr, E. J., Gannon, V. P. J., Nash, J. H. E., & Taboada, E. N. (2016). The Salmonella In Silico Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft Salmonella Genome Assemblies. *PLOS ONE*, 11(1), e0147101. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147101>
- Zaidi, M. B., Calva, J. J., Estrada-Garcia, M. T., Leon, V., Vazquez, G., Figueroa, G., Tollefson, L. (2008a). Integrated Food Chain Surveillance System for *Salmonella* spp. In Mexico1. *Emerging Infectious Diseases*, 14(3), 429-436. <https://doi.org/10.3201/eid1403.071057>
- Zaidi, M. B., Calva, J. J., Estrada-Garcia, M. T., Leon, V., Vazquez, G., Figueroa, G., Tollefson, L. (2008b). Integrated Food Chain Surveillance System for *Salmonella* spp. In Mexico1. *Emerging Infectious Diseases*, 14(3), 429-436. <https://doi.org/10.3201/eid1403.071057>
- Zaidi, M. B., Leon, V., Canche, C., Perez, C., Zhao, S., Hubert, S. K., ... McDermott, P. F. (2007). Rapid and widespread dissemination of multidrug-resistant bla<sub>CMY-2</sub>Salmonella Typhimurium in Mexico. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(2), 398-401. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm168>
- Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., Larsen, M. V. (2012). Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(11), 2640-2644. <https://doi.org/10.1093/jac/dks261>
- Zhang, S., Yin, Y., Jones, M. B., Zhang, Z., Deatherage Kaiser, B. L., Dinsmore, B. A., Deng, X. (2015). Salmonella Serotype Determination Utilizing High-Throughput Genome Sequencing Data. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(5), 1685-1692. <https://doi.org/10.1128/JCM.00323-15>
- Zhou, D., & Hardt, W.-D. (1999). Salmonella typhimurium Encodes a Putative Iron Transport System within the Centisome 63 Pathogenicity Island. *INFECT. IMMUN.*, 67, 8.



Dirección General de Bibliotecas UAQ