



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DE
CEPAS DE *Salmonella enterica* AISLADAS DE DIFERENTES
FUENTES”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

ANDREA HERNÁNDEZ LEDESMA

DIRIGIDA POR

DRA. ANGÉLICA GODÍNEZ OVIEDO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2023.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Caracterización genotípica y fenotípica de cepas de
Salmonella enterica aisladas de diferentes fuentes

por

Andrea Hernández Ledesma

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](#).

Clave RI: FQLIN-289584



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DE
CEPAS DE *Salmonella enterica* AISLADAS DE DIFERENTES
FUENTES”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

ANDREA HERNÁNDEZ LEDESMA

DIRIGIDA POR

DRA. ANGÉLICA GODÍNEZ OVIEDO

SINODALES

Dra. ANGÉLICA GODÍNEZ OVIEDO

DIRECTORA

Dra. MONTSERRAT HERNÁNDEZ ITURRIAGA

SINODAL

Dra. SANDRA OLIMPIA MENDOZA DÍAZ

SINODAL

Dra. EVELYN ZAMUDIO PÉREZ

SINODAL

Dedicatoria

A mi familia, quienes son mi impulso para seguir creciendo y me han demostrado el valor de la resiliencia; a no bajar la cabeza incluso cuando la situación se torne gris.

Agradecimientos

El fruto de esta tesis no se hubiera logrado sin todas las personas que me acompañaron durante el proceso.

Quisiera agradecer especialmente a Angy, mi directora y amiga, quien creyó en mí desde el momento que quise aprender a hacer un proyecto de investigación y me aportó las herramientas para hacerlo posible. A la Sra Martha, quien tuvo la paciencia de explicarme y compartirme su gran experiencia. A todo el equipo de LECRIMA: Marla, Yun y Adrián, por enseñarme desde lo básico. A grandes amigos del laboratorio como Dany, Ceci, Lalo, Mane, Marisol, Ale, Pau, Andy y Pao, que además de conocimiento, me aportaron consejos de vida que hoy en día aplico para seguir creciendo. A mis sinodales, la Dra Montse Iturriaga, la Dra Sandra y la Dra Evelyn, quienes me inspiraron a desarrollarme en el ámbito científico. A mis profesoras y profesores, que me fomentaron la responsabilidad y compromiso.

Quisiera agradecer también a mi mamá, quien, a pesar de las desveladas, me acompañó todos los días a la parada del camión y me preparó la comida. A mi papá, quien me recogió en la Universidad los días que necesité quedarme hasta tarde, a pesar de mi impulsividad por querer hacer todo yo misma. A Vale, mi hermana y compañera incondicional, quien me escuchó en mis momentos de enojo y frustración. A todos mis amigos de la Universidad, los más cercanos y también los lejanos, porque me dejaron enseñanzas valiosas que conforman la persona que soy hoy.

Finalmente, agradezco a esa voz interior que no se dejó hacer menos y que buscó hacer realidad sus metas. Que confió en su inteligencia y valores, permitiendo ver que el límite lo definía ella misma...

Las grandes metas requieren paciencia, esfuerzo y constancia.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Características de <i>Salmonella enterica</i>	2
2.2 Fuentes de contaminación de <i>S. enterica</i>	3
2.2.1 Agua	3
2.2.2 Suelo	4
2.2.3 Utensilios y mobiliario	5
2.3 Mecanismos de contaminación de <i>S. enterica</i>	5
2.3.1 Contaminación directa	6
2.3.2 Contaminación de origen	6
2.3.3 Contaminación cruzada	7
2.4 Impacto del clima y la distribución geográfica en la presencia de <i>S. enterica</i>	7
2.5 Presencia de <i>S. enterica</i> en casos clínicos en México	9
2.6 Presencia de <i>S. enterica</i> en alimentos en México	10
2.7 Caracterización de <i>S. enterica</i>	11
2.7.1 Características genotípicas de <i>S. enterica</i>	11
2.7.2 Características fenotípicas de <i>S. enterica</i>	12
3. HIPÓTESIS	14
4. OBJETIVOS	15
4.1 General	15
4.2 Específicos	15

5. METODOLOGÍA	16
5.1 Materiales	16
5.2 Reactivos	16
5.3 Métodos	17
5.3.1 Purificación y confirmación de cepas de <i>S. enterica</i>	17
5.3.2 Extracción de ADN	19
5.3.3 Confirmación de cepas	19
5.3.4 Resistencia a antibióticos	20
5.3.5 Identificación molecular de genes de virulencia	20
5.3.6 Análisis estadístico	24
6. RESULTADOS	25
6.1 Confirmación de cepas	25
6.2 Resistencia antimicrobiana de cepas de <i>S. enterica</i>	27
6.3 Virulotipificación de cepas de <i>S. enterica</i>	36
7. DISCUSIÓN	44
8. CONCLUSIONES	48
9. BIBLIOGRAFÍA	49
ANEXOS	63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Características de las 102 cepas de <i>S. enterica</i> analizadas	18
2	Antibióticos evaluados en <i>S. enterica</i> de acuerdo a su categoría	21
3	Secuencia de iniciadores para la detección de genes de virulencia de <i>S. enterica</i>	22
4	Condiciones de los PCR-múltiples y de la mezcla de reacción para la detección de genes de virulencia.	23
5	Asociación entre la respuesta ante los antibióticos y la fuente de aislamiento de las cepas de <i>S. enterica</i>	30
6	Asociación entre las cepas de <i>S. enterica</i> MDR y su fuente de aislamiento	34
7	Asociación entre los genes de virulencia evaluados y la fuente de aislamiento de las cepas de <i>S. enterica</i>	40
8	Asociación entre las cepas MDR de <i>S. enterica</i> y los genes de virulencia evaluados	41
9	Asociación entre los virulotipos y la fuente de aislamiento de las cepas de <i>S. enterica</i>	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Morfología típica de cepas de <i>S. enterica</i> en agar selectivo XLD	26
2	Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de un fragmento específico del gen 16s (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)	26
3	Halos de inhibición formados en cepa de <i>S. enterica</i> proveniente de caso clínico en humanos ante los antibióticos de estreptomicina y tetraciclina	27
4	Porcentaje de respuesta a antibióticos de 102 cepas de <i>S. enterica</i>	28
5	Porcentaje de cepas de <i>S. enterica</i> clasificadas como “resistentes” según su origen	29
6	Multirresistencia a antibióticos de cepas de <i>S. enterica</i>	33
7	Porcentaje de cepas MDR, resistentes (por lo menos a un antibiótico) y susceptibles de acuerdo con su origen y el Estado de la República donde se aislaron	35
8	Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M1 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)	36
9	Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M2 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)	37

10	Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M3 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)	37
11	Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M4 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)	38
12	Distribución de cepas de <i>S. enterica</i> de acuerdo con su virulotipo	38
13	Frecuencia de virulotipos en las cepas de <i>S. enterica</i>	42
14	Distribución de cepas de <i>S. enterica</i> de acuerdo con su fuente de procedencia	42

RESUMEN

Salmonella enterica es uno de los principales patógenos asociados al consumo de alimentos y su grado de virulencia puede asociarse con sus características genotípicas y fenotípicas. El objetivo de este estudio fue caracterizar 102 cepas de *S. enterica* aisladas de humanos, suelo, agua y alimentos de origen vegetal en la región centro de México para identificar su comportamiento fenotípico y genotípico. Se evaluó la presencia de 13 genes de virulencia: nueve del cromosoma, dos de profagos y dos plásmidos mediante 4 PCR múltiples; y se determinó la susceptibilidad a 14 antibióticos empleando la metodología de difusión en disco. Los genes del cromosoma estuvieron presentes en todas las cepas a excepción del gen *sseF*, que estuvo presente en el 99.02 % de las muestras; por otro lado, los genes *sspH1*, *sopE*, *spvC* y *pefA* se presentaron en el 90.2 %, 6.9 %, 2.9 % y 2.9 % de las cepas, respectivamente. De acuerdo al perfil de genes, se encontraron 5 virulotipos (V1, V2, V3, V5 y V8), de los cuales, V2 presentó mayor frecuencia (83.3 %, 85/102), seguido de V1 (8.82 %, 9/102). En el caso de los antibióticos, la mayoría de las cepas (62.75 %) mostró resistencia a ampicilina, seguido de carbenicilina (30.39 %) y estreptomina (22.55 %), mientras que ninguna fue resistente a norfloxacina. Por su parte, los aislados humanos demostraron mayor número de cepas multirresistentes a antibióticos (MRA) (41.7 %, 5/12), mientras que los vegetales, menor MRA (16.2 %, 6/37). Los hallazgos demostraron similitud entre las características fenotípicas y genotípicas de los aislados de humanos y ambiente, sugiriendo que los reservorios de agua o suelo pueden ser responsables de los casos clínicos. Los resultados obtenidos podrán permitir crear medidas sanitarias preventivas específicas contra *S. enterica* de acuerdo a su origen.

1. INTRODUCCIÓN

Salmonella enterica es un patógeno asociado al consumo de alimentos y es responsable de enfermedades como salmonelosis no tifoidea o fiebre tifoidea, representando un problema en la salud humana y animal. Todas las cepas de *S. enterica* se consideran patógenas, sin embargo, difieren en el grado de virulencia, lo cual puede asociarse a sus características genotípicas y fenotípicas.

Por un lado, la presencia de microorganismos resistentes a los antibióticos ha implicado un riesgo para la eficacia de los mismos y la salud humana, siendo una de las características fenotípicas más valoradas hoy en día. Por otro lado, muchos mecanismos bacterianos de patogenicidad se relacionan con los genes de virulencia de un ancestro microbiano común, que pueden diseminarse a otras bacterias por transferencia horizontal, facilitando la supervivencia de un organismo en condiciones de estrés.

Se ha considerado tradicionalmente a *S. enterica* como un patógeno asociado a animales, sin embargo, se ha reconocido su presencia en fuentes ambientales como agua de riego, suelo de cultivo y hortalizas.

Existe poca información actualizada donde se evalúen las características de las cepas asociadas a frutas, hortalizas y otros reservorios ambientales, ya que en la mayoría de los estudios se enfocan en alimentos cárnicos. Esto genera limitantes para definir qué cepas son de importancia epidemiológica y así crear medidas sanitarias preventivas específicas.

Por ende, el objetivo de este estudio fue caracterizar genotípicamente y fenotípicamente 102 cepas de *S. enterica* aisladas en México y asociarlo con su fuente de origen.

2. ANTECEDENTES

2.1 Características de *Salmonella enterica*

Salmonella enterica es una bacteria Gram negativa perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* (WHO, 2018). Este patógeno tiene un tamaño es de 0.2-1.5 x 2-5 µm, es una bacteria anaerobia facultativa, se mueve por medio de flagelos y tiene la capacidad de metabolizar nutrientes tanto por vía respiratoria como fermentativa (Lambertini et al., 2019). Puede crecer y multiplicarse bajo distintas condiciones ambientales dentro y fuera del huésped. En general, tiene un óptimo crecimiento a temperaturas entre 32-35°C; asimismo, crece a un pH óptimo entre 6.5 y 7.5. Su crecimiento se ve inhibido a pH <3.8, actividad de agua <0.94 y temperatura <7°C (Jajere, 2019).

Al género *Salmonella* pertenecen dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. La primera es la patógena para el ser humano y esta se clasifica en seis subespecies; *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*, conocidas como subespecie I, II, IIIa, IIIb, IV y VI, respectivamente (Alfaro-Mora, 2018). *Salmonella enterica* subespecie *enterica* es la subespecie a la que se le atribuyen la mayoría de las infecciones por *Salmonella* en humanos y mamíferos de sangre caliente, mientras que el resto de las subespecies de *S. enterica* son raros en humanos y se encuentran principalmente en el medio ambiente y en animales de sangre fría (Rukambile et al., 2019).

S. enterica se clasifica en serotipos con base en tres determinantes antigénicos que incluyen somático (O), capsular (K) y flagelar (H). Por su parte, el antígeno O se encuentra en la membrana celular bacteriana y es termoestable. El antígeno H termolábil participa en la activación de las respuestas inmunitarias del huésped y se encuentra en los flagelos. Finalmente, los antígenos K de superficie rara vez son encontrados entre los serotipos de *S. enterica* y son polisacáridos sensibles al calor ubicados en la superficie capsular bacteriana (Alfaro-Mora, 2018).

Actualmente se han descrito más de 2600 serotipos pertenecientes a *S. enterica* capaces de causar enfermedades tanto en humanos como en animales, de los cuales Enteritidis y Typhimurium son los principales responsables de salmonelosis

no tifoidea a nivel mundial (Campos et al., 2012) y también en México (Godínez-Oviedo et al., 2022).

2.2 Fuentes de contaminación de *S. enterica*

S. enterica se encuentra en el tracto gastrointestinal de animales portadores y su excreción es la ruta de liberación de patógenos hacia el ambiente (Nair, 2019). Las fuentes de contaminación se definen como los ambientes de procedencia no hospederos infectados, capaces de transmitir un microorganismo a humanos (Contreras-Soto, 2019). Comúnmente, las fuentes de contaminación de *S. enterica* se encuentran en el entorno del alimento y aquellas que potencialmente le aportan microorganismos son: el agua, el suelo, el aire, los utensilios, mobiliario o equipo, la fauna, los aditivos y finalmente, el ser humano (Fernández-Escartín, 2008).

2.2.1 Agua

El agua es un vehículo potencial de microorganismos hacia los alimentos, ya sea a través del riego de los productos en el campo, o bien en el procesamiento posterior a la cosecha, por ejemplo, en el lavado de alimentos frescos o enlatados, y en su uso como ingrediente (Liu et al., 2018).

En la cosecha, se utilizan fuentes de agua de diversa calidad microbiológica para el riego de productos agrícolas en todo el mundo. Un ejemplo de ello es en Estados Unidos, donde el agua de riego representa el 62 %, proveniente tanto de aguas residuales tratadas como de aguas superficiales de ríos y arroyos (Dieter et al., 2018). Por otro lado, en los países en desarrollo las aguas residuales sin tratar son comúnmente utilizadas para regar los cultivos, aumentando el riesgo de contaminación microbiana (Machado-Moreira, 2019). Patógenos bacterianos como *Salmonella enterica* pueden contaminar frutas y verduras si son regadas con aguas residuales no tratadas o no tratadas adecuadamente, siendo un riesgo debido a que los productos se consumen mínimamente procesados o crudos, sin someterse a un buen tratamiento antimicrobiano (Sharma et al., 2020). Ejemplo de ello son los campos de tomate en el Centro de Investigación y Extensión Agrícola de la Costa Este de Virginia Tech, donde se ha asociado la contaminación por *Salmonella* siendo

el agua de riego una de las fuentes involucrada (Gu et al., 2018). Otro ejemplo donde el agua ha sido asociada como fuente de *S. enterica* ha sido en mangos durante el tratamiento post-cosecha que propicia la internalización dentro de la pulpa de la fruta (Mathew et al., 2018).

Asimismo, el servicio de alcantarillado para retirar los desechos humanos puede asociarse con el vehículo de agentes patógenos por medio de: contaminación cruzada por fugas en los ductos de aguas residuales; daño en la presión de las tuberías de agua potable; uso de aguas residuales para riego de cultivos vegetales; descargas de agua en áreas donde se crían animales acuáticos comestibles; o durante catástrofes naturales como inundaciones y terremotos (Fernández-Escartín, 2008).

Es posible que la ocurrencia y persistencia de *Salmonella* en el agua ambiental puede regirse por parámetros ambientales como: la temperatura, ya que se ha observado mayor prevalencia en los meses de verano y en las máximas temperaturas anuales; el flujo de precipitación, ya que facilita el transporte de organismos patógenos al río; y la radiación solar, que impacta en la supervivencia y el transporte de los microorganismos (Smith, 2019).

En post-cosecha, el agua como ingrediente es el compuesto mayoritario en algunos alimentos como salsas o bebidas, o bien, en forma de hielo para el refrigerio de carnes o productos lácteos. Asimismo, supone un punto de partida para la contaminación de utensilios, mobiliario o equipo al ser lavados con agua contaminada (Fernández-Escartín, 2008).

2.2.2 Suelo

La tierra es un gran reservorio de microorganismos patógenos, los cuales, al sobrevivir en diversas condiciones ambientales suponen una fuente de contaminación en los alimentos (Contreras-Soto, 2019). Su desarrollo puede ser muy activo variando en número y tipo de acuerdo con la composición de la tierra donde proliferan, estación del año, temperatura, exposición solar, nivel de profundidad, humedad y pH (Fernández-Escartín, 2008). *S. enterica* llega a las áreas de agricultura por medio de desechos animales, biosólidos de aguas residuales

humanas y el riego con agua contaminada; la posterior transmisión a humanos dependerá en gran medida de sus capacidades de supervivencia en estiércol, suelo y plantas (Hruby, 2018). El estiércol animal es empleado como fertilizante vegetal, ya que repone los nutrientes y la materia orgánica del suelo; sin embargo, si se aplica a tasas superiores de las que mantienen el equilibrio de nutrientes y humedad del suelo, puede inclinar a la supervivencia de bacterias zoonóticas y patógenas como *S. enterica*. Se ha demostrado que la sobrevivencia de *Salmonella* en suelo es altamente dependiente de las condiciones de éste, así como la aplicación de fertilizantes orgánicos (Jechalke et al., 2019).

2.2.3 Utensilios y mobiliario

Cualquier superficie que está en contacto con los alimentos es una potencial fuente de contaminación; inclusive aquellas que aparentan estar limpias pueden presentar microorganismos patógenos. Esto se debe a que dichos microorganismos pueden adaptarse a residuos alimentarios remanentes en las superficies, lo que propicia su permanencia en ellas (Webber et al., 2019). De la misma manera, los cortes y fisuras en las superficies de materiales plásticos suponen la formación de cavidades microscópicas que albergan microorganismos (Dantas et al., 2018). Los trapos de limpieza son un reservorio de microorganismos y una fuente de contaminación indirecta a los alimentos (Ko, 2020). Una práctica común de contaminación con superficies se da durante la preparación de alimentos, ya que factores como la temperatura de almacenamiento inadecuada, cocción insuficiente o la contaminación cruzada están implicadas en brotes de salmonelosis (Nopriani et al., 2020).

2.3 Mecanismos de contaminación de *S. enterica*

Un mecanismo de contaminación se refiere a la manera y términos en la que un intercambio de microorganismos ocurre (Fernández-Escartín, 2008). La transferencia de *S. enterica* hacia un hospedero puede ocurrir directamente a través de la contaminación de alimentos de origen animal, o bien, indirectamente a través de la contaminación fecal del agua y del medio ambiente. En el caso de la contaminación de alimentos existe la directa, cuando el agente contaminante es el

manipulador, ya sea por estornudos, heridas en las manos o contacto con materiales que serán posibles reservorios; la primaria o de origen, que se presenta cuando el alimento fresco proviene de un animal o vegetal contaminado; y finalmente, la cruzada (The Food Tech, 2022). La última mencionada es la forma más conocida de contaminación de *S. enterica* y se presenta cuando existe transferencia de dicho microorganismo de un alimento contaminado a uno no contaminado y presenta mayor peligrosidad debido a que es poco detectable organolépticamente a menos que su desarrollo sea visible (Webber et al., 2019).

2.3.1 Contaminación directa

La primera hace referencia a la llegada del microorganismo a un material sin intermediario alguno, luego, dicho material podrá convertirse en un reservorio de microorganismos donde sobrevivirán por periodos largos. Ejemplo de contaminación directa son las mesas de una pastelería, las cuales son un reservorio de levaduras (Fernández-Escartín, 2008), asimismo, los trapos de cocina que se usan para limpiar y secar superficies, agarrar superficies calientes y secarse las manos; dicho material va acumulando materia orgánica y con la humedad presente, permitirá la proliferación de una diversidad de microorganismos (Ko, 2020).

2.3.2 Contaminación de origen

Por otra parte, la contaminación de origen ocurre en el momento en que el alimento natural se genera, es decir, cuando el portador del alimento (ya sea un animal o vegetal) se encuentra infectado. Ejemplo de ello es la producción de leche cuando la vaca padece mastitis bacteriana; o bien, cuando los ostiones se desarrollan en aguas contaminadas, reteniendo las bacterias en su tubo digestivo al alimentarse (Fernández-Escartín, 2008). En los vegetales que crecen en suelos infectados por materia fecal humana o animal, la contaminación de origen se presenta cuando las larvas de insectos emergen de huevecillos dentro de los frutos, o bien, en carne de cerdo proveniente de animales infectados con larvas patógenas (De-Smet et al., 2021).

2.3.3 Contaminación cruzada

Finalmente, la contaminación cruzada es la transferencia de microorganismos de un reservorio contaminado hacia otro que no lo está, a través del contacto de un objeto contaminado (Dantas et al., 2018). Asimismo, al no higienizar adecuadamente antes de cortar o manipular otro alimento cocido, ya sea descongelando en la tarja sin realizar una desinfección terminal del área, se puede presentar una contaminación cruzada. Existen estudios que han evaluado la contaminación cruzada de pollo crudo sobre superficies inertes donde posteriormente se prepara el pollo cocido sin un proceso germicida entre cada corte (Nopriani, 2020), por ello, se deben usar tablas de cortar y cuchillos separados para procesar carne cruda y preparar alimentos listos. En un estudio realizado por Dang-Xuan et al. (2018), se encontró un riesgo de contaminación cruzada por *S. enterica* del 78 % al emplear el mismo cuchillo, tabla de cortar y no lavarse las manos al manipular la carne de cerdo cruda y cocida en hogares vietnamitas. Por otro lado, en un estudio realizado en la región central de México se encontró que el 15 % de la población utiliza la misma tabla de picar y cuchillo para cortar más de un producto sin aplicar sanitización, lo cual podría conducir a una contaminación cruzada (Godínez-Oviedo et al., 2019). Otro ejemplo se presenta en la parte externa de los empaques de productos cárnicos, que se contaminan en las plantas procesadoras o vehículos de transporte. Un riesgo se presenta si se les va retirando parte del empaque, dejando expuestas ciertas porciones de alimento que entrarán en contacto con superficies contaminadas (Chen et al., 2018).

2.4 Impacto del clima y la distribución geográfica en la presencia de *S. enterica*

Las enfermedades infecciosas surgen por influencia de los factores ambientales y características geográficas como: el clima, el tiempo, la topología y la hidrología, las cuales actúan en la magnitud y frecuencia de la transferencia de patógenos hacia un huésped (Akil, 2014). A medida que se desarrolla la economía de un país, el paisaje agrícola cambia, ejemplo de ello es el uso de agua poco tratada para el crecimiento de cultivos, el uso inapropiado de químicos agrícolas, la ausencia de infraestructura

adecuada para el almacenamiento de alimentos y la mala aplicación de normas reglamentarias (WHO, 2018).

S. enterica prolifera con mayor rapidez en temperaturas altas, siendo ejemplo de esto la preferencia que tiene por alojarse en el intestino animal, compitiendo por los nutrientes producidos por la microbiota gastrointestinal (Akil, 2014). Asimismo, el aumento de lluvias y huracanes puede influir en la aparición de patógenos como *S. enterica*, ya que se generan inundaciones que acarrearán agua contaminada con patógenos bacterianos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales y operaciones de alimentación animal (Jiang et al., 2015).

Una vez situada en ambientes no hospederos, *S. enterica* sobrevive en sedimentos, agua y suelos por largos periodos, adaptándose a condiciones no óptimas de pH, estrés osmótico, temperatura y baja concentración de nutrientes, lo que permite su dispersión en nichos ambientales (Contreras-Soto, 2019).

En Corea se ha encontrado interrelación entre las enfermedades transmitidas por alimentos y factores climáticos (temperatura, humedad relativa, lluvia, insolación y nubosidad) mediante análisis de componentes principales y matrices de coeficientes de correlación parcial, siendo resultado un patrón típico con los efectos combinados de los factores climáticos y la presencia de infecciones por *S. enterica*, *Vibrio* spp. *S. aureus* y *E. coli* patógena (Park et al., 2018).

Asimismo, en la provincia de Yazd, Irán, se evaluó la relación de parámetros climáticos (humedad relativa, las precipitaciones y el estado de suspensión de polvo) con las enfermedades gastrointestinales mediante un modelo de análisis de regresión multinivel, indicando que estaban asociados y la mayor tasa de enfermedad se presentaba en verano (Ehrampoush et al., 2018).

A la par de otros países, en México se ha demostrado una variación estacional con un mayor número de casos notificados en junio y menor en diciembre, pudiendo asumir así que a mayores temperaturas existe mayor proliferación (CONEVAL, 2017). De acuerdo al Instituto Nacional de Estadística y Geografía de México (INEGI), el país se divide en siete regiones socioeconómicas agrupadas de acuerdo a siete factores: infraestructura de la vivienda, calidad de la vivienda, equipamiento de la vivienda, hacinamiento, salud, educación y empleo. Existe una relación directa

entre el nivel socioeconómico y la tasa de incidencia de salmonelosis no tifoidea (NTS por sus siglas en inglés), por ejemplo, Chiapas y Tabasco, indican ser los Estados con los valores más altos de NTS y se clasifican dentro de las regiones menos favorables socioeconómicas en México (Godínez-Oviedo, 2019).

2.5 Presencia de *S. enterica* en casos clínicos en México

S. enterica es un patógeno de importancia debido a su impacto en la salud pública y la sanidad animal, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo; su comportamiento se interpreta de acuerdo a las interacciones dinámicas entre agentes infecciosos que evolucionan rápidamente, los cambios en el medio ambiente y el comportamiento del huésped (Wibisono et al., 2020). Dicho microorganismo es causante de un amplio espectro de enfermedades en humanos, desde gastroenteritis aguda (salmonelosis no tifoidea, NTS) hasta fiebre tifoidea potencialmente mortal (Rincón-Gamboa, 2021; Bhunia, 2018). Los principales causantes de gastroenteritis aguda o NTS en México son los serotipos *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, presentando síntomas de dolores abdominales, náuseas, diarrea y vómitos (Godínez-Oviedo et al., 2019); mientras que serotipos como *S. Typhi* y *S. Paratyphi* son los causantes de salmonelosis tifoidea en humanos. La salmonelosis no tifoidea puede ser únicamente autolimitante en personas sanas, o bien, grave en personas inmunocomprometidas, niños o adultos mayores (CDC, 2022). Para identificar el impacto de la mortalidad y morbilidad de una población generados por la ingesta de alimentos contaminados, se emplean los sistemas de vigilancia epidemiológica; estos funcionan adecuadamente sólo en países desarrollados, ya que, en los no desarrollados, existe desinterés de asistir al médico en caso de presentar síntomas diarreicos puesto que implica un gasto económico y un tratamiento médico deficiente (Contreras-Soto, 2019). En México se ha buscado fortalecer el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), ya que no todas las personas tienen acceso a servicios de salud, no todos los enfermos van a las unidades de atención médica que pertenecen al Sistema Nacional de Salud de México, y no todas las personas que reciben atención médica son diagnosticadas por una prueba de laboratorio (Godínez-Oviedo, 2019).

Actualmente pocos estudios en México evalúan las características de las cepas clínicas aisladas, siendo el serotipo lo que comúnmente se determina.

Se ha reportado *Salmonella* Typhimurium como el serotipo más común en enfermos en México. Un estudio realizado en Yucatán detectó *S. enterica* en las muestras de heces de personas con diarrea, prevaleciendo con 21.8 % el serotipo *Salmonella* Typhimurium (Zaidi et al., 2006). Por otro lado, *S. enterica* en el Estado de México se presentó en un 56,9 % de las muestras de heces de niños con diarrea, con prevalencia en serotipos *Salmonella* Ohio (28,6 %) y *Salmonella* Typhimurium (16,9 %) (Paniagua-Contreras et al., 2008). En los estados de Sonora, Michoacán, San Luis Potosí y Yucatán, se ha determinado que los serotipos más comunes en personas enfermas son *Salmonella* Typhimurium (22,2 %) y *Salmonella* Enteritidis (14,5 %) (Zaidi et al., 2008).

2.6 Presencia de *S. enterica* en alimentos en México

S. enterica causó 16,858 casos de fiebre tifoidea, 5,645 de fiebre paratifoidea y 43,944 de salmonelosis en el 2020. La prevalencia de *S. enterica* en alimentos de origen animal es mayor que en los de origen vegetal. Se ha encontrado este patógeno en carne de res (entre 15.1 % y 54 %), carne de pollo (entre 35.3 % y 47.7 %) y carne de cerdo (entre 17.3 % y 58.1 %) en las regiones de Yucatán, Hidalgo y la Ciudad de México (Miranda et al., 2009; Villalpando-Guzmán, 2017). En otros países como Cuba, se ha determinado que 36 % de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos se asocian con carne y ensalada fría, principalmente (Rodríguez-Julián, 2022).

Por otro lado, en vegetales frescos del Centro de Abastos de la Ciudad de México, se ha demostrado la presencia de *S. enterica* en perejil (12 %), cilantro (11 %), brócoli (9 %), coliflor (9 %), verdolaga (9 %), lechuga larga (7 %), espinaca (7 %), berros (7 %), remolacha (4 %), apio (3 %), lechuga romana (3 %), col (1 %), papa (1 %), chile jalapeño (12 %) y serrano (11 %) (Quiroz-Santiago et al., 2009). Otro estudio en Pachuca, Hidalgo reflejó que *S. enterica* prevalecía en el 12 % de las muestras tomadas de chiles jalapeños y en el 11 % de las muestras de chiles serranos enteros (Castro-Rosas et al., 2011).

En cuanto a frutas, se realizó un estudio para determinar la prevalencia de *Salmonella* en tres fincas de melones en Matamoros, Coahuila; aquí se encontró el serotipo de *S. Typhimurium* en un 43 % de las muestras (Gallegos-Robles et al., 2008).

2.7 Caracterización de *S. enterica*

2.7.1 Características genotípicas de cepas de *S. enterica*

Al asociar a *S. enterica* como “patógeno”, se omite el hecho de que no todas las cepas poseen la misma “virulencia”; esto se debe a la presencia o ausencia de “factores de virulencia” que permiten la ocurrencia de una enfermedad como son: adhesinas, invasinas, impedinas, agresinas y modulinas (Moredo, 2019). Los mecanismos de virulencia consideran algunos criterios del microorganismo como son: su sitio de acción, su capacidad para invadir los tejidos y posteriormente diseminarse por todo el organismo, su capacidad de secreción de exotoxinas, y su supervivencia intracelular o extracelular (Wilson, 2002). Muchos mecanismos bacterianos de patogenicidad se relacionan con los genes de virulencia de un ancestro microbiano común, que pueden diseminarse a otras bacterias por transferencia horizontal, lo cual puede dar origen a nuevas cepas de patógenos bacterianos resistentes a antibióticos (Jajere, 2019). De ahí radica la importancia de caracterizar genotípicamente cepas de *S. enterica*.

Uno de los ancestros microbianos es el ARN ribosómico (ARNr) 16S, el cual corresponde a la subunidad menor del ribosoma bacteriano y presenta regiones conservadas y variaciones específicas en todos los organismos. Existen secuencias cortas llamadas “oligonucleótidos firma” que pertenecen a un único grupo filogenético, permitiendo identificar una bacteria en específico. En el pasado, Carl Woese introdujo su aplicación como cronómetro molecular debido a su antigüedad, siendo la diana que se utiliza por excelencia (DelRosario-Rodicio, 2004).

Existen factores de virulencia que influyen en la patogénesis de las infecciones por *S. enterica*. Estos son: flagelos, cápsulas, plásmidos, sistemas de adhesión y sistemas de secreción de tipo 3 (T3SS) codificados en las Islas de patogenicidad de *S. enterica* (SPI), las cuales se ubican en ciertas áreas de los cromosomas

bacterianos (Al-Khafaji, 2021). Dichos factores permiten que este microorganismo colonice a su huésped mediante la adhesión, la invasión, la supervivencia y evasión de los mecanismos de defensa del anfitrión, como la acidez gástrica, proteasas gastrointestinales y defensinas, así como agresinas del microbioma intestinal (Moredo, 2019). Los SPI se caracterizan por la transferencia de ARN (tRNA) y elementos genéticos móviles como transposones o genes de fagos, los cuales juegan diferentes roles en la patogenia y virulencia de *S. enterica*, así como facilitan la supervivencia de un organismo en condiciones de estrés (Jajere, 2019).

En el mismo sentido, el cambio genético que conduce a la resistencia a los antibióticos puede ser el resultado de una mutación espontánea o un cambio en el código genético, ejemplo de ello podría ser una alteración del sitio de unión de un fármaco, disminuyendo la sensibilidad a los antibióticos (Wilson, 2002).

2.7.2 Características fenotípicas de cepas de *S. enterica*

La resistencia a antibióticos es una de las características fenotípicas más valoradas hoy en día, debido a que recientemente, la presencia de microorganismos resistentes a los antimicrobianos (AMR por sus siglas en inglés) ha implicado un riesgo para la eficacia de los antibióticos y la salud humana (Ventola, 2015).

En estudios realizados se ha determinado la susceptibilidad a los antibióticos utilizando el método de difusión en disco, demostrándose que, en México, la mayoría de las cepas de *S. enterica* de origen vegetal poseen uni-resistencia, mientras que las cepas aisladas de alimentos de origen animal y humanos poseen resistencia múltiple a antibióticos como estreptomycin, tetraciclina, ampicilina y cloranfenicol (Godínez-Oviedo, 2019).

La resistencia múltiple o MDR (por sus siglas en inglés) se define como aquella que resiste tres o más agentes de por lo menos tres categorías antimicrobianas distintas. Se han encontrado cepas MDR en aislados de humanos de Jalisco y el Estado de México (Aguilar-MontesDeOca, 2018), en aislados de mango y jitomate de Aguascalientes, Guadalajara y Querétaro (Godínez-Oviedo, 2022) y en presas de Nigeria (Aregbe et al., 2018).

El fenotipo de resistencia ACSSuT (ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfametoxazol y tetraciclina) se ha asociado a cepas MDR de *S. enterica* aisladas de vegetales (Ma et al., 2018), carne de cerdo (Wottlin et al., 2022), verduras frías (Yang et al., 2022) e infecciones humanas (Reis, 2011). Las cepas con dicha tendencia suponen un problema, ya que afectan la eficiencia de la terapia antimicrobiana, agravando la enfermedad de un paciente (Parisi et al., 2018).

3. HIPÓTESIS

La capacidad de resistencia a antibióticos y la presencia de ciertos genes de virulencia en cepas de *S. enterica* están asociados a su fuente de aislamiento.

4. OBJETIVOS

4.1 General

- Caracterizar genotípicamente y fenotípicamente 102 cepas de *S. enterica* aisladas en México y asociarlo con su fuente de origen.

4.2 Específicos

- Purificar y confirmar las cepas de *S. enterica* aisladas anteriormente de diferentes fuentes mediante PCR.
- Caracterizar genotípicamente las cepas de *S. enterica* mediante la determinación de genes de virulencia.
- Caracterizar fenotípicamente las cepas de *S. enterica* mediante la determinación de la susceptibilidad a antibióticos.

5. METODOLOGÍA

5.1 Materiales

Se empleó material de laboratorio de microbiología y de análisis molecular como tubos de ensayo con tapa rosca y su gradilla, kit de micropipetas con sus respectivas puntas estériles, cajas Petri, asas bacteriológicas, tubos eppendorf, tubos para PCR, vaso de precipitados, matraz, probeta, vidrio de reloj e hisopos.

5.2 Reactivos

- Caldo soya tripticaseína (Neogen Acumedia, Michigan, EUA)
- Agar soya tripticaseína (Neogen Acumedia, Michigan, EUA)
- Agar XLD (Neogen Acumedia, Michigan, EUA)
- Agar mueller hinton (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México)
- Agarosa (Invitrogen, Carlsbad, EUA)
- SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, EUA)
- Green GoTaq (Promega, Madison, EUA)
- Agua libre de nucleasas (Promega, Madison, EUA)
- Marcador de peso molecular (Bioline, London, UK)
- Discos de 14 antibióticos (amikacina, ampicilina, carbencilina, cefalotina, cefoxitina, ciprofloxacino, cloranfenicol, gentamicina, netilmicina, nitrofurantoina, norfloxacin, trimetoprima/sulfametoxazol, estreptomycin, tetraciclina) (Investigación Diagnóstica, México)
- Primers forward y reverse de 13 genes de virulencia (*agfA*, *orgA*, *spiA*, *sifA*, *sseF*, *sseL*, *invA*, *ssaQ*, *sspH1*, *sopE*, *pefA*, *spvC*, *hilA*)

5.3 Métodos

5.3.1 Purificación y confirmación de cepas de *S. enterica*

Se utilizaron 102 cepas de *S. enterica*, específicamente, 12 provenientes de humanos, 34 del ambiente (26 de agua de desecho, 5 de agua de riego y 3 de suelo), 37 de alimentos vegetales (1 de pimiento morrón, 10 de jitomate Cherry, 14 de piña y 12 de mango), y 19 de alimentos no especificados (Cuadro 1). Estas, fueron aisladas en seis Estados de la República Mexicana: Aguascalientes, Colima, Hidalgo, Michoacán, Querétaro y Sinaloa, entre los años 2009 y 2020. Las cepas fueron donadas por el Laboratorio de Salud Pública del Estado de Aguascalientes, el Laboratorio de Salud Pública del Estado de Michoacán, el Laboratorio de Microbiología e Inocuidad de la Universidad de Guadalajara, el Laboratorio de Evaluación y Control de Riesgos Microbianos en los Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro, y el Laboratorio de Investigación Microbiana de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Dichas cepas se encontraban guardadas en caldo soya tripticaseína (CST) con glicerol (15 %) a -80°C, y para activarlas se tomó una asada y se colocó en tubos con CST, que fueron posteriormente incubados a 35°C/24 h. Luego del tiempo, se tomó una asada para estriarse en placas con medio selectivo agar xilosa lisina desoxicolato (XLD), para confirmar la presencia de *S. enterica* por medio de colonias rojas con centro negro. Para evaluar la pureza de la cepa, de la placa de XLD se tomó una colonia aislada con características típicas de *S. enterica* para estriarse en placas con agar soya tripticaseína (AST).

Cuadro 1. Características de las 102 cepas de *S. enterica* analizadas

Origen	Tipo de muestra	n	%	Fecha	Estado de procedencia	Características	Cita
Humano	Caso clínico	12	11.76	No especificado	Aguascalientes	No especificado	Datos no publicados
Ambiente	Agua residual	26	25.49	2020	Hidalgo	Colectadas de canales de riego adyacentes a campos agrícolas provenientes del Río Tula o Río Salado	Coronado et al., 2021
Ambiente	Suelo	1	0.98	2020	Hidalgo	Suelo de campos agrícolas cerca del Río Tula	Coronado et al., 2021
Ambiente	Suelo	2	1.96	2017-2018	Colima	Suelo de campos de papaya	Datos no publicados
Ambiente	Agua de riego	5	4.9	2017-2018	Colima	Agua de riego de campos de papaya	Datos no publicados
Vegetal	Piña	14	13.73	2018-2019	Querétaro	Piñas mínimamente procesadas provenientes de supermercados o mercados de productos frescos	Navarro-García, 2021
Vegetal	Pimiento morrón	1	0.98	2009- 2010	Querétaro	Recolectado de un invernadero	Ávila-Vega et al., 2014
Vegetal	Jitomate Cherry	10	9.8	2016 - 2017	Querétaro	Recolectadas de supermercados o mercados de productos frescos	Leal-Cervantes et al., 2018
Vegetal	Mango	12	11.76	No especificado	Sinaloa	Área de producción	Datos no publicados
Alimento no especificado	Alimento no especificado	19	18.63	No especificado	Michoacán	No especificado	Datos no publicados

5.3.2 Extracción de ADN

Para la extracción de ADN, se colocó 1 mL de CST en tubos eppendorf y se inocularon con las cepas correspondientes previamente estriadas en AST, dejándolas en incubación a 35°C/24 h. Al finalizar el tiempo de incubación, se realizaron 2 lavados con agua destilada estéril centrifugando a 15,000 x *g*/3 min. El precipitado fue resuspendido en agua destilada estéril. Las muestras se colocaron en un termobloque a 95°C/15 min. Posteriormente, las cepas se centrifugaron a 15,000 x *g*/30 s y se congelaron para su posterior uso.

5.3.3 Confirmación de cepas

Las cepas presuntivas a *S. enterica* se confirmaron mediante la detección de un fragmento específico del gen 16s ARNr (MinF: ACGGTAACAGGAAGMAG, MinR: TATTAACCACAACACCT). Para la mezcla de reacción se emplearon 5.0 µL de la mezcla de reacción (Green GoTaq 2X, Promega, Madison, USA), 0.5 µL de MinF (10 µM), 0.5 µL MinR (10 µM), 3.0 µL de agua libre de nucleasas y 1.0 µL de ADN. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en el termociclador TC-512 (Teche, Cambridge, UK) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C/3 min, amplificación de 30 ciclos (desnaturalización 94°C/20 s, alineación 55°C/30 s, y extensión 72°C/30 s), y extensión final 72°C/2 min. Los productos de la PCR se corrieron en un gel al 2 % de agarosa (Bioline, London, UK) con 0.004 % de SYBR® Safe (Invitrogen, Carlsbad, USA). Los geles fueron revelados en el fotodocumentador EDAS 290 (Kodak®, Rochester, EUA).

5.3.4 Resistencia a antibióticos

Para medir la resistencia a antibióticos de las cepas confirmadas, se empleó la metodología del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI, 2017). Brevemente, se realizó un estriado masivo en placas de AST con extracto de levadura y se dejó en incubación a 35°C/24 h. Posteriormente, el inóculo se ajustó con solución salina a una densidad óptica de 0.08 - 1 a 600 nm (equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL), luego, con ayuda de un hisopo, se estriaron placas con agar Mueller Hinton y se colocaron discos (7mm de diámetro) de 14 antibióticos como se muestra en el Cuadro 2. Las placas se dejaron en incubación a 35°C/24 h y posterior a ese tiempo se midieron los halos de inhibición de cada cepa, clasificándolas en resistente, intermedio y susceptible, de acuerdo a su diámetro (en mm). Además, las cepas fueron clasificadas como MDR si eran resistentes a 3 o más antibióticos de 3 categorías distintas

5.3.5 Identificación molecular de genes de virulencia

Se realizaron 4 PCR-múltiples (M1, M2, M3 y M4) para evaluar la presencia de trece genes de virulencia, los cuales se agruparon en 5 virulotipos (V1, V2, V3, V5 y V8), empleando una nomenclatura de estudios previos del mismo grupo de trabajo (Godínez-Oviedo et al., 2022). En el Cuadro 3 se muestran las secuencias de los iniciadores de los genes que se utilizaron, de los cuales, nueve son del cromosoma (*hilA*, *agfA*, *orgA*, *sipA*, *sifA*, *sseF*, *sseL*, *invA*, *ssaQ*), dos de profagos (*sspH1*, *sopE*) y dos de plásmidos (*spvC*, *pefA*) (Bhowmick, et al., 2011; Bohez et al., 2006; Borriello et al., 2012; Herrero, et. al., 2006; Hopkins & Threlfall, 2004; Kim, Ryu, Biswas, & Ahn, 2014; Peterson et al., 2010; Skyberg et al., 2006; Smith et al., 2010). Las condiciones de reacción y de PCR se muestran en el Cuadro 4 (Godínez-Oviedo et al., 2022). El equipo para realizar la amplificación, al igual que el equipo y condiciones de la electroforesis fueron los mismos que para la detección del fragmento del gen 16s ARNr.

Cuadro 2. Antibióticos evaluados en *S. enterica* de acuerdo a su categoría

Categoría	Antibiótico	Abreviatura	Concentración
Penicilinas	Ampicilina	AMP	10 µg
	Carbenicilina	CAB	100 µg
Aminoglucósidos	Amikacina	AMK	30 µg
	Gentamicina	GEN	10 µg
	Netilmicina	NET	20 µg
	Estreptomicina	STR	10 µg
Cefalosporinas	Cefalotina	CEF	30 µg
	Cefoxitina	CFX	30 µg
Quinolonas	Norfloxacin	NOF	10 µg
	Ciprofloxacino	CIP	30 µg
Fenólicos	Cloranfenicol	CLO	30 µg
Nitrofuranos	Nitrofurantoina	NFT	300 µg
Folato	Sulfametoxazol	STX	23.75 µg
Tetraciclinas	Tetraciclina	TET	30 µg

Cuadro 3. Secuencia de iniciadores para la detección de genes de virulencia de *S. enterica*

Zona	Gen	Peso (pb)	Secuencia	Cita
Cromosoma	<i>hilA</i>	66	F: GGTTCAATCCGAGAGTCTGCAT R: AGGCCAAAGGGCGCATA	Bohez et al., 2006
	<i>agfA</i>	313	F: GGATTCCACGTTGAGCATT R: GTTGTTGCCAAAACCAACCT	Smith et al., 2010
	<i>orgA</i>	255	F: TTTTGGCAATGCATCAGGGAACA R: GGCGAAAGCGGGGACGGTATT	Skyberg et al., 2006
	<i>sipA</i>	550	F: CCAGGGGTCGTTAGTGTATTGCGTGAGATG R: CGCGTAACAAAGAACCCGTAGTGATGGATT	Skyberg et al., 2006
	<i>sifA</i>	449	F: TTTGCCGAACGCGCCCCACACG R: GTTGCCTTTTCTTGCGCTTCCACCCATCT	Skyberg et al., 2006
	<i>sseF</i>	888	F: ATGCGCAAATAATGGTTGAT R: TCAGGCGCGTTAACAGGACG	Bhowmick et al., 2011
	<i>sseL</i>	169	F: TTCCGCGACAACCGACCTTTCTAA R: TTCTTGAACCAGACCTTGCGTTGC	Peterson et al., 2010
	<i>invA</i>	341	F: CGCGCTTGATGAGCTTTACC R: CTCGTAATTCGCCGCCATTG	Kim et al., 2014
	<i>ssaQ</i>	643	F: GAATAGCGAATGAAGAGCGTCC R: CATCGTGTTATCCTCTGTCAGC	Herrero et al., 2006
Profagos	<i>sspH1</i>	221	F: TGCAGAAAAAGGGGAATACG R: GCAGCCTGAAGGTCTGAAAC	Borriello et al., 2012
	<i>sopE</i>	665	F: TCAGTTGGAATTGCTGTGGA R: TCCAAAACAGGAAACCACAC	Hopkins et al., 2004
Plásmidos	<i>spvC</i>	571	F: ACTCCTTGCACAACCAAATGCGGA R: TGTCTCTGCATTTGCCACCATCA	Chiu et al., 1996
	<i>pefA</i>	157	F: GCGCCGCTCAGCCGAACCAG R: GCAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG	Skyberg et al., 2006

Cuadro 4. Condiciones de los PCR-múltiples y de la mezcla de reacción para la detección de genes de virulencia.

PCR-múltiples	Mezcla de Reacción		Condiciones de PCR
M1	GoTaq <i>pefAF</i> (10 µM) <i>pefAR</i> (10 µM) <i>orgAF</i> (10 µM) <i>orgAR</i> (10 µM) <i>invAF</i> (10 µM) <i>invAR</i> (10 µM) <i>sipAF</i> (10 µM) <i>sipAR</i> (10 µM) ADN	7.5 µL 0.3 µL 0.3 µL 0.9 µL 0.9 µL 0.9 µL 0.9 µL 0.9 µL 0.9 µL 1.5 µL	94° C/ 3 min 27 ciclos 94 °C/30 s 57 °C/30 s 72 °C/30 s 72 °C/5 min
M2	GoTaq 2X <i>hilAF</i> (10 µM) <i>hilAR</i> (10 µM) <i>sifAF</i> (10 µM) <i>sifAR</i> (10 µM) <i>ssaQF</i> (10 µM) <i>ssaQR</i> (10 µM) H2O ADN	7.5 µL 0.3 µL 0.3 µL 0.9 µL 0.9 µL 0.9 µL 0.9 µL 1.8 µL 1.5 µL	94 °C/ 3 min 33 ciclos 94 °C/30 s 57 °C/30 s 72 °C/30 s 72 °C/5 min
M3	GoTaq 2X <i>sseLF</i> (10 µM) <i>sseLR</i> (10 µM) <i>sspH1F</i> (10 µM) <i>sspH1R</i> (10 µM) <i>sopEF</i> (10 µM) <i>sopER</i> (10 µM) ADN	7.5 µL 0.5 µL 0.5 µL 1.0 µL 1.0 µL 1.5 µL 1.5 µL 1.5 µL	94°C/ 3 min 40 ciclos 94°C/30s 53°C/45s 72°C/30s 72°C/5 min
M4	GoTaq 2X <i>agfAF</i> (10 µM) <i>agfAR</i> (10 µM) <i>spvCF</i> (10 µM) <i>spvCR</i> (10 µM) <i>sseFF</i> (10 µM) <i>sseFR</i> (10µM) ADN	10 µL 0.95 µL 0.95 µL 0.55 µL 0.55 µL 2.5 µL 2.5 µL 2.0 µL	94 °C/ 3 min 47 ciclos 94 °C/30 s 55 °C/50 s 72 °C/30 s 72 °C/5 min

5.3.6 Análisis estadístico

Los datos recopilados se analizaron por medio de Rstudio (versión 3.6.2), agrupándose de acuerdo con su resistencia a antibióticos, su identificación de genes de virulencia y su fuente de aislamiento en gráficas. Asimismo, se realizó un análisis de contingencia en el mismo software, asociando variables dependientes e independientes mediante la prueba de Pearson.

6. RESULTADOS

6.1 Confirmación de cepas

Se confirmó la morfología típica de todas las cepas de *S. enterica* por medio de la formación de colonias traslucidas rojas con centro negro en Agar XLD (Figura 1). Dicho medio es selectivo debido a que contiene desoxicolato de sodio, el cual inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas. El color rojo traslúcido se debe a que después de que este patógeno fermenta los azúcares y acidifica el medio (amarillo), descarboxila la lisina alcalizando el medio generando nuevamente un color rojo, mientras que el centro negro se debe a que *S. enterica* puede metabolizar tiosulfato de sodio generando sulfuro de hidrógeno, que reacciona con el citrato de amonio férrico, produciendo sulfuro férrico que genera un precipitado de color negro (™ Media, 2022).

Posteriormente, en todas las cepas se detectó un único amplicón correspondiente a un fragmento específico del gen 16s ARNr por medio de PCR (Figura 2). Dicho gen es constitutivo de un operón bacteriano perteneciente a *S. enterica*, y posee regiones conservadas como son los “oligonucleótidos firma” o fragmentos de menor tamaño que no requieren secuenciación del ARNr 16S completo, permitiendo confirmar así la presencia del patógeno (DelRosario Rodicio, 2004).

Las cepas analizadas se clasificaron en una base de datos de acuerdo con su origen, fecha de aislamiento y Estado de procedencia (ver Anexos).



Figura 1. Morfología típica de cepas de *S. enterica* en agar selectivo XLD

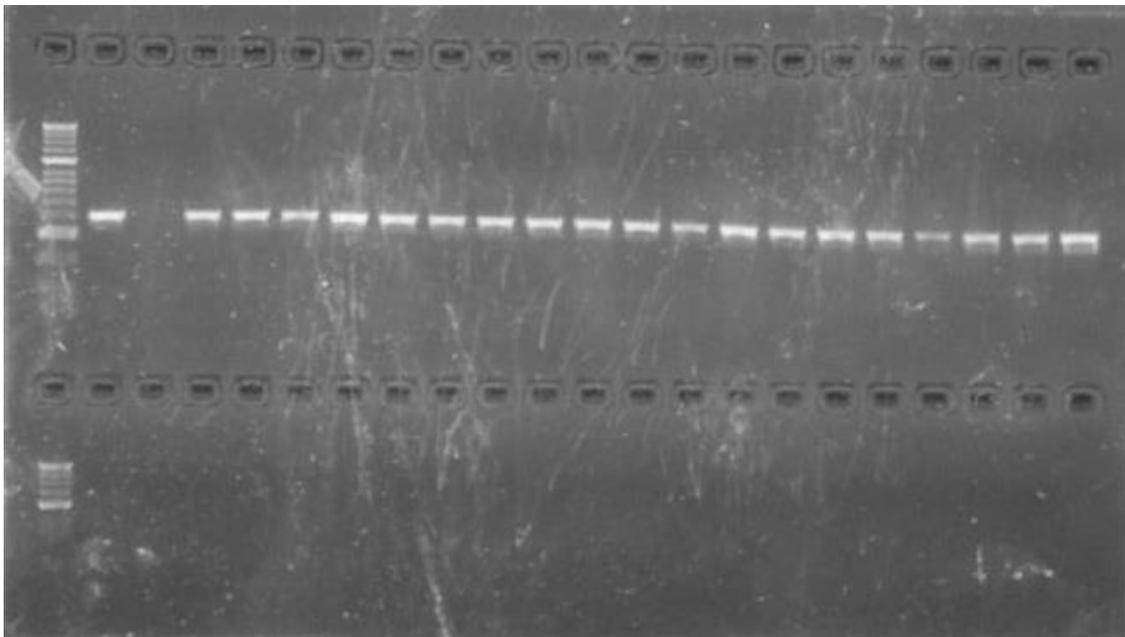


Figura 2. Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de un fragmento específico del gen 16s (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)

6.2 Resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica*

En la Figura 3 se observa un ejemplo de la evaluación antimicrobiana en agar Muller Hinton después del tiempo de incubación. El método de Kirby-Bauer, actualizado por el Instituto de Normas de Laboratorio Clínico, permite determinar si una bacteria en particular es susceptible, resistente o tiene resistencia intermedia a cierto antibiótico utilizado.



Figura 3. Halos de inhibición formados en cepa de *S. enterica* proveniente de caso clínico en humanos ante los antibióticos de estreptomicina y tetraciclina

Entre las 102 cepas totales, se demostró que la mayoría fue resistente a AMP (62.75 %; 64/102) seguido de CAB (30.39 %; 31/102) y STR (22.55 %; 23/102), mientras que hubo resistencia intermedia a CIP (45.10 %; 46/102). Por otro lado, ninguna fue resistente a NOF, y se presentó bajo porcentaje de resistencia a NET (1.96 %, 2/102) y a AMK (2.94 %, 2/102) (Figura 4).

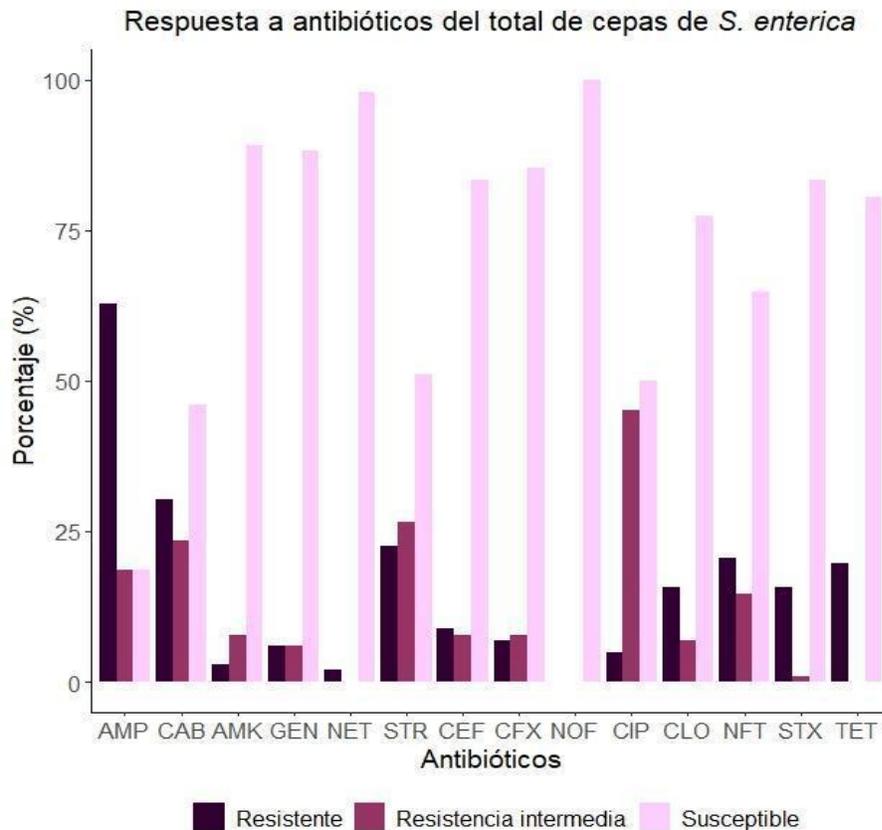


Figura 4. Porcentaje de respuesta a antibióticos de 102 cepas de *S. enterica*

Como se menciona anteriormente, la resistencia a AMP es la que más prevalece en todas las cepas aisladas de diferentes fuentes, situándose en primer lugar las cepas ambientales (79.41 %, 27/34), seguida de alimentos de origen vegetal (51.35 %, 19/37) y casos clínicos (41.67 %, 5/12). De acuerdo con el origen, las cepas ambientales también presentaron alta resistencia a carbenicilina (41.8 %, 14/34) y fueron las únicas que mostraron resistencia a ciprofloxacino (14.71 %, 5/34); mientras que las cepas provenientes de casos clínicos mostraron igual porcentaje ante sulfametoxazol y tetraciclina (41.67 %, 5/12). Por otro lado, las cepas de alimentos de origen vegetal presentaron alta resistencia a estreptomicina (35.14 %, 13/37) y nula resistencia a CLO, STX y TET (Figura 5).

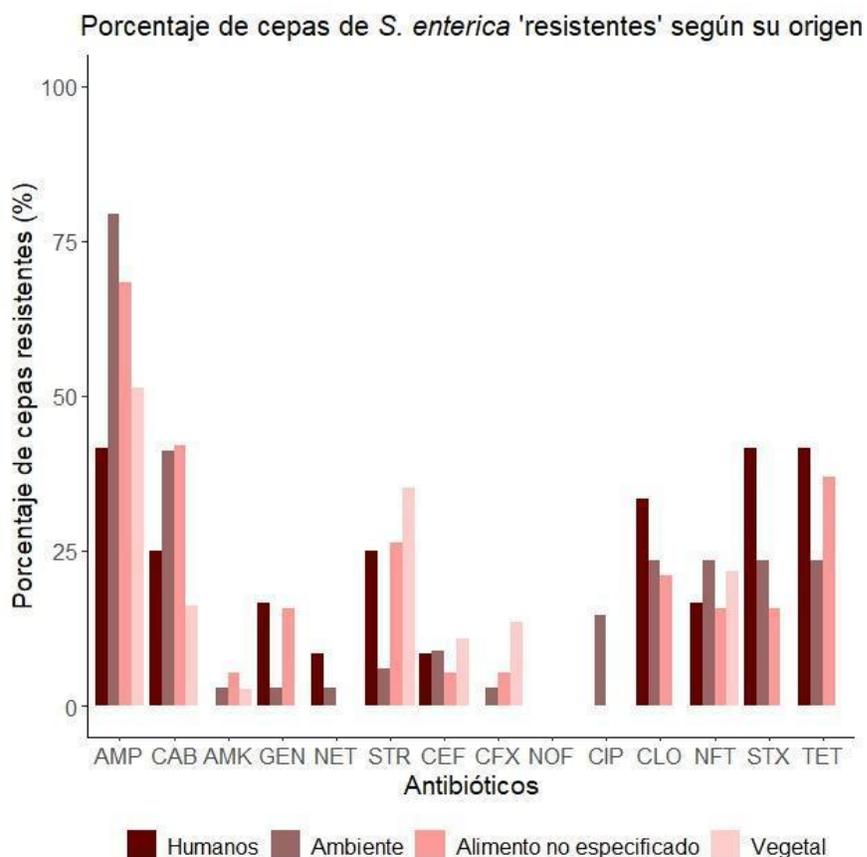


Figura 5. Porcentaje de cepas de *S. enterica* clasificadas como “resistentes” según su origen

En el Cuadro 5, se muestra una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la resistencia a AMP, CAB, CIP, CLO, STR, STX y TET y el origen de las cepas. Los aislados de origen ambiental presentaron un elevado porcentaje de resistencia a AMP (79.4 %), mientras que la susceptibilidad fue baja (8.8 %), siendo similar dicha tendencia en las cepas de alimentos no especificados (resistencia del 68.4 % y susceptibilidad del 5.3 %). En los aislados vegetales se demostró una baja susceptibilidad (24.3 %) a STR, caso contrario a las cepas provenientes de los demás orígenes, donde la susceptibilidad fue > 50 %.

Por su parte, el 14.7 % de los aislados ambientales presentó resistencia a CIP, mientras que, en los aislados de humanos, alimentos no especificados y vegetales la resistencia fue nula, y la susceptibilidad de 50 %, 63.2 % y 73 %, respectivamente.

Cuadro 5. Asociación entre la respuesta ante los antibióticos y la fuente de aislamiento de las cepas de *S. enterica*

Antibiótico	Respuesta	Humanos n (%)	Ambiente n (%)	Alimento no especificado n (%)	Vegetal n (%)	<i>p</i>
AMP	Resistente	5 (41.7 %)	27 (79.4 %)	13 (68.4 %)	19 (51.4 %)	0.007*
	Resistencia intermedia	5 (41.7 %)	4 (11.8 %)	5 (26.3 %)	5 (13.5 %)	
	Susceptible	2 (16.7 %)	3 (8.8 %)	1 (5.3 %)	13 (35.1 %)	
CAB	Resistente	3 (25 %)	14 (41.2 %)	8 (42.1 %)	6 (16.2 %)	1.52 x10 ^{^-11} *
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	2 (5.9 %)	4 (21.1 %)	18 (48.6 %)	
	Susceptible	9 (75 %)	18 (52.9 %)	7 (36.8 %)	13 (35.1 %)	
AMK	Resistente	0 (0 %)	1 (2.9 %)	1 (5.3 %)	1 (2.7 %)	0.6
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	4 (11.8 %)	0 (0 %)	4 (10.8 %)	
	Susceptible	12 (100 %)	29 (85.3 %)	18 (94.7 %)	32 (86.5 %)	
GEN	Resistente	2 (16.7 %)	1 (2.9 %)	3 (15.8 %)	0 (0 %)	0.08
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	3 (8.8 %)	0 (0 %)	3 (8.1 %)	
	Susceptible	10 (83.3 %)	30 (88.2 %)	16 (84.2 %)	34 (91.9 %)	
NET	Resistente	1 (8.3 %)	1 (2.9 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0.28
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	Susceptible	11 (91.7 %)	33 (97.1 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	

STR	Resistente	3 (25 %)	2 (5.9 %)	5 (26.3 %)	13 (35.1 %)	<0.0017*
	Resistencia intermedia	1 (8.3 %)	9 (26.5 %)	2 (10.5 %)	15 (40.5 %)	
	Susceptible	8 (66.7 %)	23 (67.6 %)	12 (63.2 %)	9 (24.3 %)	
CEF	Resistente	1 (8.3 %)	3 (8.8 %)	1 (5.3 %)	4 (10.8 %)	0.29
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	2 (5.9 %)	0 (0 %)	6 (16.2 %)	
	Susceptible	11 (91.7 %)	29 (85.3 %)	18 (94.7 %)	27 (73 %)	
FOX	Resistente	0 (0 %)	1 (2.9 %)	1 (5.3 %)	5 (13.5 %)	0.38
	Resistencia intermedia	1 (8.3 %)	2 (5.9 %)	3 (15.8 %)	2 (5.4 %)	
	Susceptible	11 (91.7 %)	31 (91.2 %)	15 (78.9 %)	30 (81.1 %)	
NOF	Resistente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	Susceptible	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	
CIP	Resistente	0 (0 %)	5 (14.7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	7.41x10 ⁻⁵ *
	Resistencia intermedia	6 (50 %)	23 (67.6 %)	7 (36.8 %)	10 (27 %)	
	Susceptible	6 (50 %)	6 (17.6 %)	12 (63.2 %)	27 (73 %)	
CLO	Resistente	4 (33.3 %)	8 (23.5 %)	4 (21.1 %)	0 (0 %)	0.018*
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	2 (5.9 %)	0 (0 %)	5 (13.5 %)	
	Susceptible	8 (66.7 %)	24 (70.6 %)	15 (78.9 %)	32 (86.5 %)	

NFT	Resistente	2 (16.7 %)	8 (23.5 %)	3 (15.8 %)	8 (21.6 %)	0.16
	Resistencia intermedia	4 (33.3 %)	7 (20.6 %)	0 (0 %)	4 (10.8 %)	
	Susceptible	6 (50 %)	19 (55.9 %)	16 (84.2 %)	25 (67.6 %)	
STX	Resistente	5 (41.7 %)	8 (23.5 %)	3 (15.8 %)	0 (0 %)	0.0099*
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	1 (2.9 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	Susceptible	7 (58.3 %)	25 (73.5 %)	16 (84.2 %)	37 (100 %)	
TET	Resistente	5 (41.7 %)	8 (23.5 %)	7 (36.8 %)	0 (0 %)	8.37x10 ⁽⁻⁴⁾ *
	Resistencia intermedia	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
	Susceptible	7 (58.3 %)	26 (76.5 %)	12 (63.2 %)	37 (100 %)	

*Estadísticamente significativo (p<0.05)

Del total de cepas de *S. enterica* analizadas, el 22.5 % (23/102) fueron susceptibles a los antibióticos probados, mientras que el 25.5 % (26/102) fueron MDR (Figura 6A). Por otro lado, se demostró una correlación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las de cepas MDR, resistentes (no MDR) y susceptibles, con su fuente de origen (Cuadro 6). Siendo las cepas provenientes de casos clínicos en humanos aquellas que indicaron mayor porcentaje de MDR (41.7 %, 5/12), mientras que las vegetales, menor MDR (16.2 %, 6/37) (Figura 6B).

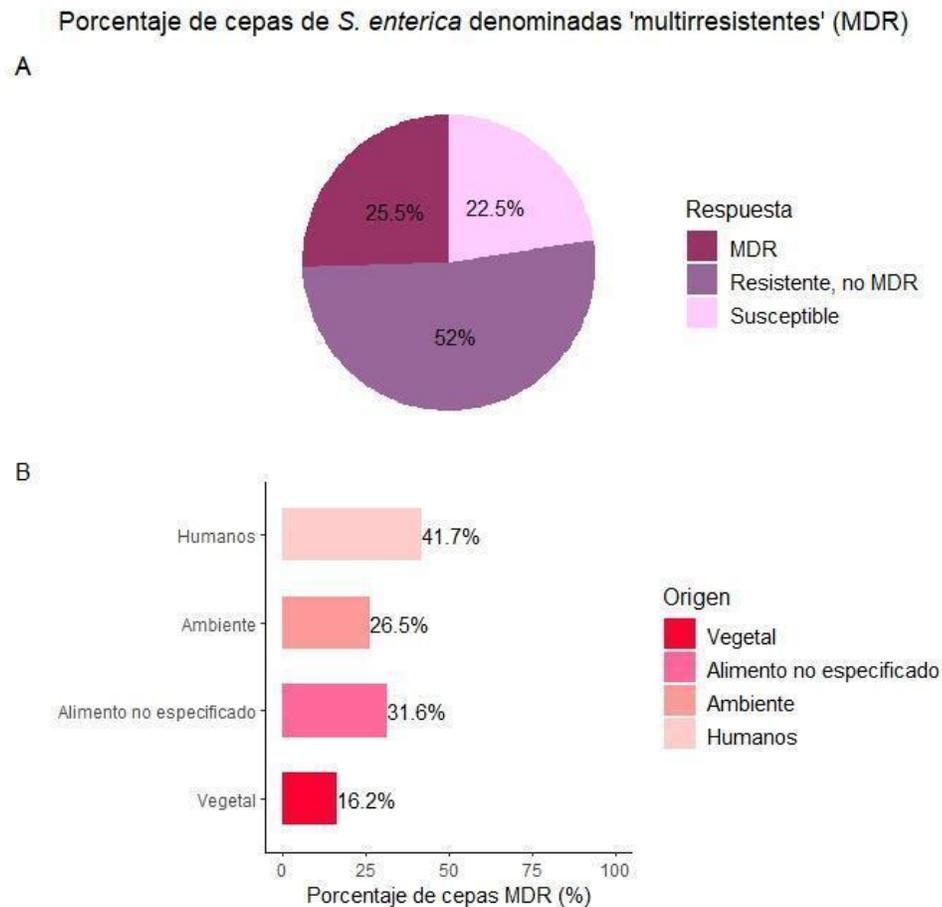


Figura 6. Multirresistencia a antibióticos de cepas de *S. enterica* A) Porcentaje de cepas de *S. enterica* totales MDR. B) Porcentaje de cepas MDR de acuerdo a su fuente de procedencia

Cuadro 6. Asociación entre las cepas de *S. enterica* MDR y su fuente de aislamiento

Respuesta	Humanos n (%)	Ambiente n (%)	Alimento no especificado n (%)	Vegetal n (%)	<i>p</i>
MDR	5 (41.7 %)	9 (26.5 %)	6 (31.6 %)	9 (16.2 %)	0.044*
Resistente	2 (16.7 %)	21 (61.8 %)	11 (57.9 %)	19 (51.4 %)	
Susceptible	5 (41.7 %)	4 (11.8 %)	2 (10.5 %)	12 (32.4 %)	

*Estadísticamente significativo ($p < 0.05$)

Se encontró que el 5.88 % (6/102) de las cepas de *S. enterica* tuvieron el perfil MDR del fenotipo ACSSuT (ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol, estreptomina y tetraciclina).

Finalmente, agrupándose de acuerdo con el Estado de la República donde se aislaron, se observó un mayor porcentaje de cepas MDR en Sinaloa (41.67 %, 5/12) y en Aguascalientes (41.67 %, 5/12), seguido de Michoacán (31.58 %, 6/19) e Hidalgo (29.63 %, 8/27). Por otro lado, se encontró un alto porcentaje de cepas resistentes a por lo menos un antibiótico en Colima (85.71 %, 6/7) y en Querétaro (64 %, 16/25), siendo nulo el porcentaje de cepas susceptibles en Colima, dicho comportamiento está asociado con el origen de las cepas de acuerdo al estado (Figura 7).

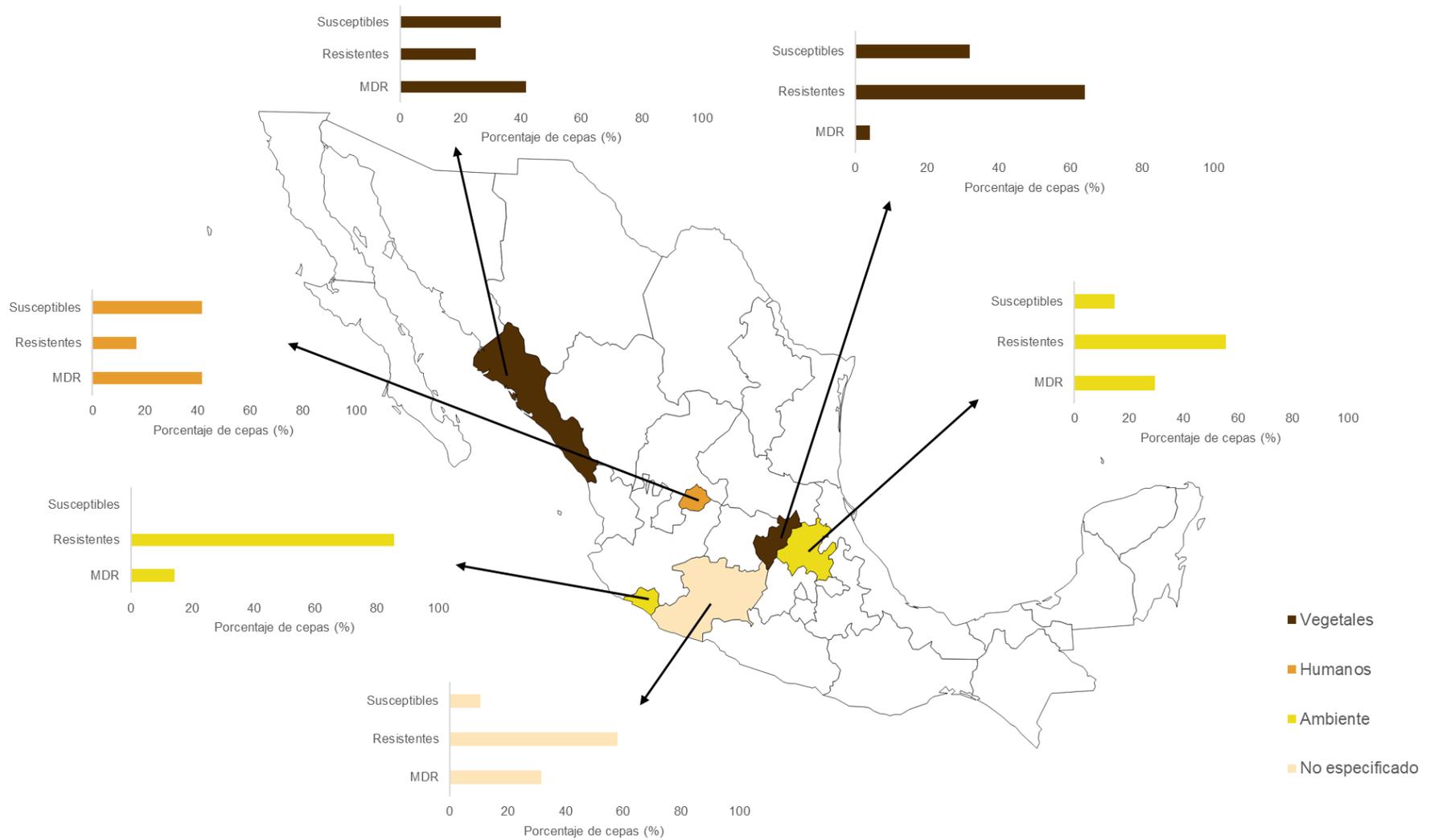


Figura 7. Porcentaje de cepas MDR, resistentes (por lo menos a un antibiótico) y susceptibles de acuerdo con su origen y el Estado de la República donde se aislaron.

6.3 Virulotipificación de cepas de *S. enterica*

Las cepas se sometieron a 4 PCR múltiples a distintas condiciones para la evaluación de los 13 genes de virulencia como se indica en la metodología. La M1 contenía los genes *sipA*, *invA*, *orgA* y *pefA* (Figura 8). La M2, por su parte, poseía los genes *ssaQ*, *sifA* e *hila* (Figura 9). La M3 contenía los genes *sopE*, *sspH1* y *sseL* (Figura 10). Finalmente, la M4 contenía los genes *sseF*, *spvC* y *agfA* (Figura 11).

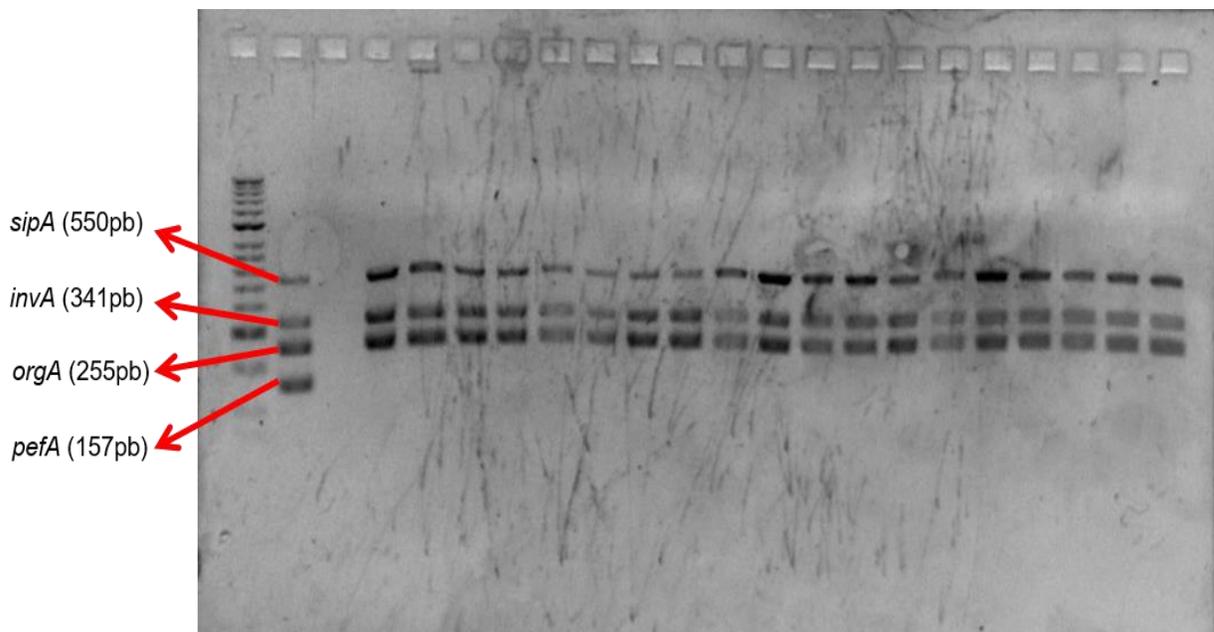


Figura 8. Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M1 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)

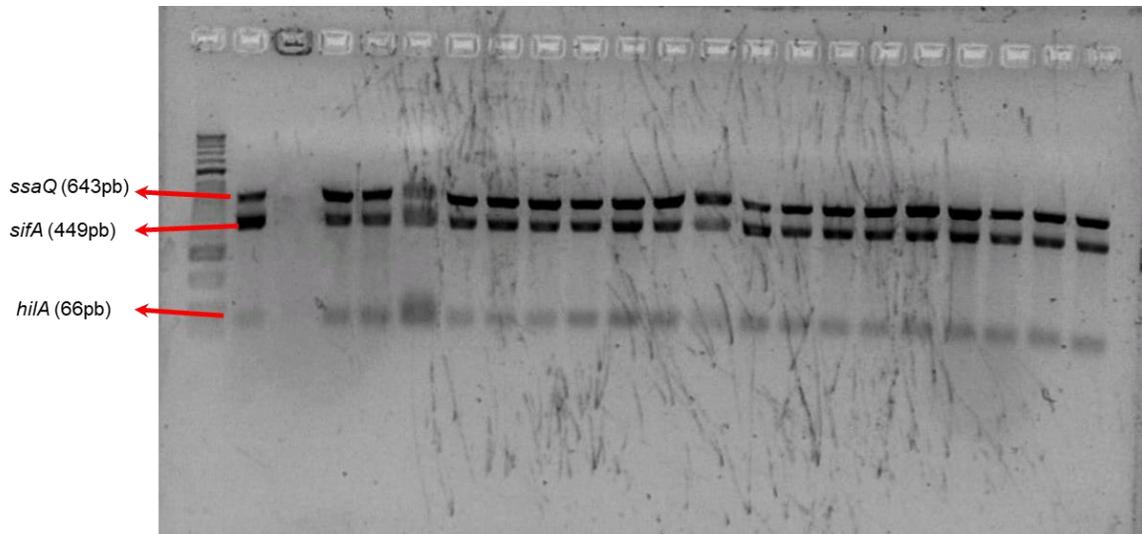


Figura 9. Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M2 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)

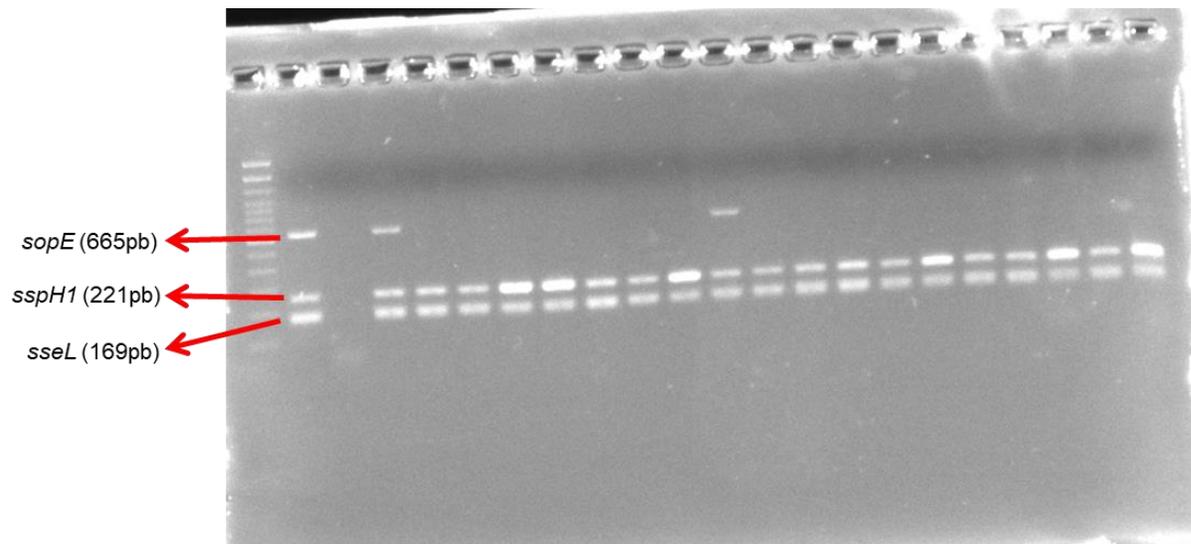


Figura 10. Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak ®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M3 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)

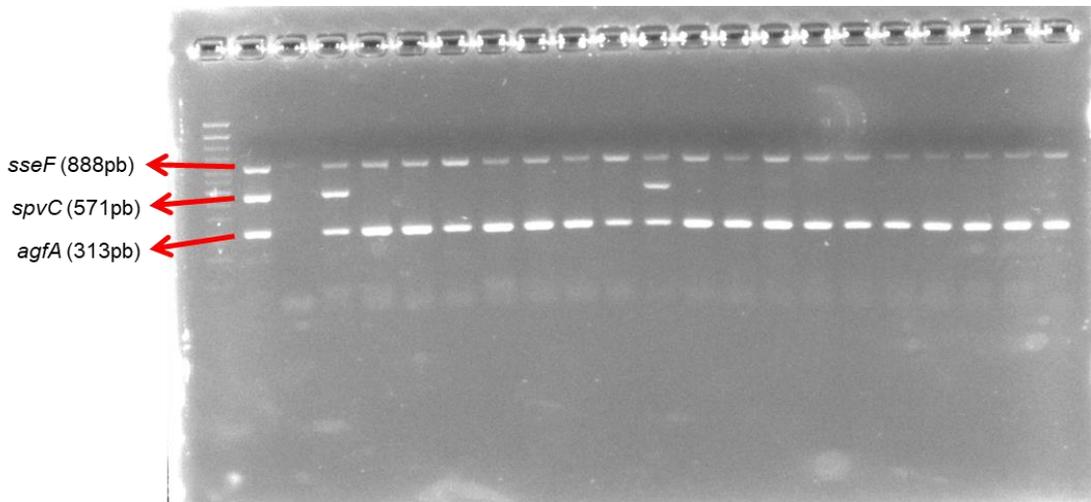


Figura 11. Revelado de gel de electroforesis por medio del fotodocumentador EDAS 290 (Kodak®), que muestra la detección de los genes de virulencia de la M4 (marcador, C+, C-, conjunto de cepas)

De las cepas de *S. enterica* evaluadas por PCR multiplex, el 100 % mostró la presencia de todos los genes del cromosoma, a excepción del gen *sseF* (99.02 %; 101/102), que no se encontró en una cepa proveniente de agua de riego de papaya. El gen *sspH1* fue el más común de los elementos genéticos móviles (90.2 %, 92/102), seguido de *sopE* (6.9 %, 7/102), *pefA* (2.9 %, 3/102) y *spvC* (2.9 %, 3/102) (Figura 12).

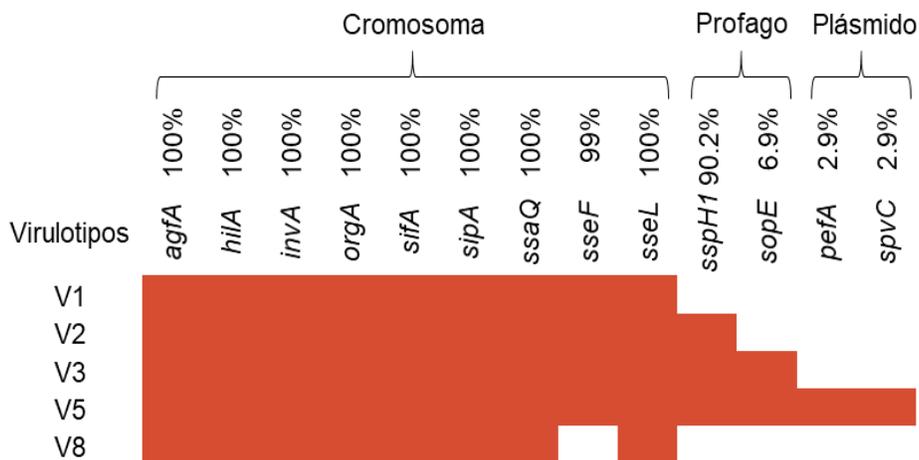


Figura 12. Distribución de cepas de *S. enterica* de acuerdo con su virulotipo

En cuanto a la fuente de aislamiento, los genes *sspH1*, *pefA* y *spvC* mostraron una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con el origen de las cepas de *S. enterica* evaluadas (Cuadro 7). El gen *sspH1* se presentó con elevado porcentaje en las cepas aisladas de humanos y de vegetales (100 % y 97.3 %, respectivamente). Por otro lado, los genes *pefA* y *spvC* tuvieron comportamientos similares, siendo ausentes en el 100 % de las cepas provenientes del ambiente, así como de vegetales.

Asimismo, se evaluó la correlación entre los genes de virulencia y la resistencia a antibióticos, encontrando que no existe una asociación estadísticamente significativa (Cuadro 8).

Se encontraron 5 virulotipos (V1, V2, V3, V5 y V8) de acuerdo a la nomenclatura de un estudio previo del grupo de trabajo (Godínez-Oviedo et al., 2022). De ellos, V2 presentó mayor frecuencia (83.3 %, 85/102), poseyendo todos los genes del cromosoma y *sspH1*; mientras que el virulotipo menos común fue el V8 (0.98 %, 1/102), con ocho genes cromosómicos únicamente y ausencia de *sseF*.

El virulotipo V1, que sólo posee los 9 genes del cromosoma, fue el segundo más común, con 8.82 % (9/102) de frecuencia; seguido del virulotipo V3 (3.92 %, 4/102) con todos los genes cromosómicos, *sspH1* y *sopE*. Finalmente, el virulotipo V5, que contiene todos los genes de virulencia, se caracterizó por un 2.95 % (3/102) del total de aislados (Figura 13).

De acuerdo con su origen, las cepas que mayormente frecuentaron los elementos genéticos móviles (V5) fueron las de casos clínicos, con un 16.7 % (2/12) de prevalencia. El virulotipo V2 tuvo mayor presencia en las cepas de alimentos vegetales (97.3 %, 36/37), y en cepas ambientales un 70.6 % (24/34). Por otro lado, el virulotipo V1 estuvo más presente en cepas ambientales (17.6 %, 6/34), luego de alimentos no especificados (10.5 %, 2/19) y vegetales (2.7 %, 1/37).

Finalmente, la única cepa con el virulotipo V8 correspondió a una aislada del agua de riego de papaya con *sseF* ausente (Figura 14). Dichos resultados coinciden con el Cuadro 9, donde se muestra que existe una correlación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre V2 y V5 con su fuente de aislamiento.

Cuadro 7. Asociación entre los genes de virulencia evaluados y la fuente de aislamiento de las cepas de *S. enterica*

Gen de virulencia	Respuesta	Humanos n (%)	Ambiente n (%)	Alimento no especificado n (%)	Vegetal n (%)	<i>p</i>
<i>agfA</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>hilA</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>invA</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>orgA</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sifA</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sipA</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>ssaQ</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sseF</i>	Presente	12 (100 %)	33 (97.1 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	0.56
	Ausente	0 (0 %)	1 (2.9 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sseL</i>	Presente	12 (100 %)	34 (100 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sspH1</i>	Presente	12 (100 %)	27 (79.4 %)	17 (89.5 %)	36 (97.3 %)	0.048*
	Ausente	0 (0 %)	7 (20.6 %)	2 (10.5 %)	1 (2.7 %)	
<i>sopE</i>	Presente	2 (16.7 %)	3 (8.8 %)	2 (10.5 %)	0 (0 %)	0.16
	Ausente	10 (83.3 %)	31 (91.2 %)	17 (89.5 %)	37 (100 %)	
<i>pefA</i>	Presente	2 (16.7 %)	0 (0 %)	1 (5.3 %)	0 (0 %)	0.015*
	Ausente	10 (83.3 %)	34 (100 %)	18 (94.7 %)	37 (100 %)	
<i>spvC</i>	Presente	2 (16.7 %)	0 (0 %)	1 (5.3 %)	0 (0 %)	0.015*
	Ausente	10 (83.3 %)	34 (100 %)	18 (94.7 %)	37 (100 %)	

*Estadísticamente significativo ($p < 0.05$)

Cuadro 8. Asociación entre las cepas MDR de *S. enterica* y los genes de virulencia evaluados

Gen de virulencia	Respuesta	Susceptible n (%)	Resistente, no-MDR n (%)	MDR n (%)	<i>p</i>
<i>agfA</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>hilA</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>invA</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>orgA</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sifA</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sipA</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>ssaQ</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sseF</i>	Presente	23 (22.5 %)	53 (100 %)	25 (24.5 %)	0.22
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (1 %)	
<i>sseL</i>	Presente	23 (100 %)	53 (100 %)	26 (100 %)	1
	Ausente	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
<i>sspH1</i>	Presente	22 (21.6 %)	48 (47.1 %)	22 (21.6 %)	0.42
	Ausente	1 (1 %)	5 (4.9 %)	4 (3.9 %)	
<i>sopE</i>	Presente	0 (0 %)	4 (3.9 %)	3 (2.9 %)	0.27
	Ausente	23 (22.5 %)	49 (48 %)	23 (22.5 %)	
<i>pefA</i>	Presente	0 (0 %)	2 (2 %)	1 (1 %)	0.63
	Ausente	23 (22.5 %)	51 (50 %)	25 (24.5 %)	
<i>spvC</i>	Presente	0 (0 %)	2 (2 %)	1 (1 %)	0.63
	Ausente	23 (22.5 %)	51 (50 %)	25 (24.5 %)	

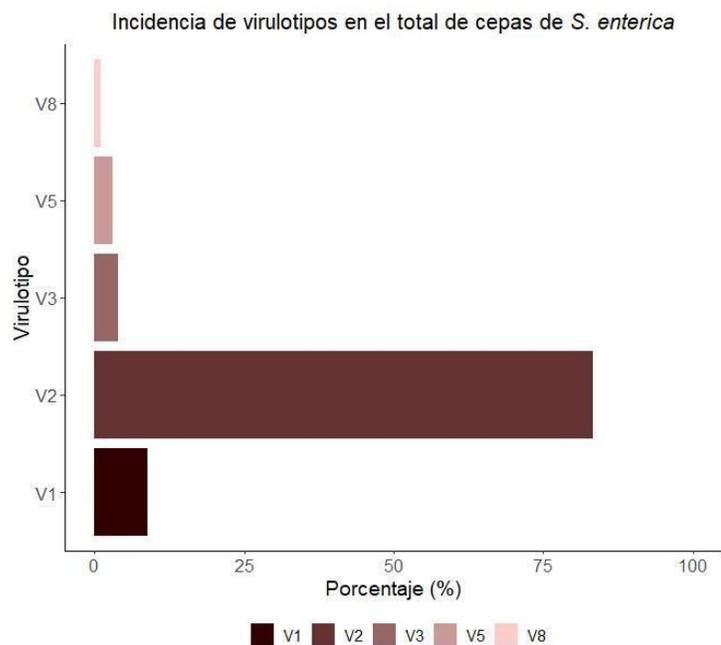


Figura 13. Frecuencia de virulotipos en las cepas de *S. enterica*

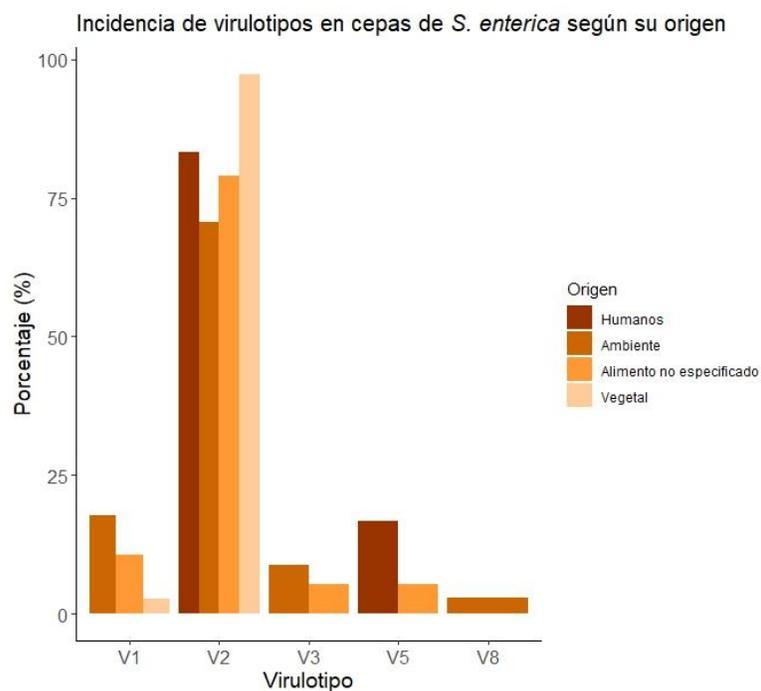


Figura 14. Distribución de cepas de *S. enterica* de acuerdo con su fuente de procedencia

Cuadro 9. Asociación entre los virulotipos y la fuente de aislamiento de las cepas de *S. enterica*

Virulotipo	Respuesta	Humanos n (%)	Ambiente n (%)	Alimento no especificado n (%)	Vegetal n(%)	<i>p</i>
V1	Presente	0 (0 %)	6 (17.6 %)	2 (10.5 %)	1 (2.7 %)	0.1
	Ausente	12 (100 %)	28 (82.4 %)	17 (89.5 %)	36 (97.3 %)	
V2	Presente	10 (83.3 %)	24 (70.6 %)	15 (78.9 %)	36 (97.3 %)	0.024*
	Ausente	2 (16.7 %)	10 (29.4 %)	4 (21.1 %)	1 (2.7 %)	
V3	Presente	0 (0 %)	3 (8.8 %)	1 (5.3 %)	0 (0 %)	0.23
	Ausente	12 (100 %)	31 (91.2 %)	18 (94.7 %)	37 (100 %)	
V5	Presente	2 (16.7 %)	0 (0 %)	1 (5.3 %)	0 (0 %)	0.015*
	Ausente	10 (83.3 %)	34 (100 %)	18 (94.7 %)	37 (100 %)	
V8	Presente	0 (0 %)	1 (2.9 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0.56
	Ausente	12 (100 %)	33 (97.1 %)	19 (100 %)	37 (100 %)	

*Estadísticamente significativo ($p < 0.05$)

7. DISCUSIÓN

Anteriormente, se ha reportado la presencia de *S. enterica* en diferentes fuentes en México, como vegetales (Godínez-Oviedo, 2021), carne (Villalpando-Guzmán, 2017) y aislados de humanos (Aguilar-MontesDeOca, 2018). La prevalencia es mayor en los productos cárnicos, ya que los animales suele ser un reservorio de patógenos que se transmiten a los alimentos (Heredia, 2018). Sin embargo, este patógeno puede encontrarse en una amplia diversidad de alimentos. Se ha encontrado la presencia de *S. enterica* en depósitos de agua cercanos a cultivos (Ballesteros-Nova et al., 2022), así como en suelo donde crece cosecha (Ocaña-De Jesus et al., 2019).

En cuanto a la resistencia a antibióticos, en este estudio se demostró que la resistencia a AMP es la que más prevalece en las cepas ambientales, seguido de alimentos de origen vegetal y casos clínicos, siendo similares los resultados a lo reportado en un estudio en Nigeria, donde el 100 % de las cepas de *S. enterica* aislada de agua de presa demostró ser resistente a ampicilina (Aregbe 2018). Otro estudio en Malasia, demostró resistencia a este antibiótico en aislados vegetales de *S. enterica* en un 26.7 % (Abatcha, 2018), mientras que, en Irán, el 94 % de los aislados clínicos mostró resistencia a este antibiótico (Khaltabadi et al., 2018).

La alta resistencia a ampicilina en aislados de humanos puede deberse a su bajo costo y amplio espectro para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias patógenas (Shrivastava et al., 2017). En suelos, la supervivencia de *S. enterica* resistente a AMP puede deberse a la aplicación de altas dosis de este antibiótico en abonos para cultivo (Godim-Porto et al., 2016); mientras que en agua de riego se ha asociado la presencia de cepas resistentes a este antibiótico debido al flujo de aguas residuales o depósito directo de materia fecal de reptiles y aves con cepas resistentes (Aregbe, 2018). En ambos reservorios, *S. enterica* tiene la capacidad de sobrevivir al estrés ambiental por largos periodos, trasladándose a vegetales que en consumo crudo puede ocasionar enfermedades gastrointestinales (Godim-Porto et al., 2016).

Seguido de ampicilina, los aislados vegetales de *S. enterica* demostraron alta resistencia a estreptomycin, el cual es un antibiótico ampliamente utilizado en cultivos

para el tratamiento de enfermedades bacterianas (Miller et al., 2022). Algunas bacterias patógenas en plantas pueden desarrollar resistencia a los antibióticos por mutaciones espontáneas o adquisición de genes de resistencia que generan un sitio objetivo alterado, asimismo, la falta de alternativas bactericidas efectivas a lo largo del tiempo, ha resultado en la sobre-dependencia de estreptomycin en plantas y suelo (Sundin y Wang, 2018).

Por su parte, ciprofloxacino es un antibiótico de la categoría de fluoroquinolonas actualmente utilizado para el tratamiento de salmonelosis invasiva (WHO, 2018). En este estudio, únicamente los aislados de agua residual presentaron resistencia a dicho antibiótico, siendo una fuente que puede producir infecciones humanas a través del consumo de vegetales crudos regados con agua no tratada o tratada inadecuadamente (Abatcha, 2018) o la ingestión de la misma al nadar en ríos donde desemboca. En estudios previos se ha demostrado la resistencia a ciprofloxacino en cepas aisladas de *E. coli* provenientes de lodos de agua con tratamiento (Manaiá, 2010), mientras que también en algunas cepas de *S. Typhimurium* provenientes de mariscos y agua residual, sugiriendo que estos productos pueden ocasionar infecciones más severas al ser resistentes a CIP (Kuang et al., 2018). La presencia de cepas de *S. enterica* resistentes en aguas residuales, puede deberse a que el cuerpo humano no digiere por completo los antibióticos una vez que ingresan, siendo expulsados al sistema de tratamiento de aguas residuales y propiciando su resistencia en el medio ambiente (Hayes et al., 2022). El análisis de la susceptibilidad a antibióticos en cepas patógenas puede indicar el inadecuado tratamiento de canales de agua previo a su uso en campos de agricultura, donde es necesaria una regulación ambiental de los antibióticos como de los patógenos.

Las cepas con mayor porcentaje de MDR fueron las provenientes de casos clínicos en humanos (41.7 %), mientras que las vegetales, presentaron menor MDR (16.2 %). Se demostró el 5.88 % (6/102) de las cepas de *S. enterica* con perfil MDR asociados al fenotipo de resistencia ACSSuT (ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol, estreptomycin y tetraciclina). Este comportamiento se ha observado en cepas de

casos clínicos (Reis, 2011), en aislados vegetales (Abatcha, 2018) y en cuerpos acuáticos (Yang et al., 2015). El incremento en su prevalencia, ha desembocado en la elección de quinolonas y cefalosporinas de tercera generación para tratar enfermedades gastrointestinales, ya que suponen efectividad contra los bacilos gramnegativos (Ma et al., 2018). Puede decirse que la prevalencia de este fenotipo de resistencia en cepas humanas es relevante, pues la eficiencia de la terapia antimicrobiana puede verse afectada, agravando la severidad de infecciones (Parisi et al., 2018).

La variabilidad de *S. enterica* no depende únicamente de su resistencia a antibióticos, sino también de la presencia de genes de virulencia (Maurer, 2017). En este estudio se encontró el 100 % de genes del cromosoma en las cepas evaluadas a excepción de una cepa proveniente de agua de riego de papaya que mostró ausencia del gen *sseF*. De manera similar, en un estudio realizado en Irán, se demostró el 100 % de prevalencia de los genes del cromosoma *agfA* e *invA* (Mashayekh, 2022). El gen *agfA* es un gen ancestral asociado a la capacidad que tiene el patógeno de colonizar el intestino del huésped a partir de la producción de fimbria (Aravena et al., 2019), mientras que *invA*, es un gen fundamental en la invasión de células del epitelio intestinal, siendo genes que se encuentran con alta frecuencia en cepas de *S. enterica* (Lou et al., 2019). Los genes cromosomales que se encuentran en las islas de patogenicidad participan en la adhesión, invasión y replicación de la bacteria en el huésped (Singh, 2018), específicamente, *sseF* es un gen efector que otorga la capacidad de supervivencia y la replicación exitosa de *S. enterica* en células huésped (Dai et al., 2004); por ello, su ausencia en una de las cepas analizadas, podría indicar una menor capacidad de virulencia.

El virulotipo V2 presentó mayor frecuencia en las cepas, el cual posee todos los genes del cromosoma y *sspH1* (que pertenece al profago). Esta tendencia sugiere que los genes del cromosoma son relevantes para los mecanismos de infección (Maurer, 2017). Asimismo, se ha asociado la proteína que produce el gen *sspH1* con la inhibición de un regulador de las células inmunes que prolonga su supervivencia dentro del huésped (McGhie, 2009).

Por otro lado, un elevado porcentaje de cepas provenientes de casos clínicos se clasificó dentro del virulotipo V5, el cual posee los genes del cromosoma, profago y plásmido en su totalidad. Se ha observado que la presencia de elementos genéticos móviles puede indicar una mayor probabilidad de infección; específicamente, *pefA* permite la adherencia a las células del epitelio intestinal (Kuijpers et al., 2019), y *spvC* la supervivencia dentro de macrófagos humanos (Seribelli et al., 2020).

8. CONCLUSIONES

Los resultados presentados en este estudio demuestran que existe una asociación entre la fuente de aislamiento de las cepas de *S. enterica* y sus características genotípicas y fenotípicas. Específicamente, se demostró que las cepas de origen ambiental presentan altos niveles de resistencia a antibióticos como ampicilina y ciprofloxacino, mientras que en aislados de alimentos vegetales se encontró resistencia elevada a estreptomina. En los aislados de casos clínicos se observó una mayor resistencia a ampicilina, así como el porcentaje de multiresistencia más alto de las cepas aisladas.

En cuanto a las características genotípicas, se observó la presencia de todos los genes del cromosoma en los aislados ambientales y vegetales, mientras que, en las cepas de origen humano, se observó la presencia de los genes cromosomales, así como los elementos genéticos móviles.

Los resultados demuestran una similitud en cuanto al perfil genotípico entre las cepas aisladas de humanos y de reservorios ambientales, sugiriendo que la contaminación con depósitos de agua o suelo pueden estar asociadas con los casos clínicos.

Con esta información, se podrían definir qué cepas de *S. enterica* son de mayor importancia epidemiológica, y así crear medidas sanitarias preventivas específicas para reservorios ambientales, y de frutas y hortalizas. Además, se destaca la importancia de monitorear constantemente los perfiles de resistencia a antibióticos en distintas fuentes de transmisión de *S. enterica* a alimentos, ya que permite una administración adecuada de los mismos y limita su resistencia.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abatcha, M. G., Effarizah, M. E. y Rusul, G. (2018).** Prevalence, antimicrobial resistance, resistance genes and class 1 integrons of *Salmonella* serovars in leafy vegetables, chicken carcasses and related processing environments in Malaysian fresh food markets. *Food Control*, 91, 170–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.039>
- Aguilar-MontesDeOca, S., Talavera-Rojas, M., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J., Vázquez-Navarrete, J., Acosta-Dibarrat, J. y 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>
- Akil, L., Ahmad, H. A. y Reddy, R. S. (2014).** Effects of climate change on *Salmonella* infections. *Foodborne Pathog Dis*, 11(12), 974-980. <https://doi.org/10.1089%2Ffpd.2014.1802>
- Alfaro-Mora, R. (2018).** Aspectos relevantes sobre *Salmonella* sp. en humanos. *Rev Cuba de Medicina Gen Integral*, 34(3), 110-122. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252018000300012
- Al-Khafaji, N. S., Al-Bayati, A. M. y Al-Dahmoshi, H. O. (2021).** Virulence factors of *Salmonella* Typhi. en Lamas, A., Regal, P. y Franco, C. M. *Salmonella* spp. - A Global Challenge. IntechOpen. <https://www.intechopen.com/chapters/74829>
- Aravena, C., Valencia, B., Villegas, A., Ortega, M., Fernández, A., Araya, P. y Del Campo, R. (2019).** Caracterización de cepas clínicas y ambientales de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Heidelberg aisladas en Chile. *Revista Médica de Chile*, 147(1), 24–33. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872019000100024>
- Aregbe, E. A., Olonitola, O. S., Inabo, H. I., Ella, E. E. y Ameso, V. C. (2018).** Multidrug Resistant *Salmonella* Species Isolated from Dam Water from Parts of Kaduna State, Nigeria. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 7(8), 823-832. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.092>

- Ávila-Vega, D. E., Alvarez-Mayorga, B., Arvizu-Medrano, S. M., Pacheco-Aguilar, R., Martinez-Peniche, R. y Hernández-Iturriaga, M. (2014).** Microbiological profile and incidence of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* on hydroponic bell peppers and greenhouse cultivation environment. *J. Food Prot.*, 77(11), 1904–1910. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-13-563>
- Ballesteros-Nova, N. E., Sánchez, S., Steffani, J. L., Sierra, L. C., Chen Z., Ruíz-López F. A. y Bell R. L. (2022).** Genomic Epidemiology of *Salmonella enterica* circulating in Surface Waters Used in Agriculture and Aquaculture in Central Mexico. *American Society for Microbiology*, 88(5), 1-16. <https://doi.org/10.1128/aem.02149-21>
- Bhowmick, P. P., Devegowda, D., Ruwandeepika, H. A. y Karunasagar, I. (2011).** Presence of *Salmonella* pathogenicity island 2 genes in seafood-associated *Salmonella* serovars and the role of the sseC gene in survival of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in epithelial cells. *Microbiology*, 157(1), 160–168. <https://doi.org/10.1099/mic.0.043596-0>
- Bhunja, A. K. (2018).** *Salmonella enterica* en Foodborne Microbial Pathogens (pp. 271-287). Springer. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-74537-4_11#citeas
- Bohez, L., Ducatelle, R., Pasmans, F., Botteldoorn, N., Haesebrouck, F. y Van, F. (2006).** *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization of the chicken caecum requires the HilA regulatory protein. *Vet Microbiol*, 116(1), 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.03.007>
- Borriello, G., Lucibelli, M.G., Pesciaroli, M., Carullo, M. R., Graziani, C., Ammendola, S. y Galiero, G. (2012).** Diversity of *Salmonella* spp. serovars isolated from the intestines of water buffalo calves with gastroenteritis. *BMC Vet Res*, 8(1), 201-209. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-201>
- Campos, J., Pichel, M., Vaz, T. M., Tavechio, A. T., Fernandes, S.A., Muñoz, N., Rodríguez, C., Realpe, M. E., Moreno, J., Araya, P., Fernández, J., Fernández, A., Campos, E., Duarte, F., Weiler, N., Binsztein, N. y Pérez, E. (2012).** Building PulseNet Latin America and Caribbean *Salmonella* regional database: first conclusions of genetic

subtypes of *S. Typhi*, *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* circulating in six countries of the region. *Food Res Int*, 45(2), 1030-1036. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.020>

Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C. A., Acevedo-Sandoval, O. A., González-Ramírez, C. A., Villagomez-Ibarra, J. R., Chavarría-Hernández, N. C., Villarruel-López, A. y Torres-Vitela, M. R. (2011). Frequency and behavior of *Salmonella* and *Escherichia coli* on whole and sliced jalapeño and serrano peppers. *J Food Prot*, 74(6), 874–881. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-398>

CDC. (2022). *Salmonella*. USA: Center for Disease Control and Prevention. Recuperado el 21 de junio de 2022 de <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>

Chen, F. C., Godwin, S., Green, A., Chowdhury, S. y Stone, R. (2018). Prevalence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* on the surfaces of raw poultry packages. *J Food Prot*, 81(10), 1707–1712. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-149>

CLSI. (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility, twenty-seventh: CLSI document M100-S20, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>

CONEVAL. (2017). Poverty measurement in Mexico and in the federal entities. México: Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Documents/Pobreza_16/Pobreza_2016_CONEVAL.pdf

Contreras-Soto, M. B., Medrano-Félix, J. A., Ibarra-Rodríguez, J. R., Martínez-Urtaza, J., Chaidez, Q. C. y Castro-DelCampo, N. (2019). Los últimos 50 años de *Salmonella* en México: fuentes de aislamiento y factores que influyen en su prevalencia y diversidad. *Biociencias*, 6, 1-26. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.nesp.e540>

Coronado, Y. I., Navarro, R., Mosqueda, C., Valenzuela, V., Pérez, J. P., González-Mendoza, V., DeLaTorre, M. y Rocha, J. (2021). SARS-CoV-2 in wastewater from Mexico City used for irrigation in the Mezquital Valley:

Quantification and modeling of geographic dispersion. *Environ. Manag.* 68(4), 580–590.

<https://doi.org/10.1007/s00267-021-01516-4>

Dai, S. y Zhou, D. (2004). Secretion and Function of *Salmonella* SPI-2 Effector SseF Require Its Chaperone, SscB. *Journal of Bacteriology*, 186(15), 5078–5086. <https://doi.org/10.1128%2FJB.186.15.5078-5086.2004>

Dang-Xuan, S., Nguyen-Viet, H., Pham-Duc, P., Grace, D., Unger, F., Nguyen-Hai, N. y Makita, K. (2018). Simulating cross-contamination of cooked pork with *Salmonella enterica* from raw pork through home kitchen preparation in Vietnam. *Int J Environ Res Public Health*, 15(10), pp. 2324-2338. <https://doi.org/10.3390%2Fijerph15102324>

Dantas, S. T., Rossi, B. F., Bonsaglia, E. C., Castilho, I. G., Hernandez, R. T., Fernandes, A. y Rall, V. L. (2018). Cross-contamination and biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on various cutting boards. *Foodborne Pathog Dis*, 15(2), 81–85. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2341>

DelRosario-Rodicio, M. y DelCarmen-Mendoza, M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 22(4), 238-45. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(04\)73073-6](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(04)73073-6)

De-Smet, J., Vandeweyer, D., Van-Moll, L., Lachi, D. y Van-Campenhout, L. (2021). Dynamics of *Salmonella* inoculated during rearing of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Food Res Int*, 149, 149-157. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110692>

Dieter, C. A., Maupin, M. A., Caldwell, R. R., Harris, M. A., Ivahnenko, T. I., Lovelace, J. K., Barber, N. L. y Linsey, K. S. (2018). Estimated use of water in the United States in 2015. Virginia: U.S. Geological Survey Circular. <https://doi.org/10.3133/cir1441>

Ehrampoush, M. H., Soltandallal, M. M., Dehghani-Tafti, A. A., Yaseri, M. y Aminharati, F. (2018). Surveillance of foodborne illnesses in association with ecological conditions in Yazd province, Iran. *J Disaster Emerg Res*, 1, 5-13.

- Fernández-Escartín, E. (2008).** Microbiología e inocuidad de los alimentos. 2ª Edición. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Gallegos-Robles, M. A., Morales-Loredo, A., Alvarez-Ojeda, G., Vega, A., Chew, Y., Velarde, S. y Fratamico, P. (2008).** Identification of *Salmonella* serotypes isolated from cantaloupe and chile pepper production systems in Mexico by PCR–restriction fragment length polymorphism. *J Food Prot*, 71(11), 2217–2222. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.11.2217>
- Godim-Porto, C., Platero, L., Nadal, I. y Navarro-García, F. (2016).** Fate of classical faecal bacterial markers and ampicillin-resistant bacteria in agricultural soils under Mediterranean climate after urban sludge amendment. *Science of The Total Environment*, 565, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.160>
- Godínez-Oviedo, A., Cabrera-Díaz, E., Palacios-Marmolejo, A., Pérez-Covarrubias, O. B., Vargas-Daniel, R. C., Tamplin, L. R., Bowman, J. P. y Hernández-Iturriaga, M. (2022).** Detection, quantification, and characterization of *Salmonella enterica* in mango, tomato, and raw chicken purchased in the central region of Mexico. *J Food Sci*, 87(1), 370–382. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16003>
- Godínez-Oviedo, A., Sampedro-Parra, F., Machuca-Vergara, J. J., Gutiérrez-González, P. y Hernández-Iturriaga, M. (2019).** Food consumer behavior and *Salmonella* exposure self-perception in the central region of Mexico. *J Food Sci*, 84(10), 2907-2915. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14792>
- Godínez-Oviedo, A., Tamplin, M. L., Bowman, J. L. y Hernández-Iturriaga, M. (2019).** *Salmonella enterica* in Mexico 2000–2017: epidemiology, antimicrobial resistance, and prevalence in food. *Foodborne Pathog Dis*, 17(2), 98-118. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2627>
- Gu, G., Strawn, L. K., Oryang, D. O., Zheng, J., Reed, E. A., Ottesen, A. R., Bell, R. L., Chen, Y., Duret, S., Ingram, D. T., Reiter, M. S., Pfuntner, R., Brown, E. W. y Rideout, S. L. (2018).** Agricultural practices influence *Salmonella*

contamination and survival in pre-harvest tomato production. *Front Microbiol*, 9, 9-24.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02451>

Hayes, A., Murray, L. M., Stanton, I. C., Zhang, L. y Snape, J. (2022). Predicting selection for antimicrobial resistance in UK wastewater and aquatic environments: Ciprofloxacin poses a significant risk. *Environment International*, 169, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107488>

Heredia, N. y García, S. (2018). Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Animal Nutrition*. 4(3), 250-255. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.006>

Herrero, A., Rodicio, M. R., González-Hevia, M. A. y Mendoza, M. C. (2006). Molecular epidemiology of emergent multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains carrying the virulence resistance plasmid pUO-StVR2. *J Antimicrob Chemother*, 57(1), 39–45. <https://doi.org/10.1093/jac/dki400>

Hopkins, K. L. y Threlfall, J. (2004). Frequency and polymorphism of *sopE* in isolates of *Salmonella enterica* belonging to the ten most prevalent serotypes in England and Wales. *J Med Microbiol*, 53(6), 539–543. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05510-0>

Hruby, C. E., Soupir, M. L., Moorman, T. B., Pederson, C. y Kanwar, R. (2018). *Salmonella* and fecal indicator bacteria survival in soils amended with poultry manure. *Water Air Soil Pollut*, 229(2), 1-14. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-017-3667-z>

Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World*, 12(14), 504-521. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>

Jechalke, S., Schierstaedt, J., Becker, M., Flemer, B., Grosch, R., Smalla, K. y Schikora, A. (2019). *Salmonella* establishment in agricultural soil and colonization of crop plants depend on soil type and plant species. *Front Microbiol*, 10, 1-17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00967>

- Jiang, C., Shaw, K. S., Upperman, C. R., Blythe, D., Mitchell, C., Murtugudde, R., Sapkota, A. R. y Sapkota, A. (2015).** Climate change, extreme events and increased risk of salmonellosis in Maryland, USA: evidence for coastal vulnerability. *Environ Int*, 83, 58-62. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.006>
- Khaltabadi, F. R., Ehsani, P., Ebrahimi-Rad, M. y Khaledi, A. (2018).** Molecular Detection, Virulence Genes, Biofilm Formation, and Antibiotic Resistance of *Salmonella enterica* Serotype enteritidis Isolated from Poultry and Clinical Samples. *Jundishapur J Microbiol.*, 11(10), 1-9. <https://doi.org/10.5812/jjm.69504>
- Kim, S., Ryu, K., Biswas, D. y Ahn, J. (2014).** Survival, prophage induction, and invasive properties of lysogenic *Salmonella* Typhimurium exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Arch Microbiol.*, 196(9), 655–659. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1005-z>
- Ko, W. H. (2020).** Observed food safety and sanitation behavior for chinese culinary cooking. *Foodborne Pathog Dis*, 17(4), pp. 262-268. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2717>
- Kuang, D., Zhang, J., Xu, X., Shi, W., Chen, S., Yang, X. y Meng, J. (2018).** Emerging high-level ciprofloxacin resistance and molecular basis of resistance in *Salmonella enterica* from humans, food and animals. *International Journal of Food Microbiology*, 280, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.001>
- Kuijpers, A. F., Marinovic, A. A., Wijnands, L. M., Delfgou-Van, E. H., Van Hoek, A. H., Franz, E. y Pielaat, A. (2019).** Phenotypic prediction: linking in vitro virulence to the genomics of 59 *Salmonella enterica* strains. *Front. Microbiol.*, 9, 31-82. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03182>
- Lambertini, E., Ruzante, J. M., Chew, R., Apodaca, V. L., Kowalcyk, B. B. (2019).** The public health impact of different microbiological criteria approaches for *Salmonella* in chicken parts. *Microb Risk Anal*, 12, 44-59. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2019.06.002>

- Leal-Cervantes**, M. G., Arvizu-Medrano, S. M., Martinez-Peniche, R., Martinez-Gonzales, N. E. y Hernandez-Iturriaga, M., (2018). Microbiological quality and incidence of *Salmonella* on cherry tomatoes at retail in Querétaro, México. *J. Food Prot.*, 81(4), 614–618. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-17-377>
- Liu**, H., Whitehouse, C. A. y Li, B. (2018). Presence and persistence of *Salmonella* in water: the impact on microbial quality of water and food safety. *Front Public Health*, 6, 1-13. <https://doi.org/10.3389%2Fpubh.2018.00159>
- Lou**, L., Zhang, P., Piao, R. y Wang, Y. (2019). *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 9(270), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00270>
- Ma**, Y., Li, M., Xu, X., Fu, Y., Xiong, Z., Zhang, L. y Zhang, J. (2018). High-levels of resistance to quinolone and cephalosporin antibiotics in MDR-ACSSuT *Salmonella enterica* serovar Enteritidis mainly isolated from patients and foods in Shanghai, China. *International Journal of Food Microbiology*, 286, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.022>
- Machado-Moreira**, B., Richards, K., Brennan, F., Abram, F. y Burgess, C. M. (2019). Microbial contamination of fresh produce: what, where, and how? *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 18(6), 1727-1750. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12487>
- McGhie**, E. J., Brawn, L. C., Hume, P. J., Humphreys, D. y Koron-Akis, 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>
- Manaia**, C. M., Novo, A., Coelho, B. y Nunes, O. C. (2010). Ciprofloxacin Resistance in Domestic Wastewater Treatment Plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 208(1), 335–343. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-009-0171-0>
- Mashayekh**, Z., Moradi, B.S. y Khaki, P. (2022). Detection of *invA*, *sivH*, and *agfA* Virulence Genes in *Salmonella* spp. isolated from Broiler Breeder Farms in Alborz Province, Iran. *Arch Razi Inst.*, 77(2), 607-614. <https://doi.org/10.22092%2FARI.2021.353674.1607>

- Mathew**, E. N., Muyyarikkandy, M. S., Bedell, C. y Amalaradjou, M. A. (2018). Efficacy of chlorine, chlorine dioxide, and peroxyacetic acid in reducing *Salmonella* contamination in wash water and on mangoes under simulated mango packinghouse washing operations. *Front Sustain Food Syst.*, 2(18), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00018>
- Maurer**, J. J. (2017). Factors Affecting Variation in *Salmonella* Virulence en Foodborne Microbial Pathogens (pp. 157-167). Springer. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-56836-2_6
- Miller**, S. A., Ferreira, J. P. y LeJeune, J. T. (2022). Antimicrobial Use and Resistance in Plant Agriculture: A One-Health Perspective. *Agriculture*, 12(2), 1-10. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020289>
- Miranda**, J. M., Mondragón, A. C., Martínez, B., Guarddon, M. y Rodríguez, J. A. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* from different raw foods in Mexico. *J Food Prot*, 72(5), 966–971. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.5.966>
- Moredo**, F. A., Larsen, A. E. y Stanchi, N. O. (2019). Patogenicidad microbiana en medicina veterinaria. 1a Edición. Argentina: Editorial de la Universidad de la Plata, pp. 6-29. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/74878>
- Nair**, D. V. y Kollanoor-Johny, A. (2019). *Salmonella* in poultry meat production en Food Safety in Poultry Meat Production (pp. 1-24). Springer. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-05011-5_1
- Navarro-Garcia**, C.E. (2021). Inactivación de *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes* en piña (*Ananas comosus* L) minimamente procesada mediante la aplicación de desinfectantes químicos y calentamiento óhmico. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional - Universidad Autónoma de Querétaro.
- Nopriani**, P. M., Wardani, H. E., Kurniawan, A. (2020). Association between food handlers hygiene and food sanitation to the contamination of *Salmonella* sp. on Sempol. *Adv Health Sci Res*, 29, 109-113. <https://doi.org/10.2991/ahsr.k.201107.027>

- Ocaña-De Jesús**, R. L., Gutiérrez-Ibáñez, A. T., Sánchez-Pale, J. R., Mariezcurrena-Berasain, M. D., Laguna-Cerda, A., Hernández-Chiñas, U. y Rojas-Puebla, I. (2019). Motility and Survival of *Salmonella enterica* Subspecies *enterica* Serovar Enteritidis in Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* L). *International Microbiology*, 22(3), 363-368. <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00059-3>
- Paniagua-Contreras**, G. L., Monroy-Pérez, E. y Vaca-Pacheco, S. (2008). Prevalence of *Salmonella* spp in diarrhea of children from an urban zone the Estado de México. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 71(4), 192–198. <https://www.medigraphic.com/pdfs/h-gral/hg-2008/hg084d.pdf>
- Parisi**, A., Crump, J. A., Glass, K., Howden, B. P., Furuya-Kanamori, L., Vilkins, S. y Kirk, M. D. (2018). Health outcomes from multidrug-resistant *Salmonella* infections in high-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Foodborne Pathog Dis*, 15(7), 428–436. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2403>
- Park**, M. S., Park, K. H. y Bahk, G. J. (2018). Interrelationships between multiple climatic factors and incidence of foodborne diseases. *IJERPH*, 15(11), 1-12. <https://doi.org/10.3390/ijerph15112482>
- Peterson**, G., Gerdes, B., Berges, J., Nagaraja, T. G., Frye, J. G., Boyle, D. S. y Narayanan, S. (2010). Development of microarray and multiplex polymerase chain reaction assays for identification of serovars and virulence genes in *Salmonella enterica* of human or animal origin. *J Vet Diagn Invest*, 22(4), 559–569. <https://doi.org/10.1177/104063871002200410>
- Quiroz-Santiago**, C., Rodas-Suárez, O. R., Vázquez, C., Fernández, F. J., Quiñones-Ramírez, E. I. y Vázquez-Salinas, C. (2009). Prevalence of *Salmonella* in vegetables from Mexico. *J Food Prot*, 72(6), 1279–1282. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.6.1279>
- Reis**, E. M., Rodrigues, D. P., Freitas-Almeida, A. C. y Hofer, E. (2011). Prevalence of R-type ACSSuT in strains of *Salmonella* serovar Typhimurium DT193 isolated from human infections in Brazil. *Rev Panam Salud Publica*, 29(6), 387–392. <https://www.scielosp.org/pdf/rpsp/2011.v29n6/387-392>

- Rincón-Gamboa**, S. M., Poutou-Piñales, R. A. y Carrascal-Camacho, A. K. (2021). Antimicrobial resistance of non-typhoid *Salmonella* in meat and meat products. *Foods*, 10(8), pp. 17-31. <https://doi.org/10.3390/foods10081731>
- Rodríguez-Julián**, A. R., Marin-Mendez, M., Minier-Pouyou, L., Rizo-Arredondo, I. y Fuentes-Gómez, Y. (2022). Vigilancia epidemiológica de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en la provincia de Santiago de Cuba. *MEDISAN*, 26(1), 47-59. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192022000100047
- Rukambile**, E., Sintchenko, V., Muscatello, G., Kock, R. y Alders, R. (2019). Infection, colonization and shedding of *Campylobacter* and *Salmonella* in animals and their contribution to human disease: A review. *Zoonoses Public Health*, 66(6), 562-578. <https://doi.org/10.1111/zph.12611>
- Seribelli**, A. A., Cruz, M. F., Vilela, F. P., Frazao, M. R., Paziani, M. H., Almeida, F., Cazentini Medeiros, M. I., DosPrazeres, D., VonZeska, M. R., Allard, M. W. y Falcao, J. P. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* typhimurium isolates from humans and foods in Brazil. *PLoS One*, 15(8), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237886>
- Sharma**, M., Handy, E. T., East, C. L., Kim, S., Jiang, C., Callahan, M. T. y Sapkota, A. R. (2020). Prevalence of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in non-traditional irrigation waters in the Mid-Atlantic United States is affected by water type, season, and recovery method. *PloS One*, 15(3), 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229365>
- Shrivastava**, K., Sahu, J., Maji, P. y Sinha, D. (2017). Label-free selective detection of ampicillin drug in human urine samples using silver nanoparticles as a colorimetric sensing probe. *New Journal of Chemistry*, 41(14), 6685–6692. <http://dx.doi.org/10.1039/C7NJ00448F>

- Singh, Y., Saxena, A., Kumar, R. y Saxena, M. K. (2018).** Virulence System of *Salmonella* with Special Reference to *Salmonella enterica* en Mascellino M. T. *Salmonella - A Re-Emerging Pathogen*. IntechOpen. <https://www.intechopen.com/chapters/61671>
- Skyberg, J. A., Logue, C. M. y Nolan, L. K. (2006).** Virulence genotyping of *Salmonella* spp. with multiplex PCR. *Avian Dis*, 50(1), 77–81. <https://doi.org/10.1637/7417.1>
- Smith, B. A., Meadows, S., Meyers, R., Parmley, E. J. y Fazil, A. (2019).** Seasonality and zoonotic foodborne pathogens in Canada: relationships between climate and *Campylobacter*, *E. coli* and *Salmonella* in meat products. *Epidemiol Infect*, 147, 1-10. <https://doi.org/10.1017%2FS0950268819000797>
- Smith, K. P., George, J., Cadle, K. M., Kumar, S., Aragon, S. J., Hernandez, R. L. y Varela, M. F. (2010).** Elucidation of antimicrobial susceptibility profiles and genotyping of *Salmonella enterica* isolates from clinical cases of salmonellosis in New Mexico in 2008. *World J Microbiol Biotechnol*, 26(6), 1025–1031. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0265-2>
- Sundin, G. W. y Wang, N. (2018).** Antibiotic Resistance in Plant-Pathogenic Bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 56, 161-180. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045946>
- The Food Tech. (2022).** Contaminantes en alimentos. Recuperado el 22 de abril de 2022 de <https://thefoodtech.com/historico/contaminantes-en-alimentos/#:~:text=Mecanismos%20de%20contaminaci%C3%B3n,agente%20contaminante%20es%20el%20manipulador.>
- Ventola, C. L. (2015).** The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *Pharm Ther*, 40(4), 277-283. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>
- Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E. I. y Vázquez-Salinas, C. (2017).** Frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de

Salmonella enterica aislada de carne de pollo, res y cerdo de la Ciudad de México. Rev Chilena Infectol, 34(5), 458–466. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182017000500458>

Webber, B., Oliveira, A. P., Pottker, E. S., Daroit, L., Levandowski, R., Santos, L. R., Rodrigues, L. B. (2019). *Salmonella* Enteritidis forms biofilm under low temperatures on different food industry surfaces. Cienc Rural, 49(7), 1-9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181022>

WHO. (2018). *Salmonella* (non-typhoidal). Recuperado el 22 de abril de 2022 de [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Wibisono, F. M., Wibisono, F. J., Effendi, M. H., Plumeriastuti, H., Hidayatullah, A. R., Hartadi, E. B. y Sofiana, E. D. (2020). A review of salmonellosis on poultry farms: public health importance. Sys Rev Pharm, 11(9), 481-486. <http://dx.doi.org/10.31838/srp.2020.9.69>

Wilson, J. W., Schurr, M. J., LeBlanc, C. L., Ramaamurthy, R., Buchanan, K. L. y Nickerson, C. A. (2002). Mechanisms of bacterial pathogenicity. Postgrad Med J., 78(918), 216–224. <https://doi.org/10.1136/pmj.78.918.216>

Wilson, M., McNab, R. y Henderson, B. (2002). Bacterial disease mechanisms: an introduction to cellular microbiology. Cambridge University Press. https://books.google.mg/books?id=BDMnfbZ3CCkC&printsec=frontcover&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false

Wottlin, L. R., Harvey, R. B., Norman, K. N., Burciaga, S., Loneragan, G. H., Droleskey, R. E. y Anderson, R. C. (2022). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Nontyphoidal *Salmonella enterica* from Head Meat and Trim for Ground Product at Pork Processing Facilities. Journal of Food Protection, 85(7), 1008-1016. <https://doi.org/10.4315/jfp-22-049>

- Yang, X., Kuang, D., Meng, J., Pan, H., Shen, J., Zhang, J. y Zhang, J. (2015).** Antimicrobial Resistance and Molecular Typing of *Salmonella* Stanley Isolated from Humans, Foods, and Environment. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(12), 945–949. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2010>
- Yang, X., Huang, J., Wu, Q., Zhang, J., Yang, S., Wang, J., Ding, Y., Chen, M., Xue, L., Wu, S., Gu, Q., Zhang, Y. y Wei, X. (2022).** Occurrence, serovars and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in retail ready-to-eat food products in some Chinese provinces. *LWT*, 154, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112699>
- Zaidi, M. B., Calva, J. J., Estrada-Garcia, M. T., Leon, V., Vazquez, G., Figueroa, G. y Tollefson, L. (2008).** Integrated food chain surveillance system for *Salmonella* spp. in Mexico. *Emerg Infect Dis*, 14(3), 429–436. <https://doi.org/10.3201/eid1403.071057>
- Zaidi, M. B., McDermott, P. F., Fedorka-Cray, P., Leon, V., Canche, C., Hubert, S. K. y Tollefson, L. (2006).** Nontyphoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatan, Mexico. *Clin Infect Dis*, 42(1), 21–28. <https://doi.org/10.1086/498508>

ANEXOS

Base de datos de las 102 cepas de *S. enterica* analizadas

No.	Código	Tipo de muestra	Lugar de procedencia	Fecha	Estado de procedencia	Serotipo	Respuesta a antibióticos	Virulotipo
1	AHL_S001	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	Resistente, no MDR	V5
2	AHL_S002	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Enteritidis	Susceptible	V2
3	AHL_S003	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	Susceptible	V2
4	AHL_S004	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	MDR	V2
5	AHL_S005	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	B Monofasica	Susceptible	V2
6	AHL_S006	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	MDR	V2
7	AHL_S007	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Mississippi	MDR	V2
8	AHL_S008	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	MDR	V2
9	AHL_S009	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	Resistente, no MDR	V5
10	AHL_S010	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	B	Susceptible	V2

11	AHL_S011	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Newport	MDR	V2
12	AHL_S012	Caso clínico	Humano	No especificado	Aguascalientes	Oranienburg	Susceptible	V2
13	AHL_S013	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V2
14	AHL_S014	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
15	AHL_S015	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
16	AHL_S016	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
17	AHL_S017	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Susceptible	V2
18	AHL_S018	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
19	AHL_S019	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
20	AHL_S020	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
21	AHL_S021	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
22	AHL_S022	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V2
23	AHL_S023	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2

24	AHL_S024	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Susceptible	V2
25	AHL_S025	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
26	AHL_S026	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V2
27	AHL_S027	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
28	AHL_S028	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Susceptible	V2
29	AHL_S029	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V1
30	AHL_S030	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V1
31	AHL_S031	Suelo	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR R	V2
32	AHL_S032	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V1
33	AHL_S033	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Susceptible	V2
34	AHL_S034	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V1
35	AHL_S035	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V3
36	AHL_S036	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V3

37	AHL_S037	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V3
38	AHL_S038	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	MDR	V2
39	AHL_S039	Agua de desecho	Ambiente	2020	Hidalgo	No especificado	Resistente, no MDR	V2
40	AHL_S040	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Saintpaul	Resistente, no MDR	V2
41	AHL_S041	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Give	Resistente, no MDR	V1
42	AHL_S042	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Virchow	Susceptible	V2
43	AHL_S043	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Typhimurium	MDR	V2
44	AHL_S044	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Hadar	Resistente, no MDR	V2
45	AHL_S045	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Oranienburg	Resistente, no MDR	V2
46	AHL_S047	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Oslo	Resistente, no MDR	V2
47	AHL_S048	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Untypable	Resistente, no MDR	V2
48	AHL_S049	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Muenchen	MDR	V2
49	AHL_S050	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Bareilly	Resistente, no MDR	V2

50	AHL_S051	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Tennessee	Resistente, no MDR	V2
51	AHL_S052	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Derby	MDR	V2
52	AHL_S053	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Cannstatt	MDR	V2
53	AHL_S054	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Agona	Resistente, no MDR	V3
54	AHL_S055	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Bovismorbificans	Resistente, no MDR	V2
55	AHL_S056	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Enteritidis	MDR	V1
56	AHL_S057	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Anatum	Susceptible	V2
57	AHL_S058	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Enteritidis	MDR	V5
58	AHL_S059	Alimento no especificado	Alimento no especificado	No especificado	Michoacán	Muenchen	Resistente, no MDR	V2
59	AHL_S060	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
60	AHL_S061	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
61	AHL_S062	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
62	AHL_S063	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2

63	AHL_S064	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
64	AHL_S065	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
65	AHL_S066	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
66	AHL_S067	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
67	AHL_S068	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
68	AHL_S069	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
69	AHL_S070	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
70	AHL_S071	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	MDR	V2
71	AHL_S072	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
72	AHL_S073	Piña	Vegetal	2018-2019	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
73	AHL_S074	Pimiento morrón	Vegetal	2009- 2010	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
74	AHL_S075	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2
75	AHL_S076	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2

76	AHL_S077	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2
77	AHL_S078	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
78	AHL_S079	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
79	AHL_S080	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2
80	AHL_S081	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2
81	AHL_S082	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V1
82	AHL_S083	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Susceptible	V2
83	AHL_S084	Jitomate cherry	Vegetal	2016 - 2017	Querétaro	No especificado	Resistente, no MDR	V2
84	AHL_S085	Agua de riego, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	Poona	Resistente, no MDR	V1
85	AHL_S086	Agua de riego, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	Bareily	Resistente, no MDR	V2
86	AHL_S087	Agua de riego, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	Infantis	Resistente, no MDR	V2
87	AHL_S088	Agua de riego, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	C1	MDR	V8
88	AHL_S089	Agua de riego, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	C1	Resistente, no MDR	V2

89	AHL_S090	Suelo, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	Oranienburg	Resistente, no MDR	V1
90	AHL_S091	Suelo, papaya	Ambiente	2017-2018	Colima	Bareily	Resistente, no MDR	V2
91	AHL_S093	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	Susceptible	V2
92	AHL_S094	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	MDR	V2
93	AHL_S095	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	Resistente, no MDR	V2
94	AHL_S096	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	Susceptible	V2
95	AHL_S097	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	Susceptible	V2
96	AHL_S098	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	Resistente, no MDR	V2
97	AHL_S099	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	C1	Susceptible	V2
98	AHL_S100	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	MDR	V2
99	AHL_S101	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	Resistente, no MDR	V2
100	AHL_S102	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	MDR	V2
101	AHL_S103	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	MDR	V2
102	AHL_S104	Mango	Vegetal	No especificado	Sinaloa	Infantis	MDR	V2

