



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Química Clínica Diagnóstica

**“Identificación de los patrones de resistencia antimicrobiana de
aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos a partir de productos
cárnicos avícolas de importancia en salud pública”.**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestra en Química
Clínica Diagnóstica

Presenta
Q.F.B Laura Amalia Adame Solis

Dirigido por
Dra. Karla Isabel Lira De León

Querétaro, Qro a 14 de Diciembre de 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Identificación de los patrones de resistencia antimicrobiana de aislamientos de Salmonella enterica obtenidos a partir de productos cárnicos avícolas de importancia en salud pública

por

Laura Amalia Adame Solis

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

Clave RI: FQMAC-290850



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Química Clínica Diagnóstica

“Identificación de los patrones de resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos a partir de productos cárnicos avícolas de importancia en salud pública”.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestra en
Química Clínica Diagnóstica

Presenta
Q.F.B Laura Amalia Adame Solis

Dirigido por
Dra. Karla Isabel Lira De León

Presidente Dra. Karla Isabel Lira De León

Secretario Dr. Gerardo Manuel Nava Morales

Vocal M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez

Suplente M. en C. Alma Delia Bertadillo Jilote

Suplente Dra. María Carlota García Gutiérrez

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Diciembre 2023
México

Dedicatoria

A mi familia, por apoyarme en todo momento en mi vida profesional, por confiar en mi e impulsarme a ser mejor cada día, sin ellos nada hubiera sido posible, gracias.

Con amor, Laura Amalia Adame Solis.

Agradecimientos

Agradezco a mis padres, porque siempre me han impulsado a seguir y cumplir mis metas, han logrado formar a una profesionista responsable, con valores y perseverante. También doy mi agradecimiento a mi hermano, una de las más importante de mi vida que ha estado conmigo en todo momento, porque en todo este trayecto siempre me apoyo moralmente y físicamente.

A mi directora de tesis, gracias por todo el tiempo que dedico en mi formación durante la maestría y a dirigir cada paso para concluir este proyecto. Por compartir su conocimiento, generando en mí, admiración y respeto por todo lo que apporto en mi formación profesional.

También agradezco al Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Química, por proporcionarme todos los recursos incluyendo los aislamientos con los que se trabajaron para el desarrollo de este proyecto. Y al Laboratorio de Microbiología, de la Unidad de Servicios Clínicos y Diagnóstico Molecular en conjunto con los profesores y químicos, por darme el espacio y acompañamiento en el proyecto.

Así mismo, quiero expresar mi gratitud a todo mi comité de sinodales que durante estos 2 años me acompañaron en mi desempeño académico, desarrollo y presentación de la tesis.

Sin embargo, todo esto no hubiera sido posible, sin el apoyo de la beca otorgada para la realización de mis estudios de la Maestría que me proporcionó el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT).

Índice general

Índice general	1
Índice de tablas	4
Índice de figuras	5
Abreviaturas	6
Resumen	8
Abstract	9
1. Introducción	10
2. Antecedentes	13
2.1 One Health “Una salud”	13
2.2 Características generales de <i>Salmonella</i> y su importancia en la salud pública	14
2.3 Mecanismo de acción de los antibióticos	19
2.3.1 Clasificación de antibióticos sobre la base del mecanismo de acción ...	20
2.3.1.1 Síntesis de la pared bacteriana	20
2.3.1.1.1 Betalactámicos	21
2.3.1.1.2 Membrana celular	22
2.3.1.1.2.1 Polimixinas	22
2.3.1.1.3 Síntesis de proteínas	23
2.3.1.1.3.1 Macrólidos	24
2.3.1.1.3.2 Anfénicoles	24
2.3.1.1.3.3 Tetraciclina	25
2.3.1.1.3.4 Aminoglucósidos	25
2.3.1.1.4 Síntesis de ácidos nucleicos	26
2.3.1.1.4.1 Quinolonas	26
2.3.1.1.5 Síntesis de folatos	26
2.3.1.1.5.1 Sulfonamidas	26
2.3.1.1.5.2 Trimetoprim	27
2.4 Impacto de la resistencia bacteriana	27

2.5 Definición de resistencia antimicrobiana	29
2.6 Mecanismo de Resistencia	30
2.6.1 Inactivación enzimática.....	31
2.6.2 Alteración de los objetivos antimicrobianos.	32
2.6.3 Eflujo de drogas.....	32
2.7 Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos	39
3 Objetivos.....	42
3.1 General.....	42
3.2 Particulares	42
3.3 Profesionalizantes	42
4. Metodología.....	43
4.1.1 Diseño.....	43
4.1.2 Definición del Universo.....	43
4.1.3 Tamaño de muestra.....	43
4.1.4 Definición de las unidades de observación.....	43
4.1.5 Grupo control	44
4.1.6 Criterios de inclusión.....	44
4.1.7 Criterios de exclusión.....	44
4.1.8 Criterios de eliminación.....	44
4.1.9 Definición de variables y unidades de medida.....	44
4.1.10 Fuentes, métodos, técnicas y procedimientos de recolección de la información	45
4.2 Procedimientos	46
4.2.1 Identificación del panel de antibióticos de relevancia para la salud pública, desde la perspectiva de Una Salud	46
4.2.2 Estandarización de la técnica de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), siguiendo las normas internacionales.....	47
4.2.3 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria a través de Microdilución en caldo	50
4.2.3.1 Preparación de la solución stock de antibióticos propuestos.....	50
4.2.3.2 Preparación de la suspensión estándar de turbidez. Curva de crecimiento bacteriano, por densidad óptica.....	51

4.2.3.3 Células para el inóculo de la determinación de concentración mínima inhibitoria	52
4.2.3.4 Preparación de la suspensión del inóculo.....	52
4.2.3.5 Método de microdilución	52
4.2.4 Concentración mínima bactericida (CMB)	55
4.2.5 Comparación de los patrones de multirresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de <i>Salmonella enterica</i> prevalentes en la industria cárnica avícola, con los perfiles de resistencia reportados a nivel nacional e internacional.	57
5. Resultados y discusión	59
5.1 Criterios de selección de antibióticos propuestos	59
5.2 Prevalencia global de la susceptibilidad y no susceptibilidad de <i>S. enterica</i> a los antibióticos analizados.	64
5.2.1 Análisis de Chi ² entre puntos de venta con cepas susceptibles y no susceptibles.....	72
5.3 Identificación de Multidrogorresistencia (MDR) en las cepas de <i>S. enterica</i>	75
5.4 Resultados de Concentración Mínima Bactericida (CMB)	79
5.5 Identificación y comparación de los patrones de multirresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de <i>Salmonella enterica</i> prevalentes en la industria cárnica avícola, con los patrones de resistencia reportados a nivel nacional e internacional	82
5.5.1 Identificación de los patrones de multirresistencia de aislamientos de <i>S. enterica</i>	83
5.5.2 Comparación de los patrones de multirresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de <i>Salmonella enterica</i> prevalentes en la industria cárnica avícola, con los patrones de resistencia reportados a nivel nacional e internacional	86
6. Conclusiones	93
Referencias.....	94
Anexo 1. Cálculo para la cantidad considerada de antibiótico que se utilizarán en las soluciones stock.....	122
Anexo 2. Tabla de resultados de Concentración Mínima Inhibitoria de la cepa ATCC de <i>E. coli</i> 25922	128
Anexo 3. Patrones de resistencia de los aislamientos de <i>S. enterica</i>.....	129

Anexo 4. Porcentajes totales de serotipos resistentes por cada familia de antibiótico.....130

Índice de tablas

Tabla 1. Resistencia de antibióticos por inactivación enzimática, modificación del objetivo diana y bombas de eflujo	33
Tabla 2. Categorización de enzimas β -lactamasas bacterianas por los sistemas Bush-Jacoby y Ambler	35
Tabla 3. Modificación enzimática en aminoglucósidos	38
Tabla 4. Categoría de interpretación de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos	41
Tabla 5. Definición de unidades de observación.....	43
Tabla 6. Características de la variable	44
Tabla 7. Intervalos de control de calidad de Concentración Mínima Inhibitoria para organismos no fastidiosos.....	48
Tabla 8. Solventes y diluyentes para la preparación de soluciones madre de antibióticos, de acuerdo al CLSI M-100	50
Tabla 9. Puntos de corte de los antibióticos seleccionados	53
Tabla 10. Antibióticos, familia y rangos de punto de corte ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de susceptibilidad, intermedio y resistente	54
Tabla 11. Valor de rechazo, sensibilidad y especificidad calculadas a partir de la concentración inicial del inóculo, sobre una sola muestra de 0.01mL	56
Tabla 12. Criterios de selección de antibióticos propuestos	60
Tabla 13. Resultado de susceptibilidad y no susceptibilidad de <i>S. enterica</i> de cada antibiótico analizado	65
Tabla 14. Porcentajes de resistencia e IC del 95 % de los antibióticos analizados en 88 aislamientos de <i>S. enterica</i>	69
Tabla 15. Análisis de Chi^2 entre puntos de venta y el número de cepas susceptibles y no susceptibles.	73
Tabla 16. Tabla confirmatoria del análisis de Chi^2 de los antibióticos que son estadísticamente significativo	74
Tabla 17. Análisis de la proporción de la MDR en los serotipos de <i>S. enterica</i>	76
Tabla 18. Medias e IC de antibióticos bactericidas	81
Tabla 19. Patrones de multirresistencia de cada serotipo de <i>S. enterica</i>	83

Tabla 20. Comparación de los patrones de multirresistencia de *Salmonella* a nivel nacional y mundial87

Índice de figuras

Figura 1. Taxonomía de <i>Salmonella</i>	15
Figura 2. Sitios de acción de los antibióticos	20
Figura 3. Estructura de la envoltura de bacterias Gram positiva y Gram negativa.	21
Figura 4. Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas	23
Figura 5. Estructura del ribosoma bacteriano	23
Figura 6. Estructura de la 6-desoxi-6-desmetiltetraciclina, el farmacóforo mínimo de tetraciclina.....	25
Figura 7. Representación esquemática de las rutas de transmisión de resistencia a antibióticos entre los animales de granja, medio ambiente y los seres humanos ..	28
Figura 8. Secuencia de descubrimiento y desarrollo de resistencia para las principales clases de antibióticos.....	28
Figura 9. Mecanismos más comunes de resistencia antimicrobiana	31
Figura 10. Diagrama de flujo del proceso de búsqueda y selección de información para establecer el panel de antibióticos de relevancia para la salud pública	47
Figura 11. Representación esquemática de las diluciones seriadas de los antibióticos (Pérez Esteve, 2021).	53
Figura 12. Representación de la distribución de la resistencia a través de los años, desde 1997 hasta 2022	57
Figura 13. Porcentaje de susceptibilidad y no susceptibilidad de los aislamientos de <i>Salmonella enterica</i> en 16 antibióticos analizados.....	66
Figura 14. Porcentaje de multidrogorresistencia (MDR) de los 16 serotipos de <i>S.enterica</i>	77
Figura 15. Porcentaje global de antibióticos resistentes y bactericidas ensayados en 88 aislamientos de <i>S.enterica</i>	80

Abreviaturas

ABC	Familia de Casetes de Unión a ATP
ACSSuT	Ampicilina Cloranfenicol Estreptomina Sulfonamidas Tetraciclina
AME	Enzimas Modificadoras de Aminoglucósidos.
BGA	Agar Verde Brillante
CDC	Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades.
CLSI	Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios.
DHFR	Dihidrofolato reductasa
DHPS	Dihidropteorato sintasa
FDA	Administración de Drogas y Alimentos.
HE	Agar Entérico de Hekton.
LIA	Agar Hierro y Lisina.
LPS	Lipopolisacáridos
MATE	Familia de Extrusión de Compuestos Tóxicos y Multifármacos.

MBC/CMB	Concentración Mínima Bactericida.
MIC/CMI	Concentración Mínima Inhibitoria.
MFS	Principal superfamilia facilitadora
MGE	Elemento Genético Móvil.
NARMS	Sistema Nacional de Monitoreo de la Resistencia a los Antimicrobianos para las Bacterias Entéricas.
NPET	Péptido Naciente
MDR	Multidrogorresistente.
OIE/ WOAH	Anteriormente conocida como Oficina Internacional de Epizootias/ World Organization for Animal Health/ Organización Mundial de Sanidad Animal.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PBP	Proteínas de Unión a Penicilina.
PTC	Centro de peptidiltransferasa
RND	Familia de División Celular de Nodulación de Resistencia.
SS	Agar <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> .
TSI	Hierro Triple y Azúcar.
XLD	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Resumen

Salmonella es un patógeno, que representa un problema de salud pública en todo el mundo, debido a que es uno de los principales causantes de infecciones zoonóticas, que pueden ocasionar graves complicaciones que pudieran ser mortales. Así mismo, las cepas de *Salmonella* se han caracterizado por presentar multirresistencia a los antibióticos. En la actualidad es una amenaza importante para la salud, porque implica mayor duración de la estancia hospitalaria, o aumento en los costos de tratamiento debido al fallo de la terapia. Ante esta problemática, diversos organismos internacionales han establecido el enfoque “Una salud” para implementar programas de vigilancia en el control de infecciones, o políticas de monitoreo en la resistencia antimicrobiana, con el fin de optimizar su uso y mantener el bienestar entre los seres humanos, animales y medio ambiente por la estrecha relación que existe entre ellos. El presente trabajo tuvo como objetivo identificar patrones de resistencia antimicrobiana de *Salmonella enterica* de importancia en salud pública, para cumplir con los planes de acción de “Una salud”, como es la concientización del uso de estos medicamentos por medio de un monitoreo que proporcionen datos sobre las tendencias de la resistencia a los antibióticos. Por lo que fue necesario seleccionar antibióticos de importancia crítica que están establecidos por la OMS y OIE (World Organization for Animal Health/Organización Mundial de Sanidad Animal). Los resultados indicaron que un 75% de los 88 aislamientos son multidrogosresistentes y el patrón más prevalente corresponde a NA+TXS+TE, solo un aislamiento se identificó con el patrón CRO+CEF+STR+CL+AMP+AMC+FOX+TXS+TE en *S. Typhimurium*, al contrario, se descartó la resistencia de antibióticos que son considerados de última línea y preservan su actividad bactericida. Sin embargo, será necesario continuar con esta vigilancia para evaluar los cambios que se manifiesten en el transcurso del tiempo.

Palabras clave: microdilución, patrón de resistencia, susceptibilidad.

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Abstract

Salmonella is a pathogen that represents a public health problem worldwide, because it is one of the main causes of zoonotic infections, which can cause serious complications that could be fatal. Likewise, *Salmonella* strains have been characterized by multiresistance to antibiotics. Currently, it's a significant threat to health, because it implies a longer duration of hospital stay or an increase in treatment costs due to therapy failure. Faced with this problem, various international organizations have established the "One Health" approach to implement surveillance programs in infection control, or monitoring policies for antimicrobial resistance, in order to optimize their use and maintain well being among human beings, animals and the environment due to the close relationship between them. The objective of this work was to identify patterns of antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* of public health importance, to comply with the "One Health" action plans, such as raising awareness of the use of these medications through monitoring that provides data. on trends in antibiotic resistance. Therefore, it was necessary to select critically important antibiotics that are established by the WHO and OIE (World Organization for Animal Health). The results indicated that 75% of the 88 isolates are multidrug resistant, and the most prevalent pattern corresponds to NA+TXS+TE, only one isolate was identified with the pattern CRO+CEF+STR+CL+AMP+AMC+FOX+TXS+TE in *S. Typhimurium*. Otherwise, resistance to antibiotics that are considered last line and preserve their bactericidal activity was ruled out. However, it will be necessary to continue this surveillance to evaluate the changes that appear over time.

Keywords: microdilution, resistance pattern, susceptibility.

1. Introducción

A lo largo de su historia evolutiva, los patógenos bacterianos han desarrollado varios medios para resistir (Varela et al., 2021). En la actualidad, la resistencia a los antibióticos representa una gran amenaza global, reconocida por todos los organismos internacionales, incluida la OMS y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE/ WOA). Estas organizaciones han decretado un enfoque “Una salud”, donde se establece planes de acción, como la regulación y política del uso de antibióticos, vigilancia en el control de infecciones y cría de animales; con el fin de preservar la eficacia de los antibióticos que son importantes para la medicina humana (McEwen & Collignon, 2018). Debido a que existe el uso extensivo de antibióticos en los sistemas de producción animal esto genera el desarrollo de bacterias resistentes, que tienen la capacidad de diseminarse fácilmente entre humanos, animales y medio ambiente; siendo el caso de *Salmonella* y algunas cepas de *E.coli*, que pueden contaminar muchos alimentos para consumo humano, se estima que hasta un 75% de las enfermedades infecciosas que han surgido en las últimas décadas son zoonóticas. (Koutsoumanis et al., 2021; McEwen & Collignon, 2018; V. T. Nair et al., 2018).

Con relación a lo anterior, *Salmonella* es de importante preocupación en la salud pública; se compone de 2 especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, siendo esta última la de mayor relevancia médica (Quino et al., 2020; V. T. Nair et al., 2018). Las cepas de *Salmonella* resistentes a múltiples fármacos (MDR por sus siglas en inglés) se caracterizan por altos niveles de resistencias a los antibióticos que a menudo se atribuyen a la adquisición de mecanismos específicos, como, por ejemplo, la aparición de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium DT104 portadoras de la Isla genómica de tipo 1 (SGI1), que se puede propagar entre diferentes tipos de serotipo Typhimurium o entre serotipos de *S. enterica* y ha favorecido la multirresistencia a cinco fármacos (ACSSuT, por sus siglas en inglés) ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclina (Brunelle et al., 2017; Helms et al., 2003). La relevancia de *S. Typhimurium* radica en que es uno

de los serotipos más predominantes a nivel mundial, aislados de aves de corral y puede transmitirse verticalmente, de la gallina hacia los huevos y horizontalmente desde los huevos y la carne contaminados a los humanos (X. Wang et al., 2020). Existen diversas organizaciones a nivel mundial, como El Sistema Nacional de Monitoreo de la Resistencia a los Antimicrobianos para las Bacterias Entéricas (NARMS) que es una asociación interinstitucional del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades en Estados Unidos; y la Unión Europea a través de la Decisión de Ejecución 2013/652 / UE, que han establecido el monitoreo de resistencia a los antibióticos para *S. enterica*, aisladas de personas, alimentos y animales destinados al consumo (U.S Food and Drug Administration, 2022). El objetivo de este monitoreo, es que puedan seguir las tendencias temporales en la aparición, identificación de patrones de resistencia emergentes o específicos y su distribución, para controlar y prevenir la transmisión de infecciones resistentes (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021; U.S. Department of Health & Human Services, 2021). De tal manera que el NARMS enfatiza que la resistencia a los antibióticos es extremadamente compleja, impulsada por muchos factores, y es difícil sacar conclusiones significativas comparando solo un año con otro. Por lo tanto, es mejor buscar patrones de resistencia que surjan a lo largo de varios años, que permita conocer la distribución en diferentes regiones o apariciones de nuevos patrones (U.S Food and Drug Administration, 2022).

En México no existen estrategias, ni consenso para monitorear los patrones de resistencia emergente, por lo tanto, a través de este trabajo se establece una lista de antibióticos seleccionados de acuerdo a su importancia crítica y de uso en común entre humanos y animales, establecidos por la OMS y OIE/WOAH, con el objetivo de efectuar los planes de acción que establece la filosofía de “Una salud” citado con anterioridad (P. C. Collignon et al., 2016). La identificación de los patrones de resistencia, proporcionará información sobre la resistencia específica que pueda presentar *S. enterica* a un determinado grupo de antibióticos, y por lo tanto nos permitirá establecer un plan de vigilancia de resistencia antimicrobiana, con los fines

que anteriormente se mencionan (Quino et al., 2020; U.S. Department of Health & Human Services, 2021).

Si no existe un monitoreo ante esta problemática se puede salir de control, como la limitación de tratamiento contra infecciones, el aumento de la propagación de la farmacoresistencia por todo el mundo, o la atención al paciente se complicaría, debido a que los antibióticos de primera línea están siendo reemplazados por medicamentos más costosos (McEwen & Collignon, 2018). La OMS predice que para el 2050, el número de muertes por resistencia a los antibióticos podría dispararse a 10 millones. Nuestro esfuerzo a través de este trabajo sumará estrategias para garantizar la salud en humanos, animales y medio ambiente y al mismo tiempo concientizar sobre el uso apropiado de antibióticos y tratamiento óptimo.

Por tal razón, en este proyecto se realizaron pruebas de susceptibilidad, con el objetivo de identificar los patrones de resistencia antimicrobiana y la erradicación bacteriana en antibióticos bactericidas, ensayados en los aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos a partir de productos cárnicos avícolas de importancia en salud pública. Dichos resultados serán de gran relevancia para que se tome conciencia y se puedan implementar medidas de acción sobre el uso de antibióticos, aunque también es necesario que se cuente con el análisis de la resistencia a los antibióticos que involucre más años, para conocer las tendencias o aparición de nuevas resistencias.

2. Antecedentes

2.1 One Health “Una salud”

Los riesgos sanitarios aumentan con el calentamiento global y los cambios en el comportamiento humano que brindan múltiples oportunidades para que los agentes patógenos colonicen nuevos territorios y evolucionen hacia nuevas formas, por lo tanto, el riesgo no se limita a los seres humanos, sino también a los animales (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022).

Por esta razón, surge la filosofía “Una salud”, enfocado en el diseño e implementación de programas, políticas, legislación e investigación para lograr el equilibrio y buen estado de la salud pública (P. J. Collignon & McEwen, 2019; Organización Mundial de Sanidad Animal, 2021); a través de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), OMS y OIE/WOAH, generan actividades de planificación y vigilancia epidemiológica, con el fin de prevenir y detectar la aparición de enfermedades zoonóticas y su propagación; también determinan los factores de riesgo que propaguen enfermedades de la fauna silvestre a los animales y seres humanos (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022; Zinsstag et al., 2018). Otra área de trabajo en la que se enfoca “Una salud”, es la seguridad alimentaria, debido a que animales destinados a la alimentación a menudo sirven como reservorios de bacterias, ocasionando severas infecciones a los humanos; como ejemplo *Salmonella*, es un patógeno zoonótico que puede contaminar alimentos y estos son consumidos por los humanos, además también es caracterizada por ser resistente a múltiples fármacos. Como consecuencia una infección se puede complicar, el paciente puede ser hospitalizado, se incrementa los gastos médicos, el tiempo de recuperación es más largo y el tratamiento se limita (Centers for Disease Control and Prevention, 2019). Además, el medio ambiente juega un papel importante en esta problemática, debido a que muchas bacterias patógenas, han adquirido genes de resistencia a través del medio ambiente (McEwen & Collignon, 2018; V. T. Nair et al., 2018). Por ejemplo, el ser humano promueve residuos de la industria farmacéutica, y si particularmente

son tratados inadecuadamente, se ha demostrado que libera altas concentraciones de antibiótico al medio ambiente (McEwen & Collignon, 2018).

Ante estos hechos Collignon y colaboradores mencionan El “Plan de Acción Mundial” de la OMS, que busca abordar cinco objetivos principales para contrarrestar este problema (P. C. Collignon et al., 2016):

1. Mejorar la concienciación y la comprensión de la resistencia a los antimicrobianos a través de una comunicación, educación y formación eficaces.
2. Fortalecer la base de conocimientos y evidencia a través de la vigilancia y la investigación
3. Reducir la incidencia de infecciones mediante medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención de infecciones.
4. Optimizar el uso de medicamentos antimicrobianos en salud humana y animal.
5. Aumentar la inversión en nuevos medicamentos, herramientas de diagnóstico, vacunas y otras intervenciones.

2.2 Características generales de *Salmonella* y su importancia en la salud pública

Salmonella es un bacilo gramnegativo de $0.2-1.5 \times 2-5 \mu\text{m}$, facultativamente anaeróbico perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. La mayoría de los miembros del género no fermentan lactosa, pero son productoras de ácido sulfhídrico H_2S , con oxidasa negativa y catalasa positiva (Andino & Hanning, 2015). Con estas características mencionadas, ha permitido el desarrollo de una variedad de medios selectivos y diferenciales para el cultivo, el aislamiento y la presunta identificación; estos medios incluyen agar *Salmonella-Shigella* (SS), agar verde brillante (BGA), agar xilosa lisina desoxicolato (XLD), agar entérico de Hektoen (HE), agar MacConkey, agar lisina hierro (LIA) y hierro triple azúcar (TSI) (Jajere,

2019). El género se compone de dos especies taxonómicas, ver Figura 1 (V. T. Nair et al., 2018).

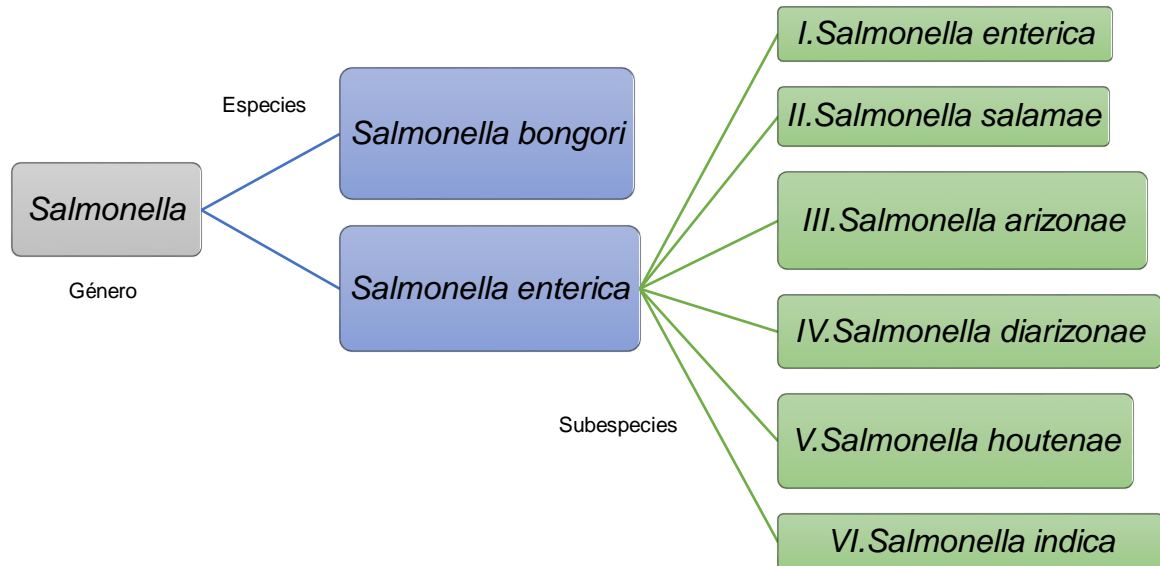


Figura 1. Taxonomía de *Salmonella* (Contreras-Soto et al., 2019).

En primer lugar, *Salmonella* es considerada como un patógeno zoonótico importante que causa enfermedades infecciosas, como la salmonelosis, considerada como una importante amenaza para la salud humana (Regalado-Pineda et al., 2020). En los seres humanos se manifiestan dos tipos de trastornos: la fiebre tifoidea causada por *S. enterica* serotipo Typhi, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* y *S. Paratyphi C*, y otra es la gastroenteritis causada por *S. enterica* no tifoidea (NTS) por los serotipos *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* (Xu et al., 2021). Algunos de los síntomas son, fiebre, vómitos o calambres abdominales, con presencia de heces blandas (V. T. Nair et al., 2018). Generalmente *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, son los serotipos más comunes que pueden infectar huéspedes amplios, incluidos humanos y aves; existen otros serotipos como *S. Heidelberg*, *S. Kentucky* y *S. Newport* que se han aislado en pollos (X. Wang et al., 2020), siendo las aves de corral el hospedador más importante, puede transmitirse verticalmente a través de los huevos y horizontalmente desde los huevos y la carne contaminado a los seres

humanos. Por lo que evaluar la distribución en estos hospederos se ha vuelto importante, para una mejor prevención y control de su infección en animales y evitar enfermedades en los humanos (X. Wang et al., 2020). En nuestro país, la prevalencia de *S. enterica* es del 18.1 % en muestras de carne de pollo, de acuerdo a un estudio realizado del 2016 al 2019 por (Regalado-Pineda et al., 2020), en otros países como en Irán, la prevalencia es de 33%, Bélgica 36.5%, España 35%, Argentina 20%, Brasil 11.8% y Venezuela 20% (Castañeda-Salazar et al., 2019) Nueva Zelanda, Reino Unido y Estados Unidos, los cuales tienen prevalencias bajas de 3%, 4% y 4.2% respectivamente (T. Sun et al., 2021). Los porcentajes podrían incrementarse debido a que el consumo de la carne de pollo ha mostrado un crecimiento constante a través del tiempo, el aumento del consumo está vinculado principalmente por tres factores: cambios en la población humana, el precio del pollo en relación con otras carnes, que son más económicas y preferencias alimentarias (Ceniceros, 2016). Lo que puede ocasionar, que las personas estén más expuestas a contraer la enfermedad (Godínez-Oviedo et al., 2020).

Sin embargo, muchas veces la enfermedad no puede ser tratada, debido a la capacidad que tiene *Salmonella* para desarrollar resistencia a los antibióticos, problema que reconoce la OMS como una amenaza para la salud pública (Zhou et al., 2022).

En un estudio realizado por Villalpando-Guzmán y colaboradores se evaluaron la frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de *S. enterica* de carne de res, pollo y cerdo de la Ciudad de México. Del total de muestras analizadas se detectó *S. enterica* un 47.7% (244/511) en la carne de pollo, 29.7% (152/511) de res y 22.5% (115/511) de cerdo. Por lo tanto, la frecuencia de aislamiento de *S. enterica* en carne molida de pollo indica, que es un porcentaje superior a los reportado en los países como España, Taiwán y Guatemala. Los serotipos con mayor frecuencia fueron *S. Gallinarum* (18.8%) y *S. Pullorum* (12.7%), de importancia veterinaria, seguido de *S. Anatum* (11%), *S. Newport* (6.5%), *S. Typhimurium* (6.1%) y *S. Derby* (1.6%). En cuanto a la prueba de susceptibilidad, se evidenció alta resistencia a ampicilina y cloranfenicol de las cepas aisladas

(132/135), en carne molida de pollo (95% resistente a ampicilina y 82% a cloranfenicol), en la carne de res (92.4% resistente a perfloxacina y 92.4% a ampicilina), y en cuanto a la carne de puerco el 100% de las cepas fueron resistentes a carbenicilina, ampicilina y cloranfenicol (Villalpando-Guzmán et al., 2017).

En México, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica reporta más de 110,000 infecciones por *Salmonella* en humanos cada año (Regalado-Pineda et al., 2020), sin embargo no se reporta ni rastrea los serotipos de *Salmonella* que causan infecciones gastrointestinales en la población (Díaz-Torres et al., 2020).

El uso intensivo de antibióticos en granjas convencionales ha promovido el desarrollo de resistencias en *Salmonella spp.* De tal forma que V. T. Nair y colaboradores, documentan que muestras de cerdos donde se obtuvieron aislamientos de *Salmonella*, el serotipo más prevalente es *S. Typhimurium* y presentaron resistencia a ampicilina (47%), cloranfenicol (21%), estreptomina (61%), sulfametoxazol (42%) y tetraciclina (85%) (V. T. Nair et al., 2018).

En la mayoría de los estudios encontraremos esta repetición de patrones de resistencia, debido a la aparición y propagación de cepas de *Salmonella spp* con fenotipo multidrogorresistente ACSSuT (resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos, fenicoles, tetraciclinas y sulfamidas) que se reportan globalmente (Centeno S. et al., 2018). Este perfil puede extenderse a resistencia de fármacos betalactámicos adicionales, como ceftriaxona y amoxicilina-ácido clavulánico (U.S. Department of Health & Human Services, 2021). El origen se tiene registrado en *S. Typhimurium* (DT104), que generalmente alberga una isla genómica SGI1 de 43 kb, que contiene un grupo de genes de resistencia a antibióticos como son la ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclina. Durante la década de 1980 se reportó una epidemia de este serotipo y fue reconocido como un problema de salud mundial debido a su implicación en enfermedades en animales y humanos (Yu et al., 2008).

SGI1 se ha descrito en *S. Typhimurium* DT120 y en otros serotipos de *S. Agona*, *S. Paratyphi B*, *S. Albany*, *S. Meleagridis* y *S. Newport*. Estos grupos de genes de

resistencia a los antibióticos probablemente se generaron a través de eventos de recombinación cromosómica o mediante el reemplazo del casete de genes de resistencia a los antibióticos en uno de los sitios *attI1* y confirieron diferentes perfiles de resistencia a los antibióticos. Todos los serotipos que portan esta isla genómica, muestran la misma ubicación cromosómica, es decir, entre el *gen thdF* y el *yidY*, y su diseminación se produce a través de un mecanismo de movilización por el plásmido IncC R55 (Doublet et al., 2005).

Otra característica relevante de *S. Typhimurium* es que generalmente alberga un plásmido de virulencia de 94.7 kb (pSTV) que codifica el operón *spv* de 8kb que participa en la supervivencia en el macrófago y luego ayuda en la infección sistémica (Yu et al., 2008).

Quino y colaboradores, observaron una tasa elevada de cepas resistentes a nitrofurantoína (40%), ácido nalidíxico (55%), ciprofloxacina (45%), tetraciclina (40%), ampicilina (20%), cotrimoxazol (40%), cefotaxima (25%) y cloranfenicol (20%), tomando como referencia muestras de aves de corral (Quino et al., 2020).

Relacionado a lo descrito con anterioridad, Khan en el 2019 realizó un estudio de 234 aislamientos en productos avícolas y aves de corral, el serotipo más prevalente fue *S. Typhimurium* (139) seguido de *S. Enteritidis* (95). Se encontró resistencia a los antibióticos, en los aislamientos generales para amoxicilina (80%, 187/234), ampicilina (74.3%, 174/234), tetraciclina (64.5%, 151/234) y estreptomina (64.5%, 151 /234). La resistencia para ceftriaxona (8.5%, 20/234) fue el más bajo de todos los aislamientos; *S. Typhimurium* fue altamente resistente para amoxicilina (94.9%, 132/139) seguido de lincomicina (93.5%, 130/139), ampicilina (92%, 128 /139), tetraciclina y estreptomina (84.1%, 117/139, 83.4, 116/139), pero menos resistentes para ceftriaxona (6.4%, 9/139), *S. Enteritidis* resistente para lincomicina (92.6%, 88/95) seguido de amoxicilina (74.6%, 55/95), ampicilina (48.4%, 46/95), estreptomina y sulfametoxazol con trimetoprim (37.8%, 36/95), menos resistentes a ceftriaxona (11.5%, 11/95) (Khan et al., 2019).

En el 2020, Wang y colaboradores evaluaron la susceptibilidad de los aislados de *Salmonella* a 10 antibióticos, recuperadas de pollos enfermos y de

aspecto saludable en el centro de China, utilizando ensayos de CMI. Se observaron altas tasas de resistencia a la colistina (64.3%), meropenem (35.7%) y ciprofloxacina (28.6%) en *S. Enteritidis* (X. Wang et al., 2020).

El mal uso de antibióticos para terapia humana y animal, así como promotores de crecimiento en granjas ha producido una mayor selección de patógenos resistentes a los antibióticos (Martínez & Baquero, 2014). Los patógenos gram negativos más prevalentes, como *E. coli*, *S. enterica* y *K. pneumoniae*, causan una variedad de enfermedades, como la salmonelosis, tifoidea, disentería, además se ha observado una fuerte correlación entre el uso de antibióticos como tratamiento y el desarrollo de resistencia durante el último medio siglo (Davies & Davies, 2010).

Dicho lo anterior, a continuación, se detallará el mecanismo de acción de los antibióticos seleccionados para el desarrollo de este proyecto y posteriormente el mecanismo de resistencia.

2.3 Mecanismo de acción de los antibióticos

El término "antibióticos bacteriostáticos" se usa para describir medicamentos cuyo mecanismo de acción detiene la actividad celular bacteriana sin causar directamente la muerte bacteriana, como ejemplo son todos aquellos que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas y antimetabolitos (Ocampo et al., 2014). Y los "antibióticos bactericidas", como las fluoroquinolonas, no solo inhiben el crecimiento de las células sino también desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte celular, porque son mecanismos irreversibles (Nemeth et al., 2015).

La comprensión actual de la actividad biológica de los antibióticos se centra en gran medida en sus objetivos celulares primarios. Los siguientes antibióticos, de los cuales abordaremos el mecanismo de acción (ver Figura 2) están relacionados con la selección de acuerdo a la OMS, NARMS, OIE/ WOA, que son de importancia crítica y elevada para la medicina veterinaria y que comparten uso con humanos, los cuales están representados en la Tabla 12, en el apartado de resultados.

2.3.1 Clasificación de antibióticos sobre la base del mecanismo de acción

La Figura 2 representa el lugar de acción antibiótica en la bacteria, cada grupo de antibióticos actúa de una forma u otra, dependiendo de su estructura química del fármaco y las diferencias estructurales entre las bacterias (Murray et al., 2009); a continuación se describe cada mecanismo de acción.

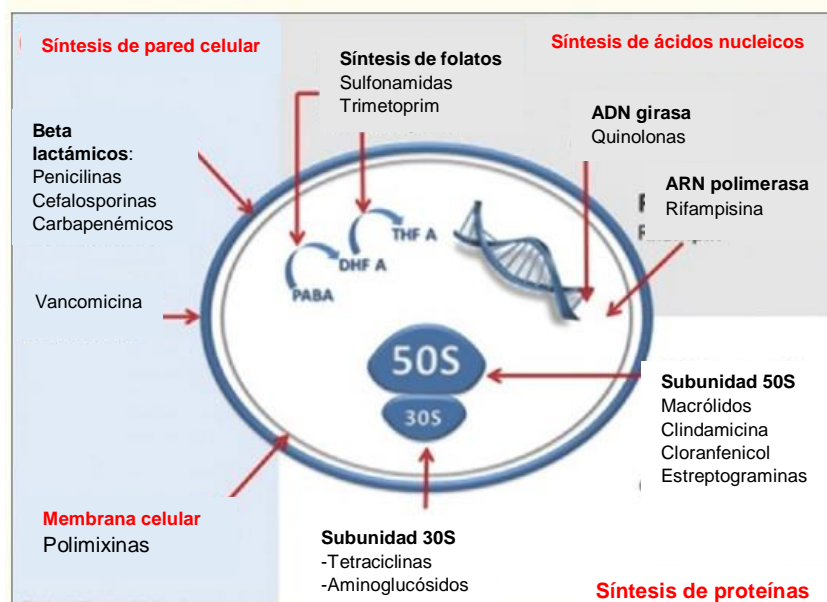


Figura 2. Sitios de acción de los antibióticos. Modificado de (Kapoor et al., 2017).

2.3.1.1 Síntesis de la pared bacteriana

Las paredes celulares de los microorganismos están formadas por polímero de peptidoglicano, que consta de cadenas de glucanos con la unidad repetitiva de ácido N-acetilmurámico (MurNAc, M) y N-acetilglucosamina (GlcNAc, G), que se entrecruzan mediante pentapéptidos (L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala) que cuelgan de las capas. Generalmente, el pentapéptido de la pared celular en bacterias Gram-positivas (GPB) es L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala y en bacterias Gram-negativas (GNB), el tercer aminoácido (L-lisina) generalmente se reemplaza con ácido diaminopimélico (DAP). En la Figura 3, se representa parte de la estructura que envuelven a las bacterias, incluyendo al peptidoglicano, particularmente en Gram negativas se observa una estructura de matriz delgada,

una de las funciones más importante, es que estabiliza la membrana celular, lo que le permite soportar altas presiones osmóticas internas el microorganismo (Cho et al., 2014; Sarkar et al., 2017).

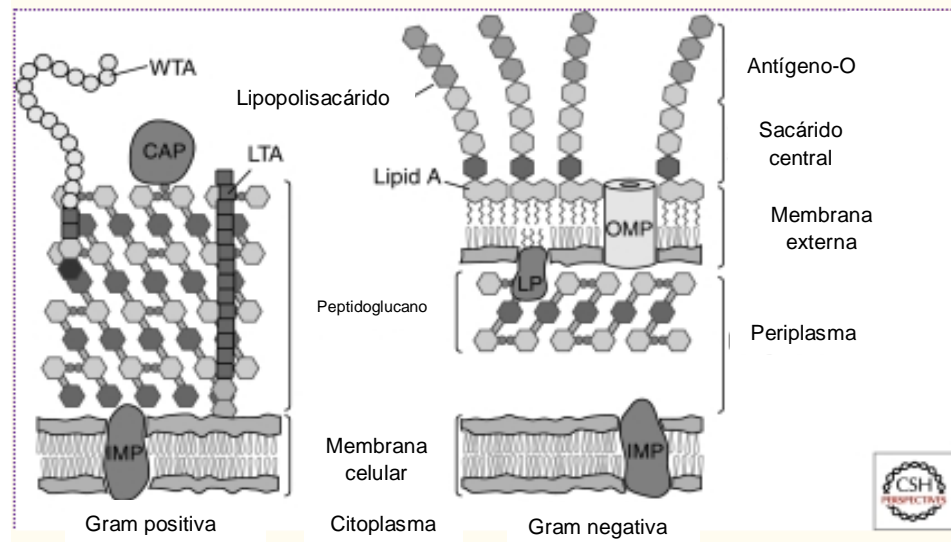


Figura 3. Estructura de la envoltura de bacterias Gram positiva y Gram negativa. Modificado de (Silhavy et al., 2010).

2.3.1.1.1 Betalactámicos

Los β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos) son aquellos que comparten una estructura común de anillo β -lactámico, e interrumpen en la síntesis de peptidoglucano (Murray et al., 2009). El anillo β -lactámico imita el resto D-Ala-D-Ala de la terminal del pentapéptido y las PBP “proteínas de unión a penicilina” las confunden con su sustrato, el residuo de serina del sitio activo de la PBP ataca al carbonilo del anillo β -lactámico, escindiendo el anillo y formando una acil-enzima inactiva que tiene una larga vida útil, bloqueando completamente el sitio activo de un nuevo ataque nucleofílico, por lo tanto se inhibe la acción de estas enzimas para catalizar el entrecruzamiento de las capas de peptidoglucano (Sarkar et al., 2017).

El daño de la pared celular después del tratamiento con betalactámicos es el resultado de un desequilibrio inducido por fármacos, entre las actividades de las sintasas de la pared celular y las hidrolasas (β -lactamasas que se unen y acilan

antibióticos β -lactámicos), estas enzimas usan moléculas de agua para hidrolizar e inactivar el antibiótico antes de que pueda alcanzar su objetivo (Bonomo, 2017) . Las PBP de alto peso molecular son las principales peptidoglucano sintetas. Se subdividen en enzimas de clase A (aPBP) y clase B (bPBP). Las aPBP son bifuncionales y poseen actividad glicosiltransferasa (GT) para polimerizar las cadenas de glicanos y actividad transpeptidasa (TP) para reticularlas. Las bPBP, por otro lado, solo se sabe que poseen actividad transpeptidasa (Cho et al., 2014).

2.3.1.2 Membrana celular

Las bacterias Gram negativas contienen dos membranas, una externa e interna. La membrana externa es un orgánulo esencial; bicapa asimétrica con fosfolípidos en la parte interna y lipopolisacárido (LPS) en la parte externa, casi todas las proteínas integrales son proteínas de barril β , también conocidas como OMP. Algunas OMP funcionan como canales de difusión pasivos (porinas), otras son importadores de nutrientes específicos; esta región actúa como una barrera de permeabilidad selectiva que protege a la célula de sustancias químicas nocivas, incluidos detergentes y antibióticos (Konovalova et al., 2017).

2.3.1.2.1 Polimixinas

Hay 5 tipos diferentes de polimixinas (A-E), de las cuales sólo la polimixina B y la colistina (polimixina E) tienen uso en la práctica clínica. La única diferencia estructural entre la polimixina B y la colistina radica en la porción peptídica, que difiere en un único aminoácido (D-leucina en la colistina o D-fenilalanina en la polimixina B) (Molina et al., 2009).

El objetivo de las polimixinas es la membrana externa de Gram negativas (son activos contra la mayoría de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*). Debido a una interacción electrostática que ocurre entre el residuo del ácido α , γ -diaminobutírico (Dab) de la polimixina cargada positivamente en un lado y los grupos fosfato de la membrana del lípido A cargada negativamente en el otro lado, los cationes divalentes (Ca^{2+} y Mg^{2+}) se desplazan de los grupos fosfato cargados negativamente de los lípidos de membrana, por lo tanto, el lipopolisacárido se desestabiliza, lo que aumenta la permeabilidad de la membrana bacteriana,

conduce a una fuga del contenido citoplasmático y finalmente causa la muerte celular. Otro modo de acción, es la inhibición de las enzimas respiratorias vitales (inhibición de las NADH-quinona oxidorreductasas de tipo II [NDH-2]) en la membrana interna bacteriana (Ezadi et al., 2019; Poirel et al., 2017).

2.3.1.3 Síntesis de proteínas

Muchos antibacterianos inhiben el crecimiento celular al interferir con las funciones de los ribosomas, afectando en sus 2 estructuras y como consecuencia la síntesis de proteínas. El grupo de antibióticos que actúan en este punto se representa en la Figura 4.

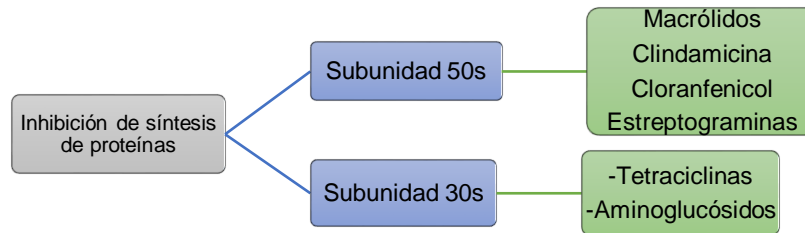


Figura 4. Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas (Kapoor et al., 2017).

Recordando que la estructura ribosomal de las bacterias consta de 2 partes, la subunidad pequeña se encarga de decodificar la información genética codificada en los ARNm, mientras que la subunidad grande se encarga de polimerizar los aminoácidos en proteínas, Figura 5 (Vázquez-Laslop & Mankin, 2018).

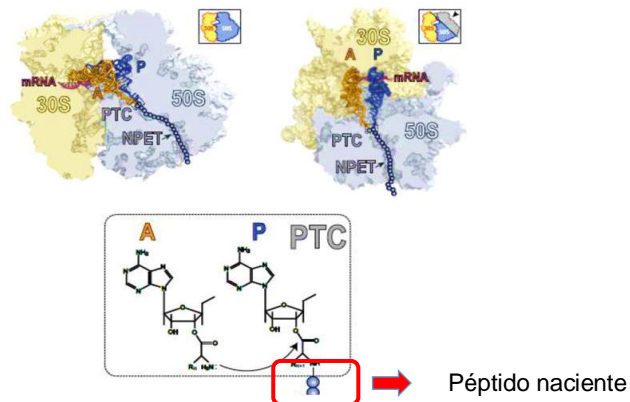


Figura 5. Estructura del ribosoma bacteriano. La letra A es el sitio de entrada del ARNt con el aminoácido, la P sitio de unión del peptidil-ARNt, PTC es peptidil

transferasa es donde se cataliza la adición de aminoácidos individuales a la proteína en crecimiento (Vázquez-Laslop & Mankin, 2018).

2.3.1.3.1 Macrólidos

De acuerdo a su estructura poseen un anillo de macrolactona, que puede variar en tamaño de 12 a 16 átomos, que forma el núcleo de los antibióticos macrólidos que se unen a los ribosomas (Vázquez-Laslop & Mankin, 2018).

Este grupo de antibióticos, inhiben la síntesis de proteínas al dirigirse al túnel de salida del péptido nascente (NPET, por sus siglas en inglés) de los ribosomas bacterianos, actúan bloqueando NPET y por lo tanto inhibir la traducción de cada proteína; el motivo de detención de macrólidos (MAM) está ubicado en el centro de la peptidiltransferasa (PTC), que evitan que el ribosoma catalice la formación de enlaces peptídicos (Beckert et al., 2021). Aunque todos los macrólidos dirigidos a los ribosomas se unen al mismo sitio en el NPET, la especificidad de la acción depende críticamente de su estructura química. Como resultado, los sitios de detención de la traducción y los espectros de las proteínas afectadas varían en las células tratadas con diferentes macrólidos (Vázquez-Laslop & Mankin, 2018).

2.3.1.3.2 Anfenicoles

Esta familia de antibióticos actúa en la inhibición de síntesis de proteínas. El cloranfenicol fue el primer antibacteriano de amplio espectro descubierto, efectivo frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (Pacheco, 2020). El fármaco se une de forma reversible a la subunidad 50S de la proteína ribosómica, bloqueando su actividad transpeptidasa e interfiriendo con la unión terminal del aminoácido-ARNt a la subunidad 50S, por lo tanto, inhibe la formación de nuevas cadenas peptídicas y como consecuencia no hay síntesis de proteínas de las bacterias. Cabe resaltar que este antibiótico ya no es utilizado como terapia en animales productores de alimentos desde 2002, ya que los efectos secundarios comunes incluyen supresión de la médula ósea, anemia aplásica (Du et al., 2020). El florfenicol es una clase de antibiótico sintético, derivado monofluoruro del cloranfenicol, en el que -OH se reemplaza por -F, es de amplio espectro, utilizado universalmente en medicina veterinaria (Ying et al., 2019), en comparación con el cloranfenicol, este es de baja

toxicidad, alta eficacia y tratamiento seguro, útil para las infecciones respiratorias de los bovinos y las aves de corral (Du et al., 2020).

2.3.1.3.3 Tetraciclina

Las moléculas de tetraciclina tienen un núcleo tetracíclico fusionado lineal (anillos A, B, C y D) al que se unen una variedad de grupos funcionales. Sus propiedades antimicrobianas como farmacocinéticas están influenciadas por la quelación de iones metálicos (Fe^{+3} , Cu^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2} , fosfatos), formando complejos debido a sus átomos de oxígeno en los anillos B y C (Tariq et al., 2018). Los sitios de quelación incluyen el sistema de β -dicetona (posiciones 11 y 12) y los grupos enol (posiciones 1 y 3) y carboxamida (posición 2) del anillo A, ver Figura 6 (Chopra & Roberts, 2001).

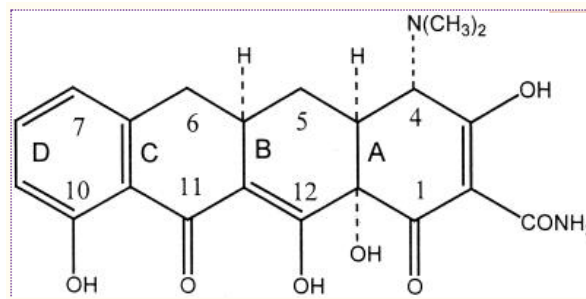


Figura 6. Estructura de la 6-desoxi-6-desmetiltetraciclina, el farmacóforo mínimo de tetraciclina (Chopra & Roberts, 2001).

2.3.1.3.4 Aminoglucósidos

Compuestos de aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un alcohol cíclico hexagonal con grupos amino (aminociclitol). Tienen amplio espectro contra bacilos gram negativos aerobios, enterobacterias y bacilos no fermentadores. Actúan en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano e inhibiendo la síntesis proteica, lo que conduce finalmente a la muerte del microorganismo (Molina et al., 2009).

La penetración celular de la molécula de aminoglucósido a través de la membrana externa de bacterias Gram negativas es por porinas y la interacción entre el aminoglucósido y cationes divalentes del LPS (Mg^{++}) produciría una alteración de la membrana externa, aumentando su permeabilidad (Mella M. et al., 2004).

2.3.1.4 Síntesis de ácidos nucleicos

2.3.1.4.1 Quinolonas

Son un tipo de antibióticos más utilizado a nivel mundial, se trata de antibióticos sintéticos que inhiben las enzimas topoisomerasas de ADN de tipo II (girasa) o tipo IV, y que son necesarias para la replicación, recombinación y reparación del ADN (Pham et al., 2019). La subunidad A de la girasa de ADN representa la diana principal de las quinolonas de las bacterias Gram negativas y la tipo IV es el objetivo de las Gram positivas (Murray et al., 2009). Dicho en otras palabras, inhiben el superenrollamiento y la relajación del ADN uniéndose tanto a la girasa como al ADN y estabilizando el complejo girasa-ADN-escindido (Bush et al., 2020).

El ácido nalidíxico fue el primer antibiótico de esta familia y es considerado como de primera generación, se descubrió como subproducto de la síntesis de cloroquina en 1962. Las nuevas quinolonas (fluoroquinolonas) condujo a la sustitución de un átomo de flúor en el carbono 6 (C-6) del andamio de quinolonas (Bush et al., 2020; Murray et al., 2009). Estas modificaciones generaron un alcance de actividad más amplio y mejor biodisponibilidad, así como propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas mejoradas (Pham et al., 2019).

2.3.1.5 Síntesis de folatos

2.3.1.5.1 Sulfonamidas

Considerados como antimetabolitos que compiten con el ácido p-aminobenzoico (PABA) e impiden la síntesis de ácido fólico que requieren algunos microorganismos (Murray et al., 2009). En presencia de sulfonamidas, la enzima dihidropteroato sintasa se une a estos análogos estructurales de PABA, que previene la síntesis de ácido fólico y la síntesis de ADN (Murray et al., 2009; Tacic et al., 2017).

Su estructura básica de las sulfonamidas incluye el grupo sulfonamida y el grupo amino en la posición para del anillo de benceno, la sustitución del átomo de H⁺ en el nitrógeno 1 del grupo sulfonamida, ha dado origen a una gran familia de sulfonamidas. Los derivados N1-monosustituídos de la sulfanilamida son compuestos activos cuyo grado de actividad aumenta con la introducción de sustituyentes heteroaromáticos (Tacic et al., 2017).

2.3.1.5.2 Trimetoprim

Se usa con frecuencia en combinación con sulfametoxazol (sulfonamida) para formar un compuesto sinérgico que actúa en 2 etapas de la síntesis de ácido fólico, ya que inhibe la dihidrofolato reductasa, lo cual impide la conversión de dihidrofolato a tetrahidrofolato. Este proceso inhibe la formación de timidina, algunas purinas, metionina y glicina (Murray et al., 2009).

Los antibióticos como ampicilina, sulfametoxazol y tetraciclina se han utilizado ampliamente durante muchos años en medicina veterinaria para tratar infecciones en animales de producción. Si bien la ampicilina está clasificada como de alta prioridad, "antimicrobiano de importancia crítica" por la OMS; el sulfametoxazol y la tetraciclina se reconocen como antibióticos de gran importancia (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

2.4 Impacto de la resistencia bacteriana en el mundo

La resistencia bacteriana es un fenómeno antiguo de millones de años, mucho antes del uso de antimicrobianos por parte de los seres humanos. El aumento progresivo y selectivo, impuesta por el uso generalizado de agentes antibacterianos desde la década de 1950 ha acelerado claramente el desarrollo y la propagación de la resistencia bacteriana (ver Figura 8). Por ejemplo, la resistencia se ha identificado a partir de diversas muestras ambientales, granjas y productos cárnicos al por menor. Estos microorganismos ambientales son excelentes fuentes de genes de resistencia a los antimicrobianos "resistomas ambientales" (Figura 7) (V. T. Nair et al., 2018; van Duijkeren et al., 2018). Desafortunadamente estos residuos de antimicrobianos persisten en el medio ambiente (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

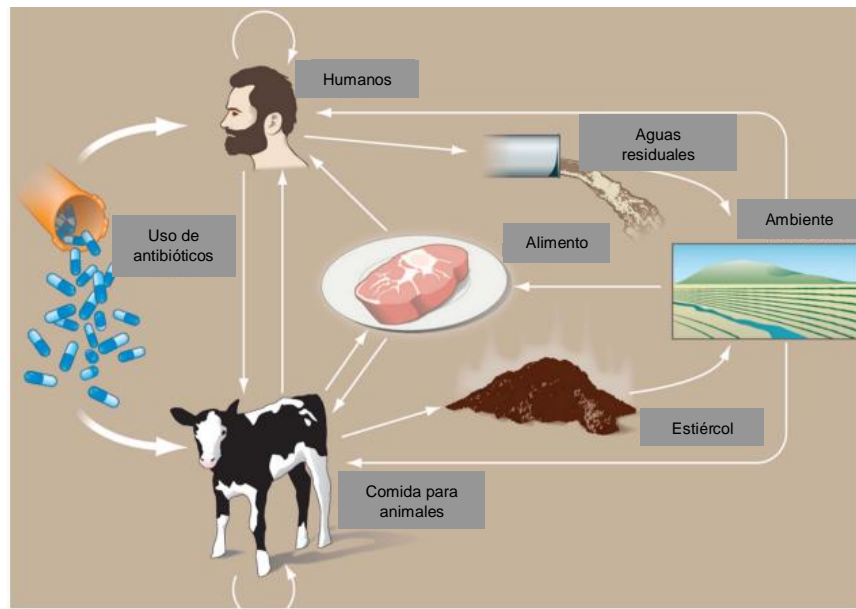


Figura 7. Representación esquemática de las rutas de transmisión de resistencia a antibióticos entre los animales de granja, medio ambiente y los seres humanos. Modificado de (McEwen & Collignon, 2018).

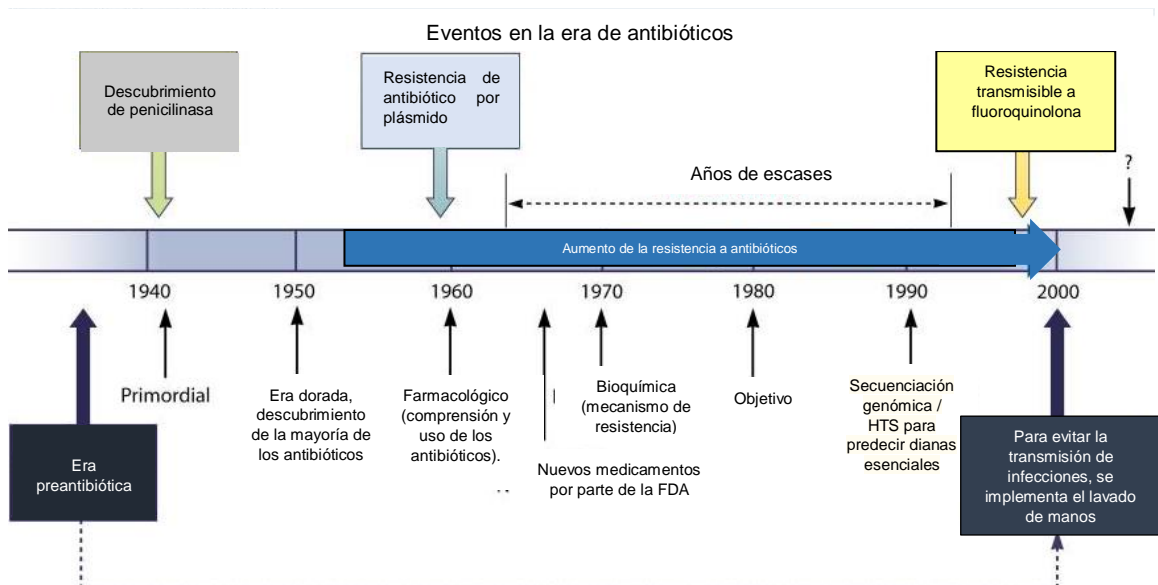


Figura 8. Secuencia de descubrimiento y desarrollo de resistencia para las principales clases de antibióticos. Modificado de (Davies & Davies, 2010). Se modificaron los márgenes de la imagen

La OMS predijo que para el 2050, el número de personas que morirán debido a la resistencia a los antibióticos aumentaría de 700.000 a unos 10 millones por año a nivel mundial (Nji et al., 2021).

Es importante reconocer que el concepto de resistencia / susceptibilidad a los antimicrobianos en la práctica clínica es un fenómeno relativo con muchos niveles de complejidad. El establecimiento de puntos de corte de susceptibilidad clínica (susceptible, intermedio y resistente) se basa principalmente en el análisis *in vitro*, actividad de un antibiótico contra una muestra bacteriana considerable, combinada con algunos parámetros farmacológicos. En relación a esto, también existe un término denominado “persistencia”, se debe a que algunas células de una población bacteriana pueden estar en fase de crecimiento estacionaria (latentes); y la mayoría de los antibióticos no tienen ningún efecto sobre las células que no están creciendo y dividiéndose activamente, o sea que no poseen genes de resistencia (Reygaert, 2018). Gosh y colaboradores mencionan que la presencia de células persistentes en una población bacteriana se considera una estrategia para asegurar la supervivencia en entornos cambiantes, algunos de los mecanismos de persistencia son (Ghosh et al., 2020) :

- Persistencia espontánea a través de sistemas de toxina / antitoxina y variabilidad estocástica en la expresión de genes relacionados con el estrés.
- Inducción ambiental como choque térmico, privación de nutrientes, etc.
- Inactivación de los objetivos del fármaco.
- Formación de biopelículas.
- Respuesta inmune del huésped como la fagocitosis.

2.5 Definición de resistencia antimicrobiana

Es la incapacidad o acción reducida de un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento de una bacteria, si hablamos que esta puede ser patógena, el tratamiento podría ser un fracaso (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021). Esto se relaciona a que si una bacteria es resistente a un determinado agente antimicrobiano, todas las células hijas lo serán (al menos que ocurra mutaciones adicionales) (Reygaert, 2018).

Por lo tanto la resistencia natural, se puede dividirse en 2 (van Duijkeren et al., 2018):

- Resistencia intrínseca: Siempre expresada en la especie.
- Resistencia inducida: La bacteria contiene genes de resistencia que llegan a expresarse después de la exposición a un antibiótico.

La resistencia adquirida, es mediante la adquisición de material genético por transferencia horizontal de genes y son por ejemplo (Reygaert, 2018):

- Transformación
- Transposición
- Conjugación

Estos mecanismos se ven favorecidos gracias a la presencia de los elementos genéticos móviles (MGE), como los transposones y los genes que codifican las enzimas que los facilitan, como las integrasas o las recombinasas, suelen facilitar la movilización inicial. Tales MGE son capaces de capturar ARG (genes resistentes a los antimicrobianos) de los cromosomas y transferirlos horizontalmente a través de un plásmido o un fago a otras bacterias (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

2.6 Mecanismo de Resistencia

De acuerdo a (Yang et al., 2020) los mecanismos para inhibir los efectos antimicrobianos pueden ser inactivación enzimática, modificación de objetivo antimicrobiano, reducción de la permeabilidad del fármaco y salida del fármaco (ver Figura 9), de los cuales vamos a explicar a continuación:

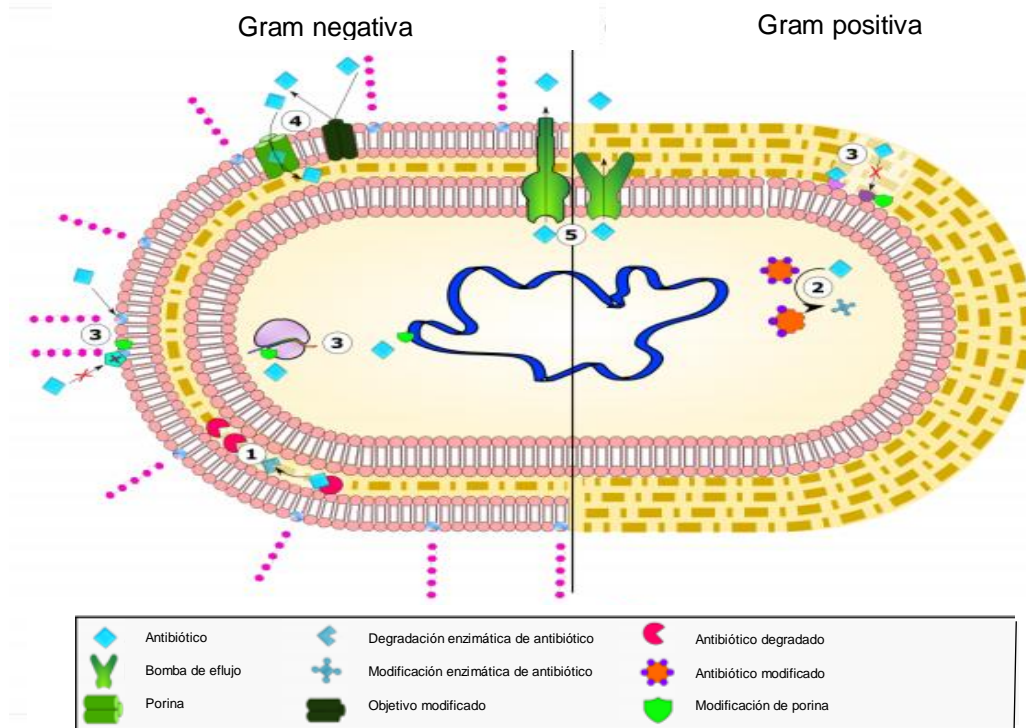


Figura 9. Mecanismos más comunes de resistencia antimicrobiana. (1) hidrólisis enzimática, (2) modificación enzimática de antibiótico, (3) modificación del objetivo, (4) reducción de la permeabilidad a antibióticos por modificación de porinas, (5) expulsión activa de antibióticos por bombas de eflujo. Modificado de (Varela et al., 2021).

2.6.1 Inactivación enzimática

Mediante el cual incluye la hidrólisis, reacciones redox que alteran la estructura del fármaco, acetilación (aminoglucósidos, cloranfenicol, estreptograminas), fosforilación (aminoglucósidos, cloranfenicol) y adenilación (aminoglucósidos, lincosamidas). Las enzimas de resistencia contribuyen a la capacidad bacteriana de superar la acción de los antibióticos. La mayoría de los antibióticos afectados por estas modificaciones enzimáticas ejercen su mecanismo de acción al inhibir la síntesis de proteínas a nivel de ribosomas. Como ejemplos: la presencia de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME) que modifican covalentemente los grupos hidroxilo o amino de la molécula de aminoglucósido; las

betalactamasas, las más antiguas y las más diversas, capaces de escindir el anillo betalactámico del grupo de las penicilinas, volviéndolas ineficaces; por su alto consumo en humanos y animales han facilitado la propagación de clones de resistencia (Varela et al., 2021), siendo principalmente las Enterobacterias que poseen estas enzimas, donde el intercambio de plásmidos resistentes a múltiples fármacos (MDR) entre miembros de la familia es común. Por último, la modificación química de cloranfenicol, está impulsado principalmente por la expresión de acetiltransferasas (Davies & Davies, 2010; Varela et al., 2021).

2.6.2 Alteración de los objetivos antimicrobianos.

La acción de enzimas que se mencionaron anteriormente pueden generar modificación de la estructura del fármaco, por lo tanto, se evitará su unión a la célula bacteriana o a su objetivo diana y será bloqueado, según (Munita & Arias, 2016) estos cambios de diana pueden consistir en:

- Mutaciones puntuales en los genes que codifican el sitio diana
- Alteraciones enzimáticas del sitio de unión (por ejemplo, adición de grupos metilo)
- Reemplazo o desvío de la diana original.

Por ejemplo, a través de alteraciones en la estructura y / o número de PBP (proteínas de unión a penicilina), las PBP son transpeptidasas involucradas en la construcción de peptidoglicano en la pared celular. Un cambio en el número (aumento) de PBP afecta la cantidad de fármaco que puede unirse a ese objetivo. Además, también se han atribuido otros objetivos diana como a ribosomas (mutación ribosómica), enzimas de ácidos nucleicos y las vías metabólicas, la resistencia se produce a través de mutaciones en enzimas (DHPS, dihidropteroato sintasa, DHFR, dihidrofolato reductasa) involucradas en la vía de biosíntesis de folato y / o sobreproducción de DHPS resistentes y enzimas DHFR (sulfonamidas, DHPS, trimetoprim, DHFR) (Reygaert, 2018; Varela et al., 2021).

2.6.3 Eflujo de drogas

Las bombas de salida funcionan principalmente para eliminar las sustancias tóxicas de la célula bacteriana. La descripción de un sistema de eflujo capaz de bombear

tetraciclina (Tet) fuera del citoplasma de *E. coli* se remonta a principios de la década de 1980 y fue uno de los primeros en describirse, son pertenecientes a la familia MFS que extruyen tetraciclinas, utilizando el intercambio de protones como fuente de energía (Munita & Arias, 2016). Hay cinco familias principales de bombas de eflujo en bacterias, clasificadas según su estructura y fuente de energía: la familia de casetes de unión a ATP (ABC), la familia de extrusión de compuestos tóxicos y multifármacos (MATE), la familia de pequeñas resistencias a múltiples fármacos (SMR), la principal superfamilia facilitadora (MFS) y la familia de división celular de nodulación de resistencia (RND); El grupo ABC de bombas de eflujo provoca la resistencia bacteriana a fármacos clínicamente relevantes en *Mycobacterium tuberculosis*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae*. La bomba de eflujo MacB de *E. coli* es una de las pocas bombas bien estudiadas de la superfamilia ABC, que confiere niveles apreciables de resistencia a macrólidos. Se ha demostrado que esta proteína, junto con la proteína de membrana externa Mac A, tiene un papel crucial en la virulencia de *E.coli*. En *S. Thiphymurium*, MacABC es necesaria para la colonización del huésped y ayuda a superar el estrés oxidativo letal, inducido por las especies reactivas de oxígeno, así como su supervivencia dentro de los macrófagos (Reygaert, 2018; van Duijkeren et al., 2018; Varela et al., 2021).

Resumiendo lo anterior, sobre los mecanismos de resistencia, el tipo de antibiótico que corresponde y en qué microorganismos se encuentra, se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Resistencia de antibióticos por inactivación enzimática, modificación del objetivo diana y bombas de eflujo (van Duijkeren et al., 2018).

Mecanismo de resistencia	Gen de resistencia	Fenotipo de resistencia (antibiótico)	Bacteria involucrada	Ubicación del gen de resistencia
	tet (AE, G, H, I, J, K, L,Z), tet A.	Tetraciclina	Gram + y Gram -	P, T, C

Salida a través de exportadores específicos	pp-flo, floR, floR v.	Florfenicol Cloranfenicol	<i>Fotobacterias, Vibrio, Salmonella, Escherichia, Klebsiella, Pasteurella</i>	T, P, C
	cmlA	Cloranfenicol	<i>Pseudomonas, Salmonella, E. coli</i>	T, P, C
Salida a través de múltiples fármacos	<i>mexB, mexA, oprM, acrA, acrB, tolC</i>	Cloranfenicol, β -lactámicos, macrólidos, fluoroquinolona, tetraciclinas, etc.	<i>Pseudomonas, E. coli, Salmonella</i>	C
Degradación hidrolítica	<i>bla</i>	β -lactámicos	Gram + y Gram – (aeróbicas y anaerobias).	P, T, GC, C
Modificación química	aac , aad	Aminoglucósidos	Gram + y Gram -	T, GC, P, C
	<i>catA, catB</i>	Cloranfenicol	Gram + y Gram – (aeróbicas y anaeróbicas).	P, T, GC, C
Metilación del sitio de destino	<i>erm</i>	Macrólidos, lincosamidas, compuestos de estreptogramina B	Gram +, <i>Escherichia, Bacteroides</i>	P, T, C
Reemplazo de un objetivo sensible por un objetivo alternativo resistente	<i>sul1, sul2, sul3</i>	sulfonamidas	Gram -	P, I
	<i>dfrA, dfrB, dfrD, dfrG, dfrK</i>	Trimetoprima	Gram + y Gram -	P, GC, T, C
Alteración del LPS	<i>mcr-1 a mcr-5</i>	Colistina	Enterobacterias	T, P, C

Modificación mutacional del sitio objetivo	Mutación en el gen que codifica la proteína ribosómica S12	Estreptomicina	Gram + y Gram -	C
Modificación mutacional de elementos reguladores	Mutaciones en los marRAB soxR o ACR R	Fluoroquinolonas	<i>E.coli</i>	C

P= plásmido, T= transposón, GC= casete de genes, C= ADN cromosómico, I= Integrón.

Los betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos), pueden ser inactivados por diferentes tipos de β -lactamasas, estas mismas enzimas son las responsables de la resistencia y los genes que las codifican pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos y se producen de manera constitutiva o inducible (Santajit & Indrawattana, 2016). En la Tabla 2 se pueden observar, las diferentes clasificaciones y características de las enzimas de β -lactamasas.

Tabla 2. Categorización de enzimas β -lactamasas bacterianas por los sistemas Bush-Jacoby y Ambler (Santajit & Indrawattana, 2016).

Clasificación		Antibiótico	Enzimas	Descripción	Patógeno
Bush-Jacoby	Ambler				
1	C	Cefalosporinas de espectro reducido y extendido, incluidas las cefamicinas	ACT-1, MIR-1, CM, AMPc	Enzimas no inhibidas por ácido clavulánico	Enterobacteriaceae.
2a	A	Penicilinas	PC1	Penicilinas inactivadas por ácido clavulánico	
2b	A	Penicilinas, cefalotina	TEM-1, TEM-2, SHV-1, SHV-11	Enzimas de amplio espectro, inactivadas por ácido clavulánico	

2be	A	Penicilinas, oxiiimino-cefalosporinas (cefotaxima), monobactámicos	TEM-3, TEM-10, SHV-2, SHV-3, CTX-M	Enzimas de amplio espectro extendido (BLEE).
2bab	A	Penicilinas resistentes al ácido clavulánico, sulbactam.	TEM-30, SHV-10, SHV-72	Enzimas de amplio espectro con unión reducida al ácido clavulánico
2ber	A	Penicilinas, oxiiimino-cefalosporinas, monobactámicos	TEM-50, TEM-158	Enzimas de espectro extendido con relativa resistencia al ácido clavulánico
2c	A	Penicilinas, carbenicilina	PSE-1, CARB-3	Enzimas hidrolizantes de carbenicilina.
2ce	A	Carbenicilina, cefepima	RTG-4 (CARB-10).	Carbenicilinas de espectro extendido
2d	D	Cloxacilina, oxacilina	OXA-1, OXA-2, OXA-10	Enzimas hidrolizantes de cloxacilina
2de	D	Cloxacilina, cefalosporinas, monobactámicos	OXA-11, OXA-15	
2df	D	Cloxacilina, oxacilina, carbapenémicos	OXA-23, OXA-51, OXA-58	
2e	A	Cefalosporinas	CepA	Cefalosporinas inactivadas por ácido clavulánico
2f	A	Todos los betalactámicos, carbapenémicos	KPC, PYME, IMI-1	Betalactamasas no metalolactamasas, hidrolizantes de carbapenémicos
3	B	Todos los betalactámicos, carbapenémicos.	IMP, VIM, IND.	Metalobetalactamasas.
4	-	Penicilinas.	Penicilinas de Burkholderia cepacia.	Penicilinas no inactivadas por ácido clavulánico.

La resistencia a quinolonas está mediada por mutaciones específicas en la girasa y/o la topoisomerasa IV, generalmente es en el aminoácido de la serina y los residuos ácidos que anclan el puente de iones agua-metal; lo relevante de esto, es que la unión de la quinolona con la topoisomerasa se facilita a través de un puente de iones de agua y metal. El otro proceso es por medio de adquisición de genes de resistencia mediado por plásmidos, el primero es Qnr que codifican proteínas que disminuyen la unión de la girasa y la topoisomerasa IV al ADN, la segunda proteína codificada por aac (6')-Ib-cr, acetila el nitrógeno no sustituido del anillo de piperazina C7 que se encuentra en la norfloxacin y la ciprofloxacina, lo que disminuye la actividad del fármaco. Por último tenemos a las que codifican para bombas de eflujo (OqxAB, QepA1 y QepA2) (Aldred et al., 2014).

La resistencia a macrólidos, lincosaminas y estreptograminas se debe a la presencia de genes *emr* en Gram positivas y Gram negativas que se expresan todo el tiempo (constitutivamente), por lo tanto, el gen está activado en presencia de dosis bajas de antibióticos específicos (Fyfe et al., 2016). Uno de los mecanismos de resistencia, sería por la presencia de ARNr metilasas, que reducen la unión del antibiótico a la subunidad 50S del ribosoma. Por otra parte existen un grupo de genes *mef*(A), *mef*(B) y *mef*(C), que codifican para bombas de eflujo específicas para 14 y 15 miembros macrólidos, que provocan la expulsión del antibiótico (van Duijkeren et al., 2018).

En cuanto a los aminoglucósidos su mecanismo de resistencia se debe a que existe una gran variedad de enzimas modificadoras de aminoglucósidos presentes en todo tipo de bacterias, esta actividad lo realizan sobre los grupos moleculares de la estructura del antibiótico, el cual lo podemos ejemplificar en la Tabla 3. Otro mecanismo relevante es la modificación de la diana, mediado por enzimas metiltransferasas del ARNr 16S, las cuales van a añadir un grupo metilo en residuos de nucleótidos que se localizan en el sitio de unión de los aminoglucósidos en el ARNr, impidiendo la interacción del ribosoma con el antibiótico necesaria para que se produzca la acción del aminoglucósido (Mella M. et al., 2004; Ovejero, 2018).

Tabla 3. Modificación enzimática en aminoglucósidos (Ovejero, 2018).

Enzima modificadora	Acción
Aminoglucósido N-acetiltransferasas (AACs).	Catalizan la acetilación de los grupos –NH ₂ de la molécula del aminoglucósido.
Aminoglucósido O-nucleotidiltransferasas (ANTs).	Catalizan la adenilación un grupo -OH del aminoglucósido.
Aminoglucósido O-fosfotransferasa (APHs).	Catalizan la fosforilación de los grupos hidroxilos del aminoglucósido

Los fenicoles están constituidos por 2 fármacos, el cloranfenicol y florfenicol, su mecanismo de resistencia está basado en la inactivación enzimática, por medio de cloranfenicol acetiltransferasas (CAT) que transfieren grupos acetilo de acetyl-CoA a la posición C3 de la molécula de cloranfenicol, también se han identificado genes relacionados con floR en *Photobacterium*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *E. coli* y varios serovares de *S. enterica* (van Duijkeren et al., 2018).

En el grupo de las polimixinas, principalmente la colistina presenta los siguientes mecanismos de resistencia que incluyen una variedad de modificaciones de lipopolisacáridos, como modificaciones de lípido A con fosfoetanolamina y 4-amino 4-desoxi-L-arabinosa, bombas de eflujo, sobreexpresión de la proteína de membrana externa (OprH); tal resistencia está codificada cromosómicamente y de igual forma se ha notificado por medio de plásmidos, principalmente el gen mcr-1 identificado en un plásmido conjugativo en *E. coli* de origen animal y humano y codifica para una fosfoetanolamina transferasa, subsecuentemente se han ido identificando más genes mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5 (Poirel et al., 2017; van Duijkeren et al., 2018). En un estudio realizado por (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021) se detectó resistencia a la colistina en el 14.2% de los aislados de *Salmonella*, aunque el 83.4% de estos aislados resistentes fueron *S. Enteritidis* o *S. Dublin*; serotipos pertenecientes al grupo D *Salmonella*, que tienden a mostrar una mayor tolerancia natural a la

colistina. Además, es considerado como un antimicrobiano de importancia crítica de máxima prioridad para el tratamiento de infecciones humanas graves con algunas bacterias Gram negativas, de acuerdo a lo establecido por la OMS. El uso principal en veterinaria es para tratar infecciones por enterobacterias y como promotor de crecimiento, que generalmente es una práctica muy común en todo el mundo (Poirel et al., 2017).

Las sulfonamidas representan estructuras análogos del ácido p-aminobenzoico e inhiben la enzima ácido dihidropterico sintasa (DHPS), mientras que la trimetoprima inhibe la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR); mutaciones en el gen cromosómico *dhps* conducen a la resistencia a la sulfonamida, hasta la fecha, tres tipos de enzimas *dhps* resistentes codificadas por los genes *sul1*, *sul2* y *sul3* se han descrito en bacterias Gram negativas; además las mutaciones en la región promotora de los genes cromosómicos *dhfr* ocurren en *E. coli* y dieron como resultado una sobreexpresión de la *dhfr* sensible a la trimetoprima (Manna et al., 2021; Tacic et al., 2017).

De acuerdo a un informe del NARMS, demostró que el fenotipo de multirresistencia más común entre los aislados de *Salmonella* fue de cinco antimicrobianos como, ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfametoxazol y tetraciclinas (ACSSuT) y esto se detectó en 1.5%, 4.8%, 16.2%, y el 10.9% de los aislados recuperados de pollos, pavos, bovinos y cerdos, respectivamente. Los antibióticos amoxicilina / ácido clavulánico, ampicilina, ceftiofur, cefoxitina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclinas tenían el porcentaje más alto de cepas de *Salmonella* resistentes y el porcentaje de cepas resistentes a estos medicamentos ha aumentado desde 1997 (Jajere, 2019).

2.7 Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* de las bacterias a los antibióticos se pueden realizar mediante varios métodos disponibles en el laboratorio. Algunas técnicas como dilución en caldo o agar, se pueden utilizar para medir cuantitativamente la actividad de un antibiótico frente a un cultivo bacteriano (CLSI, 2012). Las pruebas

también son importantes en la vigilancia de la resistencia, los estudios epidemiológicos de susceptibilidad y en las comparaciones de agentes nuevos y existentes. La OIE y la EUCAST, establecen que la estandarización y homologación de las diversas metodologías de pruebas de susceptibilidad utilizadas en el control epidemiológico de la resistencia a los compuestos antimicrobianos constituyen factores clave a la hora de comparar datos, entre los diferentes programas nacionales e internacionales. Actualmente, el método de referencia es la microdilución en medio líquido; el cual tiene la gran ventaja de que se obtienen datos cuantitativos de susceptibilidad o resistencia y dichos datos pueden analizarse de acuerdo a los puntos de corte clínicos o también empleando valores umbrales epidemiológicos (OIE, 2019).

Los métodos MIC se utilizan en las pruebas comparativas de nuevos agentes, para establecer la susceptibilidad de los organismos que dan resultados equívocos en las pruebas de disco, pueden no ser confiables y cuando se requiere un resultado cuantitativo para el manejo clínico (Benkova et al., 2020).

2.7.1 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

Basada en la concentración mínima del antibiótico requerida para inhibir el crecimiento de una muestra bacteriana, expresada en mg / L ($\mu\text{g} / \text{mL}$) (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021). Esto implica sembrar una pequeña cantidad de bacterias ($\sim 10^5$ UFC /mL) dentro de un medio de crecimiento y verificar el crecimiento visual después de 24 horas de incubación, esto puede variar (generalmente los tiempos de incubación son para bacterias que alcanzan la fase logarítmica tardía o la fase estacionaria temprana entre las 16 y las 20 h) (Daly et al., 2017). El medio utilizado para las pruebas de susceptibilidad antibacteriana con dilución es el caldo Mueller Hinton, este medio se suplementa con sales de calcio y magnesio, recomendado por la guía del CLSI para producir la concentración mínima inhibitoria correctas para aminoglucósidos o para *Pseudomonas aeruginosa*. Por lo tanto esta técnica define los niveles *in vitro* de susceptibilidad o resistencia de cepas bacterianas específicas al antibiótico aplicado, las categorías de

interpretación se puede ver en la Tabla 4, y son tomados de la guía del CLSI para cada antibiótico (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

Tabla 4. Categoría de interpretación de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos (Jean B. et al., 2017).

Susceptible	Intermedio	Resistente
Los aislamientos con una CMI en o por debajo del punto de corte, son inhibidos por las concentraciones generalmente alcanzables de agente antibiótico.	Los aislamientos pueden ser inhibidas por concentraciones más elevadas de antibiótico, siempre que se pueda aumentar la dosis.	Los aislamientos con una CIM en o por encima del punto de corte, no son inhibidos por las concentraciones usualmente alcanzables del agente con esquemas de dosificación normales.

El CLSI ha desarrollado directrices para probar la concentración bactericida mínima (MBC), que se define como una reducción de al menos 99.9% en la carga bacteriana; proporcionándonos así una predicción de la erradicación bacteriana (Daly et al., 2017). Este método determina primero el nivel de antibiótico que inhibe el crecimiento bacteriano visible después de aproximadamente 24 h de incubación (similar a MIC), pero a esto le sigue un paso de subcultivo realizado durante 24 h adicionales en las muestras inhibidas de los pocillos transparentes, el medio a utilizar, está libre de antibiótico. La MBC se determina basándose en el nivel de antibiótico que no muestra un crecimiento significativo durante el subcultivo (reducción de 3 log en UFC / mL) (Liu et al., 2020).

3 Objetivos

3.1 General

Identificar los patrones de resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos a partir de productos cárnicos avícolas de importancia en salud pública.

3.2 Particulares

3.2.1 Identificar un panel de antibióticos de relevancia para salud pública, desde la perspectiva de Una Salud.

3.2.2 Determinar los valores de CMI y CMB para los aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos de productos cárnicos avícolas.

3.2.3 Comparar los patrones de multiresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de *Salmonella enterica* prevalentes en la industria cárnica avícola, con los patrones de resistencia reportados a nivel nacional e internacional.

3.3 Profesionalizantes

3.3.1 Desarrollar nuevas habilidades en el área de la investigación y de microbiología para aislar e identificar microorganismos, así como la realización de pruebas de susceptibilidad para el monitoreo de la resistencia antimicrobiana.

3.3.2 Identificar y documentar los niveles de resistencia obtenidos del proyecto, para comprender la naturaleza y magnitud de las tendencias de resistencia a los antibióticos, ya que representa un problema de salud pública.

3.3.3 Establecer una base de datos de resistencia antimicrobiana para el laboratorio de microbiología molecular de la facultad de química, para que pueden continuar del monitoreo de la resistencia bacteriana.

4. Metodología

4.1.1 Diseño

El diseño de este proyecto de investigación es de tipo transversal descriptivo.

4.1.2 Definición del Universo.

Aislamientos de *S. enterica*.

4.1.3 Tamaño de muestra

Se trabajó con 88 aislamientos de *S. enterica* proveniente de productos cárnicos avícolas, obtenidos a través del programa de prevalencia de *S. enterica* en productos cárnicos, llevado a cabo desde el 2016 por el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Específicamente se analizarán todos los aislamientos obtenidos en el año 2016. La descripción detallada del muestreo y procesamiento de las muestras, se describe en el artículo publicado por (Regalado-Pineda et al., 2020).

4.1.4 Definición de las unidades de observación

De acuerdo con la Tabla 5, se definen los grupos a evaluar.

Tabla 5. Definición de unidades de observación.

Unidades de observación	Definición	Unidad de medida
<i>Salmonella enterica</i>	Enterobacteria Gram negativa, caracterizada como un patógeno zoonótico y asociada a la resistencia de múltiples antibióticos.	Patrones de resistencia
<i>E.coli</i>	Enterobacteria Gram negativa, asociado a múltiples enfermedades intestinales y es establecido por las Guías del CLSI como control para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.	Cepa control de patrones de resistencia

4.1.5 Grupo control

Cepa ATCC 25922 de *E.coli* (betalactamasa negativa).

4.1.6 Criterios de inclusión

a) Aislamientos de *S. enterica*, identificados por PCR punto final. Fueron obtenidos de diferentes puntos de venta de supermercados y mercados públicos (de acuerdo a lo establecido en el punto 4.1.3).

b) Serotipos de *S. enterica*.

4.1.7 Criterios de exclusión

a) *Salmonella* atípica.

4.1.8 Criterios de eliminación

a) Otras enterobacterias.

b) *Campylobacter spp.*

c) Cepas que no se puedan recuperar (mal congeladas).

4.1.9 Definición de variables y unidades de medida

De acuerdo con la Tabla 6, se mencionan tanto la definición, las unidades de medida y el tipo de variable.

Tabla 6. Características de la variable.

Variable	Definición	Unidad de medida	Tipo de variable
Patrones de resistencia	Comportamiento de un agente bacteriano frente a los antibióticos probados.	Alto Bajo	Cualitativa ordinal
Concentración mínima inhibitoria	La mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en	µg/mL	Cuantitativa continua

	el sistema de prueba.		
Concentración Mínima Bactericida	Reducción de al menos 99.9% en la carga bacteriana; proporcionando así una predicción de la erradicación bacteriana.	µg/mL	Cuantitativa continua

4.1.10 Fuentes, métodos, técnicas y procedimientos de recolección de la información

- Técnica de Recolección de Información.

La información es recolectada a través de la base de datos, que se tiene registrado por parte del programa de prevalencia de *S. enterica* en productos cárnicos, llevado a cabo desde el 2016 por el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

- Prueba estadística para el diseño de estudio.

Los resultados obtenidos serán recolectados y almacenados en hojas de cálculo en Excel. Se realizará la prueba de Chi², utilizando el software GraphPad Prism 9; para comparar los porcentajes de resistencia a antibióticos entre los diferentes serotipos de *S. enterica*, que fueron aislados de diferentes puntos de venta de supermercados y mercados públicos (Regalado-Pineda et al., 2020) .

Así mismo, se realizará Intervalo de confianza, aplicable para este tipo de estudio transversal descriptivo, considerando un nivel de confianza del 95%.

4.2 Procedimientos

4.2.1 Identificación del panel de antibióticos de relevancia para la salud pública, desde la perspectiva de Una Salud

La búsqueda de información para establecer el panel de antibióticos, se realizó a través de Pub Med, Google scholar, Elsevier, Nature, NARMS; considerando los siguientes criterios:

- Pruebas de susceptibilidad para *Salmonella enterica* en muestras humanas y animales.
- Antibióticos de importancia crítica establecidos por la OMS y Organización Mundial de Sanidad Animal.
- Patrones de resistencia identificados en los diversos estudios.
- Antibióticos de vigilancia epidemiológica establecidos por el NARMS para *Salmonella enterica*.
- Se consideró información de los últimos 5 años.

Los registros identificados a través de búsqueda en bases de datos, correspondieron a 580 registros aproximadamente.

Fueron excluidos según el título 200, y por la antigüedad de los artículos, se eliminaron 80.

Los artículos de texto completo evaluados fueron elegidos 300. Pero dentro de este número de artículos, 30 no reportaron resistencia antimicrobiana relevante, así mismo 40 artículos se analizaron con las mismas categorías de antibióticos, pero no tenían justificación y 60 no se citaron o se compararon con instituciones de estándares de calidad para determinar los criterios de susceptibilidad o resistencia antimicrobiana. Todos estos pasos se ven en la Figura 10.

Identificación del panel de antibióticos de relevancia para la salud pública, desde la perspectiva de Una salud

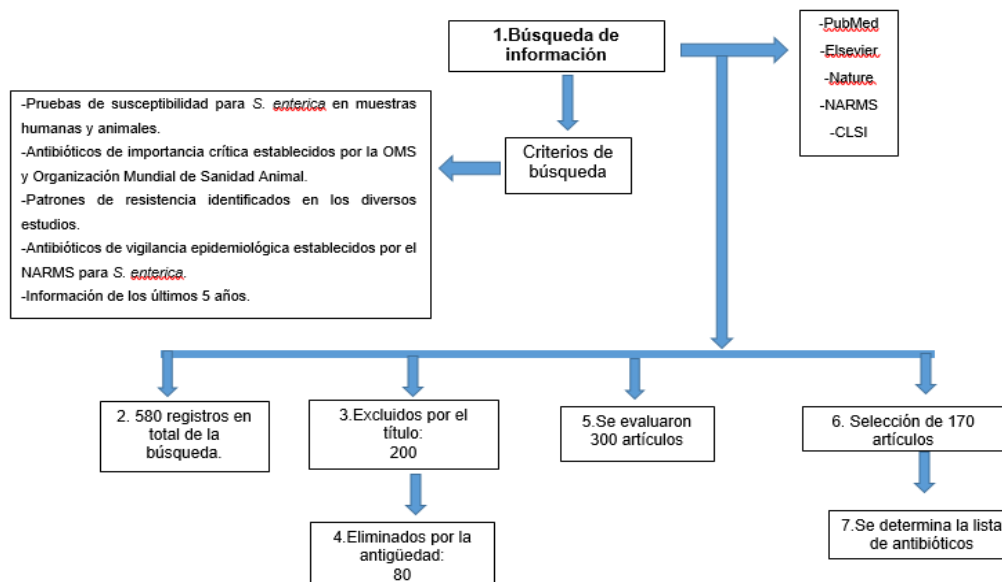


Figura 10. Diagrama de flujo del proceso de búsqueda y selección de información para establecer el panel de antibióticos de relevancia para la salud pública.

Finalmente 170 artículos fueron seleccionados de acuerdo a los criterios que se mencionaron anteriormente, considerando principalmente que los aislamientos de *S. enterica* procedieran de aves de corral y que perfiles de resistencia se reportaban para esta bacteria y así establecer una lista de antibióticos, que tuvieran como característica de importancia clínica por parte de la OMS, la Organización Mundial de Sanidad Animal o que estén incluidos en el cuadro básico de medicamentos del IMSS 2019. Toda esta información se encuentra concentrada en el apartado de resultados, en la página 58.

4.2.2 Estandarización de la técnica de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), siguiendo las normas internacionales

Para garantizar la estandarización de la técnica de la concentración mínima inhibitoria, involucró tener cepa de referencia ATCC recomendada por la guía del

CLSI, que sirvió como control para revisar la precisión del procedimiento de cada proceso realizado.

Debido a que se trabajaron con aislamientos de *S. enterica* y esta al pertenecer a la familia Enterobacterales, la guía del CLSI M-100, indicó que la cepa de referencia con la que se trabajaría era la ATCC 25922 de *E.coli* (Betalactamasa negativa (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022)). La cepa fue proporcionada por el laboratorio de microbiología molecular de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se mantuvo en viales con caldo de soya tripticasa con 10-15% de glicerol a -20°C. La recuperación de células criopreservadas requirieron la descongelación a temperatura ambiente (ATCC, 2021), seguido de un cultivo en agar soya tripticasa y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Esta cepa reactivada se mantuvo en refrigeración a 8 °C y se realizaba una resiembra por estría cruzada en agar tripticasa de soya previamente al inicio de la experimentación, más adelante en los puntos 4.2.3.4 y 4.2.3.5 se detalló todo el proceso que se siguió para realizar el ajuste de UFC con las que se debe de trabajar, para realizar microdiluciones de acuerdo a la guía del CLSI M-100.

Durante todo el desarrollo del proyecto, la cepa control fue utilizada 2 veces, la primera fue al inicio del experimento para asegurarnos que las soluciones de antibióticos y medio de cultivo fueran las óptimas y la segunda, se realizó cuando se prepararon nuevas soluciones de antibióticos. Se corroboraron los puntos de corte (Tabla 7) que se tomaron como referencia de la hoja técnica de (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022). Los resultados se pueden observar en el anexo 2.

Tabla 7. Intervalos de control de calidad de Concentración Mínima Inhibitoria para organismos no fastidiosos (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022).

Antibiótico	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (betalactamasa negativa) µg/mL
Amoxicilina con ácido clavulánico	2 de amoxicilina /1 de á.clavulánico hasta 8 de amoxicilina / 4 de á.clavulánico
Ampicilina	2 - 8
Cefoxitina	2 - 8
Ceftriaxona	0.03 - 0.12
Ceftiofur	0.12 - 8
Cloranfenicol	2 - 8
Ciprofloxacino	0.004 - 0.016
Colistina	0.25 - 2
Florfenicol	2 - 8
Gentamicina	0.25 -1
Meropenem	0.008 - 0.06
Ácido nalidíxico	1 - 4
Tetraciclina	0.5 - 2
Trimetoprim con sulfametoxazol	<0.5/9.5

Nota: Los puntos de corte del CLSI no están establecidos para Estreptomicina, tampoco para Azitromicina; los estándares interpretativos utilizados son puntos de corte establecidos por NARMS para monitorear la resistencia y no deben usarse para predecir la eficacia clínica.

Nuevamente la cepa ATCC fue almacenada en un medio estabilizador apropiado como el caldo tripticasa de soya con 10-20% de glicerol a -20 °C. Se debe tomar siempre en cuenta que este tipo de cepa debe almacenarse en forma adecuada para preservar sus características de susceptibilidad antimicrobiana. (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022).

Además, se tomaron en consideración las siguientes condiciones para el desarrollo del proyecto:

-Medio de cultivo: Para la prueba de microdilución en caldo, se utilizó Caldo Mueller Hinton con ajuste de cationes (Calcio 20-25 mg/L, Magnesio 10-12.5 mg/L).

-Inóculo: Suspensión de colonias, equivalente a un estándar de 0.5 McFarland (1×10^8 UFC) y se reajusta el inóculo a 5×10^5 UFC.

-Incubación: 16-20 horas.

4.2.3 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria a través de Microdilución en caldo

La prueba de dilución en caldo conlleva a la exposición de las bacterias a menores concentraciones de agentes antimicrobianos en medio líquido, mediante una dilución 1:2 en serie. El término “microdilución” indica la prueba de CMI con volúmenes de hasta 0.1 mL de solución de agente antimicrobiano.

4.2.3.1 Preparación de la solución stock de antibióticos propuestos

De acuerdo a la Guía CLSI M-100, indica que todas las soluciones se prepararon por lo menos 1000 $\mu\text{g/mL}$ ó de una concentración 10 veces mayor en relación al punto de corte de resistencia de cada antibiótico (ver anexos 1 que incluye los cálculos para la cantidad de antibiótico aproximado que se utilizó para todos los aislamientos). En la Tabla 8 se incluyeron los solventes y diluyentes que se utilizaron para la preparación de las soluciones stock de antibióticos.

Tabla 8. Solventes y diluyentes para la preparación de soluciones madre de antibióticos, de acuerdo al CLSI M-100 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017).

Antibiótico	Solvente	Diluyente
Ácido nalidíxico	$\frac{1}{2}$ volumen H_2O , agregar NaOH 1M gota a gota para disolver	
Amoxicilina	Amortiguador de fosfato 0.1M pH= 6	Amortiguador de fosfato 0.1M pH= 6
Ampicilina	Amortiguador de fosfato 0.1M pH= 8	Amortiguador de fosfato 0.1M pH= 6

Azitromicina	Etanol 95% o ácido acético glacial	Caldo de medio
Cefoxitina	Agua	Agua
Ceftriaxona	Agua	Agua
Cloranfenicol	Etanol 95%	Agua
Ciprofloxacino	Agua	Agua
Ceftiofur	DMSO	DMSO
Colistina	Agua	Agua
Estreptomicina	Agua	Agua
Florfenicol	Agua	Agua
Gentamicina	Agua	Agua
Meropenem	Agua	Agua
Sulfonaminas	½ volumen de H ₂ O caliente y cantidad mínima de NaOH 2M para disolver	Agua
Tetraciclina	Agua	Agua
Trimetoprim	Ácido láctico 0.05M o clorhídrico, 10% del volumen final	Agua

DMSO= Dimetilsulfóxido

4.2.3.2 Preparación de la suspensión estándar de turbidez. Curva de crecimiento bacteriano, por densidad óptica

Se tomaron de 3 a 5 colonias de una placa de Agar tripticasa de soya (TSA) (cultivo menor a 24 horas) y se suspendieron en 3 mL de caldo tripticasa de soya (TSB). Posteriormente se tomó 200 µL de esta suspensión y se depositaron por duplicado sobre una placa de ELISA. De la misma manera, se tomó 200 µL de caldo TSB sin inóculo (blanco). Este paso se considera como tiempo 0 y se lee a 625 nm en un Espectrofotómetro de microplacas Thermo Scientific Multiskan GO.

El resto de la suspensión que se preparó con inóculo, se incubó a 37 °C y se lee la absorbancia a cada 15 minutos. Las alícuotas se realizaron de la misma forma que en el tiempo 0. La absorbancia a 625 nm debe estar en un rango de 0.08 a 0.13, que corresponde a la escala de Mac Farland de 0.5, sin embargo, en este caso se utilizará únicamente la lectura de la densidad óptica.

4.2.3.3 Células para el inóculo de la determinación de concentración mínima inhibitoria

Las colonias aisladas fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar TSA (preferentemente usar un medio no selectivo) después de 18 a 24 horas.

4.2.3.4 Preparación de la suspensión del inóculo

Se seleccionaron de tres a cinco colonias bien aisladas, con el mismo tipo morfológico. Con un asa se tomó la parte superior de la colonia y se transfirió a un tubo que contenía 5 mL de caldo TSB.

El inóculo preparado se incubó a 37 °C hasta que alcanzó la turbidez, de acuerdo a la densidad óptica, en un rango de 0.08 a 0.13 (aproximadamente 30 minutos), de acuerdo a la curva de calibración realizada con anterioridad. La suspensión resultante contiene aproximadamente 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL.

Con este mismo inóculo se realizaron 2 diluciones (1:100), colocando 100 µL de inóculo y 9.9 mL de agua de peptona al 0.1% y en la tercera dilución se colocaron 505.5µL de inóculo en 49.5mL de agua de peptona al 0.1%, obteniendo un inóculo final de 5x10⁵ UFC/mL para la microdilución (CLSI, 2012).

4.2.3.5 Método de microdilución

Al primer pocillo (número 1) de la placa de ELISA se adicionaron 200 µL de solución de antimicrobiano (este representa la concentración más alta y está relacionado con el punto de corte de resistencia), observar la representación esquemática en la Figura 11. A los pocillos restantes (número 2) se agregó 100 µL de caldo Mueller-Hinton estéril con ajuste de cationes. Posteriormente partiendo del primer pocillo, se realizaron diluciones seriadas, tomando 100 µL del primer pocillo y adicionándolo al siguiente pocillo y así sucesivamente (representación del número 3). También a cada pocillo se agregaron 100 µL de inóculo (representación del número 4). Los dos últimos pocillos se reservaron para el control positivo (medio de cultivo sin antibiótico

con inóculo) y el control negativo (solo medio de cultivo). Las diluciones se hicieron por duplicado de cada antibiótico.

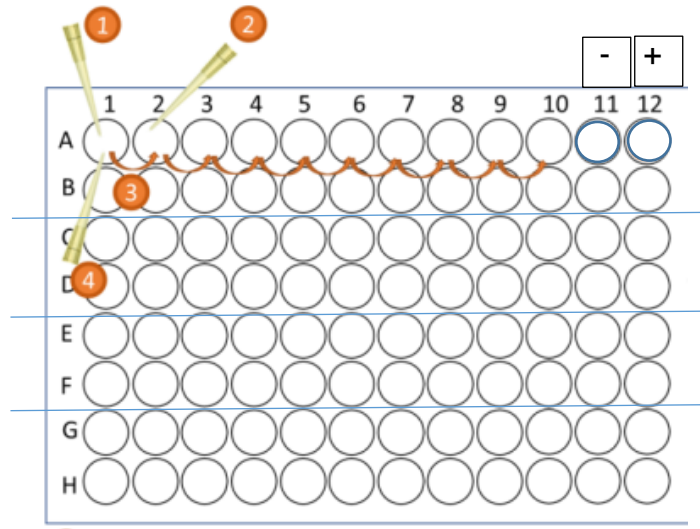


Figura 11. Representación esquemática de las diluciones seriadas de los antibióticos (Pérez Esteve, 2021).

Para saber a qué concentración se partió para hacer las microdiluciones, se tomaron en cuenta los puntos de corte de cada antibiótico, el cual se puede observar en la Tabla 9.

Tabla 9. Puntos de corte de los antibióticos seleccionados (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022).

Antibiótico	Puntos de corte $\mu\text{g/mL}$		
	Susceptible	Intermedio	Resistente
Tetraciclina	<4	8	≥ 16
Ampicilina	<8	16	≥ 32
Gentamicina	≤ 4	8	≥ 16
Amoxicilina con ácido clavulánico	$\leq 8/4$	16	$\geq 32/16$
Azitromicina	≤ 16		≥ 32
Estreptomicina	≤ 16		≥ 32
Cefoxitina	≤ 8	16	≥ 32
Florfenicol	≤ 8	16	≥ 32

Ceftriaxona	≤1	2	≥4
Cloranfenicol	≤8	16	≥32
Meropenem	≤1	2	≥4
Trimetoprim con sulfametoxazol	≤2/38		≥4/76
Ácido nalidíxico	≤16		≥32
Ciprofloxacino	≤0.06	0.12-0.5	≥1
Ceftiofur	≤2	4	>4
Colistina		≤2	≥4

Una vez inoculadas, las placas de microdilución se taparon con adhesivo para evitar la evaporación del medio de cultivo cuando se incuben. Las placas se incubaron a 37 °C por 16-20 horas.

Para la interpretación de los resultados, se leyeron las placas en el Espectrofotómetro de microplacas Thermo Scientific Multiskan GO, considerando los pocillos de control positivo y negativo, en los cambios de absorbancia y comparando con los puntos de corte que están representados en la Tabla 9 (U.S Food and Drug Administration, 2022). Los datos obtenidos de las microdiluciones se clasificaron como susceptibles, intermedios y resistentes, basados en la Tabla 10. Los aislamientos intermedios y resistentes fueron unificados en un solo criterio como “no susceptibles”, que más adelante se explican los motivos.

Tabla 10. Antibióticos, familia y rangos de punto de corte (µg/mL) de susceptibilidad, intermedio y resistente (Centers for Disease Control and Prevention, 2019; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022; OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal et al., 2021).

Antibiótico	Familia	S	I	R
Ceftriaxona.	Cefalosporina 3 ^o generación	≤1	2	≥4
Ceftiofur (uso exclusivo veterinario)	Cefalosporina 3 ^o generación	≤2	4	≥8

Azitromicina	Macrólido.	≤16		≥32
Colistina	Polimixina E		≤2	≥4
Ácido Nalidíxico	Quinolona 1º generación	≤16		≥32
Ciprofloxacino	Fluoroquinolona	≤0.06	0.12-0.5	≥1
Gentamicina	Aminoglucósido	≤4	8	≥16
Estreptomicina		≤16		≥32
Meropenem (uso exclusivo en humanos)	Carbapenémico	≤1	2	≥4
Florfenicol (uso exclusivo veterinario), Cloranfenicol	Anfenicoles	≤8	16	≥32
Ampicilina.	Aminopenicilina (Beta lactámicos).	≤8	16	≥32
Amoxicilina/ácido clavulánico.	Aminopenicilina (Beta lactámicos).	≤8/4	16	≥32/16
Cefoxitina	Cefalosporina de 2º generación.	≤8	16	≥32
Trimetoprim/sulfametoxazol	Antagonistas de la vía del folato	≤2/38		≥4/76
Tetraciclina	Tetraciclina	≤4	8	≥16

S= Susceptible, I= Intermedio, R= Resistente

4.2.4 Concentración mínima bactericida (CMB)

Partiendo de la dilución donde no se observó crecimiento bacteriano en la concentración mínima inhibitoria, se tomaron 10 µL y se colocaron en una placa de Mueller Hinton sin antibiótico, realizando la técnica de extendido en placa, incubamos a 37 °C durante 24 horas (Barry, 1999). Se realizó el conteo de colonias y se comparó con la Tabla 11, basado en la guía M-26A del CLSI “Métodos para determinar la actividad bactericida de los agentes antimicrobianos” (Daly et al., 2017; Stella Ramirez. & Marin Castaño, 2009). En la Tabla 11 se puede observar

que esta resaltado una fila de color celeste claro, estos fueron los puntos de referencia que ayudo a determinar si era un antibiótico bactericida.

Tabla 11. Valor de rechazo, sensibilidad y especificidad calculadas a partir de la concentración inicial del inóculo, sobre una sola muestra de 0.01mL (Barry, 1999).

Inóculo final (UFC/ml)	Valor de rechazo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
1 x 10 ⁵	3	84	83
2 x 10 ⁵	4	87	97
3 x 10 ⁵	6	84	98
4 x 10 ⁵	8	89	99
5 x 10 ⁵	11	96	99
6 x 10 ⁵	15	99	99
7 x 10 ⁵	17	99	99
8 x 10 ⁵	20	99	99
9 x 10 ⁵	23	99	99
1 x 10 ⁶	25	99	99
2 x 10 ⁶	47	99	99
3 x 10 ⁶	68	99	99
4 x 10 ⁶	91	99	99
5 x 10 ⁶	113	99	99
6 x 10 ⁶	136	99	99
7 x 10 ⁶	159	99	99
8 x 10 ⁶	182	99	99
9 x 10 ⁶	204	99	99
1 x 10 ⁷	227	99	99

4.2.5 Comparación de los patrones de multirresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de *Salmonella enterica* prevalentes en la industria cárnica avícola, con los perfiles de resistencia reportados a nivel nacional e internacional.

Los resultados que se obtuvieron de la concentración mínima inhibitoria de los 88 aislados, fueron clasificados como susceptibles, intermedios y resistentes. A partir de los aislados que presentan resistencia, se evaluaron los patrones (antibióticos que presentaron repetidamente resistencia) y se compararon principalmente con la base de datos oficial del NARMS (U.S Food and Drug Administration, 2022), que informa la distribución de la resistencia a través de los años, desde 1997 hasta 2022, correspondiente a *Salmonella enterica*, como ejemplo de esto se puede observar en la Figura 12.

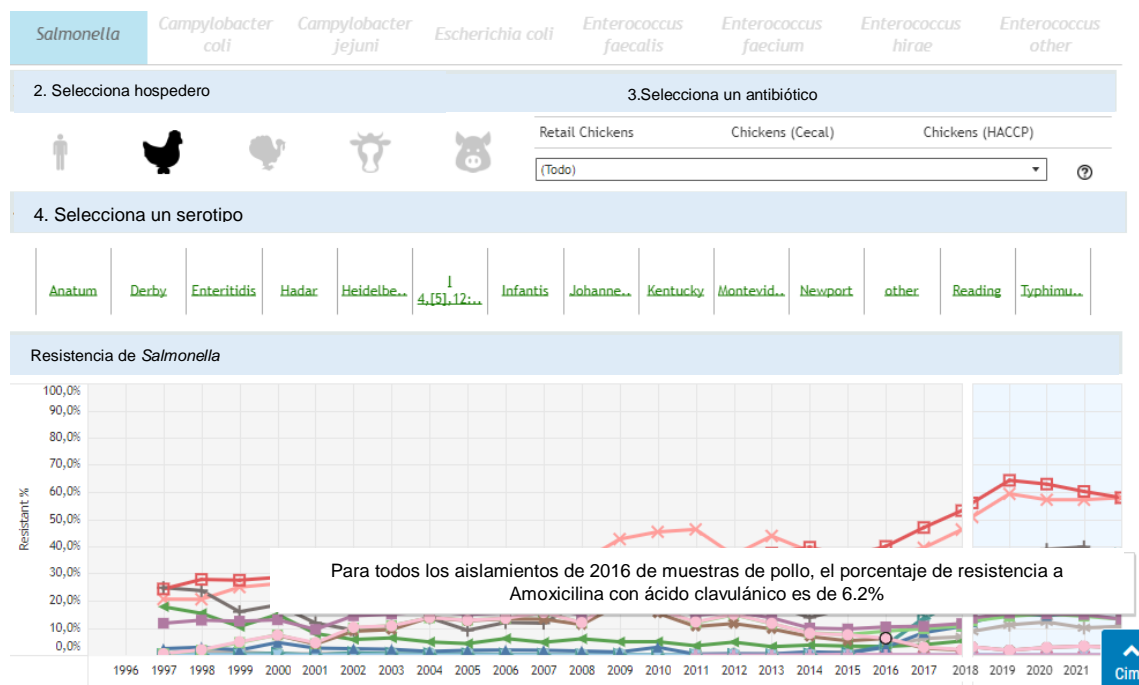


Figura 12. Representación de la distribución de la resistencia a través de los años, desde 1997 hasta 2022. Modificado y obtenido de la página del NARMS (U.S Food and Drug Administration, 2022).

La comparación interna en nuestro país, se realizó a partir de publicaciones del 2016, debido a que no existen programas de monitoreo de resistencia antimicrobiana.

5.Resultados y discusión

5.1 Criterios de selección de antibióticos propuestos

Ante la amenaza global de la resistencia a los antibióticos, la OMS ha establecido la vigilancia de la resistencia a los antibióticos a través del enfoque de "Una salud", que tiene como objetivo mantener en buen estado la salud pública. En relación a esto, diversos autores como P.C Collignon en el 2016 menciona que el estudio de la resistencia bacteriana debe abordarse en diferentes sectores, como humanos, animales y medio ambiente, debido que a la constante interacción que existe entre ellos, puede favorecer su diseminación. Por lo tanto, se deben implementar pruebas de susceptibilidad a los antibióticos *in vitro* para monitorear las tendencias de susceptibilidad y resistencia a los antibióticos, que ayuden a detectar microorganismos resistentes y mejore la prescripción y uso de estos medicamentos (P. C. Collignon et al., 2016).

En la siguiente Tabla 12, se representa la información concentrada de la búsqueda e identificación del panel de antibióticos que se propusieron para este proyecto. Para la selección de estos fármacos se tomaron en cuenta diferentes criterios y están ordenados de acuerdo a la importancia médica y veterinaria. Hay que resaltar que en nuestro país ni en otras partes del mundo existe un consenso de antibióticos para evaluar su resistencia por ejemplo P.J Collignon y McEwen en el 2019 mencionan que cada país propone los medicamentos que estén disponibles para las necesidades de la población (P. J. Collignon & McEwen, 2019). Sin embargo, para este trabajo se tomaron como referencia algunos antibióticos que forman parte del cuadro básico de medicamentos del IMSS y con base a referencias bibliográficas de las cuales no están incluidas las 170 referencias que se mencionó en el proceso de selección, porque se hizo un concentrado de todos los datos que reportan elevados porcentajes de resistencia y se pudiera presentar en la tabla.

Tabla 12. Criterios de selección de antibióticos propuestos (Centers for Disease Control and Prevention, 2019; OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal et al.2021).

Antibiótico	Promedio % Resistencia	Alta frecuencia del uso del antibiótico favorece su resistencia	Referencia	Antibiótico de importancia médica OMS	Antibiótico de importancia veterinaria		Antibiótico del cuadro básico de medicamentos del IMSS	Monitoreo por el NARMS
					AVIC	AVIEC		
Ceftriaxona	50	Si	(Watkins, 2020) (Shi et al., 2021) (Dzeyie et al., 2021)	Importancia crítica	x			x
Ceftiofur	44	Si	(J. Wang et al., 2019). (W. Li et al., 2020)		x			x
Azitromicina	67	Si	(Sajib et al., 2021). (Gupta et al., 2020) (H. Wang et al., 2023)	Importancia crítica			x	x
Colistina	20	Si	(X. Wang et al., 2020) (Vázquez et al., 2022) (Habib et al., 2022)	Importancia crítica				
Ácido nalidíxico	50-90	Si	(Bai et al., 2015). (Xu et al., 2021). (Quino et al., 2020)	Importancia crítica		x	x	x
Ciprofloxacino	50	Si	(European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).	Importancia crítica	x		x	x

			(Abdel-Maksoud et al., 2015). (Quino et al., 2020)					
Estreptomina	40	No	(Centeno S. et al., 2018). (Jaja et al., 2019) (Neuert et al., 2018)	Importancia crítica	x		x	x
Gentamicina	28	No	(Bai et al., 2016). (Folster et al., 2015). (Waturangi et al., 2019)	Importancia crítica	x		x	x
Meropenem	10	Si	(Jaja et al., 2019) (Ali Shah et al., 2020)	Importancia crítica				x
Florfenicol	60	N/A	(P. Li et al., 2020) (Ying et al., 2019).		x			
Cloranfenicol	40	N/A	(Centeno S. et al., 2018). (Delgado-Suárez, Palós-Guitérrez, Ruíz-López, Hernández Pérez, et al., 2021). (Villalpando-Guzmán et al., 2017)	Importancia crítica				x
Ampicilina	55	Si	(J. Wang et al., 2019) (Villalpando-Guzmán et al., 2017). (Abdel-Maksoud et al., 2015)	Muy importantes	x		x	x

Amoxicilina con ácido clavulánico	60	Si	(Lu et al., 2014). (Worku et al., 2022). (Khan et al., 2019)	Muy importante	x		x	x
Cefoxitina	25	Si	(W. Li et al., 2020) (Aljindan & Alkharsah, 2020) (Vélez et al., 2017)	Muy importante				x
Trimetoprim/sulfametoxazol	80	Si	(European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021) (Nguyen Thi et al., 2020). (Guan et al., 2022)	Muy importante	x		x	x
Tetraciclina	90	N/A	(European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021). (Delgado-Suárez, Palós-Guitérrez, Ruíz-López, Hernández Pérez, et al., 2021). (Moawad et al., 2017)	Muy importantes	x		x	x

NOTA:

Antibióticos de uso exclusivo en animales

Antibióticos de uso exclusivo en humanos

Además, se consideraron criterios relevantes, como que fueran antibióticos de importancia médica de acuerdo a la OMS, es decir de uso en humanos. En el documento de “Antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana”, la última versión en el 2018, explican que hay diferentes categorías, como la de **importancia crítica**, donde considera aquella clase de antibióticos como la única o pocas opciones disponibles para tratar infecciones bacterianas graves en el ser humano, o que son causadas por infecciones a partir de fuentes no humanas y podrían adquirir genes de resistencia, a partir de fuentes no humanas; la otra categoría es la **muy importante**, que solo cumple una de las consideraciones antes mencionadas (Aidara-Kane et al., 2018).

Muchas de las infecciones ocasionadas de fuentes no humanas, son de origen animal y no hay que olvidar que es importante evaluarlos y monitorearlos, como se mencionó anteriormente. Por tal razón, se seleccionaron aquellos que fueran de importancia veterinaria y que están establecidos por la OIE, las 2 categorías en la que se dividen los antibióticos de importancia veterinaria, cumplen con la misma definición que establece los de importancia médica. Debido a que estos medicamentos tienen el mismo mecanismo de acción para tratar infecciones bacterianas tanto en humanos como animales (OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal et al., 2021).

Por otra parte, se tomó en cuenta la base de datos del NARMS, que realiza monitoreo de la resistencia bacteriana, especialmente en bacterias entéricas, como lo es *S.enterica*. Esta base ayuda a promover y proteger la salud pública, al proporcionar información sobre los niveles de resistencia bacteriana en la cadena alimentaria y en los seres humanos, con el fin de limitar la propagación de la resistencia. Pero estos niveles y perfiles de resistencia identificados pueden variar entre países, Wu y Hulme en el 2021 indica que es a causa de los diferentes criterios de interpretación que se emplean al realizar las pruebas de susceptibilidad

o por el uso indiscriminado que de la población humana o a nivel veterinario (Wu & Hulme, 2021).

No obstante, es importante mencionar que durante la selección de los antibióticos se habían considerado 20 medicamentos, de los cuales 4 fueron descartados como son la tigeciclina (glicilciclina), doxiciclina (tetraciclina 2° generación), cefotaxima (cefalosporina de 3° generación) e imipenem (carbapenémico). Alguno de ellos como la tigeciclina no aparece en el cuadro básico de medicamentos del IMSS, tampoco en el monitoreo que realiza el NARMS; el mismo caso es para la doxiciclina, en esta base solo se monitorea a la tetraciclina tal y como lo expone (CDC,2019). También se tomó en consideración que no era necesario analizar más de 1 o 2 agentes de antibióticos que fueran de la misma familia, debido a que diversos autores exponen como Gajic en el 2022 que el análisis de un solo antibiótico predice la probable resistencia para toda la familia de ese antibiótico (Gajic et al., 2022). Sin embargo, siempre hay que tomar en cuenta las actualizaciones de antibióticos, puntos de corte y al tipo de microorganismo que se pueda aplicar la prueba de susceptibilidad para determinado antibiótico, tomando como referencia a la guía del CLSI (CLSI, 2022). Y en conjunto se tomen en cuenta las recomendaciones que establece la OMS para disminuir y preservar la eficacia de los antibióticos, obviamente esto se logra gracias a las evidencias que se pueda recopilar de un monitoreo de resistencia bacteriana.

5.2 Prevalencia global de la susceptibilidad y no susceptibilidad de *S.enterica* a los antibióticos analizados.

Se clasificaron los resultados de los 88 aislamientos de *S.enterica* como susceptibles y no susceptibles frente a los 16 antibióticos ensayados, como se observa en la Tabla 13. Esta interpretación está basada de acuerdo a lo que se expone en la Tabla 10.

Tabla 13. Resultado de susceptibilidad y no susceptibilidad de *S. enterica* de cada antibiótico analizado.

Clasificación antibióticos de acuerdo a la OMS y OIE	Familia de antibióticos	Clase de antibiótico	%S	%NS
Importancia crítica	Cefalosporinas 3°G	Ceftriaxona	87.5	12.5
		Ceftiofur	82.95	17.05
	Macrólido	Azitromicina	86.36	13.64
	Polimixina	Colistina	0	100
	Quinolonas	Ácido nalidíxico	28.41	71.59
		Ciprofloxacino	37.5	62.5
	Aminoglucósidos	Estreptomina	90.91	9.09
		Gentamicina	97.73	2.27
	Carbapenémico	Meropenem	100	0
	Anfenicoles	Florefenicol	76.14	23.86
Cloranfenicol		65.91	34.09	
Muy importantes	Aminopenicilinas	Ampicilina	20.45	79.55
		Amoxicilina con ácido clavulánico	67.05	32.95
	Cefalosporinas 2°G	Cefoxitina	73.86	26.14
	Antagonistas de la vía del folato	Trimetoprim con sulfametoxazol (T/S)	28.41	71.59
	Tetraciclina	Tetraciclina	23.9	76.14

S= Susceptible, NS= No susceptible

Los aislamientos susceptibles se definen como aquellos que tuvieron un punto de corte igual o inferior a la concentración mínima inhibitoria del antibiótico, lo que inhibe el crecimiento de la bacteria. Al contrario, los aislamientos no susceptibles son aquellos que tuvieron una CMI del antibiótico por encima del valor indicado del punto de corte de susceptibles, lo que implica que se requieren concentraciones más elevadas de antibiótico para inhibir la bacteria (rangos de intermedio) o que exista falla terapéutica debido a la presencia de resistencia bacteriana. La Guía del

CLSI M-100 del 2022 menciona que el laboratorio puede establecer sus criterios de interpretación por separado (susceptible, intermedio o resistente) o unificar los 2 últimos criterios, pero para este proyecto el “no susceptible” se estableció con fines de precaución, para que se tome en cuenta la regulación del uso de esos antibióticos, porque puede desencadenarse el incremento de la resistencia bacteriana.

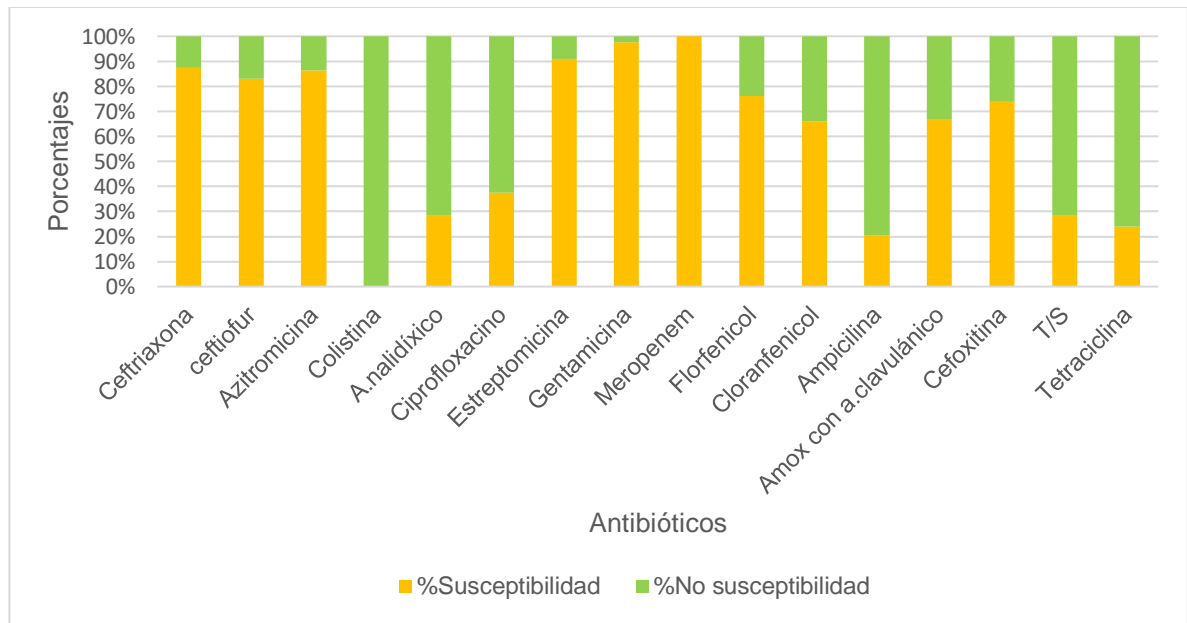


Figura 13. Porcentaje de susceptibilidad y no susceptibilidad de los aislamientos de *Salmonella enterica* en 16 antibióticos analizados.

En la Figura 13 se muestran los antibióticos a los que fueron más susceptibles las cepas de *S.enterica* y son meropenem (100%), gentamicina (97.73%), estreptomicina (90.91%) azitromicina (86.36%), ceftiofur (82.95%) y ceftriaxona (87.5%), estos resultados son similares a lo reportado por Khadka y col. en el 2021, quienes evaluaron 90 cepas de *S.enterica* obtenidos de pacientes pediátricos que presentaron enfermedad febril entre el 2017 y 2018, el 70% era susceptible a azitromicina y 89% a ceftriaxona, es interesante discutir este estudio en comparación con el de nuestro proyecto porque son diferentes muestras con las que se trabajó, pero al menos es un reflejo del buen uso que aún se hace de estos medicamentos y esto permite su buena eficacia (Khadka et al., 2021). En cuanto al

ceftiofur, se tiene registro que su susceptibilidad a aumentado desde el 2016 de acuerdo a lo reportado por el NARMS, hasta el 2015 identificaron el 12.2% (237 aislamientos) de resistencia de *S.enterica* obtenida de muestras de pollo y en la actualidad no hay registro de resistencia y es que en algunos estudios han mencionado de la retirada o uso controlado de este antibiótico en pollos de acuerdo a (Dutil et al., 2010). Cabe resaltar que meropenem fue el único antibiótico con una susceptibilidad del 100%, quizás esto, está relacionado con el uso controlado y exclusivo en humanos, para preservar su eficacia, de acuerdo a lo establecido en el listado de antimicrobianos de importancia crítica de (Organización Mundial de la Salud, 2019).

Además, en la misma Figura 13, se evidencia la no susceptibilidad de *S.enterica* a varios antibióticos como la colistina (100%), ácido nalidíxico (71.59%), ciprofloxacino (62.5%), ampicilina (79.5%), trimetoprim con sulfametoxazol (71.59%) y tetraciclina (76.14%); Neuert en el 2018 y otros autores han reportado a estos antibióticos como de uso intensivo en la industria avícola y para tratar infecciones por *Salmonella* en animales (Neuert et al., 2018). Por lo que ha provocado la aparición y aumento de resistencia bacteriana, lo crítico es que desde hace varios años ya se tiene documentado la resistencia a estos mismos antibióticos, como el trabajo realizado por Chen en el 2004, de 113 aislamientos presentaron resistencia a tetraciclina (68 %) , estreptomycin (61 %), sulfametoxazol (42 %) y ampicilina (29 %) (Chen et al., 2004). Es importante resaltar que ningún aislamiento fue interpretado como susceptible para colistina, ya que los criterios de interpretación que establece la Guía del CLSI M-100 solo clasifica a los aislamientos como intermedio y resistente, por las bajas tasas de respuesta en el intervalo de susceptibilidad asociadas con este antibiótico (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022); debido a que se tiene documentado que algunas bacterias son heterorresistentes a la colistina (subpoblaciones con diferentes grados de susceptibilidad a las polimixinas) (El-Sayed Ahmed et al., 2020). Los resultados del análisis para colistina de los 88 aislamientos de *S.enterica*

se interpretaron como intermedios. Anteriormente se mencionó que todos los aislamientos que se consideraron como “intermedios o resistentes” para este proyecto, estarían catalogados como “no susceptibles”. Si bien, este antibiótico es considerado como de última elección para tratar infecciones ocasionadas por bacterias Gram negativas multirresistentes, debe administrarse con cuidado, corrigiendo la dosis y vigilancia en pacientes con insuficiencia renal porque puede llegar a ocasionar nefrotoxicidad (Andrade et al., 2020). En contra parte con el ciprofloxacino, es necesario mencionar que, en este medicamento, todo el porcentaje de no susceptibilidad que se representa en la Tabla 13 esta constituido por aislamientos que se interpretaron como intermedios, por lo que sería relevante seguir analizando el comportamiento de este antibiótico durante mas tiempo y determinar si aun preservar la eficacia a concentraciones mas altas o es resistente.

Haciendo una comparación de este último apartado de no susceptibilidad con la base de datos del NARMS, en el 2016 registró 2234 cepas de *Salmonella* aislados de pollos, de las cuales 241 fueron resistentes a más de 3 antibióticos, por ejemplo, el 13.3% presentaban resistencia a ampicilina, el 16% a amoxicilina con ácido clavulánico, 12.9% a cefoxitina y el 45.6% a tetraciclina, son porcentajes menores a lo reportado en este proyecto, por lo tanto, la tarea que surge a partir de estas comparaciones sería implementar medidas de vigilancia, para examinar nuevas fuentes de aislamientos y modificar o controlar el uso de los antibióticos a lo largo de los años, para evitar que la resistencia continúe extendiéndose. Porque, por ejemplo, en años más recientes en el 2020 el NARMS ha mantenido su monitoreo de *S.enterica* obtenidos de carne de pollo y de 232 aislamientos analizados un 18.1% presentó resistencia a ampicilina, 16% a cloranfenicol, 40.7% a ácido nalidíxico y 58.2% a tetraciclina, pero lo sorprendente es que en cefoxitina no se reportó ningún aislamiento resistente (NARMS, 2023). Evidentemente algunos porcentajes han incrementado en el transcurso de 4 años y es alarmante ver que a pesar que Estados Unidos, cuenta con este sistema de vigilancia, no han controlado o logrado disminuir estos porcentajes de resistencia para estos antibióticos que son

generalmente utilizados en humanos y animales, se esperaría que implementen políticas más efectivas para controlar el uso de estos antibióticos y al mismo tiempo es un llamado a nuestro país para que evaluemos en la actualidad estas tendencias.

Dicho lo anterior, fue necesario calcular el intervalo de confianza de la resistencia de cada antibiótico, basado en el número de aislamientos y determinar que antibióticos mostraba mayor porcentaje de resistencia.

Tabla 14. Porcentajes de resistencia e IC del 95 % de los antibióticos analizados en 88 aislamientos de *S. enterica*

Antibiótico	N° de aislamientos resistentes	% Resistencia	IC 95%
Ceftriaxona	11	12.5	(-0.1441-1.438)
Ceftiour	15	17.04	(-0.04245-1.807)
Azitromicina	2	2.27	(-0.05311-0.2884)
Colistina	0	0	0
Ácido nalidíxico	54	61.36	(-2.380-8.733)
Ciprofloxacino	0	0	0
Estreptomina	8	9.09	(0.05264-0.8818)
Gentamicina	1	1.13	(-0.0658-0.1835)
Meropenem	0	0	0
Florfenicol	1	1.13	(-0.0658-0.1835)
Cloranfenicol	20	22.72	(0.4962-1.862)
Ampicilina	31	35.22	(-0.1363-3.783)
Amoxicilina con ácido clavulánico	17	19.31	(-0.02831-2.028)
Cefoxitina	16	18.18	(-0.3374-2.220)
Trimetoprim con sulfametoxazol	62	70.45	(-1.336-8.159)
Tetraciclina	67	76.13	(-1.011-9.023)

NOTA: De los 88 aislamientos analizados, 9 no presentaron resistencia a ningún antibiótico.

En la tabla 14 se muestran los porcentajes de resistencia, siendo la tetraciclina el que obtuvo valores más altos 76.13% (IC: -1.011-9.023) con respecto a los demás

fármacos analizados, seguido de trimetoprim con sulfametoxazol 70.45% (IC: -1.336-8.159) y ácido nalidíxico 61.36% (IC: -2.380-8.733). Estos resultados se correlacionan con otros estudios, que informan porcentajes similares de resistencia, como el que realizó Ramatla en el 2021 a través de un meta análisis del 1980 al 2021, evaluaron la prevalencia de la resistencia a los antibióticos de *S. enterica* en Sudáfrica de muestras humanas, animales y ambientales, donde exponen que las sulfonamidas tienen alto porcentaje de resistencia con 92% (IC 37.5–99.5), seguido de eritromicina 89.3% (IC 62.9–97.6), tetraciclina con 67.4% (IC 53.8–78.6), trimetoprim con sulfametoxazol 47.6% (IC 26.3–69.6) y ácido nalidíxico 39.8% (IC 22.3–60.5); los intervalos de confianza difieren a lo que obtuvimos en este proyecto, porque son diferentes estudios incluidos en el metaanálisis y en este proyecto solo se incluyeron nuestros mismos número de aislamiento total con respecto a los aislamientos resistentes. Lo mismo reporta Qin en el 2022, de la evaluación de la resistencia de los antibióticos de la variante monofásica de *S. Typhimurium* en China, tetraciclina tenía un 93 % (IC 90–95 %) de resistencia, ampicilina, 91% (IC 83-94%), ácido nalidíxico 73% (IC 69-76%) y trimetoprima-sulfametoxazol 48% (IC 33-63%).

Si bien, en el presente trabajo ha revelado que la tetraciclina y el trimetoprim con sulfametoxazol han sido los antibióticos con elevados porcentajes de resistencia y con resultados muy similares a otros estudios, la literatura indica que para el caso de la tetraciclina, es el medicamento más utilizados en la medicina veterinaria para la prevención y el control de enfermedades y tienen un amplio espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativas que causan infecciones agudas (Van et al., 2020). En cuanto al trimetoprim con sulfametoxazol, exhiben actividad bacteriana contra muchas bacterias anaeróbicas, por ejemplo, en medicina humana, las sulfonamidas pueden ser utilizadas en infecciones gastrointestinales y en animales, también pueden usarse en terapia del sistema respiratorio. Se han realizado algunos estudios, como el de Maka y colaboradores en el 2015 donde identificaron genes *sul* que codifican a la dihidropteroato sintasa pero en una forma

que no es inhibida por el fármaco, por lo tanto se le asocia a la resistencia de las sulfonamidas en los serotipos de *Salmonella* y dicha resistencia puede ser diseminada a través de elementos genéticos móviles (Qin et al., 2022). Por lo que surge la necesidad de que se pueda realizar a futuro la identificación de estos genes en los aislamientos ensayados del presente trabajo, para confirmar o descartar que este sea un motivo de los elevados porcentajes de resistencia.

Cabe resaltar que el ácido nalidíxico se encontró con alto porcentaje de resistencia con 61.36% en comparación del ciprofloxacino con 0% de resistencia, ambos medicamentos pertenecen a la familia de las quinolonas, un tipo de antibiótico muy utilizado a nivel mundial y algunos autores han expuesto que el aumento de la resistencia al ácido nalidíxico sirve para llamar la atención sobre la posible aparición de resistencias a las fluoroquinolonas (ciprofloxacino) en un futuro próximo, tal y como lo menciona (Oteo et al., 2000).

Sin embargo, en nuestro país estos medicamentos aparecen en la lista del cuadro básico del IMSS por lo tanto son frecuentemente recetados, recordando que, al exponer repetidamente a los animales y humanos a pequeñas dosis de antibióticos, contribuye significativamente a la resistencia a los antimicrobianos, como es el caso de la azitromicina, en el proyecto se reportó un 2.27% de resistencia en los aislamientos de *S. enterica*, interesantemente la familia de este medicamento que son los macrólidos no están aprobados para su uso en animales para consumo humano en México de acuerdo a Delgado Suárez, Palós Guitérrez, Ruíz López en el 2021 y en otro estudio realizado por Godínez Oviedo del 2019 no se habían aislado cepas de *Salmonella* resistentes a la azitromicina en muestras de alimentos desde hace 2 décadas en México (Delgado-Suárez, Palós-Guitérrez, Ruíz-López, Pérez, et al., 2021). Estos resultados ponen de manifiesto que, si existe la resistencia a este antibiótico en un producto cárnico avícola, quizás sea la consecuencia de un mal tratamiento de los residuos de antibióticos en el medio ambiente que pueden permanecer inalterados por mucho tiempo, porque va depender de las propiedades fisicoquímicas del medicamento o condiciones ambientales (temperatura, luz) que pueden dar origen a metabolitos tóxicos; o la

presencia de bacterias en estos nichos que participan en la degradación de estos fármacos podrían potenciar el intercambio lateral de genes de resistencia (Kraemer et al., 2019).

Aquí es donde toma relevancia el plan de acción contra la lucha a la resistencia de los antibióticos que habla la OMS, para estar vigilando constantemente muestras humanas, animales y medio ambiente por la estrecha relación entre estos sectores, porque existen medicamentos que están prohibidos su uso en algún sector y aun así existe la posibilidad de que la resistencia se disemine. Más adelante se describe la evaluación de multidrogorresistencia y patrones patrones de resistencia que se obtuvieron a partir de la Tabla 14.

5.2.1 Análisis de Chi² entre puntos de venta con cepas susceptibles y no susceptibles

Los aislamientos de *S.enterica* fueron obtenidos de productos cárnicos avícolas de 2 puntos de venta diferentes, por lo tanto se estableció la prueba estadística de Chi² para evaluar si existía correlación entre los puntos de venta con las cepas susceptibles y no susceptibles.

En la Tabla 15 se muestran a los antibióticos que presentaron diferencia estadística $p < 0.05$ como son ácido nalidíxico, ciprofloxacino, trimetoprim con sulfametoxazol y tetraciclina, teniendo en común todos estos que se aisló un mayor número de cepas no susceptibles del punto de venta de súper mercado. Para confirmar que no existiera un sesgo con los resultados, debido a que de los 88 aislamientos con los que se trabajó, 23 provenían del mercado público y 65 del supermercado, se realizó un muestreo aleatorio de (23) aislamientos provenientes del supermercado y con esto se confirma que no influye el número elevado de aislamientos obtenidos de cualquier punto de venta, sigue existiendo diferencia estadística, como se observa en la Tabla 16.

Tabla 15. Análisis de Chi² entre puntos de venta y el número de cepas susceptibles y no susceptibles.

Antibiótico	Punto de venta	N° de aislamientos susceptibles	% del total de aislamientos n=88	N° de aislamientos no susceptibles	% del total de aislamientos n=88	valor de chi ²	valor de p	Estadísticamente significativo p<0.05
Ceftriaxona	Mercado público	18	20.45	5	5.68	0.6811	0.4092	No
	Súper mercado	41	46.59	24	27.27			
Ceftiour	Mercado público	19	21.59	4	4.55	0.01308	0.9089	No
	Súper mercado	53	60.23	12	13.64			
Azitromicina	Mercado público	17	19.32	6	6.82	2.411	0.1205	No
	Súper mercado	57	64.77	8	9.09			
Colistina	Mercado público	0	0.00	23	26.14			
	Súper mercado	0	0.00	65	73.86			
Ácido nalidixico	Mercado público	13	14.77	10	11.36	12.1	0.0005	si
	Súper mercado	12	13.64	53	60.23			
Ciprofloxacino	Mercado público	13	14.77	10	11.36	5.468	0.0194	si
	Súper mercado	19	21.59	46	52.27			
Estreptomina	Mercado público	18	20.45	5	5.68	4.495	0.034	si
	Súper mercado	61	69.32	4	4.55			
Gentamicina	Mercado público	21	23.86	2	2.27	5.784	0.0162	si
	Súper mercado	65	73.86	0	0.00			
Meropenem	Mercado público	23	26.14	0	0.00			
	Súper mercado	65	73.86	0	0.00			
Florfenicol	Mercado público	15	17.05	8	9.09	2.043	0.1529	No
	Súper mercado	52	59.09	13	14.77			
Cloranfenicol	Mercado público	13	14.77	10	11.36	1.221	0.2691	No
	Súper mercado	45	51.14	20	22.73			
Ampicilina	Mercado público	4	4.55	19	21.59	0.1796	0.6717	No
	Súper mercado	14	15.91	51	57.95			
Amoxicilina/a.clavulánico	Mercado público	18	20.45	5	5.68	1.773	0.183	No
	Súper mercado	41	46.59	24	27.27			
Cefoxitina	Mercado público	20	22.73	3	3.41	2.374	0.1234	No
	Súper mercado	46	52.27	19	21.59			
Trimetoprim con sulfametoxazol	Mercado público	11	12.50	12	13.64	6.632	0.01	Si
	Súper mercado	13	14.77	52	59.09			
Tetraciclina	Mercado público	10	11.36	13	14.77	7.635	0.0057	Si
	Súper mercado	10	11.36	55	62.50			

Antibióticos con diferencia estadística $p < 0.05$

Tabla 16. Tabla confirmatoria del análisis de χ^2 de los antibióticos que son estadísticamente significativo.

Antibiótico	Punto de venta	Nº de aislamientos susceptibles	% del total de aislamientos n=88	Nº de cepas no susceptibles	% del total de aislamientos n=88	valor de χ^2	valor de p	Estadísticamente significativo $p < 0.05$
Ácido nalidíxico	Mercado público	13	14.77	10	11.36	9.583	0.002	si
	Súper mercado	3	3.41	20	22.73			
Ciprofloxacino	Mercado público	13	14.77	10	11.36	5.841	0.0157	si
	Súper mercado	5	5.68	18	20.45			
Trimetoprim con sulfametoxazol	Mercado público	11	12.50	12	13.64	4.847	0.0277	si
	Súper mercado	4	4.55	19	21.59			
Tetraciclina	Mercado público	10	11.36	13	14.77	5.254	0.0219	si
	Súper mercado	3	3.41	20	22.73			

Es una situación en donde se esperaba que el mayor número de cepas no susceptibles se obtuvieran del mercado público porque se han considerado como un punto de origen importante de brotes de enfermedades, debido a las malas condiciones de higiene y por lo tanto se podrían encontrar patógenos resistentes, como es el caso de *S. enterica*. Un estudio realizado por Regalado Pineda en el 2020, encontraron una alta frecuencia de *Salmonella* en la carne de pollo obtenida de supermercado, el resultado es sorprendente porque se esperan estándares sanitarios y de calidad superiores en este tipo de tiendas, pero las posibles causas serían por la vida útil de aproximadamente 6 días en este tipo de tiendas en comparación con las pocas horas en las que el producto se vende en los mercados públicos, o por la ruptura de la cadena de frío. Estos resultados revelan una importante amenaza para la salud de toda la población, por lo que se le sugeriría a los productores y minoristas de carne de aves de corral abordar con urgencia esta situación.

Se descartaron las asociaciones entre los diferentes puntos de venta con las cepas susceptibles y no susceptibles a los antibióticos que son de última línea como la

colistina y el meropenem, no existió diferencia estadística ya que todas las cepas analizadas fueron susceptibles para ambos puntos de venta en el caso de meropenem y para colistina todas eran no susceptibles.

Por lo tanto, es necesario que el uso de los antibióticos en humanos y en veterinaria como profiláctico y promotor de crecimiento debería estar fuertemente regulado, ya que frecuentemente en productos de origen animal para consumo humano como el producto cárnico avícola se aíslan bacterias resistentes como *Salmonella*, con el fin de evitar mayor propagación de la resistencia.

5.3 Identificación de Multidrogorresistencia (MDR) en las cepas de *S. enterica*

En la actualidad, *S. enterica* se compone de más de 2500 serotipos únicos que varían mucho en cuanto a prevalencia geográfica, fuente y capacidad para causar enfermedades en humanos o animales, estos serotipos se han caracterizado por ser MDR y son aquellos aislamientos que son resistentes a uno o más antibióticos de tres o más clases de antibióticos (Jiménez Pearson et al., 2019).

A través de este estudio se identificó la MDR de 88 aislamientos de *S. enterica*, de las cuales ya se tenían clasificados en 16 serotipos diferentes más un grupo de aislamientos que no se identificó el serotipo y se denominó N/A, esta clasificación fue realizada por el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

En la Tabla 17 se puede observar que por cada serotipo se establecieron a cuantas clases de antibióticos eran resistentes, donde solo un aislamiento de *S. Typhimurium*, presentó resistencia de 7 a 8 clases de antibióticos y después el serotipo con mayor prevalencia de resistencia de 3 a 4 clases, se encuentra en *S. Enteritidis*. A nivel mundial estos 2 serotipos se aíslan con frecuencia en alimentos de origen animal sobre todo en carne de pollo, el cual podría ser una fuente importante de transmisión de resistencia bacteriana. Por ejemplo, en nuestro país Villalpando-Guzmán en el 2017 aisló diferentes serotipos en carne molida de pollo, como *S. Gallinarum* (18,8%), *Pullorum* (12,7%) y *Typhimurium* (6,1%), los cuales

presentaron alta resistencia a la familia de cefalosporinas de 3 generación (cefotaxima) y a la penicilina (carbencilina); desafortunadamente para ese estudio no encontraron MDR en los serotipos identificados (Villalpando-Guzmán et al., 2017).

Tabla 17. Análisis de la proporción de la MDR en los serotipos de *S. enterica*

Serotipos	N° de serotipos	N° Clases de antibióticos						
		0	1 a 2	3 a 4	5 a 6	7 a 8	9 a 10	>11
Typhimurium	6	2	0	2	1	1	0	0
Agona	1	0	0	0	1	0	0	0
Enteritidis	50	0	8	32	10	0	0	0
Newport	3	1	1	1	0	0	0	0
Anatum	5	2	1	1	1	0	0	0
Panama	2	2	0	0	0	0	0	0
NA	3	1	1	1	0	0	0	0
Bredeney	1	1	0	0	0	0	0	0
Infantis	5	1	0	1	3	0	0	0
Choleraeluis	1	0	0	0	1	0	0	0
Mbandaka	1	1	0	0	0	0	0	0
Heidelberg	1	0	0	0	1	0	0	0
Ouakam	1	0	0	1	0	0	0	0
Oranienburg	1	0	0	0	1	0	0	0
Senftenberg	3	0	0	3	0	0	0	0
Kentucky	3	0	0	3	0	0	0	0
Bareilly	1	0	0	1	0	0	0	0
Total de cepas MDR				46	19	1	0	0
% Cepas MDR				52.27	21.59	1.14	0	0
Total de % de cepas MDR = 75%								

Nota: En el anexo 4 está ejemplificado la resistencia de cada serotipo por cada clase de antibiótico.

Cabe resaltar que las clases de antibióticos con mayor frecuencia de resistencia fueron tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas y cefalosporinas de tercera generación.

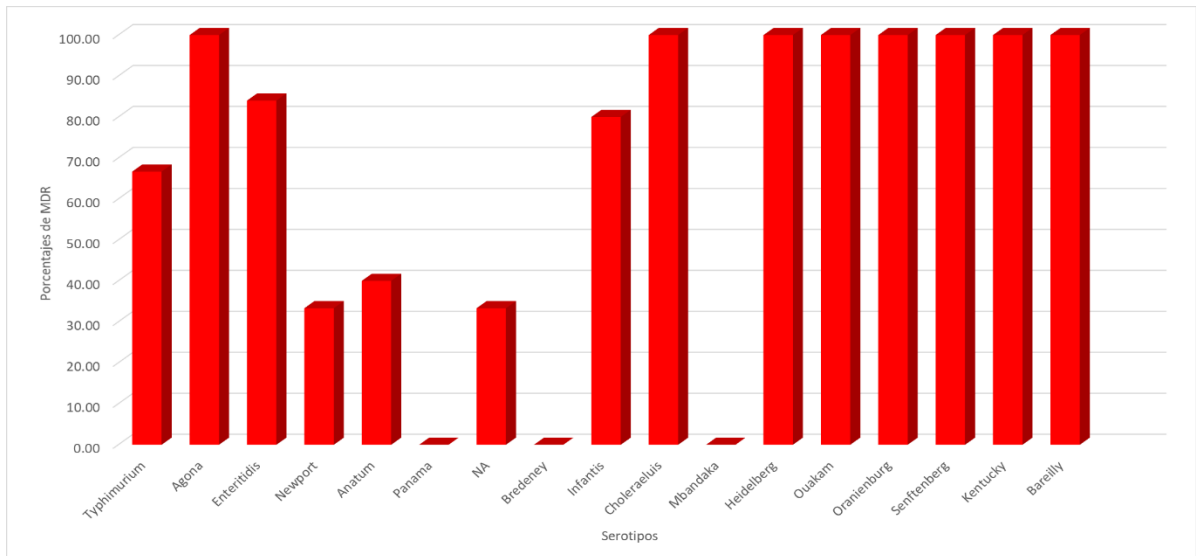


Figura 14. Porcentaje de multidrogorresistencia (MDR) de los 16 serotipos de *S. enterica*.

Fue relevante representar la distribución de los porcentajes de MDR para cada serotipo, el cual se puede ver en la Figura 14. Cada barra es representativa del total de serotipos analizados porque no se contaba con el mismo número de cepas por serotipo, por lo tanto, se pueden analizar de manera individual este comportamiento. Aquellos serotipos que muestran un 100% de MDR, están conformados por 1 aislamiento, en cuanto a los otros que se observan variaciones en los porcentajes de MDR como *S. Typhimurim*, (4 de 6), *S. Enteritidis* (42 de 50) y *S. Infantis* (4 de 5), el número es alarmante, porque al ser pocos aislamientos por cada serotipo aún presentan un 60-80% MDR, poniendo de manifiesto que existe un uso excesivo de antibióticos en el producto cárnico avícola y que contribuyó enormemente a la aparición y persistencia de cepas resistentes. De acuerdo a algunos estudios, como el de Planwinska-Czarnak y colaboradores en el 2022, analizaron carne de pollo e identificaron que el serotipo más prevalente fue *S. Enteritidis* con 54.41%, aparte

establecieron que un 53.84% de aislamientos analizados de *Salmonella* spp fueron considerados MDR a las penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, antagonistas de la vía del folato y tetraciclinas, siendo la familia de las penicilinas con mayor resistencia (Pławińska-Czarnak et al., 2022). Nuestros resultados son alarmantes, pero comparándolo con este estudio, nos damos cuenta que no existe diferencia en las familias que fueron identificadas como MDR, prevalece la resistencia a través de los años. Gran parte a esta problemática se debe a que las tetraciclinas, anfenicoles, antagonistas de la vía del folato y aminoglucósidos (estreptomycin) son de uso común en la producción ganadera y aves de corral para la promoción del crecimiento, profilaxis y tratamiento; por el contrario la amoxicilina con ácido clavulánico, ampicilina y azitromicina son utilizadas como tratamiento para la salmonelosis (Ramatla et al., 2021).

Por el contrario, de acuerdo a la base de datos del NARMS en el 2016, *S. Infantis* presentó 41.7% de resistencia a más de 3 clases de antibióticos, es un valor porcentaje bajo en comparación a lo que obtuvimos en nuestro trabajo, donde *S. Infantis* presento 80% de MDR. En cuanto a *S. Enteritidis* no reporto resistencia a más de 3 antibióticos, *S. Typhimurium* reporto el 60%, *S. Heidelberg* un 13% y *S. Kentucky* un 9.9%, estos fueron los únicos serotipos reportados por esta base de datos que presentaban un porcentaje de MDR. Podemos concluir, que los serotipos estudiados en este proyecto tienen porcentajes de MDR muy variados a lo que reporta el NARMS, esto representa una alarma debido a que estos aislamientos circulan en nuestro país y frecuentemente son aisladas de productos cárnicos avícolas y pueden llegar a incrementar la diseminación de resistencia a los antibióticos a través de la cadena alimentaria.

El procesamiento térmico de estos productos, sería una de las alternativas para reducir el riesgo de enfermedades transmitidas por los alimentos, pero muchas veces estos microorganismos poseen genes de resistencia que pueden transferirse a la microbiota intestinal y transferir resistencia a otras bacterias, tal y como lo explica (Groussin et al., 2021).

Es importante tener en cuenta que la resistencia a los antibióticos es un problema complejo que se relaciona con diversos factores. Por lo tanto, en lugar de analizar conclusiones basadas en un año con otro, es más adecuado buscar patrones que surjan a lo largo de varios años (U.S Food and Drug Administration, 2022). De hecho, ese fue uno de los objetivos importantes al desarrollar este proyecto, identificar patrones de resistencia que fueran obtenidos de aislamientos de *Salmonella* de origen avícola y que más adelante en el punto 5.5.1 se describirá más a detalle los patrones identificados y haciendo una comparación con lo que se tiene reportado a nivel mundial.

5.4 Resultados de Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Anteriormente se han expuesto todos los resultados obtenidos de la prueba de susceptibilidad por microdilución para determinar a qué concentración mínima inhibía el antibiótico el crecimiento de la bacteria, esto nos permitió establecer en diferentes criterios de interpretación a las cepas como susceptibles y no susceptibles. Sin embargo, establecer la inhibición del crecimiento bacteriano en función de los niveles de CMI de los antibióticos, no es una estrategia de desinfección eficaz, ya que las muestras bacterianas pueden tener subpoblaciones persistentes que permanecen inactivas bajo el tratamiento con antibióticos (Liu et al., 2020). Por ejemplo, en pacientes inmunocomprometidos, cuyos sistemas inmunitarios tienen problemas para eliminar poblaciones bacterianas persistentes, la recurrencia de la infección puede ocurrir después de la interrupción de la terapia con antibióticos en el nivel de CMI. En tales situaciones, la concentración mínima bactericida (MBC) se usa para medir la susceptibilidad microbiana a un antibiótico en particular, o persistencia pero a partir de un subcultivo bacteriano (Barry, 1999).

De modo que fue importante evaluar la capacidad bactericida de los antibióticos propuestos para este proyecto. En la Figura 15 se ilustra el porcentaje global de los antibióticos que fueron resistentes y bactericidas, ensayados en 88 cepas de *S.enterica*.

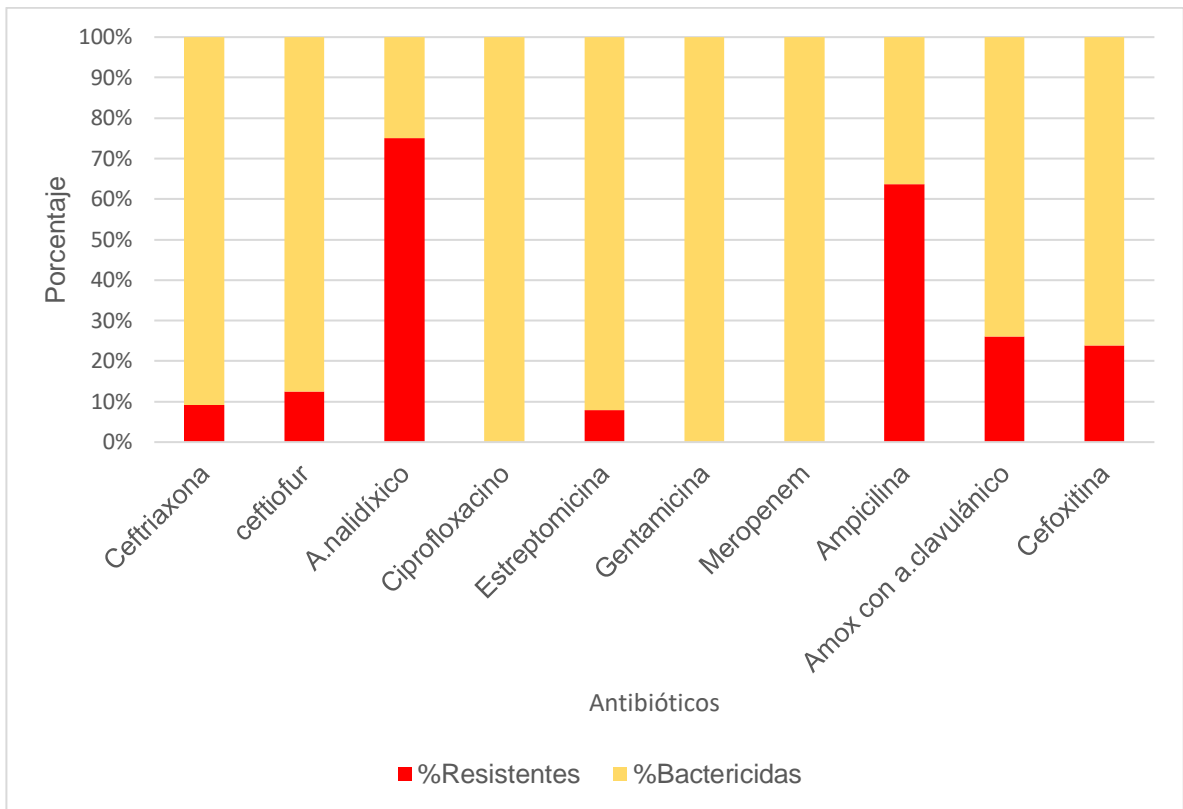


Figura 15. Porcentaje global de antibióticos resistentes y bactericidas ensayados en 88 aislamientos de *S.enterica*.

Los antibióticos que son 100% bactericidas son meropenem (IC 0.04466-0.1665), gentamicina (IC 0.2324-0.7734), ciprofloxacino (IC 0.07263-0.1327), esto nos demuestra que con una concentración mínima estamos logrando la erradicación bacteriana y los intervalos de confianza para cada antibiótico difieren porque cada uno tiene un punto de corte diferente, el cual se observa en la Tabla 18. Por ejemplo, el meropenem es un medicamento utilizado de última línea para tratar enfermedades graves causadas por enterobacterias (P. C. Collignon et al., 2016). Además es un carbapenémico que inhibe la síntesis de pared bacteriana, y se ha caracterizado por ser un medicamento muy estable frente a betalactamasas (Fish, 2006). Para este apartado también se había considerado a la colistina como un excelente bactericida, pero fue excluido de los resultados de porcentajes globales que aparecen en la Figura 14, debido a que se manejan concentraciones altas. Se

ha reportado que se tiene ciertos efectos colaterales como toxicidad renal que puede variar entre 0% y 53.5% según (Wangchinda et al., 2018). Esto mismo ha originado su estricto control y categorizado como medicamento de última elección. De modo que la dosis y la frecuencia de la administración de colistina deben ajustarse a los niveles de creatinina sérica y, por lo tanto, requieren una estrecha vigilancia de la función renal (Spapen et al., 2011).

Tabla 18. Medias e IC de antibióticos bactericidas

Concentración Mínima Bactericida		
Antibiótico	Media	IC 95%
Ceftriaxona	0.09843	(0.07069-0.1262)
Ceftiour	0.7009	(0.5396-0.8622)
Colistina	0.8517	(0.7062-0.9972)
Ácido nalidíxico	1.96	(0.9148-3.006)
Ciprofloxacino	0.1027	(0.07263-0.1327)
Estreptomina	4.545	(3.961-5.152)
Gentamicina	0.5029	(0.2324-0.7734)
Meropenem	0.1056	(0.04466-0.1665)
Ampicilina	2.756	(1.77-3.73)
Amoxicilina	1.918	(1.183-2.652)
Ácido clavulánico	0.9588	(0.5915-1.326)
Cefoxitina	2.83	(2.207-3.460)

En cuanto a la gentamicina, se tiene un estricto control para su uso, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), indica que la gentamicina se debe administrar cuando se cuente con información de pruebas de susceptibilidad y sea susceptible; su acción radica en primer lugar en atravesar la membrana de los Gram negativos, en un transporte activo dependiente de oxígeno y después se unen al ARNr 16S en la subunidad ribosómica 30S, alterando la traducción del ARNm y, por lo tanto, dando lugar a la formación de proteínas truncadas o no funcionales (Chaves & Tadi, 2023). Por último, el ciprofloxacino es una fluoroquinolona de última generación, que inhibe el ADN girasa bacteriana, de esta manera no existe replicación del ADN, es de amplio espectro contra bacterias gram negativas; en los

últimos años ha sido el medicamento de elección para tratar la salmonelosis por la resistencia a otros antibióticos como ampicilina, trimetoprim con sulfametoxazol y tetraciclina (Thai T & Salisbury BH, 2023). Estos antibióticos son efectivos para los aislamientos analizados que fueron obtenidos en el 2016, sería necesario hacer más comparaciones de los cambios que pueden surgir en el transcurso del tiempo, si aún preservan esta actividad los antibióticos o han cambiado debido a la presencia de la resistencia bacteriana.

A pesar de que el resto de los antibióticos que se muestran en la Figura 14, tienen un 70 y 80% de efecto bactericida ya no son confiables, porque que nos estamos enfrentando a un fenómeno de tolerancia, persistencia y resistencia por parte de los aislamientos de *S. enterica* ante concentraciones mínimas de estos medicamentos. La tolerancia es la capacidad que tienen las bacterias de sobrevivir, pero no crecen, se ha relacionado por la mutación de autolisinas (murein-hidrolasas), que no se activan y no se lisan las membranas bacterianas; los antibióticos que son afectados por este fenómeno son los betalactámicos (Barry, 1999). En cuanto a la persistencia, se debe a que algunas células bacterianas están latentes y se replican lentamente, en consecuencia, no son eliminadas por el medicamento. Se ha reportado que la presencia de estos fenómenos, generan que la bacteria soporte altas concentraciones de antibiótico y se genere una presión selectiva que puede dar origen a la resistencia (Daly et al., 2017).

Finalmente sería relevante, identificar la presencia de genes relacionados con la resistencia, para poder diferenciar si se trata de un fenómeno característico que presentan las bacterias como parte de supervivencia y desarrollan mecanismos de resistencia.

5.5 Identificación y comparación de los patrones de multirresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de *Salmonella enterica* prevalentes en la industria cárnica avícola, con los patrones de resistencia reportados a nivel nacional e internacional.

5.5.1 Identificación de los patrones de multirresistencia de aislamientos de *S.enterica*.

Un patrón de resistencia lo define el NARMS como la descripción de los resultados de las pruebas de resistencia a los antibióticos de un aislado y en varios casos puede repetirse esos resultados de resistencia en otros aislados. Para este trabajo los patrones de multirresistencia se establecieron de acuerdo a la definición de MDR y están ordenados de acuerdo a la importancia crítica de los antibióticos. Sin embargo, también fue relevante identificar los patrones por cada serotipo, siendo *S. Enteritidis* el que obtuvo más patrones (41), seguido de *S. Typhimurium* (4).

Cada serotipo muestra diferentes patrones de multirresistencia, el cual se puede observar en la Tabla 19. De los 88 aislamientos de *S.enterica* analizados, el 74.58% presentaron patrones de multirresistencia. El patrón que muestra mayor frecuencia es ácido nalidíxico, trimetoprim con sulfametoxazol y tetraciclina (NA+TXS+TE), presente en *S. Enteritidis* (29 de 66), *S.Typhimurium* (1 de 66) y Newport (1 de 66). En este sentido, a nivel mundial se han reportado una gran diversidad de patrones de resistencia para *Salmonella*, en nuestro estudio no fue la excepción. Por ejemplo, el patrón de resistencia a los antibióticos de *Salmonella* spp de acuerdo a Yoon en el 2017 fue de ampicilina-cloranfenicol y la literatura menciona que el tratamiento combinado de cloranfenicol y ampicilina regularmente es utilizado para tratar la salmonelosis, por lo tanto no es sorprendente que este patrón se presente (Yoon et al., 2017).

Tabla 19. Patrones de multirresistencia de cada serotipo de *S.enterica*

Serotipo	N° de aislamiento	Porcentaje del total de aislamientos	Patrón de multirresistencia	N° clases de antibióticos resistentes
Agona	1	1.13	CRO+CEF+STR+AMP+TXS+TE	5
Typhimurium	1	1.13	CRO+CEF+NA+STR+CL+TXS+TE	6
	1	1.13	STR+CL+TXS+TE	4
	1	1.13	NA+TXS+TE	3

	1	1.13	CRO+CEF+STR+CL+AMP+AMC+FOX+TXS+TE	7
Enteritidis	1	1.13	NA+AMP+FOX+TXS+TE	5
	29	32.77	NA+TXS+TE	3
	5	5.65	CRO+CEF+NA+AMP+FOX+TXS+TE	6
	1	1.13	CL+AMP+AMC+TE	3
	2	2.26	NA+CL+AMP+AMC+TXS+TE	5
	1	1.13	CRO+CEF+NA+CL+AMP+TXS+TE	6
	1	1.13	CEF+NA+AMC+TXS+TE	5
	1	1.13	NA+AMP+TXS+TE	4
Anatum	2	2.26	NA+CL+TXS+TE	4
	1	1.13	NA+STR+GEN+CL+TXS+TE	6
Newport	1	1.13	NA+TXS+TE	3
Choleraesuis	1	1.13	CEF+NA+CL+AMP+TXS+TE	6
Ouakam	1	1.13	CL+AMP+TE	3
Oranienburg	1	1.13	CEF+STR+CL+AMP+AMC+TXS+TE	6
Heidelberg	1	1.13	NA+CL+AMP+AMC+TXS+TE	5
Infantis	1	1.13	CRO+CEF+NA+CL+AMP+TXS+TE	6
	1	1.13	CRO+CEF+AZ+STR+FLOR+CL+AMP	5
	1	1.13	CL+AMP+AMC+TXS+TE	4
	1	1.13	CEF+NA+AMP+TXS+TE	5
Kentucky	2	2.26	AMP+AMC+FOX+TE	3
	1	1.13	AMP+AMC+FOX+TXS+TE	4
Senftenberg	1	1.13	AZ+CL+TXS+TE	4
	2	2.26	CL+TXS+TE	3
Bareilly	1	1.13	STR+CL+TXS+TE	4
NA	1	1.13	AMC+FOX+TE	3
Total	66	74.58		
Total de aislamientos no resistentes	9			
<p>AMP=Ampicilina, AMC= Amoxicilina con ácido clavulánico, AZ=Azitromicina, NA= Ácido nalidíxico, CEF=Ceftiofur, FLOR=Florfenicol, GEN=Gentamicina, STR= Estreptomina, TE=Tetraciclina, TXS=Trimetoprim con Sulfametoxazol, CRO= Ceftriaxona, FOX= Cefoxitina, CL= Cloranfenicol</p>				

Patrón en negrita = Patrones que se repiten en diferentes serotipos

Patrón en rojo = Patrón más extenso identificado e incluye al tipo ACSSuT

Añadiendo que hubo otro patrón que se repitió y fue **STR+CL+TXS+TE** entre *S. Bareilly* y *S. Typhimurium*. Sigue presente en este patrón la resistencia a cloranfenicol, trimetoprim con sulfametoxazol y tetraciclina; todo esto relacionado con el uso excesivo de estos medicamentos en la producción animal, por ejemplo la tetraciclina se administra como dosis única por medio de inyección en pollos o a través de los bebederos para controlar la infección por *Salmonella*, como lo menciona (F. Sun et al., 2021).

Además, se identificó un patrón de resistencia bastante extenso, conformado por ceftriaxona, ceftiofur, estreptomina, cloranfenicol, ampicilina, amoxicilina con ácido clavulánico, cefoxitina, trimetoprim con sulfametoxazol y tetraciclina (**CRO+CEF+STR+CL+AMP+AMC+FOX+TXS+TE**) que estaba presente en un aislamiento de *S. Typhimurium* (ver la Tabla 19), lo interesante de este patrón es que tiene incluido al fenotipo ACSSuT, el cual es de gran relevancia clínica y que anteriormente se ha explicado, que al presentarse este tipo de patrones de resistencia dificulta la elección de tratamiento (Centeno S. et al., 2018). Se ha documentado a nivel mundial que el fagotipo DT104 de *S. Typhimurium* es portador de una isla genómica que contiene los genes de resistencia del perfil ACSSuT y tiene la capacidad de transferirse a otros serotipos como *S. Agona*, *S. Paratyphi B*, *S. Albany*, *S. Meleagridis* y *S. Newport*, tal como lo menciona (Doublet et al., 2005), por lo tanto la presencia de esta isla genómica en más serotipos, indica el gran potencial de transferencia horizontal de genes que tiene la bacteria, generando mayor diversidad entre las cepas. Sin embargo, para este estudio, se desconoce a qué tipo de fago corresponde el aislamiento, porque no se logró realizar la fagotipificación.

Este fagotipo DT104 de *S. Typhimurium*, es altamente reconocido a nivel mundial y ha sido motivo de estudio a lo largo del tiempo, como el trabajo publicado por X. Wang y colaboradores en el 2019, analizaron 11,447 cepas de *S. Typhimurium* obtenidas de cadena alimentaria desde 1996 a 2016 en E.U.A, encontraron que los patrones de resistencia a los antibióticos fueron ASSuT (ampicilina, estreptomina,

sulfonamidas y tetraciclina) y ACSSuT (ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclina) con una frecuencia del 43%. Los animales (principalmente cerdos y bovinos) son la principal fuente de estos dos patrones de resistencia a los antibióticos que se encuentran con frecuencia, además se identificó que el 28% presentaron el patrón ACSSuTAmc y 4% ACSSuTAmcAxoTio en donde se incluye a la amoxicilina con ácido clavulánico, ceftriaxona y ceftiofur. Dicho estudio concluye que la presencia de otros factores virulencia y resistencia de este serotipo continúa expandiéndose a nivel mundial y este fenómeno debe monitorearse con cautela y de manera continua para mejorar el tratamiento de la salmonelosis. Obviamente en el presente estudio se confirma esta situación, al tener cepas con amplios patrones y que comparten entre ellos algunos. Finalmente, en el apartado del anexo 3 se añadió otra tabla de patrones de resistencia, pero que solo están conformados por solo 1 o 2 clases de antimicrobianos, presentes en *S. Anatum*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Brenedey*.

5.5.2 Comparación de los patrones de multirresistencia antimicrobiana (MRA) en los aislamientos de *Salmonella enterica* prevalentes en la industria cárnica avícola, con los patrones de resistencia reportados a nivel nacional e internacional.

En este último apartado es relevante discutir los diversos patrones de multirresistencia que se tienen reportado a nivel mundial en aislamientos de *S. enterica*, que se adquirieron de muestras de pollo.

Se tiene reportado que México es uno de los países productores de aves de corral más grandes del mundo y de la misma manera consumidores de este producto, por lo tanto existe la necesidad de implementar buenas prácticas de bioseguridad, para el control a exposición de patógenos, un mejor desempeño productivo y de mejorar el uso de los antibióticos en esta área, como lo menciona (Ornelas-Eusebio et al., 2020). Aun así existe una deficiencia por parte de las instituciones gubernamentales para conocer las tendencias sobre la resistencia a los antibióticos y de sus patrones de resistencia que pueda presentar un aislamiento patógeno, como es el caso de

S. enterica. De hecho, esta situación se ve reflejada en la Tabla 20, sobre la escasa información de esta caracterización en muestras de pollo que se publica en el país, sabiendo que es un producto de gran importancia en el mercado. Uno de los criterios importantes que se tomó en consideración para exponer el tipo de patrón que esta representada en esta tabla es que hayan sido identificados en aislamientos de *S. enterica* obtenidos de muestras de pollo, otro punto a considerar es que se obtuvieran estos datos de una base que realiza monitoreo de resistencia como el NARMS o la Unión Europea y por último considerar algunos trabajos realizados en países asiáticos porque a pesar de que hay diversos programas de seguimiento y vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, no son de acceso libre (Rhouma et al., 2016).

Tabla 20. Comparación de los patrones de multiresistencia de *Salmonella* a nivel nacional y mundial.

	Patrones de multiresistencia antimicrobiana/Serotipo	% Prevalencia de los patrones (n)	Muestra	Año	Referencia
Nuestros hallazgos encontrados	1.CRO+CEF+STR+CL+AMP+AMC+FOX+TXS+TE / Typhimurium	1.13% (n=88)	pollo	2016	-
	2.STR+CL+TXS+TE/ Typhimurium, Bareilly	2.26% (n=88)			
	3. NA+TXS+TE/ Typhimurium, Enteritidis, Newport	35.22% (n=88)			
Lo reportado en México	ACSSuT/ Typhimurium	2.9% (n=35)	pollo	2006	(Godínez-Oviedo, et al, 2019).
	ACSSuT / Sin serotipo identificado	17%(n=35)	pollo	2009	
NARMS	AAuCx	5% (n=60)	pollo	2015	(Medicine, 2023b). https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/integrated-reportssummaries
	ACSSuT	2.4% (n=2305)		2016	(CDC, 2018).
	ACSSuT	3.3%(n=2449)		2019	
	ASSuT	3.2%(n=2305)		2016	
	ASSuT	3%(n=2449)		2019	
	ACSuT	2.5%(n=2305)		2016	
	ACSuT	3.6%(n=2449)		2019	

	ACSSuTAuCx	1.2%(n=2305)	Aislamientos clínicos	2016	https://wwwn.cdc.gov/NA-RMSNow/Main/AdvReports
	ACSSuTAuCx	1.3%(n=2449)		2019	
	ACT/S	0.6%(n=2305)		2016	
	ACT/S	1.8%(n=2449)		2019	
	ACSuTAuCx	1.2%(n=2305)		2016	
	ACSuTAuCx	1.2%(n=2449)		2019	
	AAuCx	2.6%(n=2305)		2016	
	AAuCx	1.7%(n=2449)		2019	
Unión Europea (EFSA Journal).	CIP-NAL-SMX-TE / Infantis	80.2%(n=54)	Pollo de engorde	2018	(Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021)
	AMP-CIP-NAL-GEN-SMX-TE/ Kentucky	64.9%(n=109)	Pollo de engorde	2018	
Otros países "Vietnam"	AMP-AMC-PPC-CEF-CF-FOX-CTX-CAZ-CFX-CRO-ATM-NAL-CIP-OFL-LEV-MCC-TE-C/ Kentucky	91.7%(n=12)	Pollos	2017	(Nhung et al., 2018)
"Estados Unidos"	ASSuT/ Typhimurium	2%(n=11147)	pollos	2014	(X. Wang et al., 2019).
"Irán"	CXM-CT-CAZ-CIP-NA-S/ Enteritidis	2.94%(n=34)	pollos	2015-2016	(Soltan Dallal et al., 2023)
"China"	TET-SXT-NAL	9.1% (n=62)	pollos	2015-2019	(F. Sun et al., 2021)
	AMP-CFZ-NAL	1.5%(n=62)			
	AMP-TET-NAL	13.6% (n=62)			
	AMP-CFZ-SXT-NAL	1.5% (n=62)			
	TET-SXT-NAL-OLA	1.5% (n=62)			
	AMP-CFZ-SXT-NAL-OLA	1.5%(n=62)			
	AMP-CFZ-TET-SXT-NAL S.Pullorum	2.5% (n=62)			

Patrones del NARMS:

- ACSSuT: Ampicilina, Cloranfenicol, Estreptomicina, Sulfonamidas y Tetraciclina
- AAuCx: Ampicilina, Amoxicilina y Ceftriaxona
- ASSuT: Ampicilina, Estreptomicina, Sulfonamidas y Tetraciclina
- ACSuT: Ampicilina, Cloranfenicol, Sulfonamidas y Tetraciclina
- ACSSuTAuCx: Ampicilina, Cloranfenicol, Estreptomicina, Sulfonamidas, Tetraciclina, Amoxicilina con ácido clavulánico, Ceftriaxona.
- ACT/S: Ampicilina, Cloranfenicol, Trimetoprim con sulfametoxazol

- ACSuTAuCx: Ampicilina, Cloranfenicol, Estreptomina, Sulfonamidas, Tetraciclina, Amoxicilina con ácido clavulánico, Ceftriaxona

NOTA: Los serotipos que fueron analizados en el 2015 por el NARMS de donde se identificaron los patrones de resistencia son: Kentucky, Enteritidis, Heidelberg, Saintpaul, Blockley, Johannesburg, Livingstone, Newport, Typhimurium, Braenderup, Alachua, Muenchen, Ohio.

Patrón identificado en el estudio de Vietnam:

- AMP-AMC-PPC-CEF-CF-FOX-CTX-CAZ-CFX-CRO-ATM-NAL-CIP-OFL-LEV-MCC-TE-C: Ampicilina, Amoxicilina con ácido clavulánico, Piperacilina, Cefalotina, Cefuroxima, Cefoxitina, Cefotaxima, Ceftazidime, Cefixima, Ceftriaxona, Aztreonam, Ácido nalidíxico, Ciprofloxacino, Ofloxacino, Levofloxacino, Minociclina, Tetraciclina, Cloranfenicol.

Patrón identificado en el estudio de Irán:

- CXM-CTX-CAZ-CIP-NA-S: Cefuroxima, Cefotaxima, Ceftazidima, Ciprofloxacino, Ácido nalidíxico, Estreptomina.

Patrones identificados en el estudio de China:

- TET-SXT-NAL: Tetraciclina, Trimetoprim con Sulfametoxazol, Ácido nalidíxico
- AMP-CFZ-NAL: Ampicilina, Cefazolina, Ácido nalidíxico
- AMP-TET-NAL: Ampicilina, Tetraciclina, Ácido nalidíxico
- AMP-CFZ-SXT-NAL: Ampicilina, Cefazolina, Trimetoprim con sulfametoxazol, Ácido nalidíxico
- TET-SXT-NAL-OLA: Tetraciclina, Trimetoprim con sulfametoxazol, Ácido nalidíxico, Olaquinox
- AMP-CFZ-SXT-NAL-OLA: Ampicilina, Cefazolina, Trimetoprim con sulfametoxazol, Ácido nalidíxico, Olaquinox
- AMP-CFZ-TET-SXT-NAL: Ampicilina, Cefazolina, Tetraciclina, Trimetoprim con sulfametoxazol, Ácido nalidíxico

Además, en esta Tabla 20 se puede visualizar que en el transcurso del tiempo y lugares han incrementado estos patrones, los cuales tienen la característica de ser heterogéneos, debido a que cada país establece el número y tipo de antibióticos a analizar de acuerdo a sus necesidades y poder adquisitivo de ciertos medicamentos, o en su caso no hay concientización sobre la resistencia a los antibióticos, por lo tanto la información es escasa como lo expone Godínez-Oviedo y colaboradores en el 2019, informa a través de su investigación bajos niveles de patrones de resistencia con el tipo ACSSuT y que lamentablemente no se ha dado continuidad a esta vigilancia en México; pero que al menos por medio de este proyecto piloto que se realizó con cepas del 2016 se pretende seguir identificando y monitoreando los niveles de resistencia. Quizás el gran reto de realizar este monitoreo es que vamos a obtener una heterogeneidad en los patrones de resistencia porque **no contamos con un consenso de antibióticos** que puedan ser analizados y así conocer nuevas tendencias de resistencia antimicrobiana en microorganismos que son aislados de productos o animales que son para consumo

humano. Entonces se esperaría que las instituciones gubernamentales, pueda establecer normas que aborden estas áreas de trabajo que exige la OMS para contrarrestar la resistencia a los antibióticos. Ya que en México solo se cuenta con la NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos, para el control de este microorganismo, o la NMX-FF-080-SCFI-2006, que establece las características de calidad que debe presentar el pollo para consumo humano y su comercialización en el territorio nacional. Pero no se ha considerado en ninguna norma el enfoque de “Una salud” para preservar en buen estado la salud pública (P. J. Collignon & McEwen, 2019).

En contraste a los resultados que expone Estados Unidos a través del NARMS, vemos que cuenta con un sistema organizado y que desde 1997 implementaron la vigilancia de la resistencia a los antibióticos, mismos que establecen sus patrones de resistencia más prevalentes a partir de muestras de humanos, animales y ambiental (Medicine, 2023). Los datos proporcionados por esta base de datos, solo tienen informado el patrón de resistencia “AAuCx” (Ampicilina, Amoxicilina con ácido clavulánico y Ceftriaxona) hasta el año 2015 en muestra de pollo y que solo corresponde al 5% de los aislamientos analizados de *S. enterica* (CDC, 2018). Evidentemente si comparamos esto con lo obtenido en nuestro proyecto, nos habla del mal uso que estamos haciendo con los antibióticos en nuestro país, como para tener patrones tan extensos conformado de medicamentos considerados de importancia crítica, los cuales deberíamos de preservar su eficacia, para que solo sean utilizados en infecciones que pongan en riesgo la salud humana. Se puede resaltar, que los otros patrones reportados que son de origen clínico, siempre están conformados por ampicilina, sulfonamidas y tetraciclina o de 4 o 5 clases de antibióticos diferentes, pero no tan extensos y variados como lo que encontramos en nuestro proyecto, sus prevalencias son muy bajas a pesar de que han transcurrido un par de años, esto es un reflejo del buen control que tienen del uso de antibióticos en ese país.

A diferencia de lo que reporta la Unión Europea, son escasos el número de patrones de resistencia, pero con alta prevalencia de estos patrones en los aislamientos de

S. Infantis y S. Kentucky, de hecho S. Kentucky es el tercer serotipo más comúnmente reportado en gallinas ponedoras (9.5%) y pavos (6.5%), así como el cuarto más frecuentemente reportado en pollos de engorde (5.2%). En cuanto a S. Infantis se identificó en un 79% de todos los aislados de *Salmonella* MDR provenientes de pollos de engorde, de acuerdo a (Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021). Podemos resumir que este es el serotipo más prevalente en producto cárnico avícola para esta región, que en contraste con nuestro estudio fue S. Enteritidis; todo esto se ve influenciado en gran parte a la comercialización de este producto y la capacidad que tenga el microorganismo para adaptarse al medio (Regalado-Pineda et al., 2020). También influye el control epidemiológico que se tenga para este microorganismo.

Por último, podemos observar en la Tabla 20, otros patrones identificados en Vietnam e Irán, donde la prevalencia de los patrones es diversa, porque influye el número de aislamientos y el tipo de antibióticos que establecen para analizar. Estas variaciones de patrones de resistencia, en comparación con lo que tienen reportado los países europeos es mayor; esta más regulado en los países europeos el uso de antibióticos por los programas de control y seguimiento de resistencia bacteriana por parte de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, y el Centro Nacional de Resistencia a los Antibióticos (Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021). Además, influye los recursos con los que pueda contar cada país para adquirir determinado antibiótico y el uso que estos puedan darle. Comparando todo esto con un estudio realizado en China, hay mayor número de patrones de resistencia registrados entre 2014 al 2019, identificados en S. Pullorum, cabe resaltar que este es un serotipo que infecta exclusivamente a los pollos, ocasionándoles la muerte a los polluelos jóvenes. En este país han observado cada vez más la presencia de MDR en este serotipo y si bien recordamos la resistencia puede transmitirse entre serotipos, como ejemplo compartimos un patrón de resistencia en este proyecto realizado con el estudio de F. Sun y colaboradores en el 2021, tratándose de (NA+TXS+TE) presentes en Typhimurium, Enteritidis y

Newport, podemos decir que a pesar de que se trata de estudios realizados en diferentes países, se puede ver influenciado por el comercio internacional de animales, o viajes de personas que favorecen la diseminación de la resistencia (F. Sun et al., 2021).

Recapitulando todo lo expuesto con anterioridad, la resistencia bacteriana si es un problema de salud pública que nos afecta a todos que exige una mejor comprensión, esto se puede lograr a través del establecimiento de estrategias de control que reduzcan el riesgo de patógenos resistentes a los antibióticos y que se busquen alternativas para controlar y prevenir brotes de enfermedades infecciosas, así como del uso de los antibióticos. Queda mucho trabajo aún por realizar por parte de la OMS y todos los países de alrededor del mundo para que se pueda establecer un criterio de patrón de resistencia porque este se ve afectada por los diferentes antibióticos que analiza cada país. Esperamos que nuestros resultados sean útiles para incentivar a otras instituciones de salud humana y veterinaria para continuar con este plan de acción contra la resistencia a los antibióticos y que, en un futuro no muy lejano, se pueda crear también una base de datos como la del NARMS para la toma de decisiones del uso prudente de los antibióticos en nuestro país.

6. Conclusiones

- El establecimiento de una lista de antibióticos de importancia de salud pública fue clave para iniciar el monitoreo de resistencia en *S. enterica* en el producto cárnico avícola.
- Se identificó un 80-100% de susceptibilidad de *S. enterica* en algunos antibióticos catalogados como de importancia crítica como el meropenem, gentamicina, estreptomycin, azitromicina y ceftriaxona.
- Los antibióticos que presentaron elevados porcentajes de no susceptibilidad están relacionados con su uso irracional en animales y seres humanos.
- El meropenem, gentamicina y ciprofloxacino reportaron el 100% de efecto bactericida frente a otros medicamentos que son de uso común y que son de importancia crítica como ceftriaxona y ácido nalidíxico.
- El 75% de los aislamientos de *S. enterica* fueron MDR, siendo las quinolonas, antagonistas de la vía del folato y tetraciclina los más frecuentes.
- El patrón NA+TXS+TE (ácido nalidíxico-trimetoprim con sulfametoxazol-tetraciclina) presentes en *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Newport*.
- Solo 1 aislamiento del serotipo *S. Typhimurium* presentó el patrón ACSSuT extendido (CRO+CEF+STR+CL+AMP+AMC+FOX+TXS+TE).
- Será necesario identificar patrones de resistencia de otros años, para establecer las tendencias que indiquen si aumenta o disminuye la resistencia a los antibióticos. Y aumentar los puntos de comparaciones con muestras humanas, animales y ambientales debido a la estrecha relación que existe en estos sectores.

Referencias

- Abdel-Maksoud, M., Abdel-Khalek, R., El-Gendy, A., Gamal, R. F., Abdelhady, H. M., & House, B. L. (2015). Genetic characterisation of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotypes isolated from poultry in Cairo, Egypt. *African Journal of Laboratory Medicine*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.4102/AJLM.V4I1.158>
- Aidara-Kane, A., Angulo, F. J., Conly, J. M., Minato, Y., Silbergeld, E. K., McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). World Health Organization (WHO) guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7, 7. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0294-9>
- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53(10), 1565–1574. PubMed. <https://doi.org/10.1021/bi5000564>
- Ali Shah, S. A., Nadeem, M., Syed, S. A., Fatima Abidi, S. T., Khan, N., & Bano, N. (2020). Antimicrobial Sensitivity Pattern of *Salmonella* Typhi: Emergence of Resistant Strains. *Cureus*, 12(11), e11778. <https://doi.org/10.7759/cureus.11778>
- Aljindan, R. Y., & Alkharsah, K. R. (2020). Pattern of increased antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates in the Eastern Province of KSA. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 15(1), 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2019.12.004>

- Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. *The Scientific World Journal*, 2015, 520179. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
- Andrade, F. F., Silva, D., Rodrigues, A., & Pina-Vaz, C. (2020). Colistin Update on Its Mechanism of Action and Resistance, Present and Future Challenges. *Microorganisms*, 8(11), 1716. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111716>
- ATCC. (2021). *ATCC Bacteriology Culture Guide*. <https://www.atcc.org/resources/culture-guides/bacteriology-culture-guide>
- Authority, E. F. S. & European Centre for Disease Prevention and Control. (2021). The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSA Journal*, 19(4), e06490. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6490>
- Bai, L., Lan, R., Zhang, X., Cui, S., Xu, J., Guo, Y., Li, F., & Zhang, D. (2015). Prevalence of *Salmonella* Isolates from Chicken and Pig Slaughterhouses and Emergence of Ciprofloxacin and Cefotaxime Co-Resistant *S. enterica* Serovar Indiana in Henan, China. *PloS One*, 10(12), e0144532–e0144532. PubMed. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144532>
- Bai, L., Zhao, J., Gan, X., Wang, J., Zhang, X., Cui, S., Xia, S., Hu, Y., Yan, S., Wang, J., Li, F., Fanning, S., & Xu, J. (2016). Emergence and Diversity of *Salmonella enterica* Serovar Indiana Isolates with Concurrent Resistance to Ciprofloxacin and Cefotaxime from Patients and Food-Producing Animals in

- China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(6), 3365–3371. PubMed.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02849-15>
- Barry, A. (1999). *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline*. 19(18).
- Beckert, B., Leroy, E. C., Sothiselvam, S., Bock, L. V., Svetlov, M. S., Graf, M., Arenz, S., Abdelshahid, M., Seip, B., Grubmüller, H., Mankin, A. S., Innis, C. A., Vázquez-Laslop, N., & Wilson, D. N. (2021). Structural and mechanistic basis for translation inhibition by macrolide and ketolide antibiotics. *Nature Communications*, 12(1), 4466–4466. PubMed.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-24674-9>
- Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: Currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806–822.
<https://doi.org/10.1111/jam.14704>
- Bonomo, R. A. (2017). β -Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7(1), a025239.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025239>
- Brunelle, B. W., Bearson, B. L., Bearson, S. M. D., & Casey, T. A. (2017). Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolates Are Resistant to Antibiotics That Influence Their Swimming and Swarming Motility. *mSphere*, 2(6), e00306-17. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00306-17>
- Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance.

Molecules (Basel, Switzerland), 25(23), 5662. PubMed.
<https://doi.org/10.3390/molecules25235662>

Castañeda-Salazar, R., Pereira-Bazurdo, A. N., Pulido-Villamarín, A. del P., Mendoza-Gómez, M. F., Castañeda-Salazar, R., Pereira-Bazurdo, A. N., Pulido-Villamarín, A. del P., & Mendoza-Gómez, M. F. (2019). Estimación de la prevalencia de *Salmonella* spp. En pechugas de pollo para consumo humano provenientes de cuatro localidades de Bogotá- Colombia. *Infectio*, 23(1), 27–32. <https://doi.org/10.22354/in.v23i1.752>

CDC. (2018, octubre 14). *Template Package 4*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/NARMSNow>

Ceniceros, R. (2016). *Presencia de Campylobacter y Salmonella en pollo a la venta en Gómez Palacio Durango, México—Campylobacter and*.

Centeno S., D., Salvatierra R., G., & Calle E., S. (2018). Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de infecciones en animales. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(2), 580–587. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14491>

Centers for Disease Control and Prevention. (2019, noviembre 21). *Antibiotic Resistance and NARMS Surveillance | NARMS | CDC*. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS). <https://www.cdc.gov/narms/faq.html>

Chaves, B., & Tadi, P. (2023). *Gentamicina* (Vol. 33). StatPearls [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/>

- Chen, S., Zhao, S., White, D. G., Schroeder, C. M., Lu, R., Yang, H., McDermott, P. F., Ayers, S., & Meng, J. (2004). Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant Salmonella Serovars Isolated from Retail Meats. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(1), 1–7. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.1.1-7.2004>
- Cho, H., Uehara, T., & Bernhardt, T. G. (2014). Beta-lactam antibiotics induce a lethal malfunctioning of the bacterial cell wall synthesis machinery. *Cell*, 159(6), 1300–1311. PubMed. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.017>
- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 65(2), 232–260. PubMed. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M-100*. Clinical and Laboratory Standards Institute. <file:///C:/Users/LAURA/Downloads/CLSI%20M-100%2027th%202017.pdf>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing M-100*. file:///C:/Users/LAURA/Downloads/CLSI%20M100%20ED32_2022.pdf
- CLSI (Ed.). (2012). Método de determinación de sensibilidad entimicrobiana por dilución. Concentración mínima inhibitoria. En *Método de determinación de sensibilidad entimicrobiana por dilución. Concentración mínima inhibitoria*. (Vol. 32). Clinical and Laboratory Standards Institute.

<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

- Collignon, P. C., Conly, J. M., Andremont, A., McEwen, S. A., Aidara-Kane, A., for the World Health Organization Advisory Group, B. M. on I. S. of A. R. (WHO-A., Agerso, Y., Andremont, A., Collignon, P., Conly, J., Dang Ninh, T., Donado-Godoy, P., Fedorka-Cray, P., Fernandez, H., Galas, M., Irwin, R., Karp, B., Matar, G., McDermott, P., ... for the World Health Organization Advisory Group, B. M. on I. S. of A. R. (WHO-A. (2016). World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies to Control Antimicrobial Resistance From Food Animal Production. *Clinical Infectious Diseases*, 63(8), 1087–1093. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw475>
- Collignon, P. J., & McEwen, S. A. (2019). One Health-Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 4(1), 22. PubMed. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4010022>
- Daly, S. M., Sturge, C. R., & Greenberg, D. E. (2017). Inhibition of Bacterial Growth by Peptide-Conjugated Morpholino Oligomers. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1565, 115–122. PubMed. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6817-6_10
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 74(3), 417–433. PubMed. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>

- Delgado-Suárez, E. J., Palós-Guitérrez, T., Ruíz-López, F. A., Hernández Pérez, C. F., Ballesteros-Nova, N. E., Soberanis-Ramos, O., Méndez-Medina, R. D., Allard, M. W., & Rubio-Lozano, M. S. (2021). Genomic surveillance of antimicrobial resistance shows cattle and poultry are a moderate source of multi-drug resistant non-typhoidal Salmonella in Mexico. *PloS One*, *16*(5), e0243681–e0243681. PubMed.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243681>
- Delgado-Suárez, E. J., Palós-Guitérrez, T., Ruíz-López, F. A., Pérez, C. F. H., Ballesteros-Nova, N. E., Soberanis-Ramos, O., Méndez-Medina, R. D., Allard, M. W., & Rubio-Lozano, M. S. (2021). Genomic surveillance of antimicrobial resistance shows cattle and poultry are a moderate source of multi-drug resistant non-typhoidal Salmonella in Mexico. *PLOS ONE*, *16*(5), e0243681. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243681>
- Díaz-Torres, O., Lugo-Melchor, O. Y., de Anda, J., Gradilla-Hernández, M. S., Amézquita-López, B. A., & Meza-Rodríguez, D. (2020). Prevalence, Distribution, and Diversity of Salmonella Strains Isolated From a Subtropical Lake. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 521146–521146. PubMed.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.521146>
- Doublet, B., Boyd, D., Mulvey, M. R., & Cloeckert, A. (2005). The Salmonella genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*, *55*(6), 1911–1924. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04520.x>

- Du, Z., Wang, M., Cui, G., Zu, X., Zhao, Z., & Xue, Y. (2020). The prevalence of amphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from pigs in mainland China from 2000 to 2018: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, *15*(2), e0228388–e0228388. PubMed.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228388>
- Dutil, L., Irwin, R., Finley, R., Ng, L. K., Avery, B., Boerlin, P., Bourgault, A.-M., Cole, L., Daignault, D., Desruisseau, A., Demczuk, W., Hoang, L., Horsman, G. B., Ismail, J., Jamieson, F., Maki, A., Pacagnella, A., & Pillai, D. R. (2010). Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, *16*(1), 48–54.
<https://doi.org/10.3201/eid1601.090729>
- Dzeyie, K. A., Dhanapaul, S., Rubeshkumar, P., Desing, S., Vignesh, M. S., Raveendran, I., Kumar, P., Kathuria, S., Choudhary, S., Saroha, E., Siromany, V., Raju, M., Ganeshkumar, P., Ponnaiah, M., Sodha, S. V., Laserson, K., Bhatnagar, T., Kapoor, L., Bahl, A., ... Singh, S. K. (2021). Outbreak of ceftriaxone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi-Tiruchirappalli, Tamil Nadu, India, June 2018. *IJID Regions*, *1*, 60–64.
<https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2021.09.006>
- El-Sayed Ahmed, M. A. E.-G., Zhong, L.-L., Shen, C., Yang, Y., Doi, Y., & Tian, G.-B. (2020). Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: An extended review (2000–2019). *Emerging Microbes & Infections*, *9*(1), 868–885.
<https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>

- European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control. (2021). The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 19(4), e06490–e06490. PubMed. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6490>
- Ezadi, F., Ardebili, A., & Mirnejad, R. (2019). Antimicrobial Susceptibility Testing for Polymyxins: Challenges, Issues, and Recommendations. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(4), e01390-18. PubMed. <https://doi.org/10.1128/JCM.01390-18>
- Fish, D. N. (2006). Meropenem in the treatment of complicated skin and soft tissue infections. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2(4), 401–415.
- Folster, J. P., Campbell, D., Grass, J., Brown, A. C., Bicknese, A., Tolar, B., Joseph, L. A., Plumblee, J. R., Walker, C., Fedorka-Cray, P. J., & Whichard, J. M. (2015). Identification and Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Albert Isolates in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(5), 2774–2779. <https://doi.org/10.1128/AAC.05183-14>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2022). *One Health*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/one-health/en/>
- Fyfe, C., Grossman, T. H., Kerstein, K., & Sutcliffe, J. (2016). Resistance to Macrolide Antibiotics in Public Health Pathogens. *Cold Spring Harbor*

Perspectives in Medicine, 6(10), a025395.

<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025395>

Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Culafic, D. M., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*, 11(4).

<https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>

Ghosh, D., Veeraraghavan, B., Elangovan, R., & Vivekanandan, P. (2020). Antibiotic Resistance and Epigenetics: More to It than Meets the Eye. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(2), e02225-19. PubMed.

<https://doi.org/10.1128/AAC.02225-19>

Godínez-Oviedo, A., Tamplin, M. L., Bowman, J. P., & Hernández-Iturriaga, M. (2020). *Salmonella enterica* in Mexico 2000–2017: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Prevalence in Food. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(2), 98–118. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2627>

Godínez-Oviedo, et al. (2019). *Sci-Hub | Salmonella enterica in Mexico 2000–2017: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Prevalence in Food. Foodborne Pathogens and Disease | 10.1089/fpd.2019.2627*. <https://sci-hub.se/10.1089/fpd.2019.2627>

Groussin, M., Poyet, M., Sistiaga, A., Kearney, S. M., Moniz, K., Noel, M., Hooker, J., Gibbons, S. M., Segurel, L., Froment, A., Mohamed, R. S., Fezeu, A., Juimo, V. A., Lafosse, S., Tabe, F. E., Girard, C., Iqaluk, D., Nguyen, L. T. T., Shapiro, B. J., ... Alm, E. J. (2021). Elevated rates of horizontal gene transfer

- in the industrialized human microbiome. *Cell*, 184(8), 2053-2067.e18.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.052>
- Guan, Y., Li, Y., Li, J., Yang, Z., Zhu, D., Jia, R., Liu, M., Wang, M., Chen, S., Yang, Q., Wu, Y., Zhang, S., Gao, Q., Ou, X., Mao, S., Huang, J., Sun, D., Tian, B., Cheng, A., & Zhao, X. (2022). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance profiles in *Salmonella* isolated from waterfowl in 2002–2005 and 2018–2020 in Sichuan, China. *Frontiers in Microbiology*, 13.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.987613>
- Gupta, R., Sarkar, B., Sharma, M., Choudhary, S., & Mahawar, P. (2020). Increasing Azithromycin resistance *Salmonella* bacteremia in pediatric population in a secondary care center in India. *International Journal of Infectious Diseases*, 101, 74. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.222>
- Habib, I., Elbediwi, M., Ghazawi, A., Mohamed, M.-Y. I., Lakshmi, G. B., & Khan, M. (2022). First report from supermarket chicken meat and genomic characterization of colistin resistance mediated by *mcr-1.1* in ESBL-producing, multidrug-resistant *Salmonella* Minnesota. *International Journal of Food Microbiology*, 379, 109835.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109835>
- Helms, M., Vastrup, P., & Mølbak, K. (2003). Antimicrobial Drug-resistant *Salmonella* Typhimurium (Reply to Dahl). *Emerging Infectious Diseases*, 9(10), 1350–1351. PMC. <https://doi.org/10.3201/eid0910.030029>
- Jaja, I. F., Bhembe, N. L., Green, E., Oguttu, J., & Muchenje, V. (2019). Molecular characterisation of antibiotic-resistant *Salmonella enterica* isolates recovered

- from meat in South Africa. *Acta Tropica*, 190, 129–136.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.11.003>
- 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. *Veterinary World*, 12(4), 504–521.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>
- Jean B., Melvin P, & George M, et.al. (2017). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100*. The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). www.clsi.org
- Jiménez Pearson, M. A., Galas, M., Corso, A., Hormazábal, J. C., Duarte Valderrama, C., Salgado Marcano, N., Ramón-Pardo, P., & Melano, R. G. (2019). Latin American consensus to define, categorize, and report multidrug-resistant, extensively drug-resistant, or pandrug-resistant pathogens. Consenso latino-americano para definição, categorização e notificação de patógenos multirresistentes, com resistência ampliada ou panresistentes. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 43, e65–e65. PubMed.
<https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.65>
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology*, 33(3), 300–305. PubMed.
https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15

- Khadka, P., Thapaliya, J., & Thapa, S. (2021). Susceptibility pattern of *Salmonella enterica* against commonly prescribed antibiotics, to febrile-pediatric cases, in low-income countries. *BMC Pediatrics*, *21*(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12887-021-02497-3>
- Khan, S. B., Khan, M. A., Ahmad, I., ur Rehman, T., Ullah, S., Dad, R., Sultan, A., & Memon, A. M. (2019). Phenotypic, genotypic antimicrobial resistance and pathogenicity of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis in poultry and poultry products. *Microbial Pathogenesis*, *129*, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.046>
- Konovalova, A., Kahne, D. E., & Silhavy, T. J. (2017). Outer Membrane Biogenesis. *Annual Review of Microbiology*, *71*, 539–556. PubMed. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093754>
- Koutsoumanis, K., Allende, A., Álvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Argüello, H., Berendonk, T., Cavaco, L. M., ... Peixe, L. (2021). Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. *EFSA Journal*, *19*(6), e06651. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6651>
- Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *10*(2), 165. PubMed. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>

- Kraemer, S. A., Ramachandran, A., & Perron, G. G. (2019). Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. *Microorganisms*, 7(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7060180>
- Li, P., Zhu, T., Zhou, D., Lu, W., Liu, H., Sun, Z., Ying, J., Lu, J., Lin, X., Li, K., Ying, J., Bao, Q., & Xu, T. (2020). Analysis of Resistance to Florfenicol and the Related Mechanism of Dissemination in Different Animal-Derived Bacteria. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 0. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00369>
- Li, W., Li, H., Zheng, S., Wang, Z., Sheng, H., Shi, C., Shi, X., Niu, Q., & Yang, B. (2020). Prevalence, Serotype, Antibiotic Susceptibility, and Genotype of Salmonella in Eggs From Poultry Farms and Marketplaces in Yangling, Shaanxi Province, China. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1482–1482. PubMed. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01482>
- Liu, Y., Moore, J. H., Kolling, G. L., McGrath, J. S., Papin, J. A., & Swami, N. S. (2020). Minimum Bactericidal Concentration of Ciprofloxacin to Pseudomonas aeruginosa Determined Rapidly Based on Pyocyanin Secretion. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, 312, 127936. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127936>
- Lu, Y., Zhao, H., Sun, J., Liu, Y., Zhou, X., Beier, R. C., Wu, G., & Hou, X. (2014). Characterization of Multidrug-Resistant Salmonella enterica Serovars Indiana and Enteritidis from Chickens in Eastern China. *PLoS ONE*, 9(5), e96050. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096050>

- Manna, M. S., Tamer, Y. T., Gaszek, I., Poulides, N., Ahmed, A., Wang, X., Toprak, F. C. R., Woodard, D. R., Koh, A. Y., Williams, N. S., Borek, D., Atilgan, A. R., Hulleman, J. D., Atilgan, C., Tambar, U., & Toprak, E. (2021). A trimethoprim derivative impedes antibiotic resistance evolution. *Nature Communications*, 12(1), 2949. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23191-z>
- Martínez, J. L., & Baquero, F. (2014). Emergence and spread of antibiotic resistance: Setting a parameter space. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 119(2), 68–77. PubMed. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.901444>
- McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
- Medicine, C. for V. (2023). 2020 NARMS Update: Integrated Report Summary. *FDA*. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2020-narms-update-integrated-report-summary>
- Mella M., S., Sepúlveda A., M., González R., G., Bello T., H., Domínguez Y., M., Zemelman Z., R., & Ramírez G., C. (2004). Aminoglucósidos-aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Revista chilena de infectología*, 21(4), 330–338. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182004000400007>
- Moawad, A. A., Hotzel, H., Awad, O., Tomaso, H., Neubauer, H., Hafez, H. M., & El-Adawy, H. (2017). Occurrence of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in raw chicken and beef meat in northern Egypt and dissemination of their

- antibiotic resistance markers. *Gut Pathogens*, 9, 57.
<https://doi.org/10.1186/s13099-017-0206-9>
- Molina, J., Cordero, E., Palomino, J., & Pachón, J. (2009). Aminoglucósidos y polimixinas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(3), 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.02.001>
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016–2015. PubMed. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Tenover, M. C. (2009). *Microbiología médica* (Sexta). Elsevier.
- Nemeth, J., Oesch, G., & Kuster, S. P. (2015). Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(2), 382–395. <https://doi.org/10.1093/jac/dku379>
- Neuert, S., Nair, S., Day, M. R., Doumith, M., Ashton, P. M., Mellor, K. C., Jenkins, C., Hopkins, K. L., Woodford, N., de Pinna, E., Godbole, G., & Dallman, T. J. (2018). Prediction of Phenotypic Antimicrobial Resistance Profiles From Whole Genome Sequences of Non-typhoidal *Salmonella enterica*. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00592>
- Nguyen Thi, H., Pham, T.-T.-T., Turchi, B., Fratini, F., Ebani, V. V., Cerri, D., & Bertelloni, F. (2020). Characterization of *Salmonella* spp. Isolates from Swine:

Virulence and Antimicrobial Resistance. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 10(12), 2418. PubMed. <https://doi.org/10.3390/ani10122418>

Nhung, N. T., Van, N. T. B., Cuong, N. V., Duong, T. T. Q., Nhat, T. T., Hang, T. T. T., Nhi, N. T. H., Kiet, B. T., Hien, V. B., Ngoc, P. T., Campbell, J., Thwaites, G., & Carrique-Mas, J. (2018). Antimicrobial residues and resistance against critically important antimicrobials in non-typhoidal *Salmonella* from meat sold at wet markets and supermarkets in Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*, 266, 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.015>

Nji, E., Kazibwe, J., Hambridge, T., Joko, C. A., Larbi, A. A., Dampney, L. A. O., Nkansa-Gyamfi, N. A., Stålsby Lundborg, C., & Lien, L. T. Q. (2021). High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* from healthy human sources in community settings. *Scientific Reports*, 11(1), 3372. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82693-4>

Ocampo, P. S., Lázár, V., Papp, B., Arnoldini, M., Abel zur Wiesch, P., Busa-Fekete, R., Fekete, G., Pál, C., Ackermann, M., & Bonhoeffer, S. (2014). Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), 4573–4582. PubMed. <https://doi.org/10.1128/AAC.02463-14>

OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal, 2 FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, & 3 OMS: Organización Mundial de la Salud. (2021). *World Organization for Animal Health. LIST OF IMPORTANT ANTIMICROBIAL AGENTS FOR*

VETERINARY MEDICINE (June 2021) (31781073). Frontiers Media S.A.
<https://www.oie.int/app/uploads/2021/06/e-oie-lista-antimicrobianos-junio2021.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (2019). *Antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana* (6a rev.). Organización Mundial de la Salud.
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331531>

Organizacion Mundial de Sanidad Animal. (2021). Una sola salud. OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.oie.int/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/una-sola-salud/>

Ornelas-Eusebio, E., García-Espinosa, G., Laroucau, K., & Zanella, G. (2020). Characterization of commercial poultry farms in Mexico: Towards a better understanding of biosecurity practices and antibiotic usage patterns. *PLOS ONE*, 15(12), e0242354. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242354>

Oteo, J., Aracil, B., Alós, J. I., & Gómez-Garcés, J. L. (2000). High rate of resistance to nalidixic acid in *Salmonella enterica*: Its role as a marker of resistance to fluoroquinolones. *Clinical Microbiology and Infection*, 6(5), 273–276. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00058-3.x>

Ovejero, C. M. (2018). *Mecanismos emergentes de resistencia a antibióticos en enterobacterias de origen humano, animal y ambiental* [UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD DE VETERINARIA Departamento de Sanidad Animal]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/46375/1/T39569.pdf>

- Pacheco, P. O. (2020). *Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos*. 3, 30.
- Pérez Esteve, É. (2021). *Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria (CMI) por métodos fenotípicos*. Universidad de Valencia. <https://riunet.upv.es/handle/10251/167611>
- Pham, T. D. M., Ziora, Z. M., & Blaskovich, M. A. T. (2019). Quinolone antibiotics. *MedChemComm*, 10(10), 1719–1739. PubMed. <https://doi.org/10.1039/c9md00120d>
- Pławińska-Czarnak, J., Wódz, K., Kizerwetter-Świda, M., Bogdan, J., Kwieciński, P., Nowak, T., Strzałkowska, Z., & Anusz, K. (2022). Multi-Drug Resistance to *Salmonella* spp. When Isolated from Raw Meat Products. *Antibiotics*, 11(7), 876. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070876>
- Poirel, L., Jayol, A., & Nordmann, P. (2017). Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(2), 557–596. PubMed. <https://doi.org/10.1128/CMR.00064-16>
- Polianciuc, S. I., Gurzău, A. E., Kiss, B., Ștefan, M. G., & Loghin, F. (2020). Antibiotics in the environment: Causes and consequences. *Medicine and Pharmacy Reports*, 93(3), 231. <https://doi.org/10.15386/mpr-1742>
- Qin, X., Yang, M., Cai, H., Liu, Y., Gorris, L., Aslam, M. Z., Jia, K., Sun, T., Wang, X., & Dong, Q. (2022). Antibiotic Resistance of *Salmonella* Typhimurium

- Monophasic Variant 1,4,[5],12:i:-in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics*, 11(4), 532. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040532>
- Quino, W., Hurtado, C. V., Meza, A. M., Zamudio, M. L., Gavilan, R. G., Quino, W., Hurtado, C. V., Meza, A. M., Zamudio, M. L., & Gavilan, R. G. (2020). Patterns of resistance to antimicrobials in serovars of *Salmonella enterica* in Peru, 2012-2015. *Revista chilena de infectología*, 37(4), 395–401. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000400395>
- Ramatla, T., Tawana, M., Onyiche, T. E., Lekota, K. E., & Thekiso, O. (2021). Prevalence of Antibiotic Resistance in *Salmonella* Serotypes Concurrently Isolated from the Environment, Animals, and Humans in South Africa: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics*, 10(12), 1435. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121435>
- Regalado-Pineda, I. D., Rodarte-Medina, R., Resendiz-Nava, C. N., Saenz-Garcia, C. E., Castañeda-Serrano, P., & Nava, G. M. (2020). Three-Year Longitudinal Study: Prevalence of *Salmonella Enterica* in Chicken Meat is Higher in Supermarkets than Wet Markets from Mexico. *Foods*, 9(3), 264. <https://doi.org/10.3390/foods9030264>
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482–501. PubMed. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- Rhouma, M., Beaudry, F., Thériault, W., & Letellier, A. (2016). Colistin in Pig Production: Chemistry, Mechanism of Antibacterial Action, Microbial

- Resistance Emergence, and One Health Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1789. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01789>
- Sajib, M. S., Tanmoy, A. M., Hooda, Y., Rahman, H., Andrews, J. R., Garrett, D. O., Endtz, H. P., Saha, S. K., & Saha, S. (2021). Tracking the Emergence of Azithromycin Resistance in Multiple Genotypes of Typhoidal Salmonella. *mBio*, 12(1), e03481-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.03481-20>
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, 2016, 2475067–2475067. PubMed. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
- Sarkar, P., Yarlagadda, V., Ghosh, C., & Haldar, J. (2017). A review on cell wall synthesis inhibitors with an emphasis on glycopeptide antibiotics †The authors declare no competing interests. *MedChemComm*, 8(3), 516–533. <https://doi.org/10.1039/c6md00585c>
- Shi, Q., Ye, Y., Lan, P., Han, X., Quan, J., Zhou, M., Yu, Y., & Jiang, Y. (2021). Prevalence and Characteristics of Ceftriaxone-Resistant Salmonella in Children's Hospital in Hangzhou, China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 764787. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.764787>
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>
- Soltan Dallal, M. M., Zeynali Kelishomi, F., Nikkhahi, F., Zahraei Salehi, T., Fardsanei, F., & Peymani, A. (2023). Biofilm formation, antimicrobial resistance genes, and genetic diversity of *Salmonella enterica* subspecies

- enterica serotype Enteritidis isolated from food and animal sources in Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 34, 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.08.004>
- Spapen, H., Jacobs, R., Van Gorp, V., Troubleyn, J., & Honoré, P. M. (2011). Renal and neurological side effects of colistin in critically ill patients. *Annals of Intensive Care*, 1, 14. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-14>
- Stella Ramirez., L., & Marin Castaño, D. (2009). METODOLOGIAS PARA EVALUAR IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL. *Scientia et Technica*, 9. <https://doi.org/10.3390/foods9060776>
- Sun, F., Li, X., Wang, Y., Wang, F., Ge, H., Pan, Z., Xu, Y., Wang, Y., Jiao, X., & Chen, X. (2021). Epidemic patterns of antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovar Pullorum isolates in China during the past half-century. *Poultry Science*, 100(3), 100894. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.007>
- Sun, T., Liu, Y., Qin, X., Aspidou, Z., Zheng, J., Wang, X., Li, Z., & Dong, Q. (2021). The Prevalence and Epidemiology of *Salmonella* in Retail Raw Poultry Meat in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Foods*, 10(11), 2757. <https://doi.org/10.3390/foods10112757>
- Tacic, A., Nikolic, V., Nikolic, L., & Savic, I. (2017). Antimicrobial sulfonamide drugs. *Advanced Technologies*, 6(1), 58–71. <https://doi.org/10.5937/savteh1701058T>

- Tariq, S., Rizvi, S. F. A., & Anwar, U. (2018). Tetracycline: Classification, Structure Activity Relationship and Mechanism of Action as a Theranostic Agent for Infectious Lesions-A Mini Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 7(2), 001–010. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.07.001475>
- U.S. Department of Health & Human Services. (2021). *National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS)* [National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED)]. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS). <https://www.cdc.gov/narms/antibiotics-tested.html>
- U.S Food and Drug Administration. (2022). *NARMS Now: Integrated Data*. FDA; FDA. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/narms-now-integrated-data>
- V. T. Nair, D., Venkitanarayanan, K., & Kollanoor Johny, A. (2018). Antibiotic-Resistant Salmonella in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods*, 7(10), 167. <https://doi.org/10.3390/foods7100167>
- van Duijkeren, E., Schink, A.-K., Roberts, M. C., Wang, Y., & Schwarz, S. (2018). Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiology Spectrum*, 6(2), 6.2.14. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0019-2017>

- Van, T. T. H., Yidana, Z., Smooker, P. M., & Coloe, P. J. (2020). Antibiotic use in food animals worldwide, with a focus on Africa: Pluses and minuses. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.031>
- Varela, M. F., Stephen, J., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N., Sanford, L. M., Hernandez, A. J., Parvathi, A., & Kumar, S. H. (2021). Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Antibiotics*, 10(5), 593. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050593>
- Vázquez, X., García, V., Fernández, J., Bances, M., de Toro, M., Ladero, V., Rodicio, R., & Rodicio, M. R. (2022). Colistin Resistance in Monophasic Isolates of *Salmonella enterica* ST34 Collected From Meat-Derived Products in Spain, With or Without CMY-2 Co-production. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.735364>
- Vázquez-Laslop, N., & Mankin, A. S. (2018). How Macrolide Antibiotics Work. *Trends in Biochemical Sciences*, 43(9), 668–684. PubMed. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.06.011>
- Vélez, D. C., Rodríguez, V., & García, N. V. (2017). Phenotypic and Genotypic Antibiotic Resistance of *Salmonella* from Chicken Carcasses Marketed at Ibagué, Colombia. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 19(2), 347–354. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0405>
- Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E. I., Vázquez-Salinas, C., Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C. R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-

- Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2017). Frequency, antimicrobial susceptibility and adherence patterns of *Salmonella enterica* isolated from chicken meat, beef and pork from Mexico City. *Revista chilena de infectología*, *34*(5), 458–466. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000500458>
- Wang, H., Cheng, H., Huang, B., Hu, X., Chen, Y., Zheng, L., Yang, L., Deng, J., & Wang, Q. (2023). Characterization of resistance genes and plasmids from sick children caused by *Salmonella enterica* resistance to azithromycin in Shenzhen, China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *13*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2023.1116172>
- Wang, J., Sheng, H., Xu, W., Huang, J., Meng, L., Cao, C., Zeng, J., Meng, J., & Yang, B. (2019). Diversity of Serotype, Genotype, and Antibiotic Susceptibility of *Salmonella* Prevalent in Pickled Ready-to-Eat Meat. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2577–2577. PubMed. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02577>
- Wang, X., Biswas, S., Paudyal, N., Pan, H., Li, X., Fang, W., & Yue, M. (2019). Antibiotic Resistance in *Salmonella* Typhimurium Isolates Recovered From the Food Chain Through National Antimicrobial Resistance Monitoring System Between 1996 and 2016. *Frontiers in Microbiology*, *10*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00985>
- Wang, X., Wang, H., Li, T., Liu, F., Cheng, Y., Guo, X., Wen, G., Luo, Q., Shao, H., Pan, Z., & Zhang, T. (2020). Characterization of *Salmonella* spp. Isolated from

- chickens in Central China. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 299–299. PubMed. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02513-1>
- Wangchinda, W., Pati, N., Maknakhon, N., Seenama, C., Tiengrim, S., & Thamlikitkul, V. (2018). Collateral damage of using colistin in hospitalized patients on emergence of colistin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* colonization and infection. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7, 84. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0375-4>
- Watkins, L. K. F. (2020). Update on Extensively Drug-Resistant *Salmonella* Serotype Typhi Infections Among Travelers to or from Pakistan and Report of Ceftriaxone-Resistant *Salmonella* Serotype Typhi Infections Among Travelers to Iraq—United States, 2018–2019. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6920a2>
- Waturangi, D. E., Wiratama, E., & Theresia, A. S. (2019). Prevalence and molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from ice and beverages in Jakarta, Indonesia. *BMC Research Notes*, 12(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4065-y>
- Worku, W., Desta, M., & Menjetta, T. (2022). High prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of salmonella species and extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* from raw cattle meat at butcher houses in Hawassa city, Sidama regional state, Ethiopia. *PLOS ONE*, 17(1), e0262308. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262308>
- Wu, S., & Hulme, J. P. (2021). Recent Advances in the Detection of Antibiotic and Multi-Drug Resistant *Salmonella*: An Update. *International Journal of*

Molecular Sciences, 22(7), 3499. PubMed.

<https://doi.org/10.3390/ijms22073499>

Xu, H., Zhang, W., Zhang, K., Zhang, Y., Wang, Z., Zhang, W., Li, Y., & Li, Q. (2021).

Characterization of Salmonella serotypes prevalent in asymptomatic people and patients. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 632–632. PubMed.

<https://doi.org/10.1186/s12879-021-06340-z>

Yang, K., Wang, A., Fu, M., Wang, A., Chen, K., Jia, Q., & Huang, Z. (2020).

Investigation of Incidents and Trends of Antimicrobial Resistance in Foodborne Pathogens in Eight Countries from Historical Sample Data.

International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(2),

472. <https://doi.org/10.3390/ijerph17020472>

Ying, Y., Wu, F., Wu, C., Jiang, Y., Yin, M., Zhou, W., Zhu, X., Cheng, C., Zhu, L.,

Li, K., Lu, J., Xu, T., & Bao, Q. (2019). Florfenicol Resistance in Enterobacteriaceae and Whole-Genome Sequence Analysis of Florfenicol-Resistant *Leclercia adecarboxylata* Strain R25. *International Journal of*

Genomics, 2019, 9828504–9828504. PubMed.

<https://doi.org/10.1155/2019/9828504>

Yoon, K.-B., Song, B.-J., Shin, M.-Y., Lim, H.-C., Yoon, Y.-H., Jeon, D.-Y., Ha, H.,

Yang, S.-I., & Kim, J.-B. (2017). Antibiotic Resistance Patterns and Serotypes of Salmonella spp. Isolated at Jeollanam-do in Korea. *Osong Public Health*

and Research Perspectives, 8(3), 211–219.

<https://doi.org/10.24171/j.phrp.2017.8.3.08>

- Yu, C.-Y., Chou, S.-J., Yeh, C.-M., Chao, M.-R., Huang, K.-C., Chang, Y.-F., Chiou, C.-S., Weill, F.-X., Chiu, C.-H., Chu, C.-H., & Chu, C. (2008). Prevalence and Characterization of Multidrug-Resistant (Type ACSSuT) *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Strains in Isolates from Four Gosling Farms and a Hatchery Farm. *Journal of Clinical Microbiology*, *46*(2), 522–526. <https://doi.org/10.1128/JCM.00709-07>
- Zhou, N., Cheng, Z., Zhang, X., Lv, C., Guo, C., Liu, H., Dong, K., Zhang, Y., Liu, C., Chang, Y.-F., Chen, S., Guo, X., Zhou, X.-N., Li, M., & Zhu, Y. (2022). Global antimicrobial resistance: A system-wide comprehensive investigation using the Global One Health Index. *Infectious Diseases of Poverty*, *11*(1), 92. <https://doi.org/10.1186/s40249-022-01016-5>
- Zinsstag, J., Crump, L., Schelling, E., Hattendorf, J., Maidane, Y. O., Ali, K. O., Muhammed, A., Umer, A. A., Aliyi, F., Nooh, F., Abdikadir, M. I., Ali, S. M., Hartinger, S., Mäusezahl, D., de White, M. B. G., Cordon-Rosales, C., Castillo, D. A., McCracken, J., Abakar, F., ... Cissé, G. (2018). Climate change and One Health. *FEMS Microbiology Letters*, *365*(11), fny085. PubMed. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny085>

Anexo 1. Cálculo para la cantidad considerada de antibiótico que se utilizarán en las soluciones stock

NOTA: Para establecer la concentración a la cual se preparará el antibiótico, se toma como referencia el punto de corte de resistencia del antibiótico, y será 10 veces mayor del rango establecido. Para esta ocasión se elaborará la solución stock con la concentración que establece el punto de corte de resistencia, para poder realizar solo 3 diluciones.

$$\text{Pesada de antibiótico (mg)} = \frac{\text{volumen de sol. estándar (ml)} * \text{concentración sol. estándar } (\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}})}{\text{Potencia del antibiótico } (\mu \frac{\text{g}}{\text{mg}})}$$

Al primer pocillo de la microplaca se deposita $200\mu\text{l} = 0.2\text{mL}$ de solución stock.

Volumen de solución estándar= 17.8mL (considerando todas las cepas que se van analizar = 89). Se preparará 40ml de solución stock para pesar una mayor cantidad de antibiótico en la balanza analítica.

-Ampicilina

Punto de corte: $\geq 32\mu\text{g/mL} = 320 \mu\text{g/mL} (x2) = 640 \mu\text{g/mL}$

Pureza= 96%

Fracción activa= 100%

Cantidad de agua presente en el antibiótico: 0.02

Potencia: Ensayo de pureza * Fracción activa * 1- cantidad de agua = $940.8\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de antibiótico (mg)} = \frac{40\text{ml} * 640\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}}}{940 \mu \frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{27.23\text{mg}}$$

-Tetraciclina

Punto de corte: $>16\mu\text{g/mL} = 160 \mu\text{g/mL} x2 = 320 \mu\text{g/mL}$

Pureza= 95%

Potencia= $950 \mu\text{g/mg}$

Cantidad de agua presente en el antibiótico: 0

Potencia: Ensayo de pureza * Fracción activa * 1- cantidad de agua = $950\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de antibiótico (mg)} = \frac{40\text{ml} * 320\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{950\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{13.47\text{mg}}$$

-Gentamicina

Punto de corte: $16\mu\text{g/mL} = 160\mu\text{g/mL} \times 2 = 320\mu\text{g/mL}$

Potencia = $>540\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de antibiótico (mg)} = \frac{40\text{ml} * 320\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{540\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{23.70\text{mg}}$$

-Amoxicilina con ácido clavulánico

Punto de corte: $32\mu\text{g/mL}$ (amoxicilina) = $320\mu\text{g/mL} \times 2 = 640\mu\text{g/mL}$

$16\mu\text{g/mL}$ (ácido clavulánico) = $160\mu\text{g/mL} \times 2 = 320\mu\text{g/mL}$

Pureza como amoxicilina = $95\% = 950$

Cantidad de agua presente en amoxicilina = $15\% = 0.15$

Fracción activa = 100%

Potencia de amoxicilina: Ensayo de pureza * Fracción activa * 1 - cantidad de agua
= $807.5\mu\text{g/mg}$

Pureza de clavulanato = 98%

Cantidad de agua presente en clavulanato = 3%

Potencia = $950.6\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de amoxicilina (mg)} = \frac{40\text{ml} * 640\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{807.5\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{31.70\text{mg}}$$

$$\text{Pesada de clavulanato (mg)} = \frac{40\text{ml} * 320\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{950.6\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{13.46\text{mg}}$$

-Azitromicina* no hay suficiente sal para 40ml, por lo tanto se medirá 37.5ml de solvente

Punto de corte: $32\mu\text{g/mL} = 320\ \mu\text{g/mL} \times 2 = 640\ \mu\text{g/mL}$

Potencia = $960\ \mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de azitromicina (mg)} = \frac{37.5\text{ml} * 640\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{960\ \mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{25\text{mg}}$$

-Estreptomicina

Punto de corte: $>32\mu\text{g/mL} = 320\ \mu\text{g/mL} \times 2 = 640\ \mu\text{g/mL}$

Potencia en la hoja de especificación del antibiótico = 720UI/mg

Para calcular $\mu\text{g/mg}$

$$\frac{720\text{UI/mg}}{785} = 0.9171 = 91.7\% \text{ pureza del polvo}$$

$(91.7\%) (850 \text{ forma más pura del antibiótico}) = 779.53\ \mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de estreptomicina (mg)} = \frac{40\text{ml} * 640\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{779.53\ \mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{32.84\text{mg}}$$

-Cefoxitina

Punto de corte: $>32\mu\text{g/mL} = 320\ \mu\text{g/mL} \times 2 = 640\ \mu\text{g/mL}$

Potencia en la hoja de especificación del antibiótico = $970\ \mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de cefoxitina (mg)} = \frac{40\text{ml} * 640\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{970\ \mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{26.39\text{mg}}$$

-Florfenicol

Punto de corte: $8\mu\text{g/mL} = 80\ \mu\text{g/mL} \times 2 = 160\ \mu\text{g/mL}$

Potencia en la hoja de especificación del antibiótico = $980\ \mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de cefoxitina (mg)} = \frac{40\text{ml} * 160\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980\ \mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{6.35\ \text{mg}}$$

-Ceftriaxona

Punto de corte: $>4\mu\text{g/mL} = 40 \mu\text{g/mL} \times 2 = 80 \mu\text{g/mL}$

Pureza= 96%

Cantidad de agua presente en el antibiótico: 8% = 0.08

Potencia: Ensayo de pureza * Fracción activa * 1- cantidad de agua = 883.2 $\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de ceftriaxona (mg)} = \frac{40\text{ml} * 80\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}}}{883.2 \mu \frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{3.62 \text{ mg}}$$

-Ácido nalidíxico

Punto de corte: $32\mu\text{g/mL} = 320 \mu\text{g/mL} \times 2 = 640 \mu\text{g/mL}$

Pureza= 98% = potencia = 980 $\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de ácido nalidíxico (mg)} = \frac{40\text{ml} * 640\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980 \mu \frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{26.12 \text{ mg}}$$

-Ciprofloxacino

Punto de corte: $1\mu\text{g/mL} = 10 \mu\text{g/mL} \times 2 = 20 \mu\text{g/mL}$

Pureza= 98% = potencia = 980 $\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de ciprofloxacino (mg)} = \frac{50\text{ml} * 20\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980 \mu \frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{1.01 \text{ mg}}$$

-Se medirá 40ml de solvente para que se pese mayor cantidad de antibiótico.

-Ceftiofur

Punto de corte: $8\mu\text{g/mL} = 80 \mu\text{g/mL} \times 2 = 160 \mu\text{g/mL}$

Pureza= 95%

Cantidad de agua presente en el antibiótico: 3% = 0.03

Potencia del antibiótico= 921.5 $\mu\text{g/mg}$

$$\text{Pesada de ceftiofur (mg)} = \frac{40\text{ml} * 160\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{921\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{6.94\text{ mg}}$$

-Cloranfenicol

Punto de corte: >32 µg/mL = 320 µg/mL x2= 640 µg/mL

Pureza= 98% = 980 µg/mg

$$\text{Pesada de cloranfenicol (mg)} = \frac{40\text{ml} * 640\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{26.12\text{ mg}}$$

-Meropenem

Punto de corte: >4 µg/mL = 40 µg/mL x2= 80 µg/mL

Pureza= 98% = 980 µg/mg

$$\text{Pesada de meropenem (mg)} = \frac{40\text{ml} * 80\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{3.26\text{ mg}}$$

-Trimetoprim con sulfametoxazol

Punto de corte: 4 µg/mL trimetoprim= 40 µg/mL x2= 80 µg/mL

76 µg/mL sulfametoxazol = 760 µg/mL x2= 1520 µg/mL

Pureza de ambos antibióticos = 98% = 980 µg/mg

$$\text{Pesada de trimetoprim (mg)} = \frac{40\text{ml} * 80\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{3.26\text{ mg}}$$

$$\text{Pesada de sulfametoxazol (mg)} = \frac{40\text{ml} * 1520\mu\frac{\text{g}}{\text{ml}}}{980\mu\frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{62.04\text{ mg}}$$

-Colistina

Punto de corte: 4µg/mL = 40 µg/mL x2= 80 µg/mL

Potencia = 19,000 UI/mg

$$\text{Corrección a } \mu\text{g/mg} = \frac{19000 \text{ UI/mg}}{30 \text{ unidades/mg}} = 633.33 \mu\text{g/mg}$$

$$\text{Pesada de colistina (mg)} = \frac{40\text{ml} * 80\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}}}{633.33 \mu \frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{5.05 \text{ mg}}$$

$$\text{Pesada de colistina (mg)} = \frac{20\text{ml} * 80\mu \frac{\text{g}}{\text{ml}}}{633.33 \mu \frac{\text{g}}{\text{mg}}} = \mathbf{2.52 \text{ mg}}$$

Anexo 2. Tabla de resultados de Concentración Mínima Inhibitoria de la cepa ATCC de E.coli 25922.

Inicio de la experimentación		Nueva solución antibiótico
Antibiótico	CMI (µg/ml)	CMI (µg/ml)
Ceftriaxona	0.0194	0.0097
Ceftiofur	1.25	0.3125
Colistina	0.3	0.15
Ácido nalidíxico	1.25	1.25
Ciprofloxacino	0.0009	0.0048
Gentamicina	0.625	0.625
Meropenem	0.0194	0.0097
Florfenicol	5	2.5
Cloranfenicol	2.5	2.5
Ampicilina	3	3
Amoxicilina con á.clavulánico	2.5/1.25	2.5/1.25
Cefoxitina	2.5	1.25
Trimetoprim con sulfametoxazol (T/S)	0.312/5.92	0.156/2.96
Tetraciclina	0.625	0.625

Anexo 3. Patrones de resistencia de los aislamientos de *S.enterica*

Serotipo	N° de aislamiento	Porcentaje del total de aislamientos	Patrón de resistencia	N° clases de antibióticos resistentes
Enteritidis	4	4.54	NA	1
	4	4.54	AMP+AMC+FOX	2
Anatum	1	1.13	TXS	1
	1	1.13	TXS+TE	2
Newport	1	1.13	TXS+TE	3
Brenedey	1	1.13	AMP	1
N/A	1	1.13	AMP+AMC+FOX	1
Total	13	14.73		
AMP=Ampicilina, AMC= Amoxicilina con ácido clavulánico, AZ=Azitromicina, NA= Ácido nalidíxico, CEF=Ceftiofur, FLOR=Florfenicol, GEN=Gentamicina, STR= Estreptomina, TE=Tetraciclina, TXS=Trimetoprim con Sulfametoxazol, CRO= Ceftriaxona, FOX= Cefoxitina, CL= Cloranfenicol				

Patrones en negritas= patrones que se repiten con diferentes serotipos

Anexo 4. Porcentajes totales de serotipos resistentes por cada familia de antibiótico.

Familia o clase	Antibiótico	N° de Serotipos resistentes (%)														Total de cepas resistentes n=79 (% resistencia)	% Total de resistencia por clase				
		Typhimurium n=6	Agona n=1	Enteritis n=50	Newport n=3	Anatum n=5	Panama n=2	NIA n=3	Bredenev n=1	Infrans n=5	Choleraealis n=1	Mandaka n=1	Heideberg n=1	Qualam n=1	Cranenburg n=1			Serftenberg n=3	Kentucky n=3	Bareilly n=1	
Cefalosporina 3ª Generación	Ceftriaxona	2 (33.33)	1 (100)	6 (12)	0	0	0	0	0	0	0	2 (40)	0	0	0	0	0	0	0	11 (13.92)	32.9
	Ceftiofur	2 (33.33)	1 (100)	7 (14)	0	0	0	0	0	3 (60)	1 (100)	0	0	0	1 (100)	0	0	0	0	15 (18.98)	
Macrólido	Azitromicina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (20)	0	0	0	1 (33.33)	0	0	0	2 (2.53)	2.53
Polimixina	Colistina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (33.33)	0	0	0	0	0
	Ácido nalidixico	2 (33.33)	0	45 (90)	1 (33.33)	2 (40)	0	0	0	2 (40)	1 (100)	0	1 (100)	0	0	0	0	0	0	54 (68.35)	68.35
Quinolonas	Ciprofloxacino	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Estreptomicina	3 (60)	1 (100)	0	0	1 (20)	0	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (100)	8 (10.12)	11.38
Aminoglicosidos	Gentamicina	0	0	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.26)	
	Meropenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbapenémico	Flortencol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.26)	26.57
	Chloramfenicol	3 (60)	0	4 (8)	0	2 (40)	0	0	0	3 (60)	1 (100)	0	1 (100)	0	1 (100)	3 (100)	0	1 (100)	20 (25.31)		
Aminopenicilinas	Ampicilina	1 (16.66)	1 (100)	16 (32)	0	0	0	1 (33.33)	1 (100)	4 (80)	1 (100)	0	1 (100)	0	1 (100)	0	3 (100)	0	31 (39.24)	60.75	
	Amoxicilina á clavulánico	1 (16.66)	0	8 (16)	0	0	0	2 (66.66)	0	1 (20)	0	0	1 (100)	0	1 (100)	0	3 (100)	0	17 (21.51)		
Cefalosporina 2ª Generación	Cefoxitina	1 (16.66)	0	10 (20)	0	0	0	2 (66.66)	0	0	0	0	0	0	0	0	3 (100)	0	16 (20.25)	20.25	
Antagonistas de la vía de folatos	Trimetoprim/Sulfametoxazol	4 (66.66)	1 (100)	41 (82)	2 (66.66)	4 (80)	0	0	0	3 (60)	1 (100)	0	1 (100)	0	1 (100)	3 (100)	0	1 (100)	62 (78.48)	78.48	
	Tetraciclina	4 (66.66)	1 (100)	42 (84)	2 (66.66)	4 (80)	0	1 (33.33)	0	3 (60)	1 (100)	0	1 (100)	0	1 (100)	3 (100)	3 (100)	1 (100)	67 (84.81)	84.81	