

Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA)

ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE SALMONELLA SP AISLADAS DE ALIMENTOS

*Dra.Yamila Puig Peña, Desagüe núm. 655 entre Ayestarán y Almendares, Plaza. Ciudad de La Habana. yamila@sinha.sld.cu

** Lic.Virginia Leyva Castillo, Calzada núm.856 entre 4 y 6, apto 7. El Vedado. Ciudad de La Habana. villy@sinha.sld.cu

***Lic Tamara Kely Martino Zagovalov. Galiano núm.153 apto 56 entre Animas y Virtudes, Centro Habana. Ciudad de La Habana.

*Especialista Primer Grado en Microbiología. Investigadora agregada. Instructora. INHA.

** Lic. en Bioquímica. Investigadora auxiliar. Instructora. Jefa del Departamento de Microbiología de los Alimentos (INHA).

*** *Master* en Microbiología. Investigadora Agregada. Instructora. INHA.

RESUMEN

La relación de la resistencia a los antimicrobianos con bacterias responsables de infecciones de origen alimentario en humanos ha sido reportada en numerosos estudios, especialmente, en patógenos como *Salmonella*. Con el objetivo de conocer los patrones de sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos, realizamos la determinación de susceptibilidad antimicrobiana a 12 antibióticos por el método de difusión por discos. Se estudiaron 63 cepas procedentes de provincias y el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Se encontró resistencia a ampicilina (19.0%), tetraciclina (12.7%) y carbenicilina (11.1%). Los patrones de resistencia fueron determinados por el programa WHONET 5.2, en el que se incluyeron las cepas con resistencia intermedia, y se mostraron 11 perfiles diferentes. Los más frecuentes abarcan 1, 2 y hasta 4 antibióticos lo cual es un indicador de la presencia en algunas cepas con multirresistencia; por tales razones se hace necesario ampliar el estudio e introducir métodos de susceptibilidad para la

determinación de concentración mínima inhibitoria y detección de posibles cepas portadoras de β -lactamasas de espectro ampliado.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana, *Salmonella*, alimento

INTRODUCCION

En los últimos años, diferentes publicaciones hacen referencia a la relación que puede tener la utilización de antibióticos en animales y el desarrollo de resistencias en microorganismos de interés en la medicina humana.¹

El empleo de antibióticos en animales plantea, inicialmente, la misma situación ecológica que en el Hombre; es decir, se ejerce una presión selectiva y, por lo tanto, también se seleccionan las bacterias mejor adaptadas (resistentes). A partir de aquí, se inicia un largo camino, que eventualmente puede llegar a la aparición de una infección humana producida por una bacteria o ligada a un gen de resistencia seleccionado con el uso de antibióticos en animales.² En algunos patógenos, como *Salmonella* que difícilmente se transfieren de persona a persona, se considera que los alimentos son la principal y más probable fuente de exposición humana a estas bacterias.¹ La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema sanitario muy importante y se necesita mayor información para lograr comprender este fenómeno, así como la amenaza que representa para la salud. Por todo lo anterior, se realizó este trabajo con el objetivo de evaluar el comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana e identificar los patrones de sensibilidad más frecuentes en cepas de *Salmonella sp.* aisladas de un variado grupo de alimentos en diferentes provincias del país.

MATERIAL Y METODO

En el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA) se estudiaron 63 cepas de *Salmonella sp.* aisladas de alimentos, procedente de los laboratorios de los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología y del INHA.

Cepas aisladas por provincias: Santiago de Cuba, 22; Villa Clara, 19; Matanzas, 5; Sancti Spiritus, 3; Camagüey, 2; Ciudad de La Habana (INHA), 12.

Número de cepas aisladas por tipo de alimento: jamón 5 cepas; pasta de bocadito 9; ensalada fría 16; pollo 11; masa de croqueta 7; mortadella 7; hamburguesa 8.

Las cepas de *Salmonella sp*, procedentes de provincia, fueron sometidas a pruebas de confirmación bioquímica.³ La determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó a través del método de difusión por discos de acuerdo con las normativas establecidas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards de los Estados Unidos.⁴

Antibióticos utilizados: Acido nalidíxico (NAL), Ampicillin (AMP), Cloramfenicol (CHL), Imipenem (IMP), Tetraciclina (TE), Trimethoprim/Sulfametoxazol (SXT), Carbenicilina (CAR), Norfloxacin (NOR), Gentamicina (GEN), Amikacina (AMK), Kanamicina (KA), Ceftriaxona (CRO), discos procedentes de la Firma Oxoid, Inglaterra.

Para el análisis de los datos, se utilizó el programa WHONET 5.2; los patrones de resistencia se conformaron a partir de las cepas resistentes y las que presentaron resistencia intermedia a los antibióticos.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con los resultados de estudios realizados en los últimos años, se ha constatado un incremento considerable de la resistencia a los antimicrobianos en el género *Salmonella*. En ensayos, realizados desde 1997 hasta el 2003, en los Estados Unidos en cepas aisladas de animales, la tasa de resistencia a un solo medicamento se ha mantenido relativamente estable en 9,5% de las muestras. Sin embargo, la cantidad de los tipos de *Salmonella* que son resistentes a más de 5 fármacos ha aumentado de 11% a 20%.⁵ Otros trabajos realizados en este país, refieren que 82% de los aislamientos en cepas procedentes de alimentos son resistentes al menos a un antimicrobiano aparejado a índices de resistencia elevados para antibióticos como tetraciclina, estreptomicina, sulfametoxazol y ampicilina.⁶

En nuestro país, no existen referencias de trabajos realizados con anterioridad donde se haya investigado la susceptibilidad en cepas de *Salmonella* aisladas

de alimentos. Según hemos podido constatar en la presente investigación (Tabla 1), la resistencia encontrada es bastante baja, comparada con resultados obtenidos por otros estudios^{7, 8, 9, 10} Solo se observó resistencia a 3 antimicrobianos (ampicilina, tetraciclina y carbenicilina); no obstante, es necesario apuntar que estas cifras presentan tendencia a aumentar notablemente si tenemos en cuenta que los porcentajes de susceptibilidad intermedia encontrados en estos mismos fármacos son más altos.

Los perfiles de resistencia identificados fueron distribuidos en 11 patrones (Tabla 2); de ellos, 3 de multiresistencia. Estos resultados son similares a los encontrados por otros investigadores.^{11, 12, 13}

En estudios realizados en diferentes países de Europa, en los Estados Unidos, China y México, se ha demostrado resistencia a ácido nalidíxico en *Salmonella*, tanto en cepas de procedencia clínica, como de animal y de origen alimentario, vinculadas a una susceptibilidad disminuida a fluoroquinolonas. Igualmente se han encontrado cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación portadoras de betalactamasas de espectro ampliado (BLEA).^{7, 9, 10} En los histogramas representados en las Figuras 1 y 2, podemos observar cómo un número importante de cepas presentaron halos de inhibición con medidas muy cercanas a los puntos de corte correspondientes a ceftriaxona y ácido nalidíxico. Por lo que se considera importante realizar estudios de estas cepas por método de dilución para determinar la concentración mínima inhibitoria, así como realizar pruebas para la determinación de BLEA.

ABSTRACT: Study of antimicrobial sensitivity in isolated strains of *Salmonella* sp in food.

The relationship between the antimicrobial resistance in food generated bacteria among humans, has been reported in countless studies, specially those referring to *Salmonella*. With the purpose to know the antimicrobial sensitivity in isolated food strains, we discovered the antimicrobial resistance to eleven antibiotics by disc diffusion methods. Sixty three strains were studied, all of them coming from provinces and from the Food, Nourish and Hygiene Institute. We found resistance to Ampicilina (19,0%), Tetraciclina (12,7%), and Carbenicilina (11,1%). The resistance patterns were determined

by the WHONET 5.2 program, in which we included strains with intermediate resistance, showing 11 different profiles. The most frequent are of one, two and even four different antibiotics, which indicates the presence of multi-resistance. All of this makes it necessary to widen up the study and to introduce susceptibility methods to determine the minimum inhibitory concentration and detection of possible strains with a wider spectrum of beta-lactamase.

Key Words: Antimicrobial resistance, Salmonella, Food.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 Torres Y, Zarazaga M. Repercusiones en el hombre del consumo de antibióticos por animales. Area de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de la Rioja, Avda. de la Paz 105, 26004 Logroño. [Citado 22 Nov 2005] Disponible en: http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0198/rev1.html

2 Wegener HC, Bager F, Aarestrup FM. Vigilancia de la resistencia antimicrobiana en el hombre, productos alimenticios y ganado en Dinamarca. Euro Surveill. 2(3):17-19; 1997.

3 Ewing WH. Edwards and Ewing's. Identification of enterobacteriaceae. La Habana: Ed. Revolucionaria. Instituto Cubano del Libro; 1971, p.25-60.

4 National Committee of Clinical Laboratory Standards: Methods for disk diffusion. M100-S12 (M2-A7). 22 (1):27-72; January 2002.

5 Estudio para analizar la resistencia antimicrobiana y buscar maneras para minimizarla; 10 de marzo de 2005. [Citado 20 Oct 2005]. Disponible en: http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2005/03/10/17103_print.php ,

6 Woondwosen A, Takur S, Davies P, Funk J, Altier C. Trends in antimicrobial resistance, phage types and integrons among Salmonella serotypes from pigs. 1997-2000.

7 Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2004. [Citado 28 Nov 2005]
Disponible en: <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/53/6/997>,

8 Vázquez NJ, Córdova BC, López VY, Mancera MA. Identificación del gene de la integrasa tipo 1 y perfil de resistencia antimicrobiana en Salmonella enteritidis. VET-UY 2004. [Citado 25 Nov 2005] Disponible en: http://www.vet-uy.com/articulos/artic_micro/001/micro001.htm

9 Margaret A, Dale D, Thomas E, Daniel H, John M, Clive Gay, Lynne G. Changes in Antimicrobial Resistance among *Salmonella enterica*, Serovar Typhimurium Isolates from Humans and Cattle in the Northwestern United States, 1982–1997. Washington State University, Pullman, Washington, USA. [Citado 20 Nov 2005] Disponible en:
<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no6/davis.htm>

10 Paz C, Nunes R, Mendes C and The RESISTNET Group. Multicenter evaluation of Resistance patterns of Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Salmonella spp. and Shigella spp. Isolated from clinical specimens in Brazil: RESISTNET Surveillance Program. Braz J Infec Dis. 2001. [Citado 28 Nov 2005].
Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-8670200100100002&script=sci_arttex&tlng=n

11 Threlfall E, Fisher I, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M and col. Antimicrobial drug resistance in isolates of Salmonella enterica from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000: results of international multi-centre surveillance. Euro Surveill 2004. [Citado 28 Nov 2005]. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/em/v08n02/0802-224.asp>

12. Chen S, Zhao S, White D, Schroeder CM, Lu R, Yang H. *et al.* Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from retail meats. *Applied and Environmental Microbiology*. 70:1-7;2004.

13. Paz C, Núñez R, Mendes C and the RESISTNET Group. Multicenter evaluation of resistance patterns of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. isolated from clinical specimens in Brazil: RESISTNET Surveillance Program. *Braz J Infec Dis*. 2001. [Citado 28 Nov 2005].

Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-8670200100100002&script=sci_arttex&tlng=n,

ANEXO

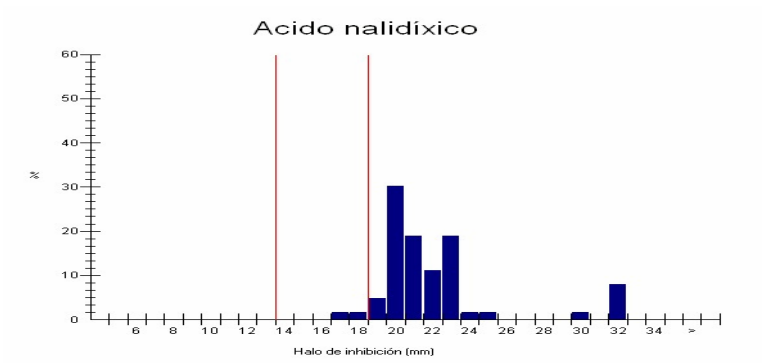
**Tabla 1. Comportamiento de la susceptibilidad en las cepas estudiadas.
Número de cepas y porcentajes según categoría**

Antibiótico	Resistente	Intermedio	Sensible
	%	%	%
NAL	0.0	3.2	96.8
AMP	19.0	4.8	76.2
CHL	0.0	1.6	98.4
TE	12.7	27.0	60.3
IMP	0.0	0.0	100.0
CAR	11.1	42.9	46.0
SXT	0.0	1.6	98.4
NOR	0.0	0.0	100.0
GEN	0.0	0.0	100.0
KA	0.0	0.0	100.0
AMK	0.0	0.0	100.0
CRO	0.0	6.3	93.7

Tabla 2. Distribución de los patrones de resistencia

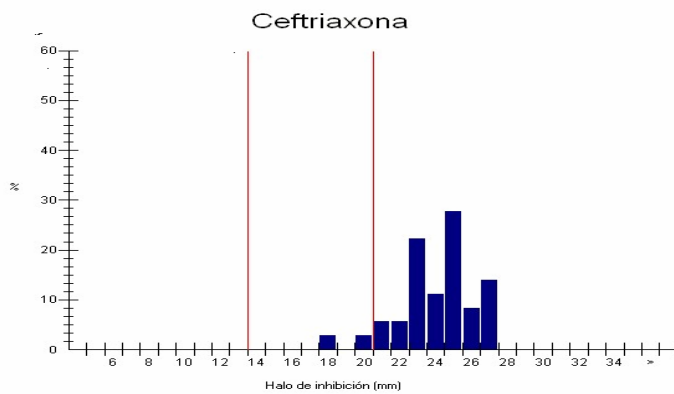
Núm.	Patrón de Resistencia	Total de cepas
1	CRO	4
2	CAR	12
3	TE	3
4	AMP	4
5	TE-CAR	10
6	TE-SXT	1
7	AMP-CAR	2
8	NAL-TE	1
9	AMP-TE-CAR	8
10	NAL-TE-CAR	1
11	AMP-CHL-TE-CAR	1

Figura 1. Relación de la medida del halo de inhibición y el porcentaje de cepas estudiadas para ácido nalidíxico



Leyenda: Las líneas rojas corresponden a los puntos de corte.

Figura 2. Relación de la medida del halo de inhibición y el porcentaje de cepas estudiadas para Ceftriaxona



Leyenda: Las líneas rojas corresponden a los puntos de corte.