



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA- ALIMENTOS**  
**ESPECIALIDAD EN TECNOLOGÍA E INOCUIDAD DE LOS**  
**ALIMENTOS**



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

**Búsqueda de *Salmonella* spp en un sistema de producción de hortalizas y su resistencia a antibióticos**

**TESINA PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE:**  
**Especialidad en Tecnología e Inocuidad de los Alimentos**

**PRESENTA:**

**Q.F.B. Cinthya Lizbeth Bravo Pantaleon**

**DIRECTOR DE TESINA:**

**D. en C. Fausto Tejeda Trujillo**

**CO-DIRECTOR DE TESINA:**

**D. en C. Raúl Ávila Sosa Sánchez**

**OCTUBRE 2020**

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	i
INDICE DE TABLAS .....	ii
I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCIÓN .....	2
III. MARCO TEÓRICO .....	3
1. Hortalizas .....	3
2. Enfermedades Transmisibles por Alimentos (ETA´s) .....	4
3. Calidad sanitaria e Inocuidad microbiana de los alimentos.....	5
4. Microorganismos en los alimentos .....	6
4.1 Factores que influyen en el crecimiento microbiano en los alimentos .....	7
5. Microorganismos de interés sanitario .....	10
6. Resistencia antimicrobiana.....	12
IV. JUSTIFICACIÓN.....	14
V. OBJETIVOS .....	15
General:.....	15
Particulares:.....	15
VI. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO .....	16
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
VIII. METODOLOGÍA .....	18

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
X. CONCLUSIONES .....	26
XI. SUGERENCIAS.....	27
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	28
XIII. ANEXOS.....	32
Anexo 1 .....	32

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización de Tlacotepec, Guerrero (Col. Wikipedia, 2020).	18
Figura 2. Etapas para aislamiento de <i>Salmonella</i> spp (Modificación de NOM-210-SSA1-2014).	19
Figura 3. Pasos para aislamiento de <i>E. coli</i> de manera cualitativa (Modificación de NOM-210-SSA1-2014).	20
Figura 4. Positividad de <i>Salmonella</i> spp en un sistema de producción de hortalizas.	21
Figura 5. Resistencia a antibióticos de cepas recuperadas de <i>Salmonella</i> spp.	23
Figura 6. Número de antibióticos resistentes para cada cepa de <i>Salmonella</i> spp recuperada.	24
Figura 7. Positividad de <i>E. coli</i> como indicador en un sistema de producción de hortalizas.	25
Figura 8. Sistema de producción de hortalizas.	32
Figura 9. Horticultores en cultivo de hortalizas.	33
Figura 10. Cultivo de lechuga y cilantro.	33
Figura 11. Cultivo de lechuga.	34
Figura 12. Cultivo de lechuga listo para ser cosechado.	34

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Equipos empleados.....17

Tabla 2. Métodos utilizados.....17

## I. RESUMEN

Las hortalizas son alimentos mundialmente consumidos y aceptados por la mayoría de las personas, sin embargo, comúnmente se ven relacionados con Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA's), implicando un gran riesgo a la salud de los consumidores. Es por eso que en este trabajo se realizó la búsqueda de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* como microorganismo indicador, y la resistencia a antibióticos de cepas recuperadas de *Salmonella* spp en un sistema de producción de hortalizas. Se analizaron un total de 41 muestras (cilantro, lechuga, suelo de cilantro y lechuga, manos de horticultor), de las cuales el 17% fue positivo para *Salmonella* spp, siendo el suelo de lechuga y cilantro las muestras con mayor positividad, aunado a esto, de las cepas recuperadas, el 71% mostró multirresistencia. El 100% de las cepas de *Salmonella* spp mostraron resistencia a Carbenicilina, 71% para Amikacina y Ampicilina y 57% para Nitrofurantoina. Se encontró presencia de *E. coli* en el 7.3% de las muestras, siendo el cilantro la hortaliza con mayor positividad. Los resultados obtenidos demuestran evidentes malas prácticas agrícolas e higiénicas en el sistema de producción de hortalizas y un riesgo actual para los consumidores, expuestos a contraer ETA's.

## II. INTRODUCCIÓN

Las hortalizas son un conjunto de plantas cultivadas generalmente en huertas o regadíos, que se consumen como alimento, ya sea de forma cruda o cocida, estas son una parte muy importante de la dieta; pero debido a su forma de cultivo, pueden contener bacterias dañinas, como *Salmonella*, diferentes patotipos de *E. coli*, *Shigella* y *Listeria* que pueden enfermar a las personas que las consumen, ocasionando ETA's (CDC,2019).

Se estima que las ETA's afectan a 1 de cada 10 personas a nivel mundial es decir 600 millones de personas enferman, de las cuales 420,000 mueren (OMS, 2015). En México las enfermedades diarreicas agudas se sitúan en 2° lugar, en el año 2016 se registraron 4,885,562 casos, siendo *Salmonella* una de las responsables de estas enfermedades (Ruiz, 2016). Mientras que en los Estados Unidos se estima que *Salmonella* causa alrededor de 1.35 millones de enfermedades, 26,500 hospitalizaciones y 420 muertes cada año (CDC, 2019). Por esta razón las ETA's constituyen gran problema de salud pública, sin embargo, este no es el único problema, en los últimos años se ha observado un incremento en la resistencia a antibióticos de muchas bacterias, entre las que sobresale *Salmonella*, debido a que actualmente esta bacteria es considerada un patógeno ambiental, es decir que se encuentra en cualquier en cualquier lugar. El uso desmedido de medicamentos ha ocasionado que muchas bacterias se vuelvan resistentes a estos y que la eficiencia de los medicamentos vaya en declive (Quesada y col., 2016).

Por tal motivo es preciso realizar investigaciones acerca de la presencia de *Salmonella*, así como su resistencia actual a antibióticos, en alimentos que se consumen de manera cotidiana como las hortalizas, de manera particular en la parte inicial de la cadena alimentaria, la producción.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 1. Hortalizas

Las hortalizas son un conjunto de plantas cultivadas generalmente en huertas o regadíos, se consumen de forma cruda o cocida. El término hortaliza incluye a las verduras y a las legumbres verdes (Acosta y col, 2004). Estas son de mucha importancia para la alimentación y buena nutrición de los consumidores, sus hojas, frutos, raíces, tallos y flores son consumidos para satisfacer las necesidades del organismo por su alto contenido de minerales, vitaminas y fibra que contribuyen a mejorar y mantener la buena salud. Proveen energía para trabajar, jugar, crecer y también proporcionan protección a cada uno de los órganos del cuerpo contra las enfermedades (FAO, 2011).

Las hortalizas son una parte muy importante de la dieta. Casi todas son ricas en caroteno y vitamina C y contienen importantes cantidades de calcio, hierro y otros minerales. Su contenido de vitaminas del complejo B generalmente es pequeño. Por lo general, suministran sólo un poco de energía y muy poca proteína (Latham, 2002).

En los países en desarrollo, casi todos los tipos de hortalizas se consumen poco después de su cosecha; a diferencia de los cereales, los tubérculos, las raíces feculentas, las legumbres, las nueces, ellas rara vez se almacenan por períodos prolongados, con unas pocas excepciones como el zapallo y otras calabazas (Latham, 2002). No es raro que las poblaciones rurales de Asia, América Latina y África, tengan que recolectar una proporción importante de las hortalizas que consumen. Sin embargo, con una mayor población, la disponibilidad de frutas y hortalizas silvestres está en disminución (Latham, 2002).

Las hortalizas se obtienen de la granja, la huerta casera o el mercado; pero por su forma de cultivo algunas veces, las frutas y verduras crudas contienen bacterias dañinas, como *Salmonella*, diferentes patotipos de *E. coli* y *Listeria*, que pueden enfermar a las personas que las consumen. En los Estados Unidos, casi la mitad de

las enfermedades alimentarias son causadas por la presencia de bacterias en estos productos frescos (CDC, 2019).

## **2. Enfermedades Transmisibles por Alimentos (ETA's)**

Las ETA's son aquellas que se originan por la ingestión de alimentos, incluida el agua, que contienen agentes patógenos en cantidades tales que afectan la salud del consumidor a nivel individual o en grupos de población (SAGARPA, 2013). Constituyen un problema mundial, en las últimas décadas se ha complicado por factores asociados a cambios globales. Entre estos cambios se pueden señalar: el crecimiento de la población, la pobreza, la urbanización en los países subdesarrollados, la aparición de nuevos agentes causantes o nuevos mutantes con una mayor virulencia, éstas, aunque difíciles de cuantificar, se estiman relevantes en la salud de los mexicanos. En particular, las enfermedades agudas de naturaleza infecciosa transmitidas por bacterias, parásitos y virus, en las que una de las vías de transmisión son los alimentos, son causa importante de morbilidad y mortalidad. Sin embargo, también se deben tener en cuenta las enfermedades crónicas, en las cuales los contaminantes químicos (toxinas, plaguicidas, hormonas, antibióticos, entre otros) ingeridos por medio de alimentos contaminados consumidos por períodos largos, se acumulan en los organismos y son factores de riesgo, ya que al aumentar las expectativas de vida se manifiestan en la edad madura, afectan la calidad de vida, el desempeño productivo y finalmente son causa de muerte (SAGARPA, 2013).

Las ETA's continúan siendo un importante problema de Salud Pública en el mundo, especialmente en los llamados "países en vías de desarrollo". Se estima que tres millones de personas de todo el mundo mueren cada año a consecuencia de ETA's y que millones enferman. La aparición de tales enfermedades puede incrementarse fácilmente y convertirse en una situación de emergencia relacionada con la inocuidad de los alimentos (FAO, 2010).

El riesgo de padecer ETA's es mayor en los países de ingresos bajos y medianos, y está vinculado a la preparación de alimentos con agua contaminada, la falta de

higiene, condiciones inadecuadas en la producción y el almacenamiento de alimentos, el bajo nivel de alfabetismo y educación, así como la insuficiencia de leyes en materia de inocuidad de los alimentos o su falta de aplicación (OMS, 2015).

Las ETA's pueden causar síntomas de corta duración, como náuseas, vómitos y diarrea (afección que generalmente se denomina "intoxicación alimentaria"), pero también pueden causar enfermedades más prolongadas, como cáncer, insuficiencia renal o hepática y trastornos cerebrales y neurales. Estas enfermedades pueden ser más graves en los niños, las embarazadas, los ancianos y las personas con el sistema inmunitario debilitado. Los niños que sobreviven algunas de las enfermedades de transmisión alimentaria más graves pueden sufrir retraso del desarrollo físico y mental, que tiene efectos irreversibles en su calidad de vida (OMS, 2015).

### **3. Calidad sanitaria e Inocuidad microbiana de los alimentos**

Un alimento de buena calidad sanitaria es aquel que no solo se encuentra libre de agentes patógenos, este también debe integrar otras cualidades o atributos que permitan satisfacer demandas de toda persona tales como nutritivo, idóneo, sensorialmente aceptable, inocuo, fresco y de larga vida de anaquel; todos estos atributos deben procurarse desde su generación en donde quiera que esta ocurra, hasta su servicio y consumo, esto debe ser norma y objetivo de quienes producen, preparan, procesan y/o sirven alimentos, como una responsabilidad social (Fernández-Escartín, 2008).

La Inocuidad microbiana de los alimentos es una ciencia, cuyo objetivo es ayudar a la elaboración de alimentos inocuos o de buena calidad sanitaria. Se debe considerar sus características generales, ecología, resistencia al medio ambiente, capacidad para sobrevivir y desarrollar en los propios alimentos, las consecuencias de ese desarrollo y los factores que influyen en todo esto (Tejeda-Trujillo, 2013).

Es importante destacar que en México la cultura de la inocuidad de los alimentos requiere ser reforzada en todos los niveles de la producción de alimentos: desde el

campo hasta la mesa. Con la educación adecuada y suficiente en cada uno de los participantes de la cadena alimentaria se tomará conciencia de las acciones necesarias para garantizar la prevención y salud de las personas. La relación entre calidad e inocuidad es de suma importancia debido a que por ella se puede prevenir las ETA's que ya son un problema de Salud Pública (SAGARPA, 2013).

#### **4. Microorganismos en los alimentos**

La configuración de los riesgos microbianos en los alimentos se inicia con el proceso de contaminación; el microorganismo de interés debe ingresar al alimento, esto en la mayoría de las ocasiones ocurre de manera espontánea (Fernández-Escartín, 2008). Las principales fuentes de contaminación en alimentos son:

- Agua: vehículo potencial de microorganismos a los alimentos, en ocasiones el agua entra en contacto directo con los alimentos, lo que facilita la contaminación; hay que tener en cuenta que el agua es materia prima o ingrediente en la formulación de alimentos o se incorpora como hielo.
- Suelo: importante reservorio de microorganismos, generalmente en esta no se observa actividad microbiana a menos que el grado de humedad rebase un límite. El tipo y número de microorganismos en el suelo depende de su composición, estación del año, clima, temperatura, exposición al sol, nivel de profundidad, humedad y pH.
- Aire: considerando que el aire es la atmosfera que rodea, en los actos de toser, estornudar y frecuentemente hablar se descargan microorganismos al ambiente, los cuales se dispersan y posterior a esto sedimentan sobre los alimentos y utensilios de procesamiento; de igual forma el acto de barrer, y aún de caminar, provoca la suspensión en la atmosfera de los microorganismos de la tierra.
- Utensilios, mobiliario, equipo: toda superficie que entre en contacto con los alimentos, se convierte en una fuente potencial de contaminación. El simple contacto de un producto con casi cualquier clase de superficie propicia la transferencia de microorganismos que aquel contenga. Las tablas usadas en las cocinas para cortar alimentos, de madera o de otros materiales como plástico,

son reservorios y fuentes de contaminación potencial de microorganismos. Los utensilios y equipos son también fuentes potenciales de contaminación por sustancias químicas tóxicas (plomo, por ejemplo) y componentes propios que llegan a desprenderse con el uso. Los materiales de empaque y los llamados trapos de limpieza, son frecuentes reservorios de microorganismos y por ende fuentes de contaminación indirecta a los microorganismos.

- Materias primas/ aditivos: estos pueden contener microorganismos patógenos y deterioradores lo que llega a ser decisivo en la calidad sanitaria de un alimento.
- Fauna: cualquier animal que no es utilizado como alimento para el hombre forma parte de la llamada fauna nociva. Su importancia sanitaria radica en el potencial que tienen para actuar como vehículos activos o pasivos de microorganismos patógenos, y aportar materia extraña.
- Humana: el hombre es un portador potencial de prácticamente todos los patógenos que pueden ser transmitidos por los alimentos, puede aportar microorganismos a partir de la piel, uñas, mucosa nasal y bucofaríngea, contenido intestinal, descargas broncopulmonares, orina, cabellos, barba y vellos. Las manos son una vía de contaminación importante ya que el individuo recibe microorganismos al tocar los alimentos contaminados, y también los deposita al tocar otros alimentos, las manos son una de las vías de contaminación más frecuentes y peligrosas de microorganismos en los sitios de preparación de alimentos (Fernández-Escartín, 2008).

#### 4.1 Factores que influyen en el crecimiento microbiano en los alimentos

La capacidad de los microorganismos para crecer o multiplicarse en un alimento está determinada por el ambiente alimentario y el medio en que se almacene el alimento. Cuando los microorganismos crecen en los alimentos, causan diversos grados de cambio en las características de los alimentos como resultado de su actividad metabólica. Algunos de estos cambios, como los que tienen lugar durante la fermentación, son deseables, mientras que otros, como los que causan el deterioro de los alimentos y la intoxicación alimentaria, son indeseables (Hamad,

2012). Dichos factores se dividen en intrínsecos y extrínsecos. A los primeros se refieren al alimento son:

- Integridad: cualquier daño que afecte la integridad de los tejidos del alimento propicia al ingreso y en general, la actividad microbiana.
- Nutrientes disponibles: la capacidad para aprovechar un cierto nutriente es una cualidad característica de todo microorganismo silvestre. El tipo de nutrientes y su concentración relativa, favorece la actividad de un cierto grupo microbiano mientras que podría resultar inconveniente para otro. A mayor disponibilidad de nutrientes, mayor será la actividad microbiana.
- pH: afecta la capacidad de un microorganismo para sobrevivir o multiplicarse en un alimento o en un medio de cultivo; tiene efectos fundamentalmente en los procesos de nutrición, respiración y multiplicación, es decir, donde se requiere de la actividad enzimática.
- Actividad de agua ( $A_w$ ): el agua biológicamente disponible en el alimento es necesaria para el crecimiento microbiano ya que ayuda en el transporte de nutrientes y elimina los materiales de desecho; cada grupo de microorganismos tiene un valor de  $A_w$  óptimo y también un mínimo.
- Potencial de óxido-reducción (Eh): los microorganismos presentan diferentes grados de sensibilidad a este potencial por lo que un cambio en el Eh de su entorno tiene efectos desfavorables, por ejemplo, los microorganismos aerobios necesitan valores de Eh positivos para poder crecer, mientras que los anaerobios precisan de valores Eh negativos.
- Sustancias antimicrobianas: la presencia de estas sustancias contribuye a seleccionar el tipo y abundancia de microflora presente en el alimento (Fernández-Escartín, 2008).

En cuanto a los factores intrínsecos microbianos son:

- Número y tipo de microorganismo: cuando existe una gran heterogeneidad de la flora microbiana, las posibilidades de desarrollo e incluso de sobrevivencia se

hacen dependientes de factores como la adaptación, condición de vitalidad o efectos antagónicos al desarrollar.

- Adaptación al substrato: en la medida en que un microorganismo se encuentre adaptado al substrato que contamina, más pronto entrará en actividad.
- Estado fisiológico: un daño celular en el microorganismo tiene efectos negativos, por ejemplo, la afectación de su pared celular, la integridad y permeabilidad de la membrana o la síntesis de RNA y el DNA; esto conlleva al microorganismo a la muerte o a tener daños subletales, es decir una disminución en su desarrollo o pérdida de adaptación.
- Asociaciones microbianas: cuando un alimento se encuentra contaminado por múltiples microorganismos, cada especie o grupo exhibe distinto potencial para sobrevivir o desarrollarse, la relación que se establece favorece en ocasiones a uno de los grupos (sinergismo), interfiere con su desarrollo o provoca su inactivación (antagonismo) (Fernández-Escartín, 2008).

Los factores extrínsecos son:

- Temperatura: los microorganismos tienen una temperatura óptima y un rango de temperatura de crecimiento, por ello la temperatura juega un papel importante en el desarrollo de estos; por ejemplo, los termófilos crecen a una temperatura relativamente alta (45 a 70°C), los mesófilos crecen a temperatura ambiente (10 a 45°C) y los psicrófilos crecen a temperatura fría (-5 a 20°C).
- Composición de la atmósfera: algunos gases como el nitrógeno, el oxígeno y el bióxido de carbono afectan el metabolismo microbiano en condiciones ordinarias (y en la aplicación de tecnologías para preservar la frescura de los alimentos).
- Humedad relativa: el nivel de humedad en el ambiente promueve la actividad microbiana sobre la superficie de los alimentos (Ray y Bhunia, 2010).

## 5. Microorganismos de interés sanitario

Los microorganismos de interés sanitario se clasifican en:

- Indicadores
- Deterioradores
- Útiles para el hombre
- Patógenos

Los microorganismos indicadores son aquellos cuya presencia o número indican malas prácticas higiénicas, la presencia de algunos de ellos en el alimento sugiere lo siguiente:

- a) Que se han dado facilidades para que ocurra o esté ocurriendo algún grado de actividad microbiana.
- b) Constituyen evidencia de contaminación posterior a la aplicación de tratamientos térmicos.
- c) Su concentración y los productos de su metabolismo indican falta de frescura.
- d) Son indicadores de un riesgo potencial a la salud (Fernández-Escartín, 2008).

Por ejemplo, según Fernández Escartín (2008) el mejor indicador de contaminación fecal en alimentos crudos o mínimamente procesados es *Escherichia coli* (*E. coli*) la cual es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, presente en el intestino del hombre y animales de sangre caliente, por lo que su presencia en una muestra de alimento no es deseable. Este microorganismo es miembro de la familia Enterobacteriaceae que incluye diferentes géneros de interés sanitario (*Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*, entre otras). La mayoría de los aislamientos de *E. coli* no son considerados como patógenos, aunque pueden causar severas infecciones en personas inmunocomprometidas, en niños pequeños y ancianos. Ciertas cepas al ser ingeridas, pueden causar enfermedades gastrointestinales en individuos sanos. Se considera como un microorganismo común en intestino, pero existen cepas patógenas que afectan al ser humano como el serotipo O157:H7, ocasionando graves cuadros clínicos que pudieran ocasionar la muerte. Produce ácido en agar

que contenga 5-bromo-4-cloro-3-indol-b-D glucuronido y es b-glucuronidasa positivo incubado a  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por  $22\text{h} \pm 2\text{h}$  (NOM-210, 2015).

Los microorganismos patógenos son aquellos que causan daño ya sea por la producción de toxinas o por la acción de ellos mismos, un clásico ejemplo de microorganismo patógeno es *Salmonella*. Es una bacteria que fue aislada por primera vez por el científico estadounidense Dr. Elmer Salmon, y se sabe que ha causado enfermedades durante más de 125 años. La enfermedad que las personas contraen por una infección por *Salmonella* se llama salmonelosis (CDC,2019).

La mayoría de las personas infectadas con *Salmonella* desarrollan diarrea, fiebre y calambres abdominales entre 12 y 72 horas después de la infección. La enfermedad generalmente dura de 4 a 7 días, y la mayoría de las personas se recuperan sin tratamiento. En algunos casos, la diarrea puede ser tan grave que el paciente necesita ser hospitalizado. En estos pacientes, la infección por *Salmonella* puede extenderse desde los intestinos al torrente sanguíneo y luego a otros sitios del cuerpo. En estos casos, *Salmonella* puede causar la muerte a menos que la persona sea tratada con antibióticos de inmediato. Los ancianos, los bebés y las personas con un sistema inmunitario debilitado tienen más probabilidades de tener una enfermedad grave (CDC, 2019).

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos de América, estima que *Salmonella* causa alrededor de 1.35 millones de enfermedades, 26,500 hospitalizaciones y 420 muertes en los Estados Unidos cada año. Entre estas enfermedades, alrededor de 1.1 millones se adquieren en los Estados Unidos. Entre las enfermedades adquiridas en los Estados Unidos, el CDC estima que los alimentos son la fuente de aproximadamente 1 millón de enfermedades, 19,000 hospitalizaciones y 380 muertes (CDC, 2019). En América Latina, Asia y África, la incidencia reportada de salmonelosis es de 200 a 500 casos por 100,000 habitantes por año. La transmisión de *Salmonella* spp de persona a persona es poco frecuente, por lo que se considera que los alimentos son la principal fuente de exposición humana (Quesada y col., 2016).

## 6. Resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antibióticos es un problema global y complejo, en este se incluyen un gran número de especies bacterianas de importancia médica y es de difícil control por su multicausalidad. El consumo masivo de antibióticos en los últimos 50 años ha creado un ambiente favorable a la selección de bacterias que soportan los efectos tóxicos de los antimicrobianos. Los cambios en la ecología de las infecciones nosocomiales observadas en los hospitales desde la introducción de los agentes antimicrobianos han sido ampliamente documentados. Entre los factores que han contribuido al aumento de la resistencia a los antibióticos están la concentración de la población en centros urbanos, el inadecuado control de las infecciones en los hospitales, la tendencia a internar en hospitales a los pacientes seriamente enfermos, la migración masiva a través de las regiones del globo y el uso inadecuado de los antibióticos, entre otros (Benavides y col., 2005).

Las bacterias patógenas de la época preantibióticos eran raramente resistentes. Actualmente 70% de las bacterias responsables de las infecciones nosocomiales son resistentes al menos a uno de los antibióticos más comúnmente utilizados para tratarlas. El uso irracional de los antimicrobianos ha contribuido al aumento en la resistencia bacteriana. Las bacterias se adaptan rápidamente a las condiciones de su medio, aun en la presencia de estos fármacos (Benavides y col., 2005).

En los últimos años, diversos estudios han reportado un aumento de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella* spp aisladas de alimentos de origen animal. La creciente resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp ha sido atribuida al uso extenso de antibióticos, tanto en la terapéutica humana como animal. En la industria pecuaria en particular, los antibióticos no solo son utilizados con fines terapéuticos, sino que, además, se utilizan como promotores de crecimiento en dosis subterapéuticas durante largos periodos (Quesada y col., 2016).

En una revisión bibliográfica realizada por Quesada y col. en 2016, encontraron que los aislamientos de *Salmonella* spp aislados en los estudios incluidos mostraron, con frecuencia, resistencia a antibióticos que son usados como primera opción en

el tratamiento de salmonelosis en humanos, como cloranfenicol, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol y ceftriaxona. De acuerdo con estos resultados, los aislamientos de *Salmonella* spp presentaron resistencia a cefotaxima con menor frecuencia que a otros antibióticos de uso frecuente en la salmonelosis, por lo que este antibiótico podría resultar la mejor opción terapéutica para iniciar un tratamiento empírico.

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la resistencia antimicrobiana ha tomado mucha importancia debido a que dificulta en gran medida las opciones de tratamiento para personas enfermas. *Salmonella* es una de las bacterias que en los últimos años ha mostrado un incremento en su resistencia, esto puede deberse a muchos factores, pero sin duda uno de los más importantes es el uso descontrolado de antibióticos que si bien ahora no son de venta libre, esto no se cumple por completo; por ello es de importancia poder conocer su resistencia antimicrobiana actual, así como su misma presencia en alimentos que se consumen todos los días como lo son las hortalizas. La mayoría de las hortalizas no llevan un proceso de cocción, en la mayoría de los casos son consumidas crudas, con un previo proceso de lavado, si este no se lleva a cabo de manera correcta puede ocasionar serios problemas de salud en la población.

## V. OBJETIVOS

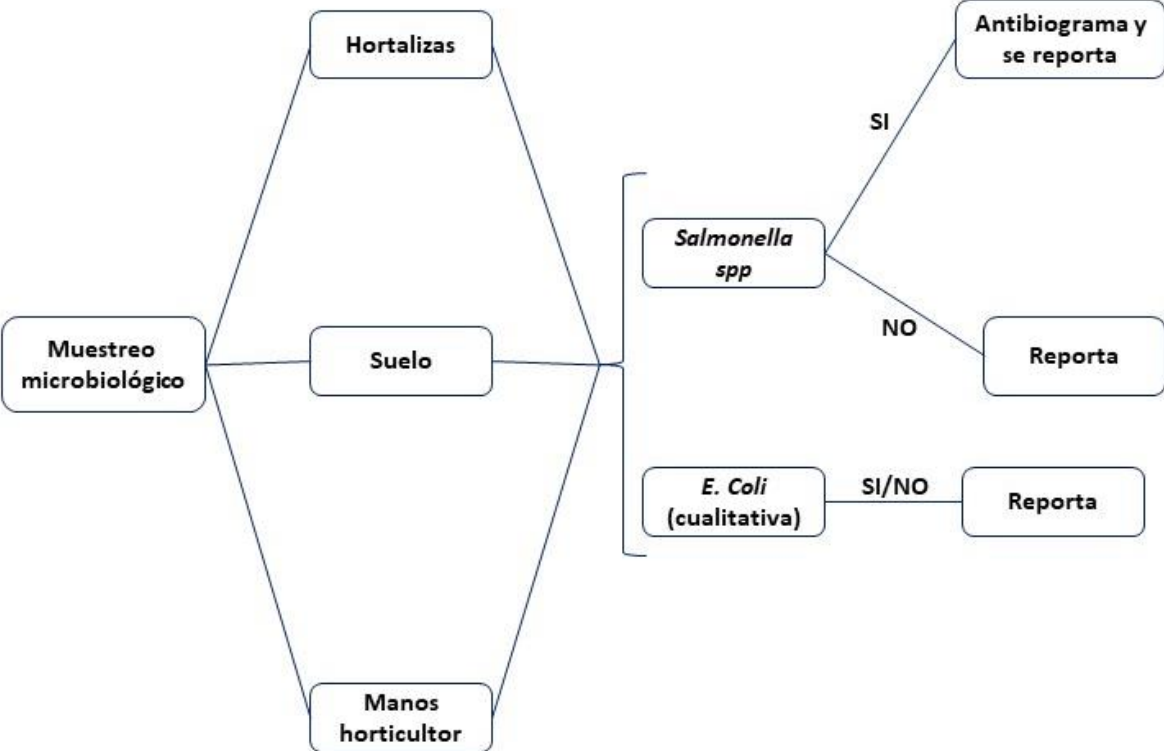
### General:

- Buscar la presencia de *Salmonella* spp en un sistema de producción de hortalizas y su resistencia a antibióticos.

### Particulares:

- Determinar la presencia de *Salmonella* spp a partir de un sistema de producción de hortalizas.
- Conocer la resistencia a antibióticos de las cepas recuperadas de *Salmonella* spp.
- Determinar la presencia de *E. coli* como indicador de contaminación fecal.

VI. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

Material de vidrio y reactivos de grado analítico, los necesarios para cada determinación.

**Tabla 1.** Equipos empleados

Equipo	Modelo	Marca
Homogeneizador peristáltico	Stomacher 400	Laboratory blender
Agitador Vortex Genie 2	G-560	Scientific Industries
Agitador vortex Maxi Mix II	M37615	Thermo scientific
Incubadora 1	-----	Terlab
Estufa 2	-----	Felisa
Autoclave	Presto 21	Industrias STEELE de México
Contador de colonias	Q-14	SOL-BAT Aparatos Científicos
Baño maría	440527	Riossa
Balanza digital	Traveler TA302	OHAUS Corporation

**Tabla 2.** Métodos utilizados

Determinación	Técnica	Referencia
Toma, manejo y transporte de muestras de alimentos	La que se indique en cada caso	NOM-109-SSA1-1994
Preparación de diluciones	Diluciones decimales	NOM-110-SSA1-1994
Microorganismos indicadores	Vaciado en placa	NOM-210-SSA1-2014
<i>Salmonella</i> spp	-Etapas de pre-enriquecimiento; enriquecimiento selectivo; aislamiento en medios de cultivos selectivos y diferenciales, identificación bioquímica	NOM-210-SSA1-2014
<i>E. coli</i>	Aislamiento directo	NOM-210-SSA1-2014

## VIII. METODOLOGÍA

Se llevó a cabo la investigación de la presencia de *Salmonella* spp y *E. coli* como microorganismo indicador en un sistema de producción de hortalizas (ver Anexo 1), el cual se encuentra ubicado en Tlacotepec (Figura 1), municipio de General Heliodoro Castillo, Guerrero, México, cuya geolocalización es la siguiente: Latitud: 17.788422 y Longitud: -99.978659.



**Figura 1.** Mapa de localización de Tlacotepec, Guerrero (Col. Wikipedia, 2020).

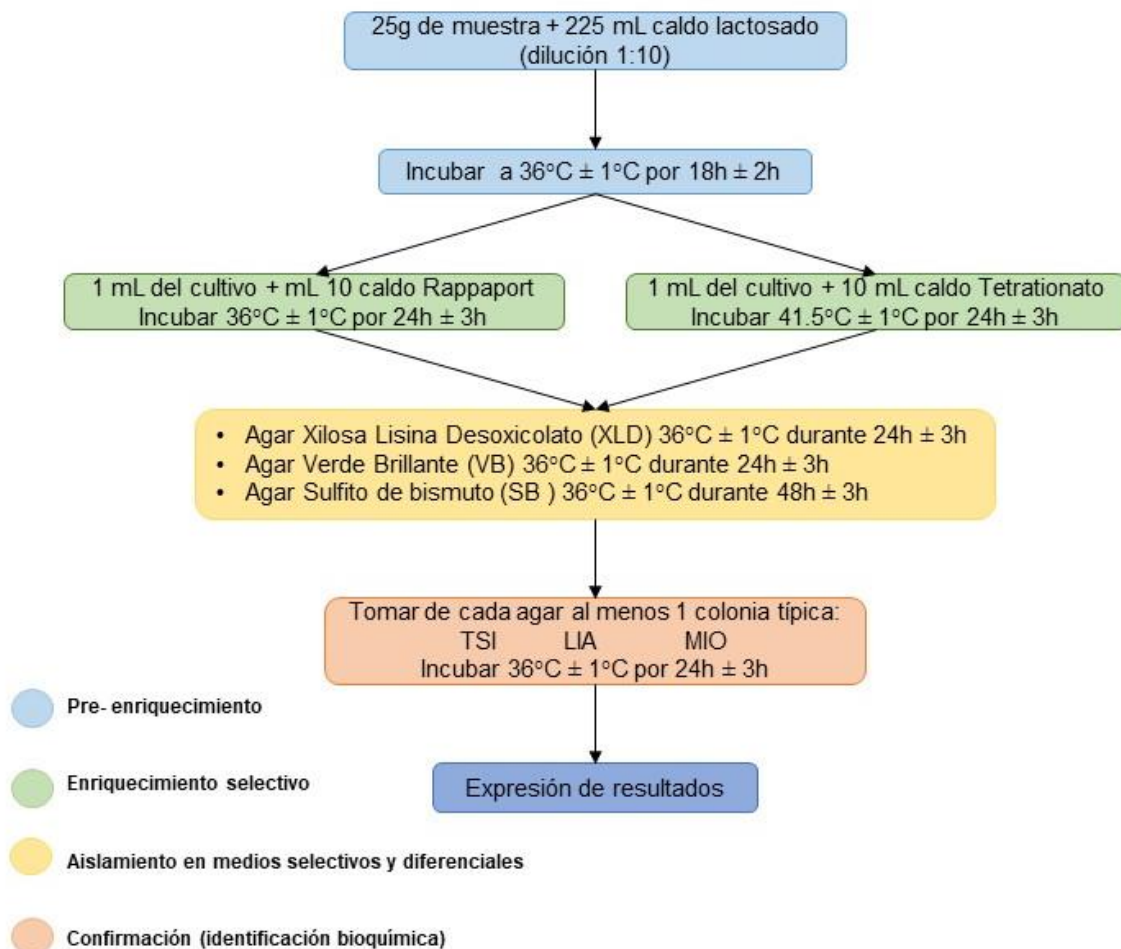
Se realizó el muestreo de hortalizas (lechuga y cilantro), suelo (tierra de hortalizas) y manos de horticultor (10 muestras por cada objeto de estudio, a excepción de las manos), con un total de 41 muestras recolectadas. La recolección de hortalizas y suelo se realizó mediante un muestreo aleatorio simple, las hortalizas se seleccionaron de acuerdo a su grado de madurez, es decir, aquellas que se encontraban listas para su cosecha, mientras que para el suelo se muestreo aquel que se situaba junto a la hortaliza recolectada, aplicando los criterios de la NOM-109-SSA1-1994. Posteriormente se procedió con el primer paso para la búsqueda de *Salmonella* spp (Figura 2) en un periodo no mayor a 1 hora después de su obtención. La técnica para la búsqueda de *Salmonella* spp se hizo de acuerdo a la NOM-210-SSA1-2014 en donde se describen 4 etapas:

- Etapa de pre-enriquecimiento;
- Enriquecimiento selectivo;

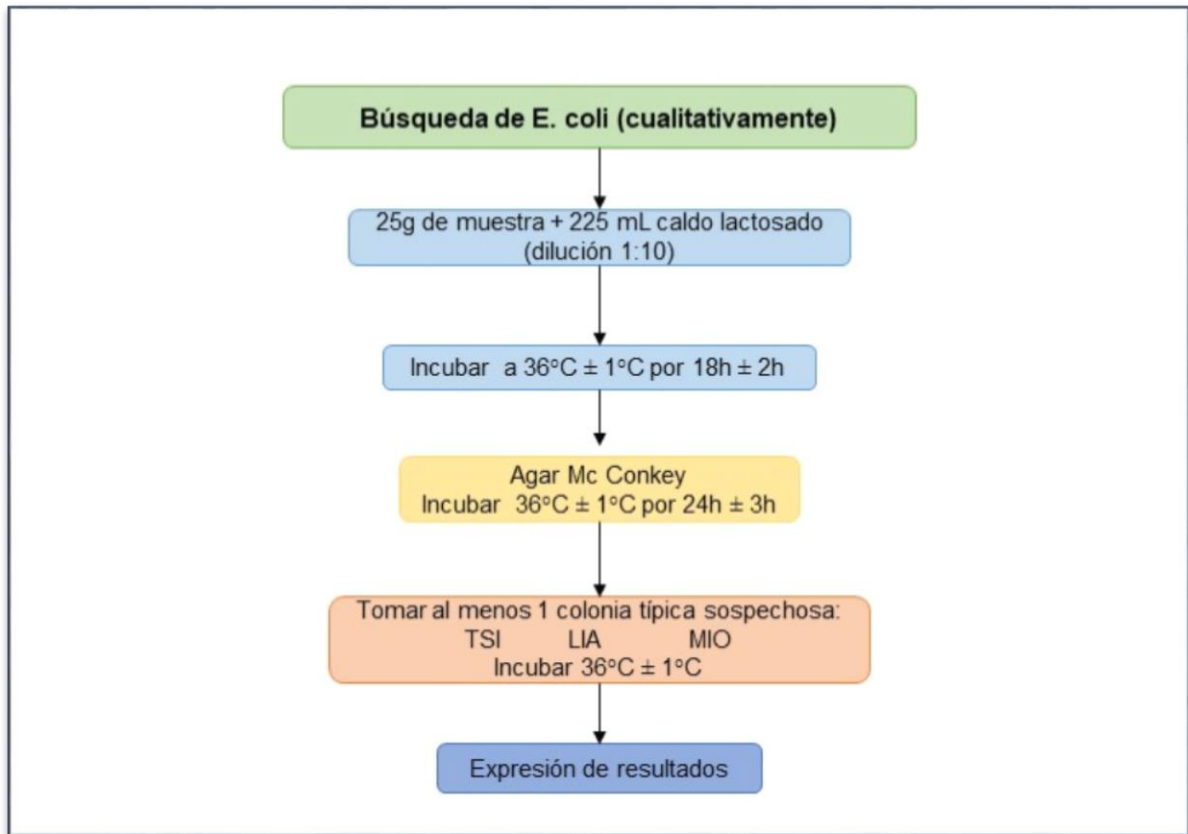
- Aislamiento en medios de cultivos selectivos y diferenciales,
- Identificación bioquímica

Para la búsqueda de *E. coli* como microorganismo indicador, la técnica empleada fue aislamiento directo, esto con base a la NOM-210-SSA1-2014 (Figura 3).

Las cepas de las muestras que resultaron positivas a *Salmonella* spp, se les realizó un antibiograma por el método de Kirby-Bauer (método de difusión en agar) para así poder conocer su sensibilidad o resistencia a distintos antibióticos.



**Figura 2.** Etapas para aislamiento de *Salmonella* spp (Modificación de NOM-210-SSA1-2014).

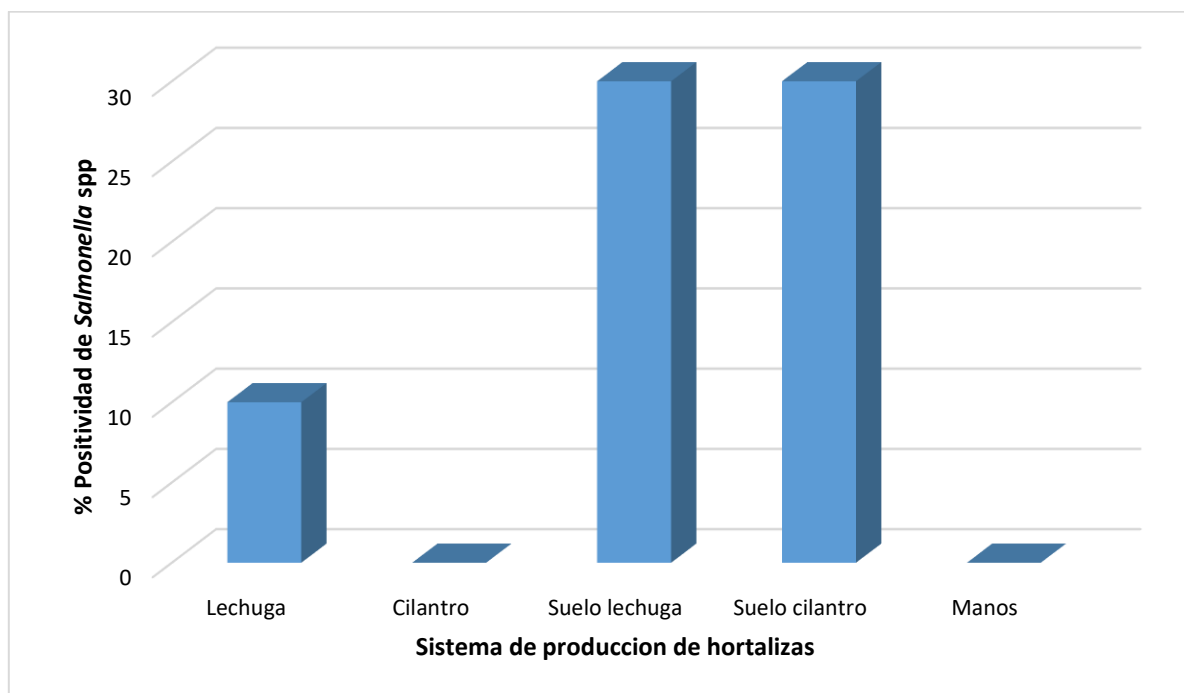


**Figura 3.** Pasos para aislamiento de *E. coli* de manera cualitativa (Modificación de NOM-210-SSA1-2014).

## IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró un total de 7 muestras positivas para *Salmonella* spp de un total de 41 muestras, lo que representa un 17% de positividad para dicho patógeno, siendo las muestras de suelo de lechuga y cilantro los de mayores porcentajes con 3 muestras positivas para cada uno, seguido de la lechuga con una muestra positiva. No se encontró *Salmonella* spp en cilantro ni en las manos del horticultor.

Tejeda y col. (2015) investigaron la presencia de *Salmonella* spp en hortalizas de la Ciudad de Puebla, obteniendo un 15% de positividad para *Salmonella* spp de un total de 106 muestras, de las muestras de lechuga recolectadas, solo una resultado positiva para dicho patógeno al igual que en el presente trabajo. Por otro lado, Gutiérrez y col. (2014) buscaron la presencia de cepas de *Salmonella* en muestras ambientales y de alimentos, encontrando un 45% de positividad en suelos (n=75), estos resultados son parecidos a los obtenidos este trabajo con 30% de positividad tanto para muestras de suelo de lechuga como de cilantro (Figura 4).

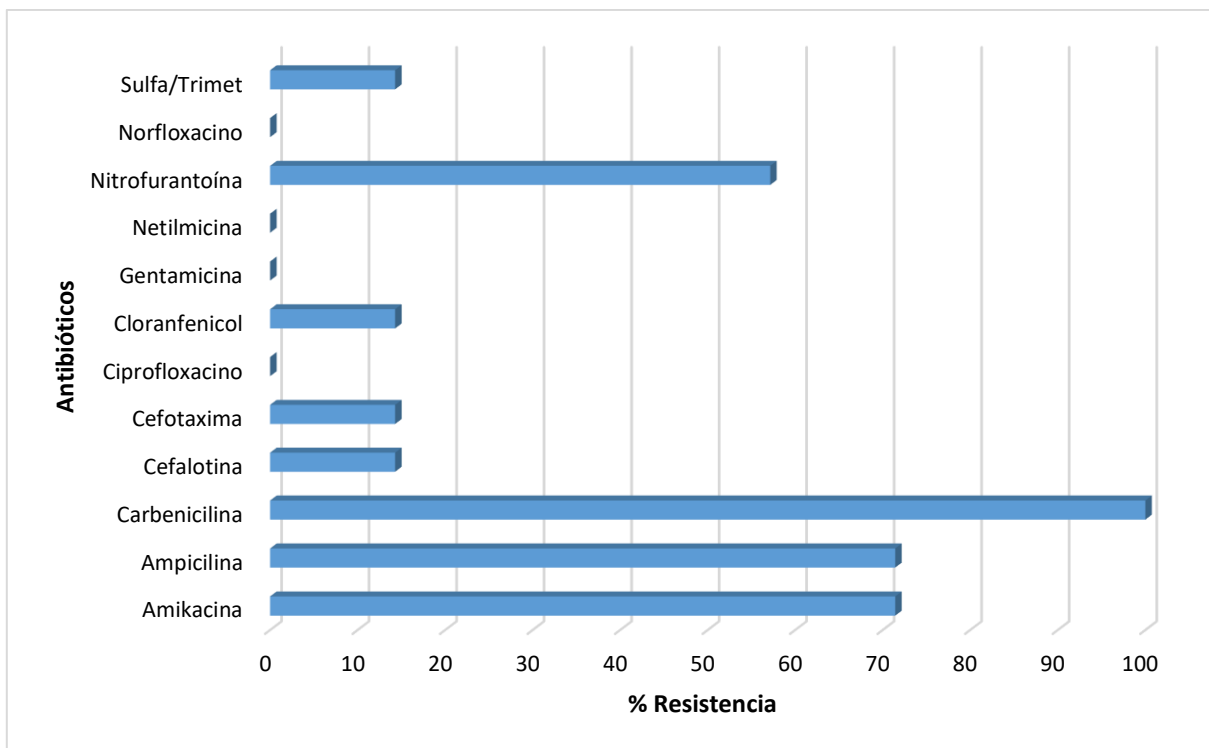


**Figura 4.** Positividad de *Salmonella* spp en un sistema de producción de hortalizas.

La sola presencia de este patógeno en las muestras estudiadas, en especial en las hortalizas, indica un gran riesgo actual para los consumidores, debido a que este tipo de alimentos se consumen de manera directa, y si no se llevan a cabo buenas prácticas higiénicas previas al consumo podrían ser causa de enfermedad, como lo es la salmonelosis.

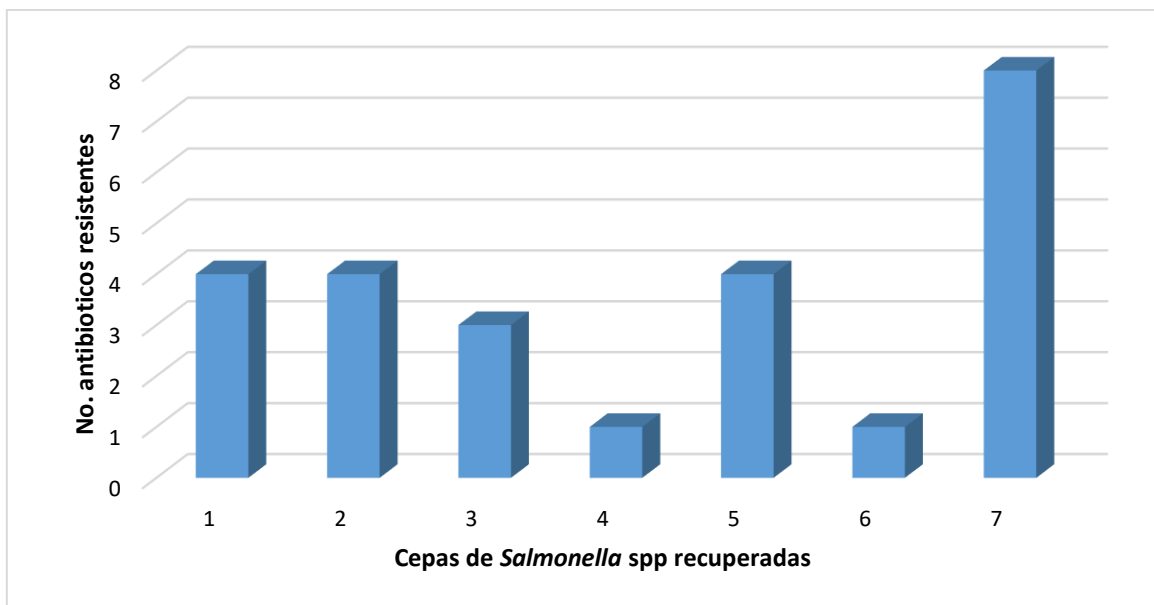
De las cepas recuperadas de *Salmonella* spp, él 71% mostraron multirresistencia, es decir, resistencia a más de dos antibióticos (Figura 6). El 100% de las cepas mostraron resistencia a Carbenicilina, seguido de un 71% para Amikacina y Ampicilina y un 57% para Nitrofurantoina. Ninguna cepa mostró resistencia para Ciprofloxacino, Gentamicina, Netilmicina y Norfloxacino (Figura 5).

En un estudio realizado por Chávez y col. (2015), reportan la prevalencia de *Salmonella* en diferentes tipos de muestras y su resistencia a antibióticos, se encontró que el antibiótico con mayor resistencia fue Trimet/Sulfa, seguido por Ampicilina y Ampicilina/sulbactam, siendo estos resultados comparables a los obtenidos en este estudio ya que Ampicilina junto con Amikacina fueron los antibióticos que se situaron en segundo lugar en cuanto a su resistencia. En otro estudio realizado por Gutiérrez y col (2014) reportaron cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos en muestras ambientales y de alimentos obtenidas en el estado de Hidalgo, en donde la mayoría fueron resistentes a Ampicilina y Amoxicilina/Acido clavulinico y los antibióticos más eficientes fueron Cloranfenicol, Sulfixosaxol y Ciprofloxacina, así mismo encontraron que todas las cepas mostraron resistencia a por lo menos dos antibióticos, resultados muy similares a los obtenidos en esta investigación.



**Figura 5.** Resistencia a antibióticos de cepas recuperadas de *Salmonella* spp.

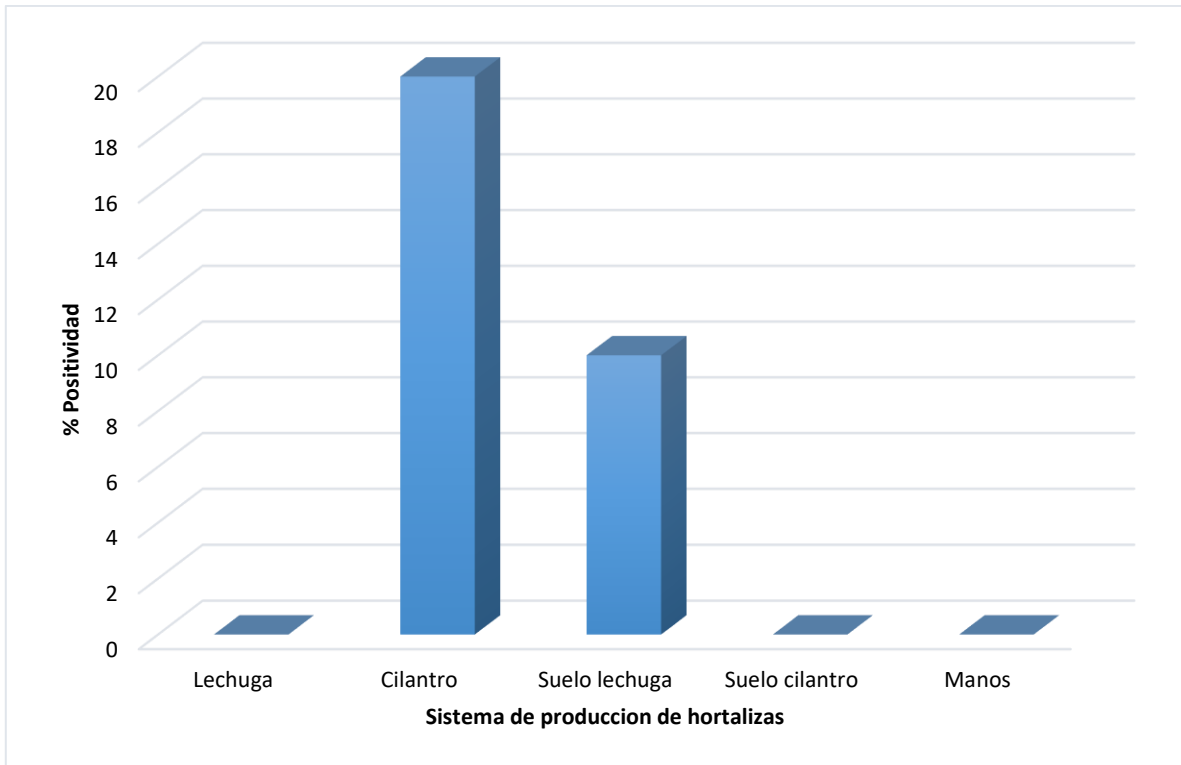
Los resultados obtenidos muestran un panorama poco favorable, ya que cada día las cepas de *Salmonella* encontradas y estudiadas tienen una mayor resistencia a un gran número de antibióticos. Con el paso del tiempo esta situación puede llevar a la desaparición de medicamentos efectivos para este patógeno.



**Figura 6.** Número de antibióticos resistentes por cada cepa de *Salmonella* spp recuperada.

Por otro lado, en la determinación de *E. coli* como microorganismo indicador se encontró una positividad del 7.3% del total de muestras (3 de 41). El 20% de las muestras de cilantro fueron positivas para este microorganismo, mientras que para suelo de lechuga fue el 10%. Salgado y Vallejos (2015) realizaron un diagnóstico de indicadores entéricos en cilantro y perejil, encontrando una positividad de *E. coli* de 14.8% en las muestras de cilantro (n=54) estudiadas, un porcentaje muy similar al encontrado en esta investigación.

La presencia de *E. coli* indica que las hortalizas estuvieron en contacto con materia fecal, esta contaminación pudo ser de origen (suelo) o incluso el agua y/o aire pueden ser fuentes potenciales de contaminación, es importante señalar que las hortalizas se encontraban al aire libre sin ninguna protección. Estos datos son relevantes, debido a que la presencia de contaminación fecal en alimentos crudos o mínimamente procesados como lo son las hortalizas indica un posible riesgo potencial de contraer ETA's.



**Figura 7.** Positividad de *E. coli* como indicador en un sistema de producción de hortalizas.

## X. CONCLUSIONES

- Se encontró 17% de positividad para *Salmonella* spp en el sistema de producción de hortalizas.
- El 71% de las cepas recuperadas de *Salmonella* spp mostraron multirresistencia (resistencia a más de dos antibióticos).
- El 100% de las cepas de *Salmonella* spp mostraron resistencia a Carbenicilina, 71% para Amikacina y Ampicilina y 57% para Nitrofurantoina.
- Ninguna cepa mostro resistencia para Ciprofloxacino, Gentamicina, Netilmicina y Norfloxacino.
- Se encontró presencia de contaminación fecal (*E. coli*) en el 7.3% de las muestras, siendo el cilantro la hortaliza con mayor positividad.
- Existen evidentes malas prácticas agrícolas en el sistema de producción de hortalizas.

## XI. SUGERENCIAS

- Implementar una capacitación para los horticultores, a cerca de las buenas prácticas de agrícolas y su impacto en las Enfermedades Transmitidas por Alimentos.
- Realizar una campaña de concientización dirigida a consumidores y orientada hacia las buenas prácticas higiénicas, en especial para alimentos crudos o mínimamente procesados.
- Investigar los serotipos de las cepas recuperadas de *Salmonella* spp, mediante biología molecular, para tener información precisa de los serotipos más frecuentes.

## XII. BIBLIOGRAFÍA

Acosta J., Pimente L., Quiñones E., Quiróz C. & Rozano, V. (2004, Agosto 10). *Hortalizas, las llaves de la energía*. Revista UNAM, V.6 No.6, 1-30.

Benavides L., Aldama A., & Vázquez H. (2005). Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud pública de México*. Vol.47, no.3.

Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Fruit and Vegetable Safety. Noviembre 05, 2019, de CDC Sitio web: <https://www.cdc.gov/foodsafety/communication/steps-healthy-fruits-veggies.html>

Centers for Disease Control and Prevention, (2019). Salmonella Homepage. Questions and Answers. Octubre 30, 2019, de CDC Sitio web: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>

Chávez, L., Téllez., Espinoza J. A., & Gaona L. (2015). Prevalencia de Salmonellas en alimentos de alto riesgo y su resistencia a antibióticos en el Estado de Michoacán. *Avances en Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos* (pp: 314-317). Guadalajara, Jalisco, México.

Colaboradores de Wikipedia (2020). Tlacotepec (Guerrero). Wikipedia, La enciclopedia libre. Fecha de consulta: 19 de junio del 2020. Disponible en <[https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Tlacotepec\\_\(Guerrero\)&oldid=126987435](https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Tlacotepec_(Guerrero)&oldid=126987435)>.

Fernández, E. (2008). *Microbiología e Inocuidad de los alimentos*. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México.

Gutiérrez E. J., Castro J., Gómez C. A., Román A. D., & Gonzales G. (2014). Presencia de cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos en muestras ambientales y de alimentos obtenidas en el estado de Hidalgo. *Investigaciones en Inocuidad de Alimentos* (pp: 343). Guadalajara, Jalisco, México.

Hamad, S. (2012). Factors Affecting the Growth of Microorganisms in Food. In Progress in Food Preservation (pp. 405-427). (eds Bhat, R., Karim, A., and Paliyath, G). doi:10.1002/9781119962045.ch20

Latham, M. C. (2002). Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Universidad de Cornell Ithaca, Nueva York, Estados Unidos. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29.

Norma Oficial Mexicana, NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. (1994). Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaria de salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. (1995) Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaria de salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y Servicios. (2015). Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Secretaria de salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2010). EMPRES para la inocuidad de los alimentos - Sistema de Prevención de Emergencias para la Inocuidad de los Alimentos. Plan Estratégico. Producido por Departamento de Agricultura. FAO Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Sitio web: <http://www.fao.org/3/i1646s/i1646s.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2011). Producción de hortalizas. PROYECTO: Ayuda Humanitaria de Asistencia y Recuperación para Comunidades Afectadas por la Sequía en el Chaco. Sitio web: <http://www.fao.org/3/a-as972s.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (2015). Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria. Grupo de Referencia de Epidemiología de la Carga de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos 2007-2015. Abril 20, 2019, de OMS Sitio web: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/200047/WHO\\_FOS\\_15.02\\_spa.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/200047/WHO_FOS_15.02_spa.pdf?sequence=1)

Quesada A., Reginatto G.A., Ruiz A., Colantonio L.D. & Burrone M.S (2016). *Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano*. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2016;33(1):32-44. doi:10.17843/rpmesp.2016.331.1899

Ray, B., & Bhunia, A.; traducción Sánchez, R., & Pineda, D. (2010). Fundamentos de microbiología de los alimentos. México: McGraw-Hill Interamericana.

Ruiz, C. (2016). Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Junio 10, 2020, de Dirección General de Epidemiología Sitio web: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225246/3\\_Enfermedades\\_Transmitidas\\_por\\_Alimentos\\_-DGE.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225246/3_Enfermedades_Transmitidas_por_Alimentos_-DGE.pdf)

Salgado, D., & Vallejos, N. (2015). Diagnóstico de indicadores entéricos en cilantro (*Coriandrum sativum*) y perejil (*Petroselinum sativum*) que se expenden en mercados populares del norte de la ciudad de Quito. Enfoque UTE, 6(1), 45-54. <https://dx.doi.org/10.29019/enfoqueute.v6n1.54>

SAGARPA, SEDESOL, INSP, FAO. (2013). La inocuidad de los alimentos en México. En Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en México 2012 (pp. 205-218). México D.F.

Tejeda, F. (2013). Manual de laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

Tejeda F., Rios M. A., Pérez S., Hernández M. E., & Tejeda M. A. (2015). Investigación de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* O157:H7 en hortalizas de la Ciudad de Puebla. *Avances en Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos* (pp: 402-405). Guadalajara, Jalisco, México.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo 1



Figura 8. Sistema de producción de hortalizas.



Figura 9. Horticultores en cultivo de hortalizas.



Figura 10. Cultivo de lechuga y cilantro.

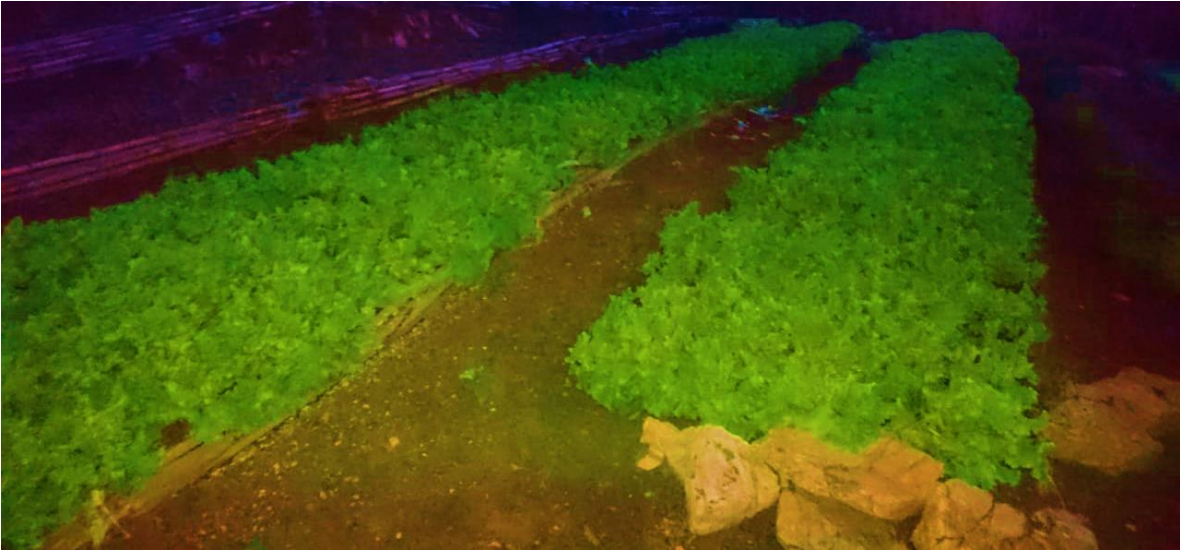


Figura 11. Cultivo de lechuga.



Figura 12. Cultivo de lechuga listo para ser cosechado.