

Salmonella Enteritidis resistente a los antibióticos aislada del contenido de huevo de gallinas alojadas en jaulas convencionales de granjas tecnificadas en Sinaloa, México

Antibiotic-resistant Salmonella Enteritidis isolated from egg contents of hens housed in conventional cages of technified farms in Sinaloa, México

Cárdenas-Contreras, M.A.¹, Enríquez-Verdugo, I.¹, Castro-Tamayo, C.B.¹, Cepeda-Quintero, H.¹, Pérez-Fonseca, E.¹, Castro del Campo, N.¹, Gaxiola-Camacho S.M.¹, Portillo-Loera, J. J.¹

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa. Boulevard San Ángel 3800, Fraccionamiento San Benito, Predio Las Coloradas.C.P. 80246. Culiacán Rosales, Sinaloa, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo:

Cárdenas-Contreras, M.A., Enríquez-Verdugo, I., Castro-Tamayo, C.B., Cepeda-Quintero, H., Pérez-Fonseca, E., Castro del Campo, N., Gaxiola-Camacho S.M., Portillo-Loera, J. J. (2024). Antibiotic-resistant Salmonella Enteritidis isolated from egg contents of hens housed in conventional cages of technified farms in Sinaloa, México. Revista Bio Ciencias, 11, e1697. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1697>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: June 29th 2024.

Accepted/Aceptado: October 23th 2024.

Available on line/Publicado: December 05th 2024.

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana en Salmonella es una amenaza para la humanidad, la salmonelosis es la principal zoonosis por transmisión alimentaria por consumo de huevo y segunda zoonosis con más hospitalizaciones y muertes, las gallinas su principal reservorio y se estima que el 40.2 % son portadoras. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de cepas de Salmonella Enteritidis resistentes a los antibióticos en el contenido de huevo de gallinas alojadas en jaulas convencionales de granjas tecnificadas en Sinaloa, México. El aislamiento fue en agar entérico Hektoen y XLD, la identificación de S. Enteritidis fue mediante pruebas bioquímicas y PCR, y la determinación de la resistencia antimicrobiana por el método de difusión en disco. El 0.625 % (2/320) de huevos resultaron positivos a Salmonella Enteritidis, ambas cepas resistentes a betalactámicos y quinolonas y 1 de ellas presentó además resistencia a nitrofuranos (multirresistente). Este es el primer reporte de S. Enteritidis en el contenido del huevo en granjas de Sinaloa, esto refleja la presencia de Salmonella en las gallinas, lo cual podría poner en riesgo de zoonosis a la población consumidora de huevo de Sinaloa, además, la resistencia de estas bacterias a antibióticos indica la vulnerabilidad a los tratamientos médicos.

PALABRAS CLAVE: Salmonella, Enteritidis, gallinas, huevo, resistencia, multirresistencia, antibióticos, inocuidad, alimentos.

*Corresponding Author:

Jesús José Portillo Loera. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa. Boulevard San Ángel, 3800. C.P. 80246, Culiacán, Sinaloa, México. Teléfono: (667) 2 215989. E-mail: portillo6422@uas.edu.mx.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance in *Salmonella* is a threat to humanity. Salmonellosis is the main foodborne zoonosis caused by egg consumption and the second zoonosis with the most hospitalizations and deaths. Chickens are its main reservoir and it is estimated that 40.2 % are carriers. The objective of this work was to determine the presence of antibiotic-resistant *Salmonella* Enteritidis strains in the egg content of chickens housed in conventional cages on technified farms in Sinaloa, Mexico. The isolation was on Hektoen enteric agar and XLD, the identification of *S. Enteritidis* was by biochemical tests and PCR, and the determination of antimicrobial resistance was by the disk diffusion method. 0.625 % (2/320) of eggs tested positive for *Salmonella* Enteritidis, both strains resistant to beta-lactams and quinolones and 1 of them also presented resistance to nitrofurans (multi-resistant). This is the first report of *S. Enteritidis* in egg contents on farms in Sinaloa. This reflects the presence of *Salmonella* in hens, which could put the egg consuming population of Sinaloa at risk of zoonosis. In addition, the resistance of these bacteria to antibiotics indicates vulnerability to medical treatments.

KEY WORDS : *Salmonella*, Enteritidis, hens, egg, resistance, multi-resistance, antibiotics, safety, food.

Introducción

La transmisión y proliferación de bacterias resistentes a los antimicrobianos (AMR) a través de la cadena de alimentos facilita la diseminación de estos microorganismos, además, la AMR es una de las principales amenazas modernas a las que se enfrenta la humanidad. Las bacterias del género *Salmonella*, son el mayor causante de gastroenteritis (salmonelosis) por transmisión alimentaria en el mundo (Giancoboni, 2023; Castro-Vargas et al., 2021; Coelho et al., 2020), en Europa, es responsable del 30.7 % de todas las enfermedades de origen alimentario, es la segunda zoonosis con mayor número de hospitalizaciones y muertes (Cardoso et al., 2020) y la OMS la clasifica como prioridad elevada por el incremento de la AMR (OMS, 2017).

Cada año en el mundo se reportan 80.3 millones de casos de salmonelosis y 155,000 muertes (Sáenz et al., 2022), las aves domésticas son el principal reservorio de *Salmonella* spp. (Álvarez et al., 2022). El género consta de más de 2,600 serovariedades (Amado, 2023; CDC, 2013), Enteritidis destaca sobre las otras ya que se aísla con mayor frecuencia en casos de salmonelosis de humanos (42 % de los casos), en Europa y en Estados Unidos de América (USA) la contaminación del contenido del huevo con *S. Enteritidis* se reporta como la principal causa de

las salmonelosis en humanos (Gast et al., 2024).

Son dos vías a través de las cuales *S. Enteritidis* contamina el huevo externa e internamente, la ruta horizontal sucede cuando la bacteria se excreta en materia fecal y contamina el cascarón del huevo durante la oviposición, después, es posible que penetre el cascarón posterior a la postura y contamine el contenido, la ruta vertical se da a través de la colonización de los órganos reproductivos y contaminación directa de los componentes del huevo (yema, albúmina, membranas testáceas, vitelina y el cascarón) durante la síntesis en el aparato reproductor, la serovariedad *Enteritidis* presenta tropismo por estos sitios después de colonizar el intestino y diseminarse sistémicamente, donde se establece y excreta intermitentemente en el huevo y heces (Gantois et al., 2009; Liu et al., 2023).

En 2004 en México, se reportó la presencia de *Salmonella Enteritidis* en gallinas (*Gallus gallus*) progenitoras, reproductoras, incubadoras, aves de postura comercial, huevo y pollo de engorda (Mancera et al., 2004). En el mundo, se estima una prevalencia del 40.2 % de gallinas de postura infectadas con *Salmonella Enteritidis* (Castro-Vargas et al., 2020) y una proporción de uno de cada 20,000 huevos de gallina contaminados (Gast et al., 2024). En USA, se estima que la prevalencia es de 0.005 %, con producción de 90 billones de huevos, el riesgo se traduce en un estimado de 4.5 millones de huevos contaminados (Howard et al., 2012), en Europa la prevalencia es del 0.37 % y China tiene entre 0.5 y 5.6 % (Solís et al., 2023). Xu et al. (2022) reportan que la mitad de los casos de salmonelosis en EUA se asocian con el consumo de huevo; o sus subproductos crudos, y se estima que por cada millón de casos se gastan 3.7 billones de dólares. En México existe pocos reportes sobre *Salmonella* spp. en gallinas, el SENASICA (2021) reportó pérdidas por \$27,614.58 pesos por sacrificio y muerte de 500 aves en Hidalgo en el año 2020 que resultaron positivas a *S. Gallinarum* (tifosis aviar). Al respecto de los casos de fiebre paratifoidea y otras salmonelosis, Contreras et al. (2019) reportan 104,471 casos en México y SENASICA (2021) 42 mil casos de salmonelosis no tifoidea en humanos. Los consumidores desempeñan un papel fundamental frente a la prevención de las salmonelosis, teniendo en cuenta la preparación y manejo en el hogar de alimentos que contienen huevo, varios factores pueden conducir a una salmonelosis, por ejemplo, la contaminación natural de los huevos, el desconocimiento de los consumidores en relación con la inocuidad de los alimentos, la contaminación cruzada y el consumo de materias primas o huevos con cocción insuficiente, este último, se considera el factor de mayor impacto (Poudel & Adhikari, 2024; Solís et al., 2023). La presencia de *S. Enteritidis* en granjas avícolas depende de varios factores entre los que se enumeran el tipo de alojamiento, la edad de las gallinas, la población en la granja, el tipo de sistema de producción, tipo de alojamiento, estrategias de limpieza y desinfección, presencia de roedores, artrópodos y la época del año (Rodríguez et al., 2015). En lo que respecta al tipo de alojamiento y la contaminación por *Salmonella* en huevo, Wall et al. (2008) reportan mayor contaminación del cascarón en jaulas enriquecidas equipadas con nido, percha y caja de arena que en las jaulas convencionales, en el caso de los alojamientos libres de jaula, Pacholewicz et al. (2023) reportan menor porcentaje de contaminación por *Salmonella* con respecto a las granjas con alojamiento en jaula.

En Europa, desde 2012 está prohibido el alojamiento de gallinas en jaulas de tipo batería,

se reemplazaron por otros sistemas enriquecidos que cuentan con nido, caja de arena, percha y más espacio, sin embargo, los sistemas libres de jaulas ya sea con alojamiento en piso o libre pastoreo son los más aceptados, ya que permiten a la gallina expresar su comportamiento natural, mejorar los indicadores de bienestar animal y reducir la incidencia de Salmonella en huevo (Solís et al., 2023; EFSA, 2017). El estrés por calor en gallinas productoras de huevo es otro factor importante que afecta la producción avícola, ocasiona inflamación en el tracto gastro intestinal, además, influye en la composición y población del microbiota que protege el intestino de la colonización de patógenos, esto, aumenta la virulencia y patogenicidad de Salmonella y facilita la colonización de los tejidos intestinales y su diseminación sistémica, también aumenta la excreción de bacterias y el riesgo de contaminación de alimento (Lara & Rostagno, 2013)

En la producción avícola, la higiene, desinfección, la inmunización, uso de enzimas, bacteriófagos, probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, fitobióticos y el uso de antibióticos reducen la incidencia de infecciones en aves y subsecuentemente la frecuencia de salmonelosis en humanos (Van immerseel et al., 2005; Rifat et al., 2022; Gast et al., 2024), sin embargo, esto no es suficiente para eliminar por completo al microorganismo de las granjas y gallinas, y la interacción entre bacterias y antibióticos causa resistencia (Gast et al., 2015). Al respecto, Borges et al. (2019) analizaron la susceptibilidad a los antibióticos de 163 cepas de Salmonella aisladas de muestras de origen avícola, solo el 3 % (5/163) mostraron sensibilidad a todos los antibióticos (amoxicilina, ceftiofur, cloranfenicol, gentamicina y sulfametoxazol/trimetoprim) y 30 mostraron multi resistencia (resistencia a tres o más familias de antibióticos), 9 de estas se identificaron como S. Enteritidis. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de cepas de Salmonella Enteritidis resistentes a los antibióticos en el contenido de huevo de gallinas alojadas en jaulas convencionales de granjas tecnificadas en Sinaloa, México.

Material y métodos

Entorno del estudio

El estudio fue de tipo transversal, descriptivo y por conveniencia, el área de estudio abarcó los municipios de la región Norte de Sinaloa (municipios de Ahome y el Fuerte), región Centro (municipio de Culiacán), y región Sur (municipio de El Rosario y Mazatlán). En el Norte se ubica el 76 % de las granjas de gallinas productoras de huevo registradas en el estado, se produce el 82.32 % del huevo, y en el centro y sur se distribuye el 9 y 15 % respectivamente, mientras que se produce el 4.99 y 12.69 % del total de la producción de huevo. Las casetas comerciales de las cuales se obtuvieron las muestras cuentan con jaulas convencionales (batería y piramidal) con ambiente natural, la recolección de huevo es manual y las poblaciones de gallinas son ligeras predominantemente de la línea Lohmann cuya edad varió entre las 50 y 86 semanas, estas condiciones son iguales para la mayoría del resto de las granjas.

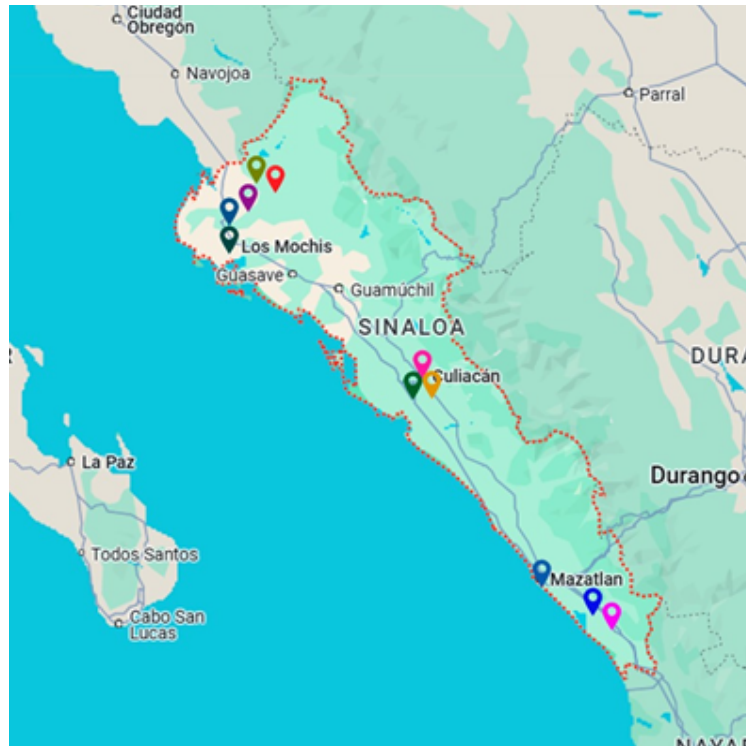


Figura 1. Mapa de la distribución de las granjas muestreadas en el estado de Sinaloa, México.

Colección de muestras

La recolección de huevos y los análisis microbiológicos se realizaron entre noviembre de 2018 y abril de 2019. Durante el periodo de muestreo, en el estado de Sinaloa estaban registradas en la asociación de avicultores 9 compañías con 28 granjas, dos están ubicadas en el centro, dos en el sur y 24 en el norte, el número de aves en las granjas varía de 35,000 la menos poblada a 490,000 aves la granja más grande, todas alojadas en jaulas convencionales con ambiente natural y hay una población total de 3,571,521 gallinas en producción.

Para el análisis se realizó un muestreo por conveniencia donde se recolectaron 320 huevos provenientes de 11 granjas; 150 huevos fueron de 5 granjas de la región norte, las poblaciones de gallinas de la granja uno eran 92,750 gallinas, dos 120,000, tres 180,000, cuatro 162,856 y cinco 215,086 gallinas, 90 huevos de 3 granjas de la región centro con población la granja uno de 40,000 gallinas, dos 80,000 y tres 90,000, y 80 huevos provenientes de 3 granjas de la región sur, la granja uno de esta región contaba con 470,000 gallinas en producción, la granja dos 490,000 y la tres 135,000 gallinas. Durante el periodo de muestreo, debido los brotes de Influenza aviar de alta patogenicidad que se registraron en México (SENASICA, 2024), no fue posible el acceso

a las granjas, debido a esto, se solicitó al responsable de cada granja una cartera de 30 huevos limpios de la producción del día destinados a la venta al público (área de almacenamiento previa a la distribución). El análisis bacteriológico se inició dentro de las 24 h posteriores a la llegada al laboratorio desde la granja.

Aislamiento de *Salmonella* spp.

El aislamiento e identificación molecular se realizó en el Laboratorio de Bacteriología y Micología en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, México.

Para el aislamiento de *Salmonella* Enteritidis, primero se realizó el lavado del cascarón, con una fibra de plástico y detergente líquido (Extran® MA 02 líquido, neutro), se frotó suavemente la superficie del huevo sin fracturarla, inmediatamente después se enjuagó con agua corriente, posteriormente se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio a concentración de 200 ppm, se dejó reposar durante 3 min y finalmente se secaron sobre papel estroza estéril. Una vez desinfectada y seca la parte externa del huevo, se vertió el contenido en un vaso de precipitado estéril descartando huevos quebrados y el contacto del cascarón con la yema y albúmina, se homogenizó el contenido con una varilla de vidrio estéril y las muestras en las que caían partes del cascarón al vaso de precipitado con la muestra se descartaron del análisis. El preenriquecimiento de las muestras se realizó inoculando 12.5 mL del contenido del huevo (yema y albúmina) homogenizado en 112.5 mL agua peptona buferizada (proporción 1:9) y se incubó a 37 ± 1 °C por 24 h, posteriormente el enriquecimiento selectivo se realizó transfiriendo 1 mL del preenriquecimiento en 9 mL de caldo rapaport vasiliadis e incubó a 42 ± 1 °C por 24 h, finalmente, el aislamiento se realizó sembrando en agar selectivo entérico Hektoen y xilosa lisina desoxicolato (XLD) e incubaron a 35 ± 1 °C por 24 h (NOM-210.SSA1-2014; FDA, 2007).

Identificación bioquímica de *Salmonella* spp

En la caracterización metabólica, las colonias típicas de *Salmonella* spp. fueron inoculadas en agar hierro triple azúcar (TSI por sus siglas en inglés), agar hierro lisina (LIA por sus siglas en inglés), agar citrato de Simmons, sulfuro indol motilidad (SIM), gelatina nutritiva y caldo ureasa e incubados a 37 ± 1 °C durante 24 h, esto para caracterizar el metabolismo de los aislados sospechosos (Moosavy *et al.*, 2015; NOM-210-SSA1-2014; Cepeda-Quintero *et al.*, 2022).

Identificación molecular de cepas de *Salmonella* Enteritidis

La extracción de ADN de las bacterias aisladas fue con un kit de extracción EZ-10 Spin Column Genomic DNA Minipreps kit para cultivos bacteriológicos (BIO BASIC®). La identificación se realizó por PCR punto final con dos pares de oligonucleótidos, uno para amplificar el gen *invA* usado para identificar el género *Salmonella* y otro para identificar el serotipo Enteritidis mediante el gen *prot6E* (Afshari *et al.*, 2018). El PCR se realizó en un ThermoMixer C eppendorf, el volumen de la reacción fueron 10 µL: 5 µL de master mix, 1 µL de solución de trabajo de cada

oligonucleótido (10 μ M), 1 μ L de ADN y 2 μ L de agua nano pura estéril. Las condiciones del ciclado consistieron en una fase de desnaturalización a 95 °C por 5 min, seguidos por 34 ciclos a 95 °C, 60 °C, y 72 °C por 1 min cada fase y una fase de extensión final a 72 °C por 5 min; como control positivo y negativo se utilizó ADN de *Salmonella* Enteritidis ATCC (13076) y *Escherichia coli* ATCC (25922). La tinción para visualizar la amplificación en gel agarosa (2 %) se realizó añadiendo 1 μ L de tinte fluorescente de Biotum (GelRed®) (Maurischat et al., 2015).

Fenotipificación de la resistencia a los antibacterianos en cepas de *Salmonella* Enteritidis

Los antibiogramas se realizaron con el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), se utilizaron multidiscos para Gram negativos (PT-35 multibac combinado I.D.) con cloranfenicol (CL), cefotaxima (CFX), ampicilina (AM), sulfametoxazol/trimetoprim (SXT), ciprofloxacino (CPF) y nitrofurantoína (NF), la cepa se inoculó en caldo soya tripticaseína y se incubó hasta alcanzar una concentración de 0.5 Mc Farland (1.5×10^8 UFC), posteriormente, se sembraron por estría continua cruzada en agar Mueller-Hinton, se colocaron los multidiscos e incubaron a 37 °C por 24 h, una vez transcurrido el tiempo establecido, se midió el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento en mm para cada antibiótico y los resultados se interpretaron según los criterios del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (CLSI, por sus siglas en inglés: Clinical and Laboratory Standards Institute) y del fabricante Investigación Diagnóstica Laboratorio de Reactivos para Diagnóstico (ID, 2020; CLSI, 2021), las pruebas se realizaron por duplicado (Rivera et al., 2013).

Análisis estadístico

Los resultados del aislamiento y pruebas de susceptibilidad a los antibióticos se presentan en cuadro de frecuencias, con I.C. 95 % calculados mediante la instrucción binom.test del paquete stats en R 4.0.2 (R core Team, 2020).

Resultados y discusión

Aislamiento de *Salmonella* spp en el contenido del huevo

Las dos colonias de *Salmonella* spp. (cepa 1 y 16) que se aislaron a partir de las muestras de huevo de gallina, se identificaron bioquímicamente determinando su capacidad de fermentar glucosa y producción de ácido sulfhídrico en TSI, en LIA se evaluó la presencia de la enzima descarboxilasa que metaboliza la lisina; en citrato de Simmons se comprobó la utilización de citrato de sodio como la única fuente de carbono; en SIM se probó la motilidad de los aislados, su capacidad para producir H₂S y la producción de indol; en gelatina nutritiva se evaluó la presencia de enzimas proteolíticas, capaces de hidrolizar la gelatina; y en la prueba de ureasa se identificó la capacidad de degradación de la urea (Tabla 1)

Tabla 1. Pruebas bioquímicas de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de yema y albúmina de huevo de gallina

Identificación de la cepa	TSI	LIA	Citrato de Simmons	SIM	Gelatina nutritiva	Caldo urea
Cepa 1	+	+	+	+	-	-
Cepa 16	+	+	+	+	-	-

TSI; agar hierro triple azúcar, LIA; agar lisina hierro, SIM; sulfuro indol motilidad, (+) positivo para las características bioquímicas de *Salmonella* spp., (-) negativo para las características bioquímicas de *Salmonella* spp.

Se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en el 0.625 % [(IC 95 % 0.076, 2.239) (2/320)] de las muestras de contenido de huevo analizadas, las cepas se aislaron de dos granjas diferentes en el norte del estado (Tabla 2).

Mediante la identificación molecular por PCR se identificó a los dos aislados como *Salmonella* Enteritidis (Tabla 2), esto confirma que esta serovariedad también está presente en los huevos producidos en granjas de Sinaloa y es riesgo para la salud de los consumidores de ese producto.

Los esfuerzos para reducir la prevalencia de *S. Enteritidis* en granjas de gallinas reproductoras y de postura, ha llevado a la implementación de normas para reducir el número de granjas positivas a esta y otras serovariedades, la NOM-159-SSA1-2016 en México, establece reportar presencia o ausencia de *Salmonella* en huevos con cascarón y huevo líquido, igual que la NOM-114-ssa1-1994 para la determinación de *Salmonella* en alimentos, en la Unión Europea (UE), la *European Food Safety Authority* establece reducir los niveles de contaminación de granjas de gallinas productoras de huevo al 2 % y de reproductoras al 1 % (EFSA 2019), el Reglamento n° 517/2011 y 2160/2003 del Diario Oficial de la Unión Europea exige que se reduzca la prevalencia entre el 10 y 40 % respecto al año anterior. Solo podrán utilizarse para consumo humano los de huevos de parvadas positivas a *Salmonella* si se someten a procesos de destrucción (pasteurización) de las serovariedades de *Salmonella* (Reglamento n° 2160/2003).

Tabla 2. Aislamiento e identificación molecular de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de yema y albúmina de huevo de gallina.

Zona de Sinaloa	Huevos analizados	Muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp; n (%)	Muestras positivas a <i>S. Enteritidis</i> ; n (%)
Norte	150	2 (1.33) CI95 % 0.162, 4.733	2 (1.33) CI95 % 0.162, 4.733
Centro	90	0	0
Sur	80	0	0
Total	320	2 (0.625) CI95 % 0.076, 2.239	2 (0.625) CI95 % 0.076, 2.239

CI; intervalo de confianza.

Las determinaciones de la presencia de *S. Enteritidis* como agente biológico causante de contaminación del contenido de huevo de gallinas realizadas en este trabajo, coinciden con las reportadas en otros países, Abou *et al.* (2021) en Egipto aislaron *Salmonella* Enteritidis en el 3 % (5/165) de los huevos evaluados, Li *et al.* (2020) en China reportan 0.3 % (2/666) de muestras de contenido de huevo positivas a *S. Enteritidis*; Shivaning Karabasanavar *et al.* (2020) en la India, también detectaron cepas de *S. Enteritidis* en el 2.1 % (4/186) de las muestras analizadas; Betancor *et al.*, (2010) en Uruguay, reportan 1.2 % (8/620) de muestras de contenido de huevo contaminadas con la misma serovariedad; en México, Guzmán-Gómez *et al.*, (2013) detectaron contaminación por *Salmonella* spp. en el 3 % (3/100) de muestras de yemas de huevo; también en México, Mancera *et al.*, (2005) analizaron muestras de huevos comercializados en supermercados de la ciudad de México y confirmaron la presencia de *Salmonella* Enteritidis en el 0.25 % las muestras. La presencia de *S. Enteritidis* a pesar de ser baja en todos los trabajos, indica que es patógena pues las infecciones por esta bacteria pueden llegar a provocar brotes de salmonelosis en distintas partes del mundo como se describió en un hospital de la Cd. de México en 1998 donde se reportó un brote de salmonelosis en 155 trabajadores de la salud y se determinó que la causa fue el consumo de un alimento con cocción insuficiente elaborado a base de carne, papa y huevo contaminado con *S. Enteritidis* (Chávez *et al.*, 2001).

Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos

Los dos aislados de *Salmonella* Enteritidis mostraron resistencia a dos clases de antibióticos; los betalactámicos (ampicilina y cefotaxima) y quinolonas (ciprofloxacino) no inhibieron el desarrollo de ninguna de las dos cepas; la cepa identificada como huevo 16 presentó, además, resistencia a nitrofurantoína, que pertenece a la clase de los nitrofuranos por lo que se considera multirresistente (Tabla 3). Castro-Vargas *et al.* (2020) mencionan que, a nivel global, la resistencia a los antibióticos en *Salmonella* spp. es mayor a ampicilina y ácido nalidíxico que el resto de los antibióticos.

La presencia de cepas de *S. Enteritidis* resistente a los antimicrobianos en el contenido del huevo, es un riesgo para los consumidores, compromete la inocuidad de este alimento y las

infecciones ocasionadas por estos microorganismos que además son resistentes a antimicrobianos son una amenaza mayor para la salud pública. Se deben realizar acciones orientadas a identificar y frenar la propagación de la resistencia a los antimicrobianos, en este caso, las cepas que se aislaron en esta investigación presentan entre otros antibióticos resistencia fenotípica a fluoroquinolonas (ciprofloxacino), situación por la cual la OMS ha emitido una alerta debido a la alta morbilidad y mortalidad que causa este género bacteriano por la farmacoresistencia que se reporta (OMS, 2024), lo que indica que, las cepas han sido expuestas a antibióticos y han adquirido o heredado genes de resistencia que le permiten sobrevivir ante estos fármacos. De continuar con las actividades que actualmente se realizan en la industria alimentaria, incrementarían el número de casos de infecciones causadas por organismos resistentes a los antibióticos y se reducirían la disponibilidad de tratamientos exitosos a base de antibióticos.

Tabla 3. Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos en cepas de *Salmonella* Enteritidis aisladas del contenido del huevo de gallinas alojadas en jaulas en producción intensiva.

Identificación de la cepa	Área de origen	AM 10 µg	CFX 30 µg	CPF 5 µg	CL 30 µg	NF 300 µg	STX 25 µg
Cepa huevo 1	Norte	R (16mm)	R (25mm)	R (26mm)	S (21mm)	S (18mm)	S (20mm)
	Norte	R (16mm)	R (24mm)	R (26mm)	S (22mm)	R (11mm)	S (20mm)

AM: Ampicilina, CFX; Cefotaxima, CPF; Ciprofloxacino, CL; Cloranfenicol, NF; Nitrofurantoina, STX; Sulfametoxazol; R; Resistente, S; Sensible. Interpretación de las zonas de inhibición de acuerdo al CLSI, 2021.

Abou *et al.* (2021) en Egipto, reportan cepas de *Salmonella* Enteritidis resistentes a ampicilina (100 %) y altos niveles de resistencia a amoxicilina (60 %), nitrofuranos (80 %) y tetraciclinas (88 %), en China, Li *et al.*, (2020) detectaron resistencia a ampicilina en 7 aislados (53.8 %) de *S. Enteritidis*, una a cloranfenicol y otra a sulfametoxazol, así mismo, Shivaning Karabasanavar *et al.* (2020) en la India, encontraron 72.7 % de multirresistencia, además, resistencia a ampicilina y tetraciclina (44.5 %), ampicilina+sulbactam 40.9 % y ácido nalidíxico 72.2 %; Nabil & Yonis. (2019) en Egipto reportaron 94.1 % de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a ampicilina y sulbactam, 70.6 % a tetraciclinas y 47.1 % a Sulfametoxazol/trimetoprim; Thung *et al.* (2016) también detectaron resistencia a ampicilina. Campioni *et al.* (2012) determinaron el perfil de resistencia en 128 cepas de *S. Enteritidis* aisladas de muestras clínicas y alimentos en Brasil, detectando que el 28.1 % de las cepas fue resistente a ácido nalidíxico y 0.8 % a sulfametoxazol /trimetoprim. Esta resistencia a antibióticos reportada puede ser un indicativo del cuidado que se tiene que tener en la inocuidad en las granjas de gallinas ponedoras, la zoonosis debe ser controlada desde estos puntos, pues la OMS indica que puede ser causa de muerte en millones de personas a causa de resistencia bacteriana.

Conclusiones

Este es el primer reporte de la presencia de *Salmonella* Enteritidis en huevo de gallinas alojadas en jaulas convencionales de granjas tecnificadas ubicadas en el estado de Sinaloa, se aislaron dos cepas (0.625 %) de yema y albúmina de huevo, las dos mostraron resistencia fenotípica a dos clases de antibióticos (2:2) y una (huevo 16) resistencia a tres clases de antibióticos por lo que se considera una cepa multirresistente (1:2).

La presencia y diseminación de esta zoonosis a través de la producción de huevo en Sinaloa pone en riesgo la salud de los consumidores, además, la resistencia a los antibióticos podría reducir la efectividad de los tratamientos médicos, incrementando aún más este riesgo. Es necesario conocer el nivel de contaminación por *Salmonella* Enteritidis en las gallinas de postura en el estado de Sinaloa y los perfiles de resistencia a los antibióticos con el fin de establecer estrategias que permitan reducir la presencia de *Salmonella* en las granjas y la incidencia de salmonelosis humana.

Contribución de los autores

Conceptualización del estado del arte del tema de estudio: MACC, JJPL, CBCT.

Desarrollo de la metodología: MACC, IEV, HCQ, JMVU, EPF, NCC.

Manejo de datos y análisis de resultados: MACC, JJPL, IEV, SMGC.

Escritura y edición del manuscrito: MACC, JJPL, IEV, EPF, SMGC.

Agradecimientos

Al CONACHyT por el apoyo económico (CVU716638) para estudios de posgrado del primer autor (MACC). Al MVZ EPAA José Manuel Valencia Ureña por el apoyo para la colección de muestras y su buena disposición de colaborar.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

Abou-Elez, R.M.M., Elsohaby, I., El-Gazzar, N., Abdelfatah, E., Abdellatif, S.S., Mesalam, A.A., Hala M.N., & Asmaa, B.M.B.T. (2021). Antimicrobial resistance of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium isolated from laying hens, table eggs, and humans with respect to antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles. *Animals*, 11 (12), 3554. <https://doi.org/10.3390/ani11123554>

- doi.org/10.3390/ani11123554
- Álves, A., Santos-Ferreira, N., Magalhaes, R., Ferreira, V., & Teixeira, P. (2022). From chicken to salad: Cooking salt as a potential vehicle of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* cross-contamination. *Food Control*, 137, 108959. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108959>
- Afshari, A., Baratpour, A., Khanzade, S., & Jamshidi, B. (2018). *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium identification in poultry carcasses. *Iranian Journal of Microbiology*, 10 (1), 45-50.
- Betancor, L., Pereira, M., Martinez, A., Giossa, G., Fookes, M., Flores, K., Barrios, P., Repiso, V., Vignoli, R., Cordeiro, N., Algorta, G., Thomson, N., & Maskell, D. (2010). Prevalence of *Salmonella enterica* in poultry and eggs in Uruguay during an epidemic due to *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (7), 2413–2423. <https://doi.org/10.1128/JCM.02137-09>
- Borges, K.A., Furian, T.Q., Souza, S.N., Salle, C.T.P., Moraes, H.L.S., & Nascimento, V.P. (2019). Antimicrobial resistance and Molecular characterization of *Salmonella* Enterica serotypes Isolated from poultry sources in Brazil. *Revista Brasileira de Ciencia Avícola*, 21 (1), 001-008. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2018-0827>
- Cardoso, M.J., Nicolau, A.I., Borda, D., Nielsen, L., Maia, R.L., Moretro, T., Ferreira, V., Knochel, S., Langsrud, S., & Teixeira, P. (2020). *Salmonella* in eggs: From shopping to consumption, a review providing an evidence based analysis of risk factors. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20 (3), 2716–2741. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12753>
- Campioni, F., Moratto, A.M., & Falcao, J.P. (2012). Genetic diversity, virulence genes and antimicrobial resistance of *Salmonella* Enteritidis isolated from food and humans over a 24-year period in Brazil. *Food Microbiology*, 32 (2), 254-264. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2012.06.008>
- Castro-Vargas, E., Herrera-Sánchez, M.P., Rodríguez-Hernández, R., & Rondón-Barragán, L.S. (2020). Antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from poultry: A global overview. *Veterinary World*, 13 (10), 2070-2084.
- Center for disease control and prevention [CDC]. (2018b). *Salmonella* home page. <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>
- Cepeda-Quintero, H., Gaxiola-Camacho, S., Castro-Tamayo, C., Portillo-Loera, J., Cháidez-Ibarra, M., & Enríquez-Verdugo, I. (2022). Identificación y resistencia antimicrobiana de bacterias de tréquea de gallinas ponedoras. *Abanico Veterinario*, 12. <http://doi.org/10.21929/abavet2022.26>
- Chávez-de la Peña, M.A., Higuera-Iglesias, A.L., Huertas-Jiménez, M.A., Báez-Martínez, R., Morales-de León, J., Arteaga-Cabello, F., Rangel-Frausto, S., & Ponce de León, R.S. (2001). Brote por *Salmonella* Enteritidis en trabajadores de un hospital. *Salud pública de México*, 43 (3), 211-216.
- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2021). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31st ed. CLSI supplement M100. ISBN 978-1-68440-104-8 [Print]; ISBN 978-1-68440-105-5 [Electronic]. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA. https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf
- Coelho, L.R., Melo, R.T., Monteiro, G.P., Reischak, D., Mendonça, A.O., Tavares, A.A.S., & Rossi, D. (2021). Validation of alternative methods of detection of *Salmonella* Spp. in experimentally contaminated poultry environmental samples. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 23 (2),

- 001-008. <http://doi.org/10.1590/1806-9061-2020-1380>
- Contreras-Soto, M. B., Medrano-Félix, J. A., Ibarra-Rodríguez, J. R., Martínez-Urtaza, J., Chaidez, Q. C., & Castro-del Campo, N. (2019). The last 50 years of *Salmonella* in Mexico: Sources of isolation and factors that influence its prevalence and diversity. *Revista Bio Ciencias*, 6 (nosp), Inocuidad Alimentaria, e540. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.nosp.e540>
- Diario Oficial de la Federación [DOF]. (2012). [https://www.gob.mx/senasica/prensa/declaran-a-mexico-libre-de-salmonelosis-aviar-20340#:~:text=La%20Secretar%C3%ADa%20de%20Agricultura%2C%20Ganader%C3%ADa,de%20la%20Federaci%C3%B3n%20\(DOF\)](https://www.gob.mx/senasica/prensa/declaran-a-mexico-libre-de-salmonelosis-aviar-20340#:~:text=La%20Secretar%C3%ADa%20de%20Agricultura%2C%20Ganader%C3%ADa,de%20la%20Federaci%C3%B3n%20(DOF))
- European Food Safety Authority [EFSA]. (2019). *Salmonella* cases in humans assessing current EU reduction targets. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/190218>
- Food and Drug Administration [FDA]. (2007). Bacteriological Analytical Manual, capítulo 5: *Salmonella*. New Hampshire U.S.A.
- Gast, Richard K. Gast, R. K. Dittoeb D. K., & Rickeb S. C. (2024). *Salmonella* in eggs and egg-laying chickens: pathways to effective control. *Critical Reviews in Microbiology*, 50(1), 39–63 <https://doi.org/10.1080/1040841X.2022.2156772>
- Gast, R., Guraya, R., Jones, D., & Anderson K. (2015). Persistence of fecal shedding of *Salmonella enteritidis* by experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science*, 94 (7), 1650–1656. <https://doi.org/10.3382/ps/pev113>
- Gantois, I., Ducatelle, L., Pasmans, F., Haesenbrouck, R., Gast, T.J., & Van Immerseel F. (2009). Mechanism of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiological Reviews*, 33 (4), 718 – 738. <http://doi:10.1111/j.1574/6976.2008.00161.x>
- Giancoboni, G.I., Moredo, F.A., & Pantozzi, F.L. (2023). Detección de la resistencia antimicrobiana: normas y herramientas de laboratorio en medicina veterinaria. Editorial Eulup.
- Guzmán-Gómez, G, Ayala, V.M.A., Cabrera, D.E., Pérez, M.J.A., Muñoz, V.J.M., Torres, V.M.R., & Ruiz, Q.S.L. (2013). Frequency of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in five commercial brands of chicken eggs using a combined method of enrichment and nested-PCR. *Journal of Food Protection*, 76 (3), 429–434, <http://doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-213>
- Gast, R.K., Dittoe, D.K., & Ricke, S.C., (2024). *Salmonella* in eggs and egg-laying chickens: pathways to effective control. *Critical Reviews in Microbiology*, 50 (1), 39–63. <http://doi.org/10.1080/1040841X.2022.2156772>
- Howard, Z.R., O'Bryan, C.A., Crandall, P.G., & Ricke, S.C. (2012). *Salmonella* Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control. *Food Research International*, 45 (2), 755–764. <http://doi:10.1016/j.foodres.2011.04.030>
- ID [Investigación Diagnóstica]. 2020. Laboratorio de reactivos para diagnóstico. Abel Gutiérrez. <http://quimex.com.mx/wp-content/uploads/2021/01/Multibac-Multidiscos-Antibiogramas.pdf>
- Lara, J. L., & Rostagno, M. H. (2013). Impact of Heat Stress on Poultry Production. *Animals*, 3 (2), 356-369. <http://doi:10.3389/10.3390/ani3020356>
- 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 Wei. *Frontiers Microbiology*, 11 (1482), 1-11. <http://doi:10.3389/fmicb.2020.01482>
- Li, Y., Yang, X., Zhang, H., Jia, H., Liu, X., Yu, B., Zeng, Y., Zhang, Y., Pei X., & Yang, D. (2020). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* in the commercial eggs in China. *International Journal of Food Microbiology*, 325, 108623. <http://doi: 10.1016/j.>

- [ijfoodmicro.2020.108623](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108623)
- Liu, B., Zhanga, X., Ding, X., Bin, P., & Zhu, G. (2023). The vertical transmission of *Salmonella* Enteritidis in a One-Health context. *OneHealth*, 16, 100469. <http://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100469>
- Moosavy, M.H., Bagheri, A.F., Esmaeili, S., Ehsan, M., & Salehi, T.Z. (2015). Detection of *Salmonella* spp. in comercial eggs in Iran. *Iranian Journal of microbiology*, 7 (1), 50–54.
- Maurischat, S., Szabo, I., Baumman, B., & Malorny, B. (2015). Rapid real-time PCR methods to distinguish *Salmonella* Enteritidis wildtype field isolates from vaccine strains Salmovac SE/ Gallivac SE and AviPro *Salmonella* VAC E. *Journal of Microbiological Methods*, 112 (5), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.03.015>
- Mancera-Martínez, A. Vázquez-Navarrete, J., Ontiveros-Corpus, M. de L., Durán-Valencia, S. López-Huidobro, D., & Tenorio-Gutiérrez, V.R. (2005). Identificación de *Salmonella* Enteritidis en huevo para consumo en la ciudad de México. *Técnica Pecuaria en México* 43 (2), 229-237.
- Mancera-Martínez, A., Vázquez-Navarrete, J. & Heneidi-Zeckua, A. (2004). Phage typing of *Salmonella* Enteritidis strains isolated from poultry in Mexico. *Técnica Pecuaria en México*, 42 (2), 287-294.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-114-SSA1-1994). Bienes y servicios. Métodos para la determinación de *Salmonella* en alimentos. Diario Oficial de la Federación, 15 de agosto de 1994. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4728936&fecha=15/08/1994#gsc.tab=0
- Norma Oficial Mexicana (NOM-159-SSA1-2016). Productos y servicios. Huevo y sus productos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación, 16 enero de 2018. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5510622&fecha=16/01/2018#gsc.tab=0
- Norma Oficial Mexicana (NOM-210-SSA1-2014). Bienes y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Diario Oficial de la Federación, 26 de junio de 2015. http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015
- Nabil, N.M., & Yonis, A.E. (2019). Isolation of *Salmonella* Characterized By Biofilm Formation and Disinfectant Resistance From Broiler Chickens. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 62 (2), 26-36. <http://doi:10.5455/ajvs.57274>
- Amado, O. C. (2023). Historia, clasificación taxonómica, características microbiológicas y patogénesis de *Salmonella* spp: Revisión sistemática. [Tesis de licenciatura, Universidad de Antioquía, Escuela de Microbiología]. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/40064/1/AmadoCatalina_2023_SalmonellaPatogénesisClasificación.pdf
- Organización Mundial de la Salud [OMS] (2024). La OMS pone al día la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana. <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>
- Organización Mundial de la Salud [OMS] (2017). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-fpr-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Pacholewicz E., Henk, J., Wisselink, Miriam, G.J., Van der Most K.N., & Gonzales, J.L. (2023).

- Environmental Sampling Methods for Detection of *Salmonella* Infections in Laying Hens: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms*, 11, 2100.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11082100>
- Poudel I., & Adhikari P.A. (2024). Combating the persistence of *Salmonella* infections in laying hens: nutritional, managemental and vaccination strategies. *World's Poultry Science Journal*, 80 (2), 423-452. <https://doi.org/10.1080/00439339.2023.2298513>
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://doi.org/10.15741/revbio.09.e00000>
- Rifat, U.K., Fatima, A., Naz, S., Ragni, M., Tarricone, S., & Tufarelli, V. (2022). Perspective, Opportunities and Challenges in Using Fennel (*Foeniculum vulgare*) in Poultry Health and Production as an Eco-Friendly Alternative to Antibiotics: A Review. *Antibiotics*, 11 (278), 1-16. <http://doi.org/10.3390/antibiotics11020278>
- Rivera, C.L.G., Ortégón, C.L.H., Estrada, C.G., Granja, Y.T.S., & Núñez, J.M. (2013). Aislamiento, identificación y patrón de sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella* spp en primates en cautiverio. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5 (1), 131-144
- Rodríguez, H. R. (2015). Prevalencia y caracterización molecular de *Salmonella* spp. en granjas avícolas de postura comercial en el departamento de Tolima, [Tesis de Maestría en Ciencias Pecuarias. Universidad de Tolima, Ibagué, Tolima, Colombia]. <https://repository.ut.edu.co/server/api/core/bitstreams/a0eeca75-126e-4e61-a4f0-724dd97efe21/content+>
- Shivaning-Karabasanavar, N., Madhavaprasad, C.B., Gopalakrishna, S.A., Hiremath, J., Patil, G.S., & Barbuddhe, S.B. (2020). Prevalence of *Salmonella* serotypes S. Enteritidis and S. Typhimurium in poultry and poultry products. *Journal of Food Safety*, 12852, 1-10. <http://doi.org/10.1111/jfs.12852>
- Sáenz, L., Guzmán, M., Vidal, S., Caruffo, M., Siel, D., Zayas, C., Paredes, R., Valenzuela, C., Hidalgo, H., & Pérez, O. (2022). Lapiere L. Efficacy of multivalent, cochleate-based vaccine against *Salmonella* Infantis, S. Enteritidis and S. Typhimurium in Laying Hens. *Vaccines*, 10 (226), 1-13. doi.org/10.3390/vaccines10020226
- Servicio Nacional de Sanidad, inocuidad y calidad alimentaria [SENASICA]. (2024). Influenza aviar. <https://dj.senasica.gob.mx/AtlasSanitario/storymaps/ia.html>
- Servicio Nacional de Sanidad, inocuidad y calidad alimentaria [SENASICA]. (2021). Panorama nacional de Salmonelosis. https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2021/febrero/72PANSalmonelosis20-01-21_f6c7023a-4def-419a-af63-ccb3e5df42f0_f6c7023a-4def-419a-af63-ccb3e5df42f0.pdf
- Solís, D., Cordero N., Quezada-Reyes M., Escobar-Astete C., Toro M., Navarrete P., & Reyes-Jara, A. (2023). Prevalence of *Salmonella* in Eggs from Conventional and Cage-Free Egg Production Systems and the Role of Consumers in Reducing Household Contamination. *Foods*, 12 (4300), 1-13. <https://www.doi.org/10.3390/foods12234300>
- Thung, T.I., Mahyudin, N.A., Basri, D.F., Wan Mohamed, R.C.W., Nakaguchi, Y., Nishibushi, M., & Radu, S. (2016). Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in raw chicken meat at retail markets in Malaysia. *Poultry Science*, 95 (8), 1888-1893.
- Van immerseel, F., Methner, U., Rychlik, I., Nagy, B., Velge, P., Martin, G., Foster, N., Ducatelle, R., & Barrow, P. A. (2005). Vaccination and early protection against non-host specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiology and*

- Infection*, 133 (6), 959–978. <https://www.doi.org/10.1017/S0950268805004711>
- Wall, H., Tauson, R., & Sorgjerd, S. (2008). Bacterial contamination of eggshells in furnished and conventional cages. *Journal of Applied Poultry Research*, 17 (1), 11-16. <https://www.doi.org/10.3382/japr.2006-00058>
- Xu, C., Kong, L., Gao, H., Cheng, X., & Wang, X. (2022). A review of current bacterial resistance to antibiotics in food animals. *Frontiers in microbiology*, 13, 822689. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2022.822689>